

II-1231 - PRODUÇÃO DE ÁCIDOS GRAXOS VOLÁTEIS PARA GERAÇÃO DE POLIHIDROXIALCANOATO

Dicla Cesário Pereira de Oliveira ⁽¹⁾

Engenheira civil, pela Universidade Federal de Pernambuco (UFPE). Especialista em gerenciamento de projetos e obras, pela Faculdade de Ciências Humanas ESUDA (FCHE). Mestranda em engenharia civil, com ênfase em tecnologia ambiental, pela UFPE.

Francielle Karolynne Vieira Machado ⁽²⁾

Graduanda em engenharia civil, pela Universidade Federal de Pernambuco (UFPE). Bolsista de iniciação científica do Programa de Recursos Humanos (PRH), da Agência Nacional do Petróleo (ANP).

Agnes Adam Duarte Pinheiro ⁽³⁾

Engenheira ambiental e sanitária, pelo Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Ceará (IFCE). Mestre e doutoranda em engenharia civil, com ênfase em tecnologia ambiental, pela UFPE.

Maria de Lourdes Florencio dos Santos ⁽⁴⁾

Engenheira civil, pela Universidade Federal de Pernambuco (UFPE). Mestre em engenharia civil, com ênfase em hidráulica e saneamento, pela Escola de Engenharia de São Carlos (EESC-USP). Doutora em ciências agrícolas e ambiental, com ênfase em tecnologia ambiental, pela Universidade de Wageningen, Holanda. Professora titular do Departamento de Engenharia Civil e Ambiental da UFPE.

Wanderli Rogério Moreira Leite ⁽⁵⁾

Engenheiro ambiental, pela Universidade do Estado do Pará (UEPA). Mestre e doutor em engenharia ambiental, pela Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC). Professor adjunto do Departamento de Engenharia Civil e Ambiental da UFPE..

Endereço⁽¹⁾: Av. Acadêmico Hélio Ramos, s/n. Cidade Universitária - Recife - PE - CEP 50740-530 - Brasil - Tel: + 55 (81) 2126-8229 - e-mail: dicla.oliveira@ufpe.br.

RESUMO

O descarte de resíduos plásticos na natureza, como consequência da economia linear - extrair, fazer, descartar - da deficiente gestão dos resíduos pelos países, do nível de consciência dos consumidores, associados às características físico-químicas intrínsecas a esses materiais têm provocado sérios problemas ambientais. A pandemia de COVID-19 intensificou o crescimento desses despejos, devido à produção e ao descarte de materiais, de usos únicos. O objetivo deste trabalho é avaliar a produção dos AGVs a partir da codigestão anaeróbica (CoDA) da biomassa algal (BA), biomassa algal pré-tratada termicamente (BAPT) e vinhaça (V), para indicar quais possíveis PHAs podem ser produzidos. O atendimento ao conceito de biorrefinaria - na recuperação, reutilização e reprocessamento de resíduos da indústria e do esgoto - para obtenção de AGVs e de bioplásticos, assim como aos objetivos de desenvolvimento sustentável (ODS), da ONU, podem possibilitar mais estudos, o investimento das indústrias nessa área, a diminuição dos desafios citados. Os testes foram realizados em um reator fermentador (RA), separado por fases, de acordo com as condições operacionais, alimentado com V e posteriormente, com uma mistura de BA:V (50% : 50%) e BAPT:V (50% : 50%) e em um reator em bateladas sequenciais (RBS), alimentado com ácido acético e, logo em seguida, por uma solução de macro e micronutrientes. Para a quantificação e qualificação dos AGVs foi utilizado cromatografia gasosa e, de acordo com a literatura, a qualificação dos PHAs. Os principais resultados foram: os ácidos HAc, HBut e HProp foram os predominantes nas fases I, II e IIIB; os ácidos HProp, HPent e HBut, na fase IIIB. A produção máxima de AGVs foi no fim da fase I, alcançando 7802,2 mg.L⁻¹. Foi evidenciado o aumento nas concentrações de HPent a partir da introdução da biomassa algal, passando de 17,10 mg.L⁻¹, na fase I, para 545,22 mg.L⁻¹, na fase II. Para os HAc e HBut, o PHA produzido é o P(3HB) e para o HProp e HPent, são produzidos 3HV e P(3HB-co-3HV). Estudos mais detalhados precisam ser realizados para otimizar as condições operacionais dos reatores, assim como a extração, qualificação e quantificação dos PHAs.

PALAVRAS-CHAVE: polihidroxialcanoato; PHA; codigestão anaeróbia; vinhaça; microalga; pré-tratamento térmico

INTRODUÇÃO

O descarte de resíduos plásticos na natureza, como consequência da economia linear (extrair, fazer, descartar), da deficiente gestão dos resíduos pelos países, do nível de consciência dos consumidores, associado às características físico-químicas intrínsecas desses materiais têm provocado sérios problemas ambientais, atingindo desde a biota, sua cadeia alimentar, balneabilidade dos corpos hídricos até à saúde dos seres humanos. Jambeck et. al. (2015) estimaram um despejo global de plásticos nos oceanos, em 2010, entre 4,8 e 12,7 milhões de toneladas, com tendência de aumento. A pandemia de COVID-19 intensificou esse crescimento, devido à produção e ao descarte de materiais, como embalagens e resíduos hospitalares, de usos únicos (RAI et al., 2023a; TALAN et al., 2022b).

Os objetivos de desenvolvimento sustentável (ODS) da ONU, dos quais o 6 - água potável e saneamento, 9 - indústria, inovação e infraestrutura, 11 - cidades e comunidades sustentáveis, 12 - consumo e produção responsáveis, 13 - ação contra a mudança global e do clima, 14 - vida na água, 15 - vida terrestre, fazem parte do escopo para a mitigação dos problemas enfrentados mundialmente. Nesse contexto, pesquisas têm apontado que os biopolímeros, como o polihidroxialcanoato (PHA), de origem biológica e biodegradável, podem substituir alguns tipos de petroplásticos (MAL et al., 2022) atendendo, assim, ao conceito de biorrefinaria, que abrange a economia circular, na recuperação, reutilização e reprocessamento, importante solução na gestão dos resíduos ((TALAN et al., 2022)).

Os PHAs pertencem a uma família de poliésteres bacterianos e podem ser armazenados como grânulos no citoplasma celular por microrganismos (incluindo bactérias fotossintéticas) sob condições específicas, como o estresse causado pela limitação de um nutriente essencial, por exemplo, o oxigênio, e o excesso de carbono. Entretanto, os altos custos de produção, em comparação com os petroplásticos, têm-se configurado desafio para produção em larga escala (KOSSEVA E RUSBANDI, 2018). A busca de resíduos, ricos em carbono como substratos, para a fermentação e produção de ácidos graxos voláteis (AGVs), precursor dos PHAs, é uma solução ambientalmente amigável pois recupera recursos de efluentes industriais, satisfazendo a biorrefinaria (TALAN et al., 2022).

As microalgas (BA) contêm carboidratos, lipídios, proteínas, não necessitam de terras aráveis, reproduzem-se em alta velocidade, sequestram o carbono atmosférico, através da fotossíntese. A digestão anaeróbia (DA) de microalgas pode gerar ácidos graxos voláteis (AGV), que se constituem antecessores de polihidroxido alcenoato (PHA) e também de metano, configurando-se, desta forma, um substrato valioso. No entanto, a parede celular recalcitrante das microalgas, a baixa relação carbono/ nitrogênio (C/N) podem dificultar o processo de DA. Para promoção da quebra da parede celular, pré-tratamentos são aplicados e a codigestão anaeróbia (CoDA), com dois ou mais cosubstratos, com alta relação C/N - como os resíduos agroindustriais-revelam-se soluções para essas características (SOLÉ-BUNDÓ et al., 2019a; UMA et al., 2022; YUKESH KANNAH et al., 2021a).

O Brasil é o maior produtor de cana-de-açúcar do mundo (EMBRAPA (2006) e o segundo maior de etanol, de acordo com a *Renewable Fuels Association* (RFA, 2022). Após a destilação do etanol, para cada litro, cerca de 8 a 15L de vinhaça (V) são produzidos como resíduo (SILVA et al., 2021; WONGARMAT et al., 2022). Segundo a CONAB (Companhia Nacional de Abastecimento), a produção estimada na safra 2022/2023 foi de 31,14 bilhões de litros de etanol, produzindo uma faixa entre 249,1 a 467,1 bilhões de litros de vinhaça. A vinhaça é composta por características ácidas, alta DQO, água e nutrientes, sendo sua principal destinação final a fertirrigação que, apesar de apresentar benefícios, tais como atuar como fertilizante, pode causar problemas ambientais. Por possuir alta relação C/N, a vinhaça apresenta-se como o cosubstrato à microalga, na CoDA (PINTO et al., 2018; SIQUEIRA et al., 2022).

A DA ocorre em quatro etapas principais, a saber: hidrólise, acidogênese, acetogênese, metanogênese. Pesquisas anteriores revelam que a separação entre as etapas hidrolítica e acidogênica das acetogênica e metanogênica conferem maior estabilidade a DA, devido ao melhor controle das características ambientais, para favorecer os grupos das bactérias fermentativas das arqueas, que têm faixas ótimas de parâmetros diferentes (LEITE, 2015; SILVA et al., 2021). A codigestão anaeróbia (CoDA) pode ser considerada como a DA composta por mais de um substrato, que possuam complementaridade (SIQUEIRA et al., 2022; SOLÉ-BUNDÓ et al., 2019a).

OBJETIVO

O objetivo deste trabalho é avaliar a produção dos AGVs a partir da CoDA da biomassa algal (BA), biomassa algal pré-tratada termicamente (BAPT) e vinhaça (V), para indicar quais possíveis PHAs podem ser formados, através da literatura.

MATERIAIS E MÉTODOS

Aparatos experimentais e regimes operacionais

O processo anaeróbico ocorreu em reator fermentador (RA) escala de bancada, conforme Pinheiro (2023). O RA possui volume útil (Vu) de 1,8L, situado em sala termostaticada (30°C), regime hidráulico semicontínuo, alimentado uma vez por dia, cinco dias por semana (PINHEIRO, 2023). A operação do RA foi realizada seguindo diferentes condições operacionais, estruturadas em fases (Tabela 1). Em cada fase, o percentual apresentado indica a proporção dos substratos, calculados em função de suas demandas bioquímicas de oxigênio (DQO). Na fase I, o RA foi inoculado e alimentado apenas com vinhaça (V); a partir da fase II, deu-se o início à codigestão anaeróbia (CoDA) da vinhaça com biomassa algal (BA); o pré-tratamento térmico da BA foi iniciado na fase IIIA. As fases I, II e IIIA tiveram tempo de detenção hidráulico (TDH) de 4 dias e a fase IIIB, com codigestão da biomassa algal pré-tratada (BAPT) e vinhaça (V), em TDH de 3 dias. A carga orgânica volumétrica (COV) foi de 5,625 kg DQO.m⁻³.d⁻¹ para todas as fases. O tempo total de operação foi de 309 dias.

Tabela 1: Parâmetros operacionais do reator fermentador RA. Fonte: Pinheiro, 2023, adaptado.

FASE	PERÍODO (d)	SUBSTRATO	TDH (d)	COV (kgDQO.m ⁻³ .d ⁻¹)
I	0 - 71	V (100%)	4	5,625
II	72 - 202	V : BA (50% : 50%)	4	5,625
IIIA	203 - 240	V : BAPT (50% : 50%)	4	5,625
IIIB	241 - 309	V : BAPT (50% : 50%)	3	5,625

O reator em batelada sequencial (RBS) apresentou volume útil de 2,0 L, construído em acrílico, ligado a bomba de alimentação e descarte, aerador, com agitação semi-contínua. O RBS foi operado seguindo ciclos operacionais apresentados na Tabela 2, dotados das seguintes fases: enchimento (19min55s), aeração (680min), sedimentação (20min) e descarte (5s). Essas condições são compatíveis com a formação de fases *feast/famine* (DIONISI et al., 2004).

Tabela 2: Parâmetros operacionais do reator RBS.

TDH (d)	COV (kgDQO.m ⁻³ .d ⁻¹)	TEMPERATURA (°C)	TEMPO DE CICLO (h)
2	1,25	25-30	12

A Figura 1 ilustra o aparato experimental:

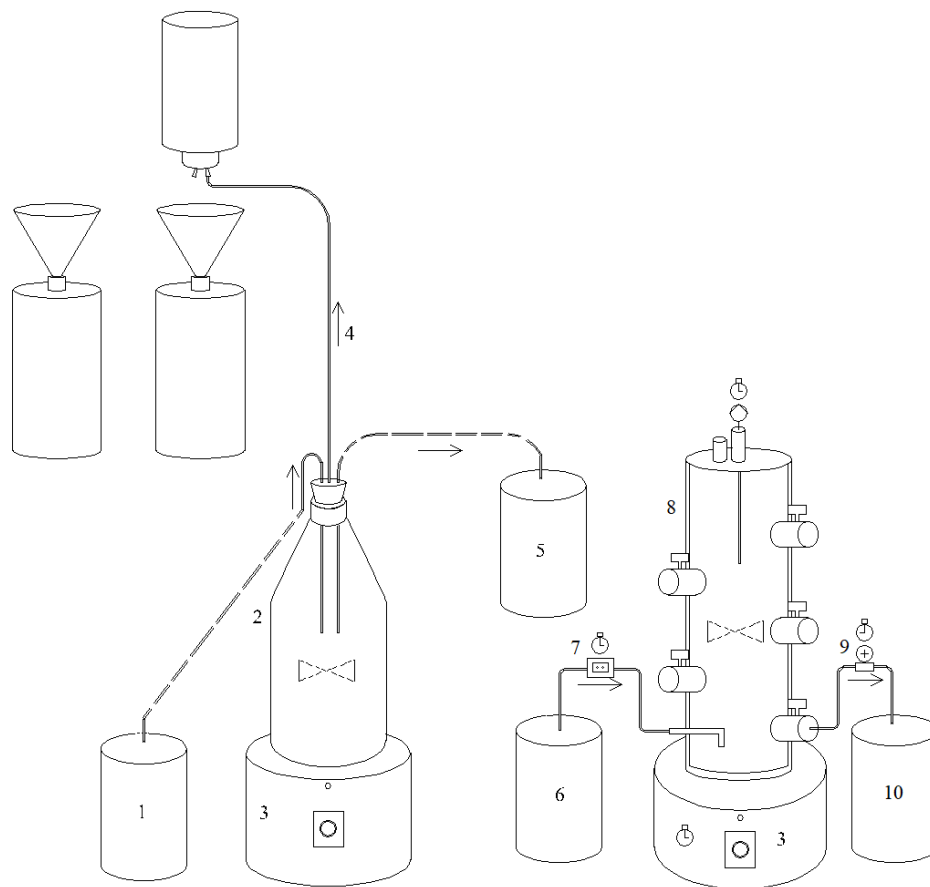


Figura 1: Aparato experimental dos reatores RA e RBS. Nota: 1 – alimentação do RA; 2 – reator fermentador RA; 3 – agitador magnético; 4 – medição quantitativa de metano; 5 – efluente do RA, rico em AGVs; 6 - alimentação do RBS; 7 – bomba dosadora; 8 – reator RBS; 9 – bomba de descarte; 10 – efluente do RBS.

Inóculos e substratos

A BA foi coletada da lagoa de alta taxa (LAT) situada na ETE Mangueira, no município de Recife; a vinhaça (V), da empresa sucroalcooleira JB Alcoolquímica, localizada no município de Vitória de Santo Antão, ambas no estado de Pernambuco, Brasil.

As caracterizações da biomassa algal (BA), biomassa algal pré-tratada (BAPT), vinhaça e da alimentação do RA foram realizadas e estão dispostas nas Tabelas 5, 6 e 7.

O reator acidogênico (RA) foi inoculado com vinhaça, com correção de seu pH no 13º dia para 6,5 e, posteriormente, alimentado com BA (PINHEIRO, 2023). O processo de pré-tratamento térmico, por 40 minutos, a 120°C, ocorreu a partir da fase III, antes da BA ser misturada com a V e a água deionizada, para a alimentação. As proporções dos substratos foram baseadas na carga orgânica volumétrica (COV), de 5,625 kgDQO. m⁻³.d⁻¹, em termos de DQO, tempo de detenção hidráulico (TDH), 4 e 3 d, concentração em DQO (PINHEIRO, 2023).

O reator em bateladas sequenciais (RBS) foi inoculado com lodo ativado (LA), proveniente de lagoas aeradas, sequentes ao reator UASB, da ETE do Grupo Petrópolis, situada em Itapissuma, PE. O RBS foi alimentado, a princípio, com ácido acético glacial, COV 2,5 kgDQO m⁻³.d⁻¹, e, posteriormente, com solução de micronutrientes (Tabela 3) e macronutrientes, os quais são: 286,70 mg de NH₄Cl, 44 mg de KH₂PO₄, 3,3 mg de CaCl₂, 3,3 mg de MgSO₄.7H₂O, 1,5 mg de FeSO₄.7H₂O, cujas massas são para 1 L de substrato; na alimentação também foi adicionada uma quantidade de NaHCO₃, suficiente para manter o pH do RBS na faixa

de 6,5-7,5. O lodo ativado (LA) foi caracterizado em função da DQO, nitrogênio amoniacal, fósforo total, sólidos suspensos totais (SST) e voláteis (SSV). Os resultados estão na Tabela 8.

Tabela 3: Solução dos micronutrientes. Fonte: : Huang et al. (2015), adaptado.

NUTRIENTE	FÓRMULA MOLECULAR	MASSA (mg.L ⁻¹)
Ácido bórico	H ₃ BO ₃	0,05
Cloreto de zinco	ZnCl ₂	0,05
Cloreto de Cobre	CuCl ₂	0,038
Sulfato de manganês monohidratado	MnSO ₄ .H ₂ O	0,05
Molibdato de amônio tetrahidratado	(NH ₄) ₆ MO ₇ O ₂₄ .4H ₂ O	0,05
Cloreto de alumínio	AlCl ₃	0,05
Cloreto de cobalto hexahidratado	CoCl ₂ .6H ₂ O	0,0635
Cloreto de níquel	NiCl ₂	0,05

Métodos analíticos

As metodologias utilizadas para o reator RA seguiram as do estudo realizado por Pinheiro (2023), que monitorou alcalinidade total (AT), pH, temperatura, ORP, DQO, Nitrogênio Total Kjeldahl (NTK), nitrogênio amoniacal, sólidos totais (ST), de acordo com a metodologia do *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater* (APHA, 2017); Aquino et al., (2007), para quantificação e a qualificação do biogás. AGVs, por cromatografia gasosa, com detecção de chamas (CG+FID), 2 vezes na semana. Os ácidos acético (HAc), propiônico (HProp), butanoico (HBut), pentanoico (HPent) e capróico (HCap) foram monitorados. Carbono orgânico total, COT, estimado com base em Do Carmo e Silva (2012), pela Equação (1), (PINHEIRO, 2023).

$$\text{COT (mg. L}^{-1}\text{)} = 0,425 * \text{DQO (mg. L}^{-1}\text{)} - 2,064 \quad \text{equação (1)}$$

O reator RBS foi monitorado em termos de oxigênio dissolvido (OD), alcalinidade total (AT), pH, temperatura, ORP, DQO, nitrogênio amoniacal, fósforo total, sólidos totais (ST), sólidos fixos (SF) e sólidos voláteis (SV), de acordo com a metodologia do *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater* (APHA, 2017). A quantificação e a qualificação dos AGVs foram medidas por cromatografia gasosa, com detecção de chamas (CG+FID), 2 vezes na semana. Análise de IVL foi realizada de acordo com Von Sperling (1997). O carbono orgânico total, COT, foi estimado baseado em Do Carmo e Silva (2012), pela Equação (1). Para a qualificação dos PHAs foi realizada, a partir da literatura, comparações entre os AGVs mais presentes e os PHAs produzidos.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Caracterização de inóculos e substratos

Os valores obtidos das análises físico-químicas da BA e BAPT estão apresentados na Tabela 5.

Características próximas à neutralidade da BA também foram encontradas por (JANKOWSKA *et al.*, 2017), de 7,3, e por Damtie et al. (2021), de 7,7 e após o pré-tratamento, houve uma mínima alteração. Foram observados aumento da DQO solúvel, de 1349%, NTK, de 6,80% e da relação SV/ST, de 25,98%. Esses resultados podem ser explicados pela lise da parede celular promovida pelo pré-tratamento térmico e à disponibilização de carboidratos, lipídios e proteínas presentes no citoplasma e na parede celular da BA. A baixa relação C/N é relatada na literatura como comum, pelo alto percentual de proteínas contidas na BA, o que limita o desempenho da DA, devido ao fato de que, dependendo da concentração de nitrogênio, pode

existir inibição, acúmulo de AGVs, o que afeta o metabolismo dos microrganismos (SOLÉ-BUNDÓ *et al.*, 2019b; YUKESH KANNAH *et al.*, 2021b).

Tabela 5: Caracterização das BA e BAPT. Fonte: Pinheiro, 2023, adaptado.

PARÂMETROS	BA	BAPT
pH	6,8	6,7
DQO total (mg O ₂ ·L ⁻¹)	45115,54 ± 103,36	46408,7 ± 125,32
DQO solúvel (mg O ₂ ·L ⁻¹)	522,47 ± 2	7571,2 ± 1,85
DQOs/DQOt (%)	1,16	16,3
COT (mg·L ⁻¹)	19172 ± 958	19721,6
Nitrogênio total Kjeldahl (mg·L ⁻¹)	2326,80 ± 4	2485,0 ± 61,25
Nitrogênio amoniacal (mg·L ⁻¹)	232,80 ± 8,5	97,5 ± 2,55
C/N	8,24	7,94
Fósforo total (mg·L ⁻¹)	145,5 ± 8,5	-
Sólidos totais (mg·L ⁻¹)	51887,50 ± 786	36.216,67
Sólidos voláteis (mg·L ⁻¹)	34132,50 ± 622	30.011,11
SV/ST (%)	65,78	82,87
Proteínas (% ST)	28,02	-
Lípidios (% ST)	17,64	-
Carboidratos (% ST)	20,11	-
Cinzas (% ST)	34,23	-

Os valores obtidos das análises físico-químicas da V estão apresentados na Tabela 6.

O valor de pH 3,77, de caráter fortemente ácido, esteve dentro da faixa encontrada por (PARSAEE, KIANI DEH KIANI e KARIMI, 2019a) e por (SIQUEIRA *et al.*, 2022), entre pH 3,25 e 4,97. O pH está relacionado às condições de cultura e a possíveis contaminações por bactérias fermentativas, na produção do etanol. A DQO, acima de 25 g DQO·L⁻¹ é compatível com a faixa encontrada na literatura, entre 17850 e 299250 mg·L⁻¹ (FUESS, GARCIA e ZAIAT, 2018; NERY, DEL *et al.*, 2018; PARSAEE, KIANI DEH KIANI e KARIMI, 2019b; SIQUEIRA *et al.*, 2022). O alto valor para a relação C/N está acima dos encontrados por Parsaee, Kiani Deh Kiani e Karimi (2019b), entre 11 e 15, e por SIQUEIRA *et al.* (2022), de 22, confirmado pelo alto valor do COT, que pode ser pela quantidade de polissacarídeos disponível na vinhaça. Os baixos valores para o NTK e o nitrogênio amoniacal podem ser pela baixa concentração de proteínas. Para sólidos totais e voláteis, os obtidos são compatíveis com os encontrados por SIQUEIRA *et al.*, (2019), entre 14,57 e 81,5 g·L⁻¹ e entre 9,34 e 22 g·L⁻¹, respectivamente.

Tabela 6: Caracterização da vinhaça. Fonte: Pinheiro, 2023, adaptado.

PARÂMETROS	VALORES
pH	3,77
DQO total (mg O ₂ ·L ⁻¹)	25767 ± 115,42
COT (mg·L ⁻¹)	10949
Nitrogênio total Kjeldahl (mg·L ⁻¹)	180,60 ± 7
Nitrogênio amoniacal (mg·L ⁻¹)	7,56 ± 0,84
C/N	60,63
Fósforo total (mg·L ⁻¹)	76,40 ± 3,48
Sólidos totais (mg·L ⁻¹)	24972 ± 196,49
Sólidos voláteis (mg·L ⁻¹)	17704 ± 145,35
SV/ST (%)	70,89

Os valores obtidos das análises físico-químicas da mistura para a alimentação do RA estão apresentados na Tabela 7, em função da DQO, considerando a proporção 50% : 50% , de BA:V e BAPT:V.

Observa-se que a DQO não se altera assim como o COT, que está em função da DQO, Equação (1). Evidenciou-se, também, um aumento nas concentrações da DQO solúvel, dos NTK, nitrogênio amoniacal e da relação SV/ST, comportamento previsto pelo fato, já comentado, de o pré-tratamento proporcionar a lise da parede celular da BA, fornecendo ao meio carboidrato, lipídio e proteína (PINHEIRO, 2023), dentre os quais,

essa última, rica em aminoácidos, composta por nitrogênio. Por esse motivo, a relação C/N foi afetada, apresentando uma queda de 33,56%.

Tabela 8: Caracterização - Caracterização dos cosubstratos BA, BAPT e V, de acordo com a DQO (50% : 50%). Fonte: Pinheiro, 2023, adaptado.

PARÂMETROS	BA:V (50% : 50%)	BAPT : V (50% : 50%)
pH	5,49	4,98
DQO total (mg O ₂ ·L ⁻¹)	22500	22500
DQO solúvel (mg O ₂ ·L ⁻¹)	9030,02 ± 48,72	11342,66
DQOs/DQOt (%)	41,05	51,56
COT (mg·L ⁻¹)	9347,94	9347,94
Nitrogênio total Kjeldahl (mg·L ⁻¹)	700,20 ± 30,09	1054,10 ± 51,6
Nitrogênio amoniacal (mg·L ⁻¹)	62,59 ± 2,5	213,05 ± 7
C/N	13,35	8,87
Sólidos totais (mg·L ⁻¹)	30570,07	17850,00
Sólidos voláteis (mg·L ⁻¹)	17179,52	12684,44
SV/ST (%)	56,20	71,06

O LA foi caracterizado através de análises físico-químicas e sua descrição está na Tabela 8.

Tabela 8: Caracterização do inóculo (lodo ativado) do RBS.

PARÂMETRO	VALOR
pH	7,9
DQO (mg O ₂ ·L ⁻¹)	6633,28
Nitrogênio amoniacal (g·L ⁻¹)	23,7
Fósforo total (mg·L ⁻¹)	32,26
SST (mg·L ⁻¹)	11000
SSV (mg·L ⁻¹)	6233,33
SSV/SST (%)	56,67

Desempenho, estabilidade e produção de AGVs no reator RA

O desempenho e a estabilidade do RA foram monitorados com relação ao pH e AGVs, conforme Pinheiro (2023). As concentrações totais de AGVs variaram entre 0 mg·L⁻¹ e 7802,17 mg·L⁻¹.

Na fase I, o pH teve valor mínimo, entre todas as fases - abaixo de 3,5 - devido ao caráter ácido da vinhaça (PARSAEE et al., 2019). Nessas condições, a DA é prejudicada (SIQUEIRA et al., 2022). Para ajustar essa característica, regulou-se o pH do substrato com NaOH 40% para pH 6,5, alcançando média de 5,2. De acordo com Pinheiro (2023), para a fase I destacaram-se, com valores máximos, os HAc, com 2874,6 mg·L⁻¹, seguido pelo HBut, 2547,2 mg·L⁻¹ e o HProp, 951,60 mg·L⁻¹; o HPent apresentou produção mínima. Fu et al. (2017) também encontraram, para DA de vinhaça em dois estágios, a predominância desses ácidos. Para Llamas et al. (2022), substratos com proteínas apresentam valores maiores para o HPent do que o encontrado – valores mínimos – apenas com vinhaça como substrato. O aumento na produção de HPent foi evidenciado a partir da introdução da BA, na fase II.

Na fase II, o reator RA apresentou instabilidade, com aumento do pH para 5,8 de média e pico máximo de 6,6, que pode estar associado ao caráter mais neutro da BA. Os HBut, HAc e o HProp obtiveram os maiores resultados da fase: 2598,00 mg·L⁻¹, 2669,17 mg·L⁻¹, 655,26 mg·L⁻¹; o HCap teve sua maior concentração entre todas as fases, 629,20 mg·L⁻¹. Parsaee et al. (2021) encontraram que para o pH entre 4,0 e 7,0, os AGVs predominantes são os HAc e HBut e, em pH 7,0, o HProp, o que foi evidenciado neste trabalho.

Na fase IIIA, o RA atingiu os maiores valores médios entre todas as fases de pH, 6,3, chegando a 6,8. O aumento do pH pode ter promovido condições ambientais favoráveis ao desenvolvimento de arqueas metanogênicas, hipótese que foi corroborado pelo aumento da produção de CH_4 (PINHEIRO, 2023). Por esse motivo, optou-se pela estratégia da diminuição do TDH, de 4 dias para 3 dias, a fim de promover *washout* no RA, na fase seguinte. As bactérias apresentam crescimento mais rápido, comparada às arqueas (LEITE, 2015). Na fase IIIA predominaram os HProp, HPent e HBut, com valores máximos de $1141,90 \text{ mg.L}^{-1}$, $806,12 \text{ mg.L}^{-1}$ e $1193,30 \text{ mg.L}^{-1}$. LLAMAS et al. (2022) citam que os HProp e HPent, quando em maior proporção, podem estar associados à presença de proteínas na BA, o que era esperado, pelo pré-tratamento aplicado.

Com a diminuição do TDH, observou-se uma queda no pH, com 5,2 de média. Na fase IIIB, predominaram os HAc, $1871,41 \text{ mg.L}^{-1}$, HProp, $1127,80 \text{ mg.L}^{-1}$ e HBut, com $1000,75 \text{ mg.L}^{-1}$. A Figura 3 apresenta a variação dos AGVs individuais produzidos e pH alcançado.

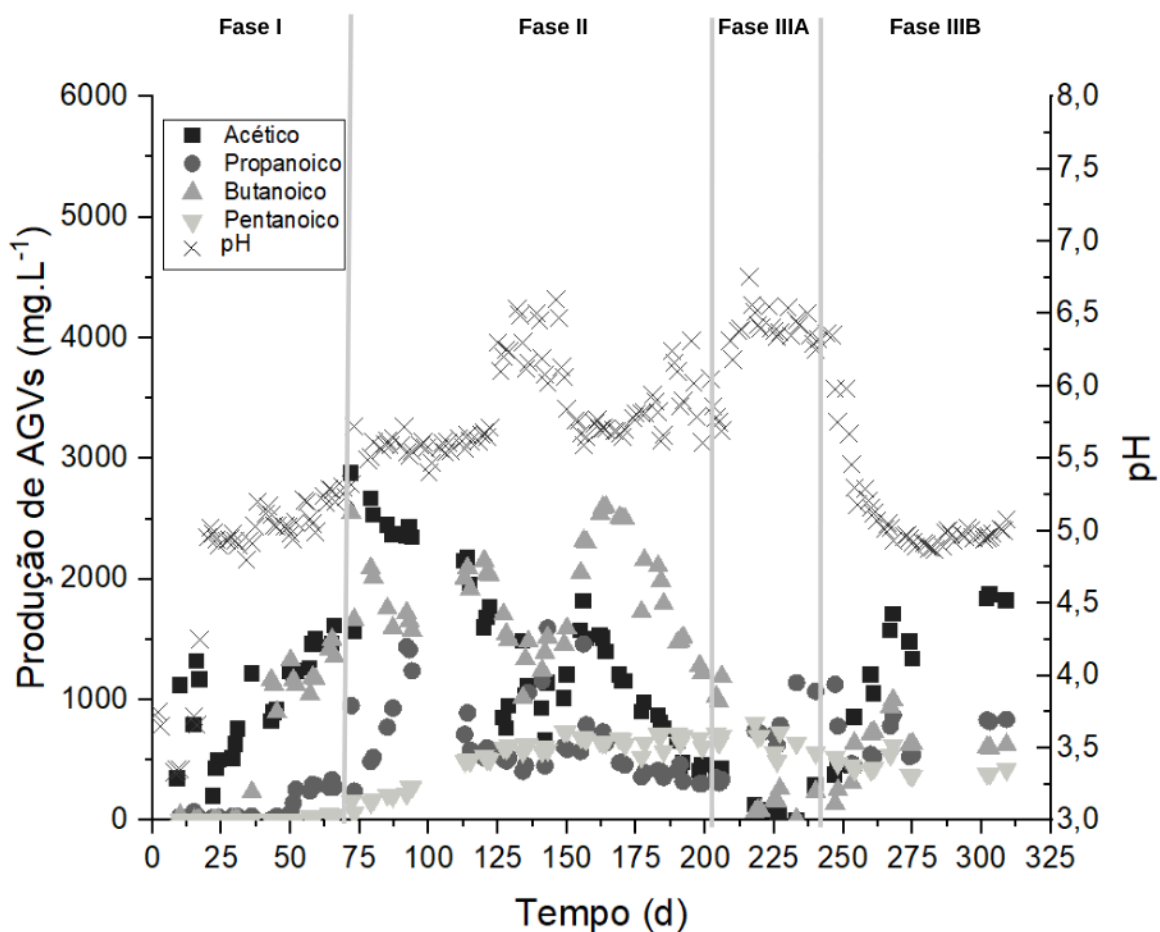


Figura 3: Produção dos AGVs no RA com o pH. Nota: Fase I - V (100%), TDH: 4d; fase II - V:BA (50% : 50%), TDH: 4d; fase IIIA - V : BA PT (50% : 50%), TDH: 4d; fase IIIB - V : BA PT (50% : 50%), TDH: 3d.

Produção de PHA

Os PHAs são biopolímeros, poliésteres, com características termoplásticas (MARANGONI, 2000), formados dentro das células microbianas, como reserva de energia, a partir do excesso de carbono e sob condições específicas, como o estresse causado pela limitação de nutrientes essenciais, tais como fósforo, o oxigênio e nitrogênio (SZACHERSKA et al., 2021; TALAN et al., 2022). Entretanto, os altos custos de produção, em comparação com os petroplásticos, têm-se configurado desafio para produção em larga escala (KOSSEVA e

RUSBANDI, 2018), podendo ser até 15 vezes mais altos (SZACHERSKA et al., 2021). A busca de resíduos, ricos em carbono como substratos, para a fermentação e produção de ácidos graxos voláteis (AGVs), precursor dos PHAs, é uma solução ambientalmente amigável pois recupera recursos de efluentes industriais, satisfazendo a biorrefinaria (TALAN et al., 2022), além de diminuir os custos da produção.

Os principais ácidos produzidos na fermentação de resíduos são HAc, HProp e HBut. Quando usados individualmente como única fonte de carbono, os três substratos são armazenados na forma de homopolímeros, como o poli(3-hidroxibutirato) [P(3HB)] produzido a partir de n-alcanoatos de números pares de carbono (acetato e butirato), e o copolímero das unidades de 3-hidroxibutirato e 3-hidroxivalerato [P(3HB-co3HV)], produzido a partir de n-alcanoatos de carbono ímpar números (propionato e valerato); em sequência, estudos também narram que a produção do copolímero de hidroxivalerato (HV) intensifica-se quando esse é formado na presença de HProp e HAc, conjuntamente (DIONISI *et al.*, 2004). A Tabela 9 correlaciona as fontes de carbono com os tipos de PHA produzidos.

Tabela 9: Tipos de PHA de acordo com os AGVs.

FONTE DE CARBONO	TIPO DE PHA	REFERÊNCIA
Ác. Acético	P(3HB)	(Dionisi <i>et al.</i> , 2004; Szacherska <i>et al.</i> , 2021)
Ác. Propiônico	3HV P(3HB-co-3HV)	(Dionisi <i>et al.</i> , 2004; Szacherska <i>et al.</i> , 2021)
Ác. Butírico	P(3HB)	(Szacherska <i>et al.</i> , 2021)
Ác. Pentanóico	3HV P(3HB-co-3HV)	(Dionisi <i>et al.</i> , 2004; Szacherska <i>et al.</i> , 2021)

De acordo com MARANGONI (2000), o copolímero P(3HB-co-3HV) é o mais desejado pela indústria, por apresentar propriedades próximas às do polietileno e do polipropileno. O P(3HB) é rígido, porém estudos têm sido desenvolvidos a partir da combinação do P(3HB) com partículas de 3HV para melhoria dessa característica (MARANGONI, 2000; SZACHERSKA et al., 2021).

CONCLUSÕES

A CoDA apresenta-se como uma solução alternativa para os problemas ora citados na substituição de alguns petroplásticos, pois, além de oferecer a capacidade de recuperar, reutilizar e reprocessar resíduos da indústria, do esgoto, produz AGVs, precursores de PHAs.

A concentração de AGVs varia de acordo com o tipo de substrato, condições operacionais, que afetam a formação da CMM. Há uma correlação entre o consumo de AGVs de número par e o sintetizado de PHB, e o consumo de AGVs de número ímpar com o PHV. Analisando os resultados obtidos no experimento com a literatura, conclui-se que para as fases I, II e IIIB, com HAc, HBut e HProp predominantes, os possíveis PHAs produzidos podem ser o P(3HB) e P(3HB-co3HV). Para a fase IIIA, com HProp, HPent e HBut, há a possibilidade de serem produzidos 3HV e P(3HB-co-3HV).

O uso de substratos residuais pode diminuir o custo de produção do PHA.

O processo de abundância/escassez pode tornar o sistema de produção de PHA através de CMM mais eficiente, pois é onde a cultura mais apta a acumular PHA como reserva de energia é definida.

Estudos do fermentado como substrato para o RBS devem ser analisados para correlacionarem-se os dados encontrados, compará-los com a literatura, com o objetivo de obterem-se as condições ótimas para produção de AGVs, a fim de direcioná-los, de acordo com o PHA desejado.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. APHA, AWWA, and WPCF. Standard methods for the examination of water and wastewater, 25th ed. Baltimore: Port City Press, 2017.
2. AQUINO, S. F. et al. Metodologias para determinação da atividade metanogênica específica (AME) em lodos anaeróbios. Engenharia Sanitária e Ambiental, v. 12, n. 2, p. 192–201, 2007.
3. COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO. CONAB, 2022. Produção de cana-de-açúcar cresce 4,4% e pode chegar a 598,3 milhões de toneladas na safra 2022/23. Disponível em: <<https://www.conab.gov.br/ultimas-noticias/4874-producao-de-cana-de-acucar-cresce-4-4-e-pode-chegar-a-598-3-milhoes-de-toneladas-na-safra-2022-23#:~:text=O%20terceiro%20levantamento%20da%20safra,anunciado%20em%20agosto%20deste%20ano.>>. Acesso em: 30 mar. 2023.
4. DAMTIE, M. M.; SHIN, J.; JANG, H. M.; CHO, H. U.; WANG, J.; KIM, Y. M. Effects of biological pretreatments of microalgae on hydrolysis, biomethane potential and microbial community. Bioresource Technology, v. 329, 1 jun. 2021.
5. DIONISI, D.; MAJONE, M.; PAPA, V.; BECCARI, M. Biodegradable Polymers from Organic Acids by Using Activated Sludge Enriched by Aerobic Periodic Feeding. Biotechnology and Bioengineering, v. 85, n. 6, p. 569–579, 20 mar. 2004.
6. DO CARMO, D. L.; SILVA, C. A. Métodos de quantificação de carbono e matéria orgânica em resíduos orgânicos. Revista Brasileira de Ciência do Solo, v. 36, n. 4, p. 1211–1220, 2012.
7. FU, S. F.; XU, X. H.; DAI, M.; YUAN, X. Z.; GUO, R. B. Hydrogen and methane production from vinasse using two-stage anaerobic digestion. Process Safety and Environmental Protection, v. 107, p. 81–86, 2017.
8. FUESS, L. T.; GARCIA, M. L.; ZAIAT, M. Seasonal characterization of sugarcane vinasse: Assessing environmental impacts from fertirrigation and the bioenergy recovery potential through biodigestion. Science of the Total Environment, v. 634, p. 29–40, 1 set. 2018.
9. HUANG, W. et al. Effect of algae growth on aerobic granulation and nutrients removal from synthetic wastewater by using sequencing batch reactors. Bioresource technology, v. 179, p. 187–192, 2015.
10. JAMBECK, J. R.; Geyer, R.; Wilcox, C.; Siegler, T. R.; Perryman, M.; Andrady, A.; Narayan, R.; Law, K. L. Plastic waste inputs from land into the ocean. Science Magazine, v. 347, p. 768–771, 13 fev. 2015.
11. JANKOWSKA, E.; CHWIALKOWSKA, J.; STODOLNY, M.; OLESKOWICZ-POPIEL, P. Volatile fatty acids production during mixed culture fermentation – The impact of substrate complexity and pH. Chemical Engineering Journal, v. 326, p. 901–910, 2017.
12. KOSSEVA, M. R.; RUSBANDI, E. Trends in the biomanufacture of polyhydroxyalkanoates with focus on downstream processing International Journal of Biological Macromolecules Elsevier B.V., , 1 fev. 2018.
13. LEITE, W. R. M. Digestão anaeróbia em temperaturas mesofílica e termofílica de lodo de ETE usando reatores de estágio único e dois estágios. 2015. Universidade Federal de Santa Catarina. UFSC. Tese. Doutor em Engenharia Ambiental. 193p. Florianópolis. SC. Brasil. Disponível em: <https://repositorio.ufsc.br/bitstream/handle/123456789/160735/337906.pdf?sequence=1>. Acesso em: 30 mar. 2023.
14. MARANGONI, C. Estudo de estratégias de produção de poli(3-hidroxibutirato) por Ralstonia eutropha utilizando substrato de baixo custo e ácido propiônico. Dissertação (Mestrado em Engenharia de alimentos). Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2000.
15. MAL, N.; SATPATI, G. G.; RAGHUNATHAN, S.; DAVOODBASHA, M. A. Current strategies on algae-based biopolymer production and scale-up. Chemosphere, v. 289, 1 fev. 2022.
16. NASCIMENTO, E. C. P. Recuperação de bioprodutos de lodo granular aeróbio e de consórcio granular algal-bacteriano. 2022. Universidade Federal de Pernambuco. UFPE. Dissertação. Mestre em Engenharia Civil. 90p. Recife. PE. Brasil. Disponível em: <<https://repositorio.ufpe.br/bitstream/123456789/44285/1/DISSERTA%C3%87%C3%83O%20Elissandra%20Cheu%20Pereira%20do%20Nascimento.pdf>>. Acesso em: 25 mar. 2023.
17. NERY, V. DEL; ALVES, I.; ZAMARIOLLI DAMIANOVIC, M. H. R.; PIRES, E. C. Hydraulic and organic rates applied to pilot scale UASB reactor for sugar cane vinasse degradation and biogas generation. Biomass and Bioenergy, v. 119, p. 411–417, 1 dez. 2018.
18. PARSAAE, M.; KIANI DEH KIANI, M.; KARIMI, K. A review of biogas production from sugarcane vinasse Biomass and Bioenergy Elsevier Ltd., , 1 mar. 2019a.
19. _____. A review of biogas production from sugarcane vinasse Biomass and Bioenergy Elsevier Ltd., , 1 mar. 2019b.

20. PINHEIRO, A. A. D. Codigestão anaeróbia de biomassa de algas e vinhaça para produção de metano. 2023. Universidade Federal de Pernambuco. UFPE. Dissertação. Mestre em Engenharia Civil. 85p. Recife. PE. Brasil. Disponível em: <<https://repositorio.ufpe.br/bitstream/123456789/49308/1/DISSERTA%C3%87%C3%83O%20%20Agnes%20Adam%20Duarte%20Pinheiro.pdf>>. Acesso em: 12 fev. 2023.
21. PINTO, M. P. M.; MUDHOO, A.; ALENCAR NEVES, T. DE; BERNI, M. D.; FORSTER-CARNEIRO, T. Co-digestion of coffee residues and sugarcane vinasse for biohythane generation. *Journal of Environmental Chemical Engineering*, v. 6, n. 1, p. 146–155, 1 fev. 2018a.
22. Co-digestion of coffee residues and sugarcane vinasse for biohythane generation. *Journal of Environmental Chemical Engineering*, v. 6, n. 1, p. 146–155, 1 fev. 2018b.
23. RAI, P. K.; SONNE, C.; SONG, H.; KIM, K. H. Plastic wastes in the time of COVID-19: Their environmental hazards and implications for sustainable energy resilience and circular bio-economies *Science of the Total Environment* Elsevier B.V., , 1 fev. 2023.
24. SILVA, A. F. R.; BRASIL, Y. L.; KOCH, K.; AMARAL, M. C. S. Resource recovery from sugarcane vinasse by anaerobic digestion – A review *Journal of Environmental Management* Academic Press, , 1 out. 2021.
25. SIQUEIRA, J. C.; BRAGA, M. Q.; ÁZARA, M. S.; GARCIA, K. J.; ALENCAR, S. N. M.; RAMOS, T. S.; SINISCALCHI, L. A. B.; ASSEMAN, P. P.; ENSINAS, A. V. Recovery of vinasse with combined microalgae cultivation in a conceptual energy-efficient industrial plant: Analysis of related process considerations *Renewable and Sustainable Energy Reviews* Elsevier Ltd, , 1 mar. 2022.
26. SOLÉ-BUNDÓ, M.; PASSOS, F.; ROMERO-GUÍZA, M. S.; FERRER, I.; ASTALS, S. Co-digestion strategies to enhance microalgae anaerobic digestion: A review *Renewable and Sustainable Energy Reviews* Elsevier Ltd, , 1 set. 2019a.
27. Co-digestion strategies to enhance microalgae anaerobic digestion: A review. *Renewable and Sustainable Energy Reviews* Elsevier Ltd, , 1 set. 2019b.
28. SZACHERSKA, K.; OLESKOWICZ-POPIEL, P.; CIESIELSKI, S.; MOZEJKO-CIESIELSKA, J. Volatile fatty acids as carbon sources for polyhydroxyalkanoates production *Polymers* MDPI AG, , 1 fev. 2021.
29. TALAN, A.; POKHREL, S.; TYAGI, R. D.; DROGUI, P. Biorefinery strategies for microbial bioplastics production: Sustainable pathway towards Circular Bioeconomy *Bioresource Technology Reports* Elsevier Ltd, , 1 fev. 2022.
30. UMA, V. S.; USMANI, Z.; SHARMA, MINAXI; DIWAN, D.; SHARMA, MONIKA; GUO, M.; TUOHY, M. G.; MAKATSORIS, C.; ZHAO, X.; THAKUR, V. K.; GUPTA, V. K. Valorisation of algal biomass to value-added metabolites: emerging trends and opportunities *Phytochemistry Reviews* Springer Science and Business Media B.V., , 2022.
31. WONGARMAT, W.; SITTIJUNDA, S.; MAMIMIN, C.; REUNGSANG, A. Acidogenic phase anaerobic digestion of pretreated sugarcane filter cake for co-digestion with biogas effluent to enhance the methane production. *Fuel*, v. 310, 15 fev. 2022.
32. YUKESH KANNAH, R.; KAVITHA, S.; PARTHIBA KARTHIKEYAN, O.; RENE, E. R.; KUMAR, G.; RAJESH BANU, J. A review on anaerobic digestion of energy and cost effective microalgae pretreatment for biogas production *Bioresource Technology* Elsevier Ltd, , 1 jul. 2021a.
33. _____. A review on anaerobic digestion of energy and cost effective microalgae pretreatment for biogas production *Bioresource Technology* Elsevier Ltd, , 1 jul. 2021b.
34. RENEWABLE FUELS ASSOCIATION. RFA, 2022. World Fuel Ethanol Production by Region. Disponível em: <<https://ethanolrfa.org/markets-and-statistics/annual-ethanol-production>>. Acesso em: 30 mar. 2023.