



UNIVERSIDADE FEDERAL DE ALAGOAS
CENTRO DE TECNOLOGIA – CTEC
ENGENHARIA QUÍMICA



Tertuliano Ferreira Moreno

**SIMULAÇÃO DE PROCESSO BIOTECNOLÓGICO NA OBTENÇÃO
DE ÁCIDO PROPIÔNICO A PARTIR DA GLICERINA**

MACEIÓ

2022

TERTULIANO FERREIRA MORENO

**SIMULAÇÃO DE PROCESSO BIOTECNOLÓGICO NA OBTENÇÃO DE
ÁCIDO PROPIÔNICO A PARTIR DA GLICERINA**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado aos docentes de Engenharia Química como pré-requisito para aquisição do título de Bacharel em Engenharia Química.

Orientadora: Prof^a. Dr^a Dayana de Gusmão Côelho

MACEIÓ

2022

**Catálogo na fonte Universidade Federal
de Alagoas Biblioteca Central
Divisão de Tratamento Técnico**

Bibliotecária: Taciana Sousa dos Santos – CRB-4 – 2062

M843s Moreno, Tertuliano Ferreira.

Simulação de processo biotecnológico na obtenção
de ácido propiônico a partir da glicerina / Tertuliano
Ferreira Moreno. – 2022.
75 f. : il. color.

Orientadora: Dayana de Gusmão Côelho.
Monografia (Trabalho de Conclusão de Curso em
Engenharia Química) – Universidade Federal de
Alagoas. Centro de Tecnologia. Maceió, 2022.

Bibliografia: f. 66-74.
Anexos: f. 75.


1. Ácido propanoico. 2. Processo biotecnológico. 3.
Extração líquido-líquido. I. Título.




TERTULIANO FERREIRA MORENO

***SIMULAÇÃO DE PROCESSO BIOTECNOLÓGICO NA OBTENÇÃO DE ÁCIDO
PROPIÔNICO A PARTIR DA GLICERINA***


BANCA EXAMINADORA

Documento assinado digitalmente
 DAYANA DE GUSMAO COELHO
Data: 23/01/2023 11:26:52-0300
Verifique em <https://verificador.iti.br>

Profs. Dra. Dayana de Gusmão Coêlho

Documento assinado digitalmente
 LIVIA MARIA DE OLIVEIRA RIBEIRO
Data: 24/01/2023 21:23:43-0300
Verifique em <https://verificador.iti.br>

Prof. Dra. Lívia Maria de Oliveira Ribeiro

Documento assinado digitalmente
 JORGE JOSE DE BRITO SILVA
Data: 25/01/2023 14:43:29-0300
Verifique em <https://verificador.iti.br>

Prof. Dr. Jorge José de Brito Silva

AGRADECIMENTOS

A Deus pela existência e por todas as oportunidades que colocou em minha vida que foram fundamentais para o meu crescimento pessoal e profissional.

Aos meus pais, Cinthya Felipe Ferreira e Tertuliano Sobral Moreno por todo apoio, amor, cuidado e ensinamento que tiveram comigo durante toda a minha jornada até aqui, sendo a minha inspiração e maior orgulho.

Aos meus irmãos e minha vó, Tassy Ferreira Moreno, Camyla Ferreira Moreno e Maria da Conceição Felipe da Costa por todo apoio, companheirismo e amparo nos momentos difíceis de toda vida, pois nestes tempos há a construção de pessoas melhores.

A minha parceira, Thailys Campos Magalhães que teve papel fundamental durante toda a minha graduação, me apoiando, sendo paciente e me ajudando de todas as formas possíveis para que eu conseguisse atingir todos os meus objetivos.

Aos presentes que a graduação me deu, Erick Carvalho, Leon Carvalho, Iury Rafael, Gabrielly Karla e Geovane Domingos pelos cinco anos que compartilhamos tantas mudanças, dificuldades, tempos difíceis, matérias complicadas, porém estavam sempre em prontidão a ajudar todos.

A minha orientadora, Dayana de Gusmão Coelho, a qual pode me acompanhar do 1º ao último dia na universidade e me guiou de forma excelente todos estes dias, o agradecimento por ser mais que uma professora, uma ótima amiga sempre mostrando verdadeira preocupação com o futuro dos seus alunos e tendo se tornado uma amiga que me incentiva e ajuda a conquistar objetivos maiores.

RESUMO

A utilização de ácidos carboxílicos em todo o mundo tende a aumentar ao passar dos anos, dada a crescente demanda destas matérias primas em diversas áreas industriais. O grande desafio é produzir o ácido a partir de fontes renováveis de forma que este processo seja competitivo com a produção a partir de derivados do petróleo, que é o processo que prevalece atualmente, já que as fontes não renováveis têm ficado cada vez mais escassas. A produção do ácido por rotas renováveis ocorre através da fermentação propanoica com limitação de baixo rendimento e baixa pureza do produto, exigindo mais investimento nas etapas de purificação. A fim de mudar esse cenário pode ser avaliado a produção em meio anaeróbio e aeróbico e extração após a fermentação, realizando uma análise paramétrica, visando obter maior rendimento e maior pureza, tornando este processo viável. Logo, o objetivo deste trabalho simular e otimizar o processo fermentativo para produção e extração de ácido propanoico em meio aeróbico e anaeróbio através da identificação das melhores condições operacionais do processo por meio de planejamento experimental, visando maximizar o rendimento do processo de produção e pureza do ácido propanoico. Para tanto, foram selecionados trabalhos da literatura a serem simulados na condição de aero e anaerobiose, além de reações extrativas utilizando extractante e solventes, foi feita a simulação do processo de produção e de extração utilizando os softwares Aspen Hysys e Plus versão 8.8, após foram otimizados os parâmetros de cada processo, a partir da análise paramétrica utilizando o software. Os modelos obtidos para a produção do ácido apresentaram valores de acordo com os dados experimentais da literatura. Quanto aos fatores que afetam a eficiência de extração estes foram as 3 variáveis selecionadas, mostrando a importância destas, quanto aos valores ótimos para a temperatura, concentração de substrato e de biomassa, estes foram 29,27 °C, 1,07 g.L⁻¹ e 57,97 g.L⁻¹ respectivamente para o processo com oxigênio, já em anaerobiose foram 32,93 °C 0,75 g.L⁻¹ e 55,30 g.L⁻¹. Quanto a etapa de extração os modelos conseguiram prever os dados experimentais de forma muito precisa tendo como valores ótimos para a razão de solvente e número de estágio sendo 2,01 g.L⁻¹ e 10 estágios para o processo aeróbico e 2,02 g.L⁻¹ e 10 estágios para o anaeróbio. Sendo assim, os resultados sugerem que as simulações da produção e extração performaram de forma melhor que esperado, devido a adaptação dos modelos a diferentes variações de processo e acurácia do modelo a valores experimentais encontrados na literatura.

Palavras-chave: Ácido Propanoico. Simulação. Extração Líquido-Líquido.

ABSTRACT

The use of carboxylic acids worldwide tends to increase over the years, given the growing demand for these raw materials in various industrial areas. The big challenge is to produce the acid from renewable sources in a way that this process is competitive with production from petroleum derivatives, which is the process that currently prevails, since non-renewable sources have become increasingly scarce. The production of the acid by renewable routes occurs through propane fermentation with limitation of low yield and low purity of the product, requiring more investment in purification steps. In order to change this scenario, the production in anaerobic and aerobic mediums and extraction after fermentation can be evaluated, performing a parametric analysis, aiming to obtain higher yield and purity, making this process viable. Therefore, the objective of this work is to simulate and optimize the fermentative process for the production and extraction of propanoic acid in aerobic and anaerobic environments by identifying the best operating conditions of the process through experimental planning, aiming to maximize the yield of the production process and purity of propanoic acid. To this end, papers were selected from the literature to be simulated in the condition of aero and anaerobiosis, in addition to extractive reactions using extractant and solvents, the simulation of the production and extraction process was performed using the software Aspen Hysys and Plus version 8.8, after which the parameters of each process were optimized from parametric analysis using the software. The models obtained for the acid production presented values in agreement with the experimental data in the literature. As for the factors that affect the extraction efficiency these were the 3 selected variables, showing their importance, as for the optimal values for temperature, substrate and biomass concentration, these were 29.27 °C, 1.07 g.L⁻¹ and 57.97 g.L⁻¹ respectively for the process with oxygen, while in anaerobiosis they were 32.93 °C 0.75 g.L⁻¹ and 55.30 g.L⁻¹. As for the extraction step, the models were able to predict the experimental data very accurately with optimal values for the solvent ratio and number of stages being 2.01 g.L⁻¹ and 10 stages for the aerobic process and 2.02 g.L⁻¹ and 10 stages for the anaerobic process. Thus, the results suggest that the simulations of production and extraction performed better than expected, due to the adaptation of the models to different process variations and model accuracy to experimental values found in the literature.

Keywords: Propionic Acid. Simulation. Liquid-liquid equilibrium.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Fórmula estrutural do Ácido Propanoico.....	13
Figura 2 – Rotas metabólicas de fermentação do glicerol.....	18
Figura 3 - Critérios na escolha de solvente	24
Figura 4 - Mecanismo da extração reativa	29
Figura 6 - Modelo de 2º ordem experimental	33
Figura 6 - Fluxograma de metodologia utilizada	38
Figura 7 - Adição dos componentes no simulador	40
Figura 8 - Simulação em meio anaeróbio.....	42
Figura 9 - Simulação em meio aeróbico.....	42
Figura 10 - Simulação da recuperação de ácido propanoico.....	45
Figura 11 - Valores da fração de produto por substrato	49
Figura 12 - Gráfico de Pareto da simulação anaeróbia.....	54
Figura 13 - Gráfico de Pareto da simulação aeróbica.....	55
Figura 14 - Gráfico de Pareto da simulação anaeróbia.....	55
Figura 15 - Plano do processo anaeróbio	56
Figura 16 - Superfície de resposta do processo anaeróbio	56
Figura 17 - Plano do processo aeróbico	56
Figura 18 - Gráfico de Pareto da extração anaeróbia	60
Figura 19 - Gráfico de Pareto da simulação aeróbica.....	60
Figura 20 - Superfície de resposta da extração anaeróbia	61
Figura 21 - Plano da extração anaeróbia	61
Figura 22 - Superfície para a extração aeróbica	62
Figura 23 - Plano da extração aeróbica	61

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Propriedades físico-químicas do ácido propanoico	13
Tabela 2 – Resultados da fermentação do glicerol em anaerobiose	19
Tabela 3 - Componentes usados no ELL do ácido propanoico	25
Tabela 4 - Dados da bactéria.....	35
Tabela 5 - Tabela de níveis da produção de ácido propanoico	40
Tabela 6 - Tabela de níveis da extração ácido propanoico	40
Tabela 7 - Níveis das combinações dos parâmetros na produção de ácido propanoico	43
Tabela 8 - Níveis das combinações dos parâmetros na extração de ácido propanoico	46
Tabela 9 - Matriz experimental da produção de ácido propanoico.....	47
Tabela 10 - Dados da corrente de alimentação da extração.....	49
Tabela 11 - Matriz experimental da recuperação do ácido propanoico	50
Tabela 12 - Tabela ANOVA para a produção anaeróbia.....	52
Tabela 13 - Tabela ANOVA para a produção aeróbia.....	50
Tabela 14 - Tabela ANOVA para a extração anaeróbia	59
Tabela 15 - Tabela ANOVA para a extração anaeróbia	59

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	9
2. OBJETIVOS	11
2.1. Objetivo Geral	11
2.2. Objetivos Específicos	11
3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	12
3.1. Ácido Propanoico	12
3.2. Produção do Ácido Propanoico por rotas petroquímicas	14
3.3. Produção do Ácido Propanoico a partir de fontes renováveis	15
3.4. Separação em processos biotecnológicos	20
3.4.1. Operações Mecânicas	21
3.4.2. Operações Químicas	23
3.5. Extração líquido-líquido	23
3.5.1. Extração padrão	27
3.5.2. Extração fracionada	28
3.5.3. Extração dissociativa	28
3.5.4. Extração com oscilação de temperatura e pH	28
3.5.5. Extração reativa	29
3.6. Planejamento experimental	31
3.6.1. Metodologia de superfície de resposta	32
3.7. Utilização do software HYSYS	34
3.7.1. Especificação dos componentes	34
3.7.2. Modelos de reatores no simulador e fluxograma de processo	35
3.8. Simulação da extração	36
3.9. Avaliação dos parâmetros	37
4. METODOLOGIA	38
4.1. Cinética da fermentação	38
4.2. Seleção dos fatores de controle e das variáveis de resposta	39

4.3.	Seleção das matrizes experimentais	39
4.4.	Realização da simulação.....	40
5.	RESULTADOS E DISCUSSÃO	42
5.1.	Simulação da produção e purificação do ácido propanoico.....	42
5.2.	Análise estatística da produção	46
5.3.	Análise estatística da extração	50
5.4.	Otimização da produção	51
5.5.	Otimização da extração	58
6.	CONCLUSÃO.....	64
	REFERÊNCIAS	65
	ANEXO.....	74

1. INTRODUÇÃO

A utilização de ácidos carboxílicos em todo o mundo tende a aumentar ao passar dos anos, dada a crescente demanda destas matérias primas em diversas áreas industriais (ATASOY et al., 2018; HASHEMI; ROOHI, 2019; YANG et al., 2018)

Esta crescente pode ser expressada em termos numéricos, pela demanda dos ácidos acético, butílico e propanoico de 18,500 Kilotons no ano de 2020, segundo. Além deste fato há uma taxa de crescimento anual de 2,7% de 470 Kilotons de ácido propanoico (ATASOY et al., 2018)

Especificamente o ácido propanoico tem um papel muito significativo em sua utilização no ramo industrial visto que, este é um ácido carboxílico essencial que é comercialmente aplicado na conservação de cereais, como agentes antifúngicos, e nas indústrias de plastificantes, herbicidas, tintas, adesivos, e conservantes alimentares (MURALI; SRINIVAS; AHRING, 2017; SUWAL et al., 2018).

Em escala industrial, sua produção é realizada, em sua maioria a partir, de derivados do petróleo, matéria-prima que tem se tornado escassa, sendo fundamental a substituição da mesma (HASHEMI; ROOHI, 2019).

Visando solucionar tal problemática, foram desenvolvidas metodologias de produção do ácido, entre essas pode-se citar a forma que usa efluentes de indústrias alimentícias (Costa-Gutierrez et al., 2021), para a sua produção e a rota microbiológica com utilização das bactérias pertencentes ao gênero *Proponibacterium*, esta fermentação pode ocorrer a partir de diferentes fontes de carbono como glicose, glicerol, lactose e a sacarose (COSTA-GUTIERREZ et al., 2021)

Entretanto, como todo processo, este apresenta algumas desvantagens as quais pode-se citar o baixo rendimento do processo, dado a inibição do produto relatado por Atasoy et al., 2018; Barbirato e Bories, 1997; Costa-Gutierrez et al., 2021, além da inibição há a problemática na separação de tal produto, visto que há vários processos de separação, porém estes apresentam altos custos de aplicação e manutenção, tais como separação por membranas, adsorção e troca iônica (AGHAZADEH; ENGELBERTH, 2016; CEBREIROS; GUIGOU; CABRERA, 2017).

Entre muitos métodos de separação aplicados, a extração líquido-líquido é escolhida como um dos métodos mais eficazes e eficientes, uma vez que se trata de um processo simples, e que requer menos energia e custos em comparação com outras separações, como

por exemplo a adsorção (AGHAZADEH, ENGELBERTH, 2016; CEBREIROS, GUIGOU, CABRERA, 2017)

A partir deste cenário, é preciso desenvolver um mecanismo de produção do ácido propanoico e da sua purificação que possam competir com a produção a partir de derivados do petróleo, ou seja, é necessário otimizar a produção por fermentação propanoica e sua extração.

Dentre as formas que se pode obter esta otimização, tem-se como oportunidade a simulação de processos, em software especializado nesta temática, seguida da avaliação dos seus parâmetros com o planejamento estatístico (COSTA-GUTIERREZ et al., 2021; ŞAHIN; ŞANLI, 2021)

Desta forma, a simulação de processos visa otimizar a produção e extração do ácido sem precisar realizar experimentos em laboratório, evitando custo, ampliando a avaliação do processo e tornando possível a determinação das melhores condições de operação do biorreator, minimizando o consumo energético e obtendo o maior rendimento possível de produção (AL-MALIKI et al., 2022; ZHANG et al., 2022a).

Diante deste ensejo, o objetivo deste trabalho é simular e otimizar a produção do ácido propanoico através de fermentação, assim como a sua remoção pelo método da extração líquido-líquido no simulador Aspen Hysys e Plus, identificando as melhores condições operacionais do processo, através da técnica de planejamento de experimentos.

2. OBJETIVOS

2.1. Objetivo Geral

Simular e otimizar o processo fermentativo para produção e extração de ácido propanoico em meio aeróbico e anaeróbico através da identificação das melhores condições operacionais do processo por meio de planejamento experimental, visando maximizar o rendimento do processo de produção e pureza do ácido propanoico.

2.2. Objetivos Específicos

- Determinar a reação química e dados termodinâmicos e físico-químicos das espécies envolvidas para o processo aeróbico e para o processo anaeróbico.
- Simulação de todo o processo biotecnológico.
- Validação do processo com dados experimentais.
- Utilização da técnica de planejamento para criação das variáveis independentes.
- Otimização das condições operacionais utilizando metodologia de superfície de resposta.

3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

Esta revisão bibliográfica aborda as características do ácido propanoico, sua importância, seu processo produtivo e de purificação do mesmo, a partir de fontes renováveis e não renováveis. Além disso, o processo de simulação e otimização da produção tanto em meio aeróbico quanto em meio anaeróbio.

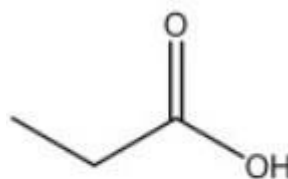
Além destes fatores, esta revisão traz aspectos das formas de purificação do ácido em questão, a partir de várias metodologias presentes na literatura atualmente, sendo estas de forma renovável ou não, enfocando na extração líquido-líquido sendo realizada através da adição de um solvente orgânico.

3.1. Ácido Propanoico

Em 1884 Johann Gottlieb descreveu o ácido propanoico pela primeira vez, uma vez que o encontrou entre os produtos da degradação do açúcar, mas apenas em 1847 o químico Jean Baptiste Dumas o denominou de ácido propanoico, no qual a partir das palavras gregas *pro* que significa primeiro e *pion* que significar graxo (gordura), e exibiu as propriedades semelhantes aos outros ácidos graxos (ALTERTHUM et al., 2020; BARBIRATO; BORIES, 1997).

Este ácido consiste em um ácido carboxílico saturado de corrente aberta, sua fórmula estrutural segue na Figura 1, que em seu estado puro é um líquido incolor, corrosivo e possui odor desagradável. Ele apresenta propriedades físicas que o destacam de outros ácidos, como a sua propriedade anti-inflamatória e inibitória de processos oxidantes (AL-LAHHAM et al., 2010; NUNES et al., 2019).

Ainda, este apresenta em sua composição, estruturas intermediárias entre os ácidos carboxílicos de cadeias menores e os de cadeias maiores e é miscível em água, podendo ser separado da mesma através da adição de sal. As propriedades físico-químicas do ácido propanoico seguem na Tabela 1.

Figura 1 - Fórmula estrutural do Ácido Propanoico.**Propionic acid**

Fonte: Sprakel e Schuur, 2019.

Tabela 1 - Propriedades físico-químicas do ácido propanoico.

Propriedades físicas e químicas	
Nome pela IUPAC	Ácido propanoico
Sinônimos	Ácido propanoico e ácido etanocarboxílico
Fórmula moléculas	C ₃ H ₆ O ₂
Pesos molecular	74,079 g/mol
Registro CAS	79-09-4
Aparência	Líquido incolor
Solubilidade em água, Pa à 20°C	Miscível
Viscosidade	10mPa.s
Densidade relativa (água = 1)	0,992 g/cm ³
Acidez (pKa)	4,88
Ka (constante ácida de dissociação)	1,34 x 10 ⁻⁵
Ponto de fusão	-21°C
Ponto de ebulição	141°C
Ponto de inflamação	54°C
Temperatura de auto-ignição	485°C

Fonte: Fiorucci, 2002.

O ácido propanoico tem diversas utilizações no meio industrial, os quais pode-se destacar que ele pode ser utilizado em diferentes processos como: agente conservante alimentício, pois o crescimento de fungos filamentosos pode ser impossibilitado por ele; também como ingrediente em termoplásticos, perfumes, aromas, solventes e drogas farmacêuticas, como as usadas no tratamento da doença que impacta os ossos humanos, conhecida como artrite reumatoide (HASHEMI; ROOHI, 2019; NGOME, 2013; PAIK; GLATZ, 1994; TELES, 2016).

Ainda, pode ser usado como aditivo e conservante na produção de rações de animais; como intermediário químico na síntese de fibras de celulose, herbicidas e produtos farmacêuticos e pode ser usado para lavar e sanificar carcaças de animais após o abate, tendo efeito antimicrobiano devido à diminuição do pH para valores abaixo do crescimento dos microrganismos e à inibição metabólica pelas moléculas de ácido não dissociado (COELHO, 2014; NGOME, 2013; ZHANG e YANG, 2009)

3.2. Produção do Ácido Propanoico por rotas petroquímicas

Em escala industrial o ácido propanoico (AP) tem sido produzido majoritariamente por rotas petroquímicas. Em 2009, a produção anual do ácido atingiu 770 milhões de libras em todo o mundo, com uma taxa de crescimento anual de 2,5% (COSTA-GUTIERREZ et al., 2021).

No ensejo da indústria, o ácido propanoico vem sendo muito utilizado ao passar dos tempos, a produção deste ácido se dá em sua grande maioria pela forma petrolífera visto que no ano de 2018 apresentou cerca de 92% de todo ácido produzido no mundo, de acordo com as investigações de (COSTA-GUTIERREZ et al., 2021; SILVA, 2019; TIWIKRAMA; ALTWAY, 2022)

Esta forma de produção se destaca visto a sua vantagem analítica, pois os seus meios de obtenção atingem altos rendimentos e ótimos valores de purificação, após a sua produção o que a torna uma rota muito rentável, onde essas concepções foram relatadas nos trabalhos de Guan et al., 2015; Li et al., 2013; Tsoskounoglou, Ayerides, Tritopoulou, 2008.

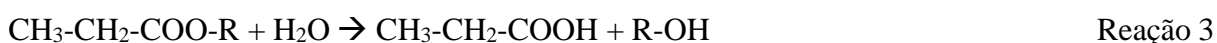
Li et al., 2013a; Ranaei et al., 2020 destacam que como desvantagem principal desta rota, tem-se a produção de gases maléficos para o meio ambiente e para a fauna em geral, este fato pode acontecer nas suas principais formas de produção: a carbonilação do etileno e a oxidação do propanol.

Em termos numéricos a utilização do ácido é bem expressiva, visto que a procura mundial de AP foi de 38 e 400 quilotoneladas em 2007 e 2013, respectivamente e ainda se prevê que atinja 470 em 2020 (1,53 mil milhões de dólares) e 510 em 2023 (ATASOY et al., 2018; EŞ et al., 2017).

Quanto a sua produção por etapas petrolíferas, esta se dá pelas vias de oxo-síntese, a qual faz uso do monóxido de carbono e eteno, que após esta etapa segue para a oxidação em

fase líquida do aldeído ou através da oxidação de propano ou propionitrila, a depender do interesse da planta industrial (ATASOY et al., 2018).

Ainda vale ressaltar que os sais de bases fracas atuam como catalisadores dos processos oxidativos, usando de temperaturas baixas para a realização de tal processo, que variam de 40 a 50°C (SILVA, 2019). As Reações 1, 2 e 3 representam a oxidação do propanal, oxidação do propanol e hidrólise de ésteres propanoicos, respectivamente (SILVA, 2019).



Tais reações são utilizadas na produção do AP, sendo cada uma de forma diferente, além dito que pode ser visto nas Reações 1, 2 e 3, vale lembrar que Li et al., 2013b alerta em seu trabalho, que tais formas apresentam subprodutos que podem ser muito prejudiciais se entrarem em contato, de forma desgovernada, na fauna e flora perto de refinarias.

3.3. Produção do Ácido Propanoico a partir de fontes renováveis

Para ALTERTHUM et al., 2020, fermentação é o termo utilizado para designar o processo que ocorre quando um microrganismo degrada e se reproduz a partir de uma fonte de nutrientes orgânicos, tendo como enfoque a obtenção de energia produzindo diversos bioprodutos, sendo estes desejáveis ou não.

Estes, variam de acordo com o microrganismo, substrato e das condições de processo utilizados (ALTERTHUM et al., 2020, 2021). A fermentação pode ser alcoólica, láctica, acética, cítrica ou propanoica, por exemplo, variando de acordo com o produto utilizada na reação e para cada tipo tem-se diferentes rotas fermentativas (ALTERTHUM et al., 2019, 2020; COELHO, 2014)

A fermentação propanoica ocorre através da obtenção de energia pelas bactérias propanoicas, tendo como principais produtos os ácidos propanoico, acético e succínio. Ela pode ser conduzida a partir da utilização de diferentes substratos, que são extraídos de biomassa.

Os estudos sobre as bactérias capazes de produzir o ácido são muitos, porém segundo Ali et al., 2021; Selder et al., 2020 existem gêneros que com as suas condições otimizadas, fazem com que o custo de produção seja concorrente ao da forma petrolífera, estes são: as do

gênero *Propionibacterium*, *Clostridium* e algumas dos gêneros *Bacteriodes*, *Fusobacterium*, *Megasphaera*, *Selenomonas*, *Bacillus* e *Veillonella* (ALI et al., 2021; RANAIEI et al., 2020; SILVA, 2019)

Entretanto, as do gênero *Propionibacterium* têm a habilidade de produzir naturalmente o ácido por via do ácido dicarboxílico e, por isto, é um dos principais gêneros estudados atualmente (GONZALEZ-GARCIA et al., 2017; SILVA, 2019). (RANAIEI et al., 2020) afirma que *Propionibacterium freudenreichii* e *Propionibacterium acidipropionici* são as mais utilizadas pelas altas taxas de rendimento e adaptabilidade a condições de processos diversas.

Estas bactérias tem como características de ser Gram positivas, mesofílicas, aero tolerantes, não possuem uma forma bastão, não formam esporos e são imóveis (GONZALEZ-GARCIA et al., 2017; SUWAL et al., 2018)

Na fermentação propanoica utilizando bactérias do gênero *Propionibacterium*, há diversos fatores que podem influenciar, porém como foi especificado nos trabalhos de Feng et al., 2010; Nelson et al., 2017; Paik e Glatz, 1994 alguns fatores podem influenciar de forma mais significativa do que outros, estes são: espécie do microrganismo, pH, temperatura, substrato e sua concentração, inóculo e quantidade, tempo da fermentação e tipo de fonte de nitrogênio (FENG et al., 2010, 2011; NELSON et al., 2017; SUWANNAKHAM e YANG, 2005)

Como relatado nos trabalhos de Alterthum et al., 2020, 2021, da termodinâmica a temperatura tem relação diretamente com a velocidade de reação, devido a sua relação com algumas variáveis termodinâmicas que são dependentes desta variável, e na razão entre ácido propanoico e subprodutos.

A temperatura é bastante discutida no meio acadêmico, no que tange a ótima temperatura de fermentação para a o gênero *Propionibacterium*, pois de acordo com Wang, Jiao, Liu, 2014; Liu et al., 2012; em literatura mais antiga, a variação de era de 14 a 40°C, levando em consideração o rendimento de reação.

No que tange a estudos mais aprofundados com diferentes fontes de carbono, a variação abaixou para 30 a 40°C de temperatura ótima (AHMADI et al., 2015; FARHADI et al., 2013).

Sendo mais específico, a temperatura ótima de tal processo foi entre 30 a 35° C nos trabalhos de (AHMADI et al., 2015; COELHO, 2011; FARHADI et al., 2013). Sendo assim, este último intervalo mais especificamente será usado no presente trabalho.

No tangente a fonte de carbono, os principais substratos utilizados na fermentação propanoica utilizando bactéria do gênero *Propionibacterium* são: glicose, ácido láctico,

glicerol, farinha de milho hidrolisada, melão de cana e hidrolisado hemicelulósico de farinha de trigo (ATASOY et al., 2018; COELHO, 2011; CORAL et al., 2008; FENG et al., 2010; KAGLIWAL et al., 2013; LOPES; RAMOS; SILVA, 2017).

O glicerol, subproduto do biodiesel, que surgiu segundo o estudo de Mathew et al., 2021 como alternativa renovável para os combustíveis fósseis tem, como todo processo, uma problemática, a qual reside no fato de gerar glicerina na sua produção, que corresponde a cerca de 10% em massa de toda a produção.

Neste ensejo, tal geração do produto pode gerar um grande problema ambiental, uma vez que este não é degradado muito bem em condições normais (GYURANOVÁ et al., 2022; MATHEW et al., 2021).

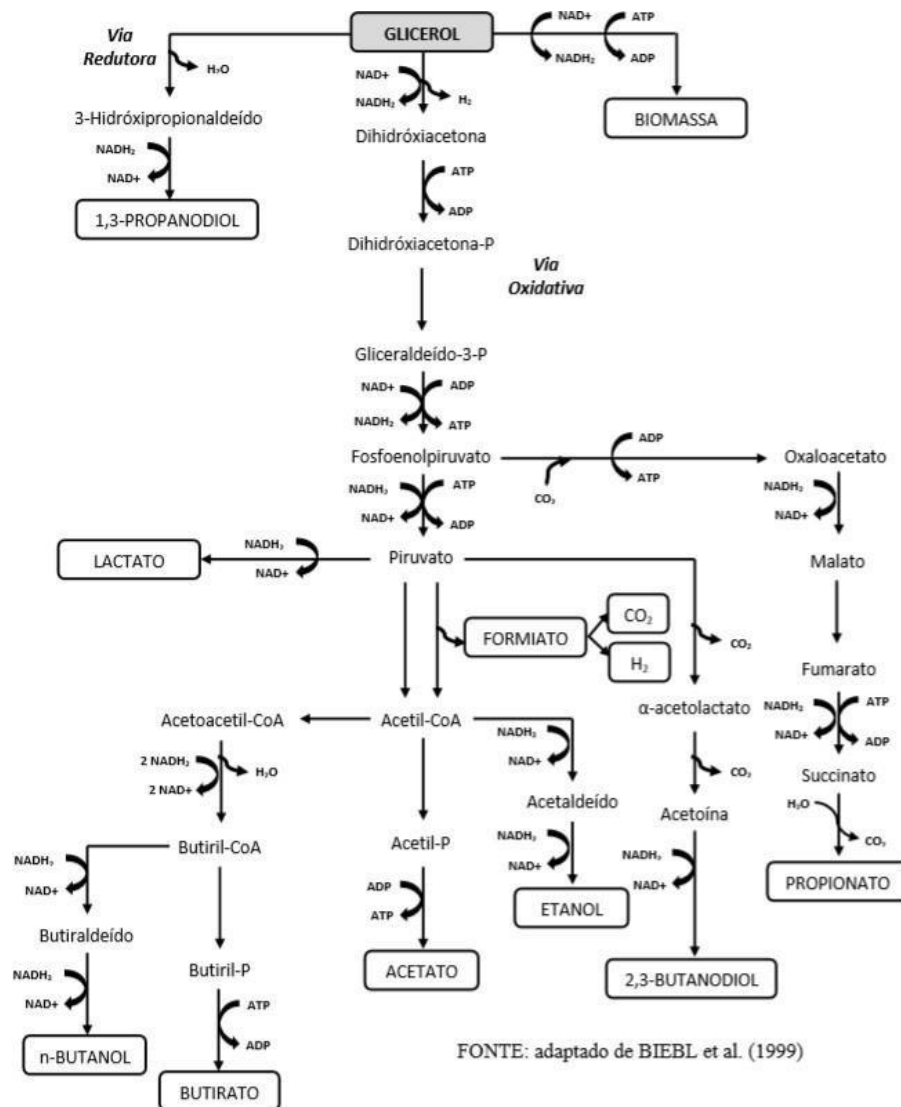
Aliado a este fato, o grande desafio é encontrar alternativas que forneçam uma solução rápida e eficaz para que consiga evitar o descarte ou venda do glicerol bruto. Assim, no ensejo de aplicações do glicerol, de acordo com os trabalhos de Costa-Gutierrez et al., 2021; Zhang e Yang, 2009, há basicamente duas formas de utilização deste produto, sendo a primeira caracterizada pela conversão química ou bioquímica da glicerina para produtos de valor agregado, os quais pode-se citar os ácidos propanoico e succínico.

A outra alternativa para tal processo, esta se baseia em um cenário de transição a curto prazo, que utiliza a alimentação animal, co-digestão e co-gaseificação e tratamento de resíduos, que possui uma aplicação prática, sem qualquer outro tratamento de glicerol como o elemento chave (RANAIEI et al., 2020; SINELI et al., 2021).

Assim, tendo o cenário atual, e ao analisar este composto como potencial utilização pelas bactérias do gênero *Propionibacterium*, tem-se que utilizando glicerol como substrato são obtidos maior concentração e produtividade do ácido propanoico, comparado com glicose e lactato, segundo Costa-Gutierrez et al., 2021.

Além desse fato, há o maior rendimento, comparado com melão e lactato (CAVERO-OLGUIN et al., 2021; COSTA-GUTIERREZ et al., 2021; EŞ et al., 2017). Diante desta situação, este trabalho utilizou glicerol como substrato. As rotas metabólicas de fermentação do glicerol seguem na Figura 2.

Figura 2 – Rotas metabólicas de fermentação do glicerol.



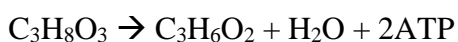
Fonte: Paranhos, 2016.

Ao analisar o processo de produção exposto na Figura 2, pode-se observar que é obtido, ácido acético, butanol e entre outros subprodutos além do requerido. A proporção de tais componentes, de acordo com estudos de Hashemi e Roohi, 2019; Silva, 2019 é em sua maioria de ácido propanoico, ácido acético e da biomassa em si, que devem ser separados para se obter maior rendimento e pureza do produto final.

No quesito cinético, diversas reações ocorrem na formação de produtos a partir de microrganismos, podendo estas variar de 2 a mais de 40 reações usualmente (ALTERTHUM et al., 2020, 2021). Logo, para a produção do ácido propílico a partir do glicerol, a esta pode ser empessada uma reação geral, representada pela Reação 4, com rendimento teórico de 0,80

$\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$, esta pode ser menor devido a uma fração da fonte de carbono usada para aumento da biomassa (LU et al., 2020; TELES, 2016).

Ao o que foi exposto no trabalho anteriormente, há diversas maneiras de realizar a fermentação de determinado substrato, na Tabela 2 este fato pode ser evidenciado, ao mostrar os resultados da produção do ácido propanoico a partir do glicerol em meio anaeróbio, segundo diversos autores.



Reação 4

Tabela 2 - Resultados da fermentação do glicerol em anaerobiose (continua)

Substrato (g/L)	Microrganismo	molAP/molG	Y _{p/s} (g/g)	Ácido Propanoico (g/L)	Referência
50	<i>P. acidipropionici</i>	0,62	0,80	42	Cavero-Olguin et al., 2021
42	<i>P. acidipropionici</i>	0,64	0,46	19,5	Coblentz e Bertram, 2012
42	<i>P. acidipropionici</i>	0,64	0,46	19,5	Dishisha, Alvarez, Hatti-kaul, 2012
63,6	<i>P. acidipropionici</i>	0,64	0,41	26,3	Dishisha, Alvarez, Hatti-kaul, 2012
20	<i>P. acidipropionici</i>	0,84	0,685	13,75	Kósmider et al., 2010
40	<i>P. acidipropionici</i>	0,56	0,43	17,21	Kósmider et al., 2010
20	<i>P. acidipropionici</i>	0,79	0,78	15,72	Zhu et al., 2010
40	<i>P. acidipropionici</i>	0,65	*	19,7	Zhang e Yang, 2009
20	<i>P. acidipropionici</i>	*	0,72	6,77	Coral et al., 2008
20	<i>P. acidipropionici</i>	0,53	0,79	*	Himmi et al., 2000
20	<i>P. acidipropionici</i>	*		13,6	Barbirato e Bories, 1997

Tabela 3 - Resultados da fermentação do glicerol em anaerobiose (conclusão)

Substrato (g/L)	Microrganismo	molAP/molG	Yp/s (g/g)	Ácido Propanoico (g/L)	Referência
80	<i>P. acidipropionici</i>	0,76		6	Barbirato e Bories, 1997

Fonte: Autor, 2022.

A produção dos ácidos carboxílicos pode variar de acordo com o que está sendo proposto em cada trabalho, visto que por exemplo alguns estudos podem almejar otimizar mais de uma variável, enquanto outros buscam testar uma nova cepa de microrganismo adaptado (ALTERTHUM et al., 2021).

Vale ressaltar que nos estudos de (Cavero-Olguin et al., 2021; Doran, 2013) objetivou-se que através de várias adaptações da cepa *Propionibacterium acidipropionici* DSMZ4900 esta oferecesse uma boa adaptação ao aumento da concentração de substrato, logo o trabalho obteve um rendimento de produto por nutriente de aproximadamente 0,80 g/g para concentrações entre 50 a 70 g/L.

Outro ponto a ser levado em consideração, é que a *Propionibacterium acidipropionici* é do tipo anaeróbio aero tolerante, a qual segundo Ahmadi et al., 2015; Alterthum et al., 2020; Teles, 2016 se trata de uma bactéria que respira anaeróbiamente, mas que pode sobreviver na presença de oxigênio.

Sendo assim, segundo Ranaei et al., 2020 o estudo da aerobiose deste microrganismo é novo para a literatura visto essa sua característica, sendo assim o trabalho em questão traz como diferencial a utilização desta variação de processo, com as instruções dos trabalhos anaeróbios.

3.4. Separação em processos biotecnológicos

Separação é a técnica que visa particionar um ou mais componentes de uma mistura (KING. J. C., 2013; WANKAT, 2011). Em processos biotecnológicos, em comparação com os fluxos de alimentação para os processos de recuperação no processamento químico convencional, é um sistema muito mais diluído e resulta da combinação de insolúveis, o

fluido nutriente, os metabólitos solúveis, e da biomassa gelatinosa (HENCZKA; DJAS, 2016; KING. J. C., 2013)

A separação é necessária nos processos biotecnológicos devido à grande quantidade de subprodutos que são encontrados no caldo fermentando e devido ao fato dele ser muito instável, uma vez que quando o caldo deixa o ambiente controlado e asséptico do fermentador, o crescimento de biomassa a partir de uma cultura será repentinamente privado de oxigênio e quando isto acontecer, o meio irá experimentar uma rápida queda concentração de nutrientes, sendo exposto, portanto, a uma drástica mudança de condições, que pode levar a uma alteração radical de concentração (ALTERTHUM et al., 2020, 2021; KERTES e KING, 1986).

Na literatura, existem diversos métodos que podem ser efetivos para a separação em meios fermentados, estes podem ser divididos em metodologias mecânicas ou químicas, devido a sua forma de atuação (HENCZKA; DJAS, 2016).

Os processos físicos podem ser descritos em filtração, centrifugação, cristalização, evaporação, secagem, osmose reversa e a ultrafiltração; já os químicos, podem ser citados a adsorção, troca iônica, coluna cromatográfica, cromatografia por afinidade, extração com solventes e a eletrodialise (ALTERTHUM et al., 2019; TIWIKRAMA e ALTWAY, 2022). Vale ressaltar que, todos os processos apresentados são utilizados atualmente na separação do ácido propanoico (HENCZKA; DJAS, 2016).

3.4.1. Operações Mecânicas

A filtração normalmente é a primeira etapa após a fermentação, visto que este processo irá separa a biomassa dos detritos contidos no caldo fermentado e qualquer precipitado a partir do fluido de caldo que estiverem possivelmente presentes (NOBLE, 2004; WARD, 1991). Vale ressaltar que alguns autores consideram esta etapa como essencial para diversos tipos de produção (ALTERTHUM et al., 2021).

Para o processo de centrifugação, este ocorre de acordo com as células em suspensão em meio líquido, as quais sedimentam pela ação da gravidade, porém no ramo dos bioprocessos, de acordo com o que foi tratado nos trabalhos de Bustamante et al., 2004; Ward, 1991 a partícula sólida em questão, se tratar do microrganismo, o que torna então esta forma de remoção muito lenta se comparada com outras.

No entanto, a centrifugação possui vantagens, quando comparada com aos demais processos em determinados pontos, os quais pode-se citar que esta forma de separação permite efetuar separações que seriam impossíveis em condições gravitacionais, tem a capacidade de alcançar uma sedimentação mais rápida, é possível obter suspensões de células mais concentradas em relação a original (KING, 2013; NOBLE, 2004).

Se comparada com a filtração, a centrifugação não se mostra tão amplamente utilizada para a recuperação celular, uma vez que este processo visa acrescer a concentração dos sólidos em suspensão no caldo fermentativo, por sedimentação (ALTERTHUM et al., 2019; WARD, 1991).

A evaporação é uma operação unitária que tem como finalidade concentrar o fluxo da alimentação pela remoção do solvente através de vaporização do solvente (ALTERTHUM et al., 2021; KING. J. C., 2013). Os fluidos fermentativos normalmente possuem em sua composição grandes quantidades de água, o que pode colocar em risco a qualidade do produto, podendo ser destruídas ou danificadas, ao serem expostas a altas temperaturas durante um tempo prolongado (BUSTAMANTE et al., 2004).

O método de supersaturação de soluções, que precede a cristalização, é normalmente realizado através da remoção de solvente ou baixando a temperatura da solução. A condução e vigor para a formação e crescimento dos cristais está relacionada como grau de supersaturação. Dados de equilíbrio de fase são essenciais na determinação do método mais eficiente de criar a supersaturação da solução e do grau ótimo de supersaturação (BUSTAMANTE et al., 2004)

Outro processo a ser levado em consideração é a secagem, que tem como objetivo principal remover a umidade ou solvente das partículas sólidas, enquanto a evaporação é a remoção de umidade ou solvente de uma solução (LARSON; NARLIKAR, 2018a)

Este tipo de separação nos processos biotecnológicos geralmente, é a última etapa da recuperação de uma célula de fermentação da biomassa ou outros produtos. A secagem é uma parte difícil do processo de recuperação uma vez que temperaturas elevadas podem causar inativação de calor de materiais (KING. J. C., 2013; LARSON; NARLIKAR, 2018b).

Microfiltração, ultrafiltração e osmose reversa são processos de membrana de separação, em que se baseiam em diferenças na capacidade do fluido descender através de

uma barreira fina que separa dois fluidos (KING, 2013; WANKAT, 2011). Vale ressaltar que segundo Antunes, 2018, tais processos de separação estão sendo mais utilizados nos últimos anos devido a sua versatilidade e custo.

3.4.2. Operações Químicas

Adsorção, troca iônica, cromatografia de coluna, e cromatografia de afinidade podem ser agrupados como a técnica de recuperação na qual, o composto removido, ou soluto, estabelece um equilíbrio entre os sítios do material sólido e da solução (WANKAT, 2011)

Na adsorção, as espécies removidas são ligadas ao material em fase sólida pela polaridade ou ligações químicas fracas, segundo (KING. J. C., 2013; NOBLE, 2004), já a troca iônica recupera o material pela troca de íons entre as fases líquida e sólida (KING. J. C., 2013).

Por sua vez, na cromatografia em coluna pode ser usada a troca, adsorção de íons ou peneira molecular para separar os solutos que são os primeiros ao sair em uma coluna de separação do material e, em seguida eluída de tal maneira que os solutos individuais são coletados em frações separadas (NOBLE, 2004; WANKAT, 2011).

Para a cromatografia de afinidade, as espécies removidas estão vinculadas com um alto nível de seletividade dos ligantes covalentemente ligado a uma matriz sólida (Kumar e Babu, 2006), que tem um papel importante neste processo (KING. J. C., 2013; WANKAT, 2011).

Eletroforese e eletrodialise é a técnica que separam moléculas carregadas ou íons usando um campo elétrico. Eletroforese separa componentes com pequenas diferenças na mobilidade iônica em um campo elétrico usando um fluido transportador em movimento (DECHOW, 1989; LARSON; NARLIKAR, 2018).

3.5.Extração líquido-líquido

A extração líquido-líquido, ou em sigla no inglês LLE, segundo Antony, Pal, Wasewar, 2021 é uma operação de transferência de massa comum para separar os constituintes do líquido (a alimentação) por contato com outra fase líquida (o solvente) resultando na produção de um fluxo rico em solventes conhecido como extrato, para além do líquido residual do qual o soluto foi removido o termo usado é o "refinado".

O LLE encontra aplicação em vários processos, incluindo a recuperação de produtos de caldo de fermentação, produtos farmacêuticos processamento de alimentos, tratamento de águas residuais industriais, etc (DATTA e KUMAR, 2015; USLU; ÎNCI, 2007).

Este método utiliza de variações nas propriedades químicas dos constituintes, para os separar, por exemplo, diferenças de polaridade e carácter hidrofóbico/hidrófilo, sendo essas características determinadas experimentalmente (ÖZMEN, 2007; RASRENDRA et al., 2011).

Os compostos que se transferem de uma fase para outra são impulsionados por um desvio do equilíbrio termodinâmico, para além das interações entre a fase de solvente e a componentes de alimentação que determinam a natureza do estado de equilíbrio (KING, 2013).

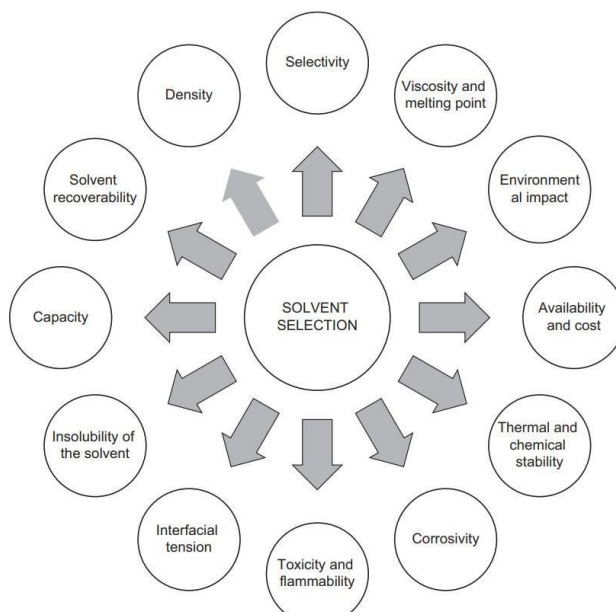
A extração oferece várias vantagens sobre as técnicas de separação direta, como destilação especialmente para materiais sensíveis ao calor, como a penicilina e outros antibióticos. Para as soluções diluídas, a extração é mais econômica, principalmente nos casos que água deve ser vaporizada na destilação (KESHAV, WASEWAR, CHAND, 2008; RASRENDRA et al., 2011).

Vale ressaltar que, vários produtos farmacêuticos como a penicilina são formados em misturas tão complexas que só a LLE se torna uma alternativa viável, devido a sua complexidade e custo mais baixo (DJAS e HENCZKA, 2018).

A técnica de extração oferece flexibilidade na escolha das condições de funcionamento, pela escolha adequada da quantidade e tipo de solvente, a eficácia da separação pode ser significativamente melhorada (BILGIN e BIRMAN, 2010; BLAGA, TUCALIUC, KLOETZER, 2022; LUO et al., 2015; SHAHBAZI e MOHADESI, 2022).

Uma parte primordial para uma separação efetiva por LLE é a seleção de um solvente sendo os requisitos desta escolha exibidos na Figura 3.

Figura 3 – Critérios na escolha de solvente.



Fonte: Antony, Pal, Wasewar 2020.

Entre essas propriedades desejáveis para a separação, pode se citar a seletividade do solvente, diferença de densidade, recuperabilidade, enquanto os outros efeitos levam em consideração a separação em termos de custos (KERTES e KING, 1986; KESHAV; WASEWAR; CHAND, 2009).

De acordo com os trabalhos de Antony, Pal, Wasewar, 2021; Djas e Henczka, 2018 o solvente deve ter uma maior afinidade para o soluto desejado, em outras palavras o mesmo deve ter um alto valor de fator de separação (o qual mede a melhoria comparativa do soluto na fase de extração, relacionada com outro soluto, após a extração), que permite que um número menor de fases seja utilizado.

Além disso, de acordo com Djas e Henczka, 2018 este também deve possuir coeficiente de distribuição (K) alto (o coeficiente de concentração do soluto em relação ao extrato na fase de refinado, uma vez alcançado o equilíbrio), uma vez que o solvente irá ter uma maior proporção de atração e com isto, o processo necessita de menores taxas de solvente na alimentação (ÇEHRELI; ÖZMEN; TATLI, 2005; GHALAMI-CHOOBAR; GHANADZADEH; KOUSARIMEHR, 2011).

Como discutido nos trabalhos propostos por Sprakel e Schuur, 2019; Tamada, Kertes, King, 1990 há várias substâncias que são utilizadas na ELL para ácidos carboxílicos, sendo estes variando da forma de condução de cada processo ou até a otimização de cada processo. Logo, a Tabela 3 traz diversos componentes que são usados para a purificação do ácido propanoico presentes na literatura.

Tabela 3 – Componentes usados no ELL do ácido propanoico (continua)

Componente	Classificação	Referência
Metil isobutil cetona	Solventes físicos e diluentes	Kertes e King, 1986; Sprakel e Schuur, 2019; Tiwikrama e Altway, 2022
Éter metil-terc-butílico, Octano, 1-Octanol	Solventes físicos e diluentes	Kertes e King, 1986; Sprakel e Schuur, 2019
Tolueno	Solventes físicos e diluentes	Saien et al., 2013; Silvamani et al., 2020; Sprakel e Schuur, 2019

Tabela 3 – Componentes usados no ELL do ácido propanoico (continua)

Componente	Classificação	Referência
Ftalato de dietila	Solventes físicos e diluentes	Ghalami-Choobar, Ghanadzadeh; Kousarimehr, 2011
Ácido butanoico	Solventes físicos e diluentes	Antony, Pal, Wasewar, 2021; Blaga, Tucaliuc, Kloetzer, 2022; Sprakel e Schuur, 2019
Acetato de butila e butanol	Solventes físicos e diluentes	Silvamani et al., 2020; Smirnov, Samarov, Toikka, 2021
Cicloexanol	Solventes físicos e diluentes	Ghalami-Choobar, Ghanadzadeh, Kousarimehr, 2011; Ghanadzadeh et al., 2008; Shahbazi e Mohadesi, 2022
Cicloexano, hexano, éter etílico, n-heptano e xileno	Solventes físicos e diluentes	Datta e Kumar, 2015; Silvamani et al., 2020
Aliquat 336	Extratantes	Blaga, Tucaliuc, Kloetzer, 2022; Sprakel e Schuur, 2019; Uslu e Inci, 2007
Trioctilamina (TOA)	Extratantes	Keshav, Wasewar, Chand, 2008; Rasrendra et al., 2011; Sprakel e Schuur, 2019
Ácido hexanóico	Extratantes	López-Garzón e Straathof, 2014; Sprakele e Schuur, 2019

Tabela 3 – Componentes usados no ELL do ácido propanoico (conclusão)

Componente	Classificação	Referência
Óxido de trioctilfosfina (TOPO)	Extratantes	Hano et al., 1990; López-Garzón e Straathof, 2014
Fosfato de tributila (TBP)	Extratantes	Larson e Narlikar, 2018; Sprakel e Schuur, 2019
DDAP	Extratantes	Antony, Pal, Wasewar, 2021; Sprakel e Schuur, 2019
Trihexyl(tetradecyl)phosphoniumbis(2,4,4-trimethylpentyl) phosphinate, trihexyl(tetradecyl)phosphonium dicyanamide, 1-Butyl-3-methyl-imidazolium-hexafluorophosphate	Líquidos iônicos	Blaga, Tucaliuc, Kloetzer, 2022; Sprakel e Schuur, 2019; Tamada, Kertes, King, 1990

Fonte: Autor, 2022.

Ao analisar a Tabela 3, pode-se ter como conclusão da variedade e possibilidades que esta forma de purificação pode trazer aos tipos de processos usados para o ácido propanoico.

Segundo, Antony, Pal, Wasewar, 2021; Silvamani et al., 2020 há diferentes formas de conduzir as formas de extração, sendo estas variando fatores determinantes do processo, como a forma de alimentação, a associação de diferentes solventes ou até a aplicação de um agente complexante, a fim de gerar um complexo do composto a ser separado e o agente.

3.5.1. Extração padrão

A extração convencional ou extração padrão é também denominada extração com um único solvente ou extração simples (LÓPEZ-GARZÓN e STRAATHOF, 2014). De acordo com Antony, Pal, Wasewar, 2021; Djas e Henczka, 2018 é a melhor operação de extração normalmente utilizada, utilizando fluxo de solvente em contracorrente ou corrente cruzada, de um só estágio ou processamento em várias fases, e operação contínua ou em batelada.

O processo compreende a transferência de componentes da alimentação para uma fase diferente, porém este fato pode não ocorrer, se o fator de separação para o soluto preferido no que diz respeito aos solutos indesejáveis é muito mais elevado (DECHOW, 1989; WANKAT, 2011). Usualmente, segundo DJAS e HENCZKA, 2018 este método normalmente não consegue alcançar uma pureza satisfatória do soluto, sendo esta uma problemática deste processo se separado com outras aplicações.

3.5.2. Extração fracionada

Este método combina a recuperação de soluto com a rejeição do soluto secundário, ou co-soluto. Para este processo de extração fracionada são utilizados dois solventes, um solvente de extração, bem como um solvente de lavagem que é usado a fim de recuperar o produto-soluto (ANTONY; PAL; WASEWAR, 2021).

Além disso, no final do processo de refinação, há uma coluna de separação para o descarte ou recuperação de co-soluto e purificação do produto (DJAS E HENCZKA, 2018a; NOBLE, 2004). Ainda, no final do extrator, há uma zona inferior que nela ocorre uma lavagem, obtendo assim uma elevada recuperação e pureza do soluto. Quanto a utilização desta maneira de processo, se comparada com as outras, ela é normalmente utilizada para recuperar constituintes aromáticos de misturas de hidrocarbonetos brutos (LÓPEZ-GARZÓN; STRAATHOF, 2014).

3.5.3. Extração dissociativa

Este processo inclui normalmente a partição de bases fracas ou ácidos orgânicos entre um solvente orgânico e água, este processo é considerado por (DJAS E HENCZKA, 2018) uma boa separação de solventes, ao considerar o ponto positivo de uma variação nos seus valores pKa.

Se a diferença de pKa for adequada, o controlo do pH a um valor preciso pode produzir valores de K mais elevados para uma das frações de soluto e valores mais baixos para a outra, deixando assim uma separação nítida e efetiva (DECHOW, 1989).

3.5.4. Extração com oscilação de temperatura e pH

A oscilação por temperatura se beneficia de uma variação no valor de K utilizando a temperatura, uma vez que segundo Antony, Pal, Wasewar, 2021 os valores de K podem ser

mais sensíveis à temperatura quando as interações, solvente-soluto em uma ou ambas as fases incluem interações muito fortes entre moléculas, como ligações de hidrogénio ou formação de ligações de pares de íons.

A extração de oscilação a partir do pH é baseada no método de extração dissociativa, que tem foco cobrir e purificar solutos orgânicos que são ionizáveis, esta se dá pela extração em movimentos oscilatórios, sendo cada operação de extração feita a um pH alterado (DJAS E HENCZKA, 2018; MURALI, SRINIVAS, AHRING, 2017).

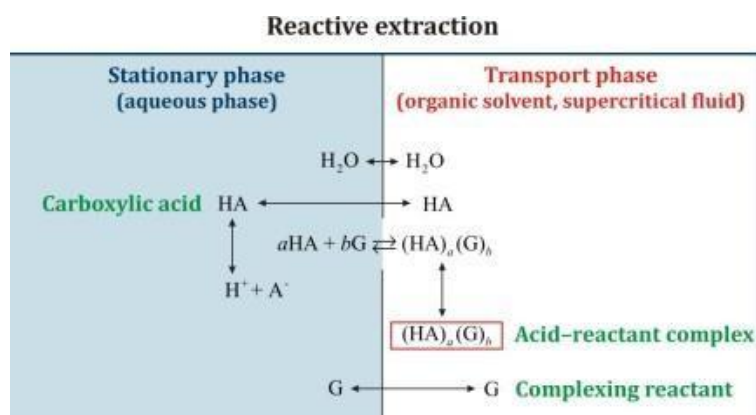
3.5.5. Extração reativa

Esta forma de separação ocorre com a adição de um extractante que pode ser diversos como pode-se observar na Tabela 3. Quando se trata ou não de caldos fermentados, segundo Antony, Pal, Wasewar, 2021 este processo tem diferenças sutis.

O processo de extração reativa do ácido carboxílico de acordo com (AYAN; BAYLAN; ÇEHRELI, 2020; GÖSSI et al., 2020), envolve duas fases imiscíveis: uma fase estacionária (fase aquosa) que inclui o ácido carboxílico e uma fase de transporte (solvente orgânico ou fluido supercrítico) contendo um reagente complexante.

Conforme (AYAN; BAYLAN; ÇEHRELI, 2020; DJAS E HENCZKA, 2018a) o grande diferencial deste processo é a formação de um complexo constituído pelo ácido carboxílico e o reagente complexante $(HA)_a(G)_b$, que é solúvel na fase de transporte, ao contrário do ácido carboxílico, tal mecanismo pode ser observado na Figura 4, a qual relata em detalhes o mecanismo da extração reativa.

Figura 4 – Mecanismo da extração reativa.



Fonte: Djas e Henczka, 2018.

O reagente complexante forma um complexo com um ácido carboxílico tendo a estrutura da forma (a,b), onde a denota o número de moléculas de ácido carboxílico e b representa o número de moléculas do reagente complexante (TAMADA; KERTES; KING, 1990).

Em geral, a extração reativa do ácido carboxílico é realizada utilizando solventes orgânicos (AYAN; BAYLAN; ÇEHRELI, 2020; KESHAV; WASEWAR; CHAND, 2009). Porém, a aplicação de solventes orgânicos no processo de separação tem várias desvantagens, por exemplo toxicidade, poluição ambiental, baixa segurança do processo, difícil regeneração do solvente, e um impacto negativo na atividade de substâncias bioquímicas, por exemplo, proteínas, enzimas.

Além disso, há o ideal da química verde que segundo (ALTERTHUM et al., 2019; BLAGA; TUCALIUC; KLOETZER, 2022) nos últimos anos, buscou a eliminação de solventes orgânicos em processos industriais e a sua substituição por outros componentes, como fluidos supercríticos e aplicação de aminas na extração que traz como solução um impacto muito menor na questão ambiental, do que somente com os solventes orgânicos (ANTONY; PAL; WASEWAR, 2021; BLAGA; TUCALIUC; KLOETZER, 2022).

Sendo assim, dentro deste ensejo, existem dois tipos principais de reagentes complexantes utilizados para a recuperação de ácidos carboxílicos de caldos de fermentação: Aminas alifáticas de alto peso molecular e compostos organofosforados (AYAN; BAYLAN; ÇEHRELI, 2020).

Entre as aminas alifáticas de alto peso molecular, as aminas terciárias são as mais eficazes, amplamente aplicados na separação dos ácidos carboxílicos (DJAS E HENCZKA, 2018a; HENCZKA; DJAS, 2016; KESHAV; WASEWAR; CHAND, 2009).

Em particular, as aminas terciárias alifáticas de cadeia longa com mais de seis átomos de carbono na cadeia (por exemplo, tri-noctilamina e tri-n-butilamina) são particularmente favoráveis na separação dos ácidos carboxílicos (HANO et al., 1990; KESHAV; WASEWAR; CHAND, 2008b).

Diversos são os estudos que utilizam aminas com associação de solventes para a obtenção da extração do ácido propanoico com água, ou seja, o sistema água-ácido propanoico-amina, porém há de se destacar os estudos de Keshav, Wasewar, Chand, 2008a,

2008b, 2009; Wang et al., 2009 que utilizaram de associação de aminas TOA, TBP e Aliquat 336 com 1-Octanol, 1-Decanol e 2-Octanol de solvente para obter rendimentos de 94 a 98% na extração.

Sendo assim, a simulação da extração será baseada na forma de extração similar aos estudos de Keshav, Wasewar, Chand, 2008a, 2009, mais especificamente com a utilização da tri-n-octilamina associado ao 1-octanol para a extração.

3.6.Planejamento experimental

O planejamento experimental se baseia em um teste ou uma série de testes nos quais induzem mudanças deliberadas ou estímulos nas variáveis de entrada do processo ou sistema, de tal forma que seja possível observar e identificar os efeitos nas respostas ou nas variáveis de saída(GOMES; PEREIRA; LEÃO, 2020). Seu uso tem como objetivo melhorar as características de qualidade dos produtos ou processos de fabricação, reduzir o número de testes e otimizar o uso de recursos da empresa (PEREIRA e PEREIRA-FILHO, 2018).

Como objetivos secundários do planejamento experimental, tem-se a identificação das variáveis do processo que mais influem nos parâmetros de resposta de interesse, atribuir valores às variáveis influentes do processo de modo que a variabilidade da resposta de interesse seja mínima ou que o valor do resultado seja próximo do valor nominal e atribuir valores às variáveis influentes do processo de modo que o efeito das variáveis não controláveis seja reduzido (GALDÁMEZ, 2002; GOMES, PEREIRA, LEÃO, 2020).

Tendo como foco o planejamento, segundo (MYERS; MONTGOMERY; ANDERSON-COOK, 2009) os pontos da matriz experimental são muito importantes para caracterizar esta e analisar como a variável resposta se comporta.

Sendo estes pontos descritos da forma: Os pontos fatoriais são aqueles que utilizam os pontos -1 e +1, pontos axiais ou estelares os extremos aqueles que utilizam os valores extremos geralmente designados como α e por último os pontos centrais que fazem utilização dos centros ou 0.

O planejamento experimental divide-se em:

- 1- Definição dos objetivos do experimento;
- 2- Parâmetros do experimento;
- 3- Seleção dos fatores de controle e das variáveis de resposta;

- 4- Seleção da matriz experimental;
- 5- Realização do experimento;
- 6- Análise de dados;
- 7- Interpretação dos resultados

A fim de realizar a tarefa do processamento de dados, existem várias formas que podem ser usadas, entre estas pode-se citar softwares, como Microsoft Excel, Matlab e Statistica. Sendo para este último o foco do presente trabalho, devido a sua acuracidade nos cálculos e presença da metodologia usada no presente trabalho.

O Statistica é um software desenvolvido pelo grupo Statsoft que tem algumas funcionalidades os quais se destacam de outros, segundo (HILBE, 2007) este software fornece aos seus utilizadores as noções básicas de análise descritiva, bem como o métodos mais elementares tais como testes T, ANOVAs, OLS, além de possuir características de análise gráfica, mineração de dados, qualidade e processo sigma seis estatísticas de controlo, concepção de experiências, análise multivariada, e métodos não paramétricos, tais como redes neurais que são essenciais para a otimização de processos.

3.6.1. Metodologia de superfície de resposta

Uma das técnicas do planeamento experimental é a da metodologia de superfície de resposta, também conhecida como DCCR, que é um conjunto de técnicas de planeamento e análise de experimentos usadas na modelagem matemática de respostas (CAVALCANTE et al., 2022; GALDÁMEZ, 2002).

Grande parte da motivação de utilizar o DCCR se baseia a partir da sua utilização em experimentos sequenciais. Esta envolve a utilização de um fatorial de dois níveis combinado com o 2k de pontos axiais e/ou estelares.

Essa técnica é escolhida quando se deseja determinar quais são as condições dos fatores que determinam o melhor valor para a resposta “y”, quando há a necessidade de se conhecer as características da função resposta, que se aproxima das condições reais de operação dos sistemas e interesse em identificar o relacionamento que existe entre os parâmetros e as respostas (CAVALCANTE et al., 2022).

Vale salientar que esta forma de utilização do planeamento experimental se mostra mais eficiente segundo (MYERS; MONTGOMERY; ANDERSON-COOK, 2009; RODRIGUES E LEMMA, 2014) devido ao utilizar o modelo quadrático, ou também

conhecido como modelo de 2° ordem como pode ser visto na Figura 5, que atenta ao modelo de 2° ordem e suas variáveis geradas, a fim de sugerir os possíveis pontos ótimos dos experimentos, neste caso do trabalho nos ensaios da simulação.

Figura 5 – Modelo de 2° ordem experimental.

$$Y = \beta_0 + \beta_1 x_1 + \beta_2 x_2 + \beta_3 x_3 + \beta_{11} x_1^2 + \beta_{22} x_2^2 + \beta_{33} x_3^2 + \beta_{12} x_1 x_2 + \beta_{13} x_1 x_3 + \beta_{23} x_2 x_3$$

Onde:

Y = resposta (variável dependente)

x_1, x_2, x_3 = níveis codificados das variáveis explanatórias

β_0 = média

β 's = coeficientes estimados pelo método dos mínimos quadrados

Fonte: (RODRIGUES E LEMMA, 2014)

Embora o foco deste planejamento seja derivado da experimentação sequencial, o DCCR é um conceito muito eficiente em situações que exigem uma experiência de superfície de resposta não sequencial em batelada.

De acordo com (RODRIGUES E LEMMA, 2014), os três componentes desta metodologia desempenham papéis importantes, como podem ser vistos a seguir:

- 1- A fracção do fatorial contribui substancialmente para a estimativa das interações de dois fatores. Os pontos fatoriais são os únicos pontos que contribuem para a estimativa dos termos de interação.;
- 2- Os pontos axiais contribuem de forma significativa para a estimativa de termos quadráticos. Sem os pontos axiais, apenas a soma dos termos quadráticos pode ser estimada;
- 3- Os experimentos centrais fornecem uma estimativa interna de erro (erro puro) e contribuem para a estimativa de termos quadráticos. Seleção da matriz experimental;

Vale lembrar que as áreas de máximo na utilização do DCCR dependem da seleção do número axial α , e n_c , o número de ensaios com os pontos centrais. A escolha destes dois parâmetros pode ser um determinante no processo, visto que estas regiões podem não indicar valores máximos e sim mínimos.

De acordo com (GALDÁMEZ, 2002; RODRIGUES E LEMMA, 2014) a seleção destes valores tem o valor de N, que é o número de ensaios a serem realizados no planejamento a

qual segue a distribuição do somatório de $2K$, 2^k e nc , onde k é o número de fatores de controle ou variáveis. Vale lembrar que o número de experimentos centrais para simulações é feito com 1 devido a não variabilidade deste tipo de processo, diferenciando-o do experimental.

É de suma importância o entendimento da estatística da metodologia de superfície de resposta, que devido esta analisar a variação e tendências centrais dos resultados, a otimização de processos neste âmbito implica a afirmar que as variáveis são otimizadas

Vale informar que no trabalho foram discutidos neste trabalho conceito estatísticos como teste de hipóteses e análises de variâncias a fim de validar os dados de forma estatística e precisa, assim para mais informações sobre os determinados assuntos ver os trabalhos de (MYERS; MONTGOMERY; ANDERSON-COOK, 2009; RODRIGUES E LEMMA, 2014).

3.7.Utilização do software HYSYS

O Aspen HYSYS é um simulador em estado estacionário e dinâmico amplamente utilizado na indústria de processo (SINGH et al., 2022). Além disso, o uso de simuladores proporciona um conhecimento mais amplo acerca do processo, possui menor custo quanto comparado com as análises experimentais, além de ter uma resposta mais rápida.

3.7.1. Especificação dos componentes

O Aspen HYSYS possui um extenso banco de dados para especificação dos componentes e suas propriedades termodinâmicas (FATEMA et al., 2022; LIU et al., 2022). As espécies presentes nos fluxos de alimentação e possíveis produtos foram definidos no formulário de especificação dos componentes.

O pacote termodinâmico utilizado foi o Peng–Robinson Stryjek–Vera (PRSV) que é uma modificação do modelo de Peng-Robinson e lida com sistemas não ideais, além de prever com mais precisão o comportamento das fases dos sistemas de hidrocarbonetos, segundo (LIU et al., 2022).

A bactéria será inserida no simulador como um sólido, uma das razões de escolher o software, e as propriedades serão estimadas com base na literatura e o banco de dados do simulador.

3.7.2. Modelos de reatores no simulador e fluxograma de processo

O Aspen HYSYS possui uma biblioteca de modelos de reatores que são caracterizados como: Reatores de equilíbrio, reatores de Gibbs (considera equilíbrio químico e de fases simultâneos e possui temperatura baseada em abordagem ao equilíbrio) e reatores de conversão. Para modelar o biorreator foi utilizado o reator de conversão, devido a sua aplicação das equações de conversão as quais podem ser utilizadas as reações da fermentação com suas respectivas conversões.

O fluxograma de processo foi construído baseado na literatura, utilizando a janela *Flowsheet* e a biblioteca de modelos (equipada com equipamentos de processo, modificadores e conectores) do ASPEN. Para tanto, foi usado o simulador ASPEN HYSYS V. 8.8.

3.7.3. Adição da bactéria como um sólido

A biomassa é representada pela fórmula $CH_{\alpha}O_{\beta}N_{\mu}$, onde a composição depende das condições de cultura e substrato utilizado (ALTERTHUM et al., 2021). porém a fórmula $CH_{1,8}O_{0,5}N_{0,2}$ é usada como fórmula geral quando não se sabe a composição exata do microrganismo em questão. Sobre o peso molecular, ele é baseado no teor de C, H, O e N, portanto, 24,6, o qual foi encontrado no trabalho de (DORAN, 2013).

Além da sua fórmula e peso molecular, para adicionar um sólido no Aspen HYSYS é preciso informar densidade, diâmetro, comprimento e área/volume, informações que foram obtidas a partir das proposições de Wooley; Putsche, 1996; Zhang e Yang, 2009 e seguem na Tabela 4. Além disto é preciso informar as entalpias de formação e de combustão do sólido.

Tabela 4 - Dados da bactéria.

Peso Molecular (g.mol^{-1})	24,63
Densidade (kg.m^{-3})	1500
Diâmetro (mm)	0,55
Comprimento (mm)	15
Área/volume ($\text{m}^2.\text{m}^{-3}$)	2098,13

Fonte: Autor, 2022.

A entalpia de formação foi obtida através da Equação 1, em que foi preciso calcular a mesma para a produção em meio aeróbico e em meio anaeróbico. Já a entalpia de combustão foi obtida pela Equação 2, em que q é o calor por mol envolvido na combustão, γ é o grau de redução em relação ao nitrogênio e x_c é o número de átomos de carbono na fórmula molecular (DORAN, 1995).

$$\Delta H_{\text{formação}} = H_{\text{produtos}} - H_{\text{reagentes}} \quad \text{Equação 1}$$

$$\Delta H_c = q \cdot \gamma \cdot x_c \quad \text{Equação 2}$$

3.8. Simulação da extração

O software ASPEN PLUS se trata de um software de simulação de processos, que possui mais funcionalidades do que o HYSYS, como por exemplo a possibilidade de cálculos com estudo de casos, custos de produção e manutenção de plantas de processo e entre outras funcionalidades, que trazem destaque para tal simulador. Aliado a este fato, vários estudos mostraram que este se comporta muito bem em extrações líquido-líquido de utilizando solventes, como os estudos de (USMAN et al., 2021; ZHANG et al., 2022b).

3.8.1. Especificações da extração

O Aspen Plus contém vários bancos de dados de componentes que são classificados em classes, entre estes pode-se citar os bancos de hidrocarbonetos, etilenos, polímeros, sólidos e compostos inorgânicos. Além disto este possui as aminas mais complexas que foram utilizadas para o trabalho.

Sobre o pacote termodinâmico, há diversas possibilidades para a extração líquido-líquido, os quais pode-se citar os coeficientes de atividade UNIFAC, UNIQUAC e NRTL (FOULADVAND, ASADI, LOTFOLLAHI, 2021).

De acordo com os estudos de (ALKHALDI, AL-JIMAZ, ALTUWAIM, 2019; FOULADVAND, ASADI, LOTFOLLAHI, 2021) o modelo Non-Randon Two Liquid (NRTL) é um modelo de coeficiente de atividade que correlaciona os coeficientes de atividade γ_i de um composto com as suas frações moles χ_i na fase líquida em questão.

O conceito de NRTL baseia-se na hipótese de Wilson de que a concentração local em torno de uma molécula é diferente da concentração a granel. Esta diferença deve-se a uma diferença entre a energia de interação da molécula central com as moléculas da sua própria

espécie U_{ii} e a energia de interação com as moléculas da outra espécie U_{ij} (ALKHALDI, AL-JIMAZ, ALTUWAIM, 2019). Sendo assim, a escolha de tal modelo se deve ao fato deste apresentar melhor ajuste aos LLE em geral, segundo Alkhalidi, Al-Jimaz, Altuwaim, 2019; Fouladvand, Asadi, Lotfollahi, 2021; Guo et al., 2021.

3.9. Avaliação dos parâmetros

A produção do ácido propanoico a partir de fontes renováveis ainda tem aplicação industrial limitada causada pela produtividade e rendimento baixos (ALI et al., 2021). Diante disto, é de fundamental importância escolher as condições de processo de maneira a aumentar a produtividade e rendimento.

Os parâmetros avaliados foram concentração do substrato, concentração da biomassa e temperatura do processo visto que segundo Barbirato e Bories, 1997; Suwannakham e Yang, 2005), estes 3 fatores podem influenciar se o processo é ou não viável e efetivo.

Já na separação, as variáveis utilizadas foram fração da concentração de substrato e extractante e número de pratos do extrator, estes 3 foram escolhidos, ao analisar as revisões de (ANTONY; PAL; WASEWAR, 2021; DJAS E HENCZKA, 2018) e entender a necessidade de tais condições de processo para a purificação.

Vale ressaltar que, de acordo com (ALTERTHUM et al., 2019, 2020; NOBLE, 2004) diversas são as variáveis de processos biotecnológicos que podem influenciar na efetividade da fermentação e da extração, porém estas foram escolhidas devido a sua importância.

4. METODOLOGIA

Este trabalho foi realizado de acordo com o que é descrito na literatura sobre a produção e extração do ácido propanoico por via microbiológica, sendo estes resultados para condições com e sem oxigênio na fermentação, foi realizada a otimização das condições de processo com o planejamento experimental.

Assim, primeiramente foi feita a simulação do processo de produção e de extração, após foram otimizados os parâmetros de cada processo, a partir da análise paramétrica. O resumo da metodologia desenvolvida neste trabalho segue na Figura 6.

Figura 6 – Fluxograma de metodologia utilizada.



Fonte: Autor, 2022.

4.1. Cinética da fermentação

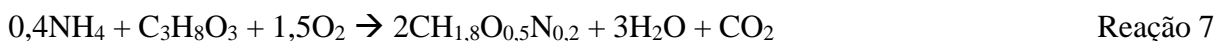
Através do estudo da literatura foi desenvolvida a equação geral do processo de produção do ácido propanoico.

As reações de produção da biomassa e produção do ácido propanoico foram feitas com base na rota de fermentação mostrada na Figura 2 e baseadas nos trabalhos de (BARBIRATO; BORIES, 1997; SUWANNAKHAM; YANG, 2005).

Para a produção em meio anaeróbico temos as Reações 5 e 6 e para aeróbico as Reações 5 e 7.



Reação 5



4.2. Seleção dos fatores de controle e das variáveis de resposta

Os fatores de controle e as variáveis de resposta são fundamentais para a análise paramétrica. A partir deles é possível determinar o melhor cenário de produção do ácido.

Neste trabalho, quanto a produção os fatores de controle foram a concentração da biomassa e a concentração do substrato, tendo como variáveis de resposta o rendimento da produção do ácido em mol de ácido/ mol de glicerol, o $Y_{p/s}$ que é obtido pela Equação 3, onde P representa a quantidade de produto e S do substrato em kg, e a concentração do ácido propanoico obtido.

$$Y_{p/s} = \frac{P - P_0}{S_0 - S} \quad \text{Equação 3}$$

Para a extração, são várias variáveis que podem determinar se o processo é eficiente ou até se os solventes são compatíveis com o processo (LÓPEZ-GARZÓN; STRAATHOF, 2014). Porém o parâmetro utilizado no presente trabalho é a eficiência da extração em porcentagem, dado pela Equação 4. Já para os fatores de controle utilizados estes foram 2, sendo eles a concentração de substrato e concentração de extractante.

$$E(\%) = \left(1 - \frac{C}{C_a}\right) * 100 \quad \text{Equação 4}$$

Na Equação 4, E é a variável dependente, conhecida no meio literária como eficiência, C para a concentração final do ácido em fase líquida ao ser separado, C_a a concentração inicial do ácido em fase líquida. Ou seja, uma extração de 100%, significa que todo ácido na fase aquosa foi removido, somente há a presença do mesmo no refinado.

4.3. Seleção das matrizes experimentais

As matrizes experimentais foram realizadas de acordo com os fatores de controle, propostos no trabalho, assim como as variáveis de respostas, estas seguem nas Tabelas 5 e 6.

Tabela 5 – Tabela de níveis da produção de ácido propanoico.

Níveis	Concentração Biomassa (g.L ⁻¹) 1)	Temperatura (°C)	Concentração Substrato (g.L ⁻¹)
-1,68	0,30	27,95	29,77
-1	0,5	30	40
0	0,75	33	55
+1	1	36	70
+1,68	1,17	38,05	80,23

Fonte: Autor, 2022.

Tabela 6 - Tabela de níveis da extração ácido propanoico.

Níveis	Concentração da razão (g.L ⁻¹)	Número de pratos
-1,41	0,5	3
-1	1	5
0	2	10
1	3	15
1,41	3,4	17

Fonte: Autor, 2022.

Ao analisar a Tabela 6, pode-se observar que há a recuperação como variável objetivo, porém no trabalho esta é usada como variável para analisar a qualidade da recuperação de substrato, e não a efetividade da separação em si.

4.4. Realização da simulação

No que tange a produção do ácido propanoico pela fermentação, a simulação foi feita no software Aspen Hysys versão 8.8. Na etapa de propriedades foram adicionados os componentes, incluindo o sólido com as características previamente determinadas.

Antes da execução da simulação, foram feitas simulações base para a experimentação dos resultados. Destas simulações base, foram retiradas a aeróbica e anaeróbia, tendo como

diferença a adição de oxigênio e gás carbônico para o primeiro caso, a reação de formação da biomassa e, conseqüentemente, a entalpia de formação, associada a adição de tais componentes ao processo.

Os cálculos termodinâmicos foram feitos de acordo com propriedades obtidas no trabalho de (DORAN, 1995), sendo as tabelas e figuras utilizadas, encontradas na seção anexo do trabalho.

Para o cálculo da entalpia de combustão, foi utilizada a Equação 2 com auxílio da “Table B.2” e da Figura 5.5 do trabalho de (DORAN, 1995), a fim de obter os parâmetros γ e q , respectivamente.

Para x_c , o calculado foi feito utilizando o peso molecular indicado pela “Table 5.1”, também em anexo, do mesmo autor, que leva em consideração a porcentagem de crescimento da biomassa após o consumo do substrato. A entalpia de combustão obtida foi $-6,01 \cdot 10^5$ KJ. Kmol^{-1} .

Já para a obtenção das entalpias de formação foi utilizada a Equação 1, obtendo que para o meio anaeróbico se tem a Equação 4 e para anaeróbico Equação 5, tendo como resultado $-4,93 \cdot 10^4$ KJ. Kmol^{-1} e $-5,70 \cdot 10^5$ KJ. Kmol^{-1} , respectivamente.

Em seguida, foi selecionado o pacote termodinâmico, o qual foi inserido o pacote termodinâmico e adicionadas as reações que iriam ocorrer em cada processo, podendo a partir disto seguir para a etapa de simulação.

$$\Delta H_{\text{formação}} = 2,012H_{\text{H}_2\text{O}} - (H_{\text{NH}_4} + H_{\text{Glicerol}}) \quad \text{Equação 4}$$

$$\Delta H_{\text{formação}} = (3H_{\text{H}_2\text{O}} + H_{\text{CO}_2}) - (0,4H_{\text{NH}_4} + H_{\text{Glicerol}}) \quad \text{Equação 5}$$

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Esta seção foi dividida em quatro etapas, as quais têm como foco explicar sobre os resultados e interpretação dos resultados obtidos no trabalho, sendo estas seções: Simulação da produção e purificação do ácido propanoico, análise de dados dos resultados da produção, análise de dados dos resultados da extração, otimização da produção e otimização da extração.

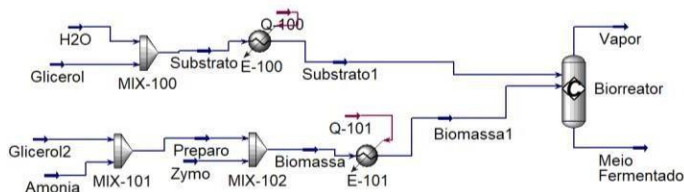
5.1. Simulação da produção e purificação do ácido propanoico

Na janela da simulação foram adicionados misturadores, trocadores de calor e o reator de conversão, representando o biorreator. O MIX-100 prepara a solução de glicerol de acordo com a concentração desejada do mesmo, enquanto que o MIX-101 prepara o meio para o crescimento da bactéria, adicionada em seguida e misturada com o meio de crescimento no MIX-102.

Os trocadores de calor, E-100 e E-101, são para aquecer o meio até 30°C, até a temperatura desejada, deixando as entradas em temperatura ideal para serem adicionadas no biorreator.

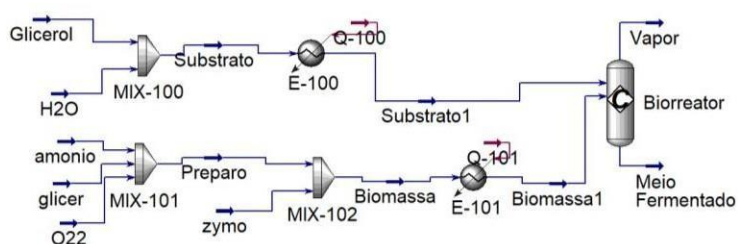
No topo do reator tem a saída de vapor e no fundo a saída do produto desejado. A diferença entre a simulação do meio anaeróbico e do aeróbico é a adição da corrente de oxigênio no segundo, como mostra Figura 8 e 9.

Figura 8 - Simulação em meio anaeróbico.



Fonte: Autor:2022.

Figura 9 - Simulação em meio aeróbico.



Fonte: Autor, 2022.

Com a simulação concluída foi realizada a análise paramétrica através da alteração da vazão molar das entradas. Os fatores de controle foram escolhidos com base em resultados experimentais para que fosse possível realizar a validação dos resultados. Com isto, a matriz experimental foi preenchida de acordo com a Tabela 7.

Tabela 7 – Níveis das combinações dos parâmetros na produção de ácido propanoico.

Ensaio	Temperatura (°C)	Concentração de Biomassa (g.L ⁻¹)	Concentração Substrato (g.L ⁻¹)
1	30,00 (-1)	0,50 (-1)	40 (-1)
2	36,00 (1)	0,50 (-1)	40 (-1)
3	30,00 (-1)	1,00 (1)	40 (-1)
4	36,00 (1)	1,00 (1)	40 (-1)
5	30,00 (-1)	0,50 (-1)	70 (1)
6	36,00 (1)	0,50 (-1)	70 (1)
7	30,00 (-1)	1,00 (1)	70 (1)
8	36,00 (1)	1,00 (1)	70 (1)
9	27,95 (-1,68)	0,75 (0)	55 (0)
10	38,05 (1,68)	0,75 (0)	55 (0)
11	33,00 (0)	0,33 (-1,68)	55 (0)
12	33,00 (0)	1,17 (1,68)	55 (0)
13	33,00 (0)	0,75 (0)	29,77 (-1,68)
14	33,00 (0)	0,75 (0)	80,23 (1,68)
15	33,00 (0)	0,75 (0)	55 (0)

Fonte: Autor, 2022.

Como os fatores de controle selecionados estão em concentração (g.L⁻¹) foram realizadas conversões através da densidade e massa molecular dos componentes. Estes

cálculos foram realizados com o auxílio do software Excel nas seguintes etapas: coleta de resultados de vazão molar das entradas e saída do biorreator, conversão para g através da massa molecular e obtenção do volume através da densidade, resultando na concentração desejada.

Sobre a purificação do ácido de acordo com a separação líquido-líquido, foi realizada no software Aspen Plus versão 8.8. Sendo assim, a primeira etapa da simulação é caracterizada pela adição das propriedades, nela foram escolhidos os componentes presentes nesta etapa do processo. Vale ressaltar que pelo software em questão possuir diversos banco de dados de componentes gerais, não foi necessária a adição de nenhum componente para a extração.

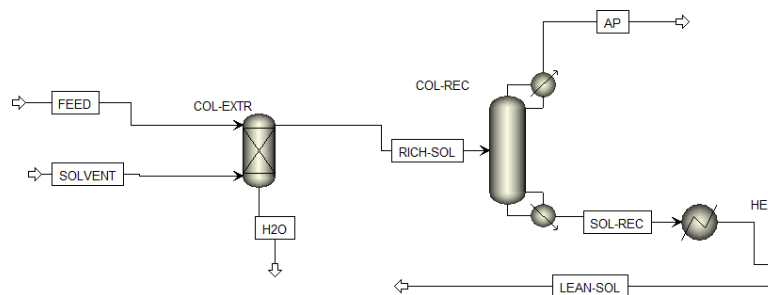
Antes da execução da simulação da extração, foi realizada a simulação da produção, para que assim fosse usado o produto da produção na extração. A simulação da purificação teve como enfoque a extração do ácido propanoico da água, logo esta foi feita com o equilíbrio água-ácido propionico-solvente+extractante.

Uma vez que não foi necessário adicionar nenhum composto a simulação e refazer cálculos adicionais, após a adição dos componentes usados, é escolhido o pacote termodinâmico, que para este caso foi o NRTL.

Nesta etapa, a adição de componentes é feita, sendo primeiramente as correntes FEED e SOLVENT a qual esta primeira é responsável por possuir o ácido e água em concentração de componentes, temperatura, vazão de processo obtidos da fermentação, já a SOLVENT tem em sua composição o solvente e extractante em razões expostas na Tabela 6 e condição deste é de 25°C e 1 Atm, de acordo com os trabalhos de (KESHAV; WASEWAR; CHAND, 2008a, 2009).

Após isto é adicionado o COL-EXTR, o qual pode ser observado na Figura 10, que traz o esquema geral da simulação da separação, este se trata de um extrator líquido-líquido contracorrente que pode ser operado com diversos solventes. Nele é adicionado o número de estágios, o qual é uma variável dependente do planejamento fatorial, e selecionada a 1° e 2° fase líquida, especificando o que se deseja separar.

Figura 10 - Simulação da recuperação de ácido propanoico.



Fonte: Autor, 2022.

Para a 1^o fase é escolhido a água e já na 2^o o extrator, sendo o extrator a tri-n-octilamina associada ao 1-octanol. Após esta etapa é selecionada as duas saídas do processo de extração, que são RICH-SOL e H₂O, sendo para a primeira a corrente rica em soluto e ácido propanoico e a segunda a corrente rica em água, que sai do processo.

Segundo a Figura 10, a próxima etapa é a inserção da corrente de topo de saída do extrator no recuperador de solvente determinado por COL-REC, esta coluna em questão se trata de um extrator fraccionado de 2 ou 3 fases a depender do tipo de processo. Sendo assim, neste é escolhido o tipo de equilíbrio em questão e a forma que é feita a determinada extração e a configuração do reboiler e condensador, sendo este vapor parcial e equilíbrio líquido-líquido.

Logo, há duas correntes de saída, sendo a de topo com o ácido propanoico com alta concentração, denominada na simulação de AP, e a outra corrente é a de fundo que possui grande parte do solvente+extractante, denominada de SOL-REC.

Após isto há o HE, que é um trocador de calor, o qual resfria corrente de fundo de SOL-REC, visto que esta saí da coluna em altas temperaturas. Por sua vez a corrente LEAN-SOL, é o agente extrator com temperatura mais baixa pronto para ser reutilizado no processo.

Sendo assim, após a simulação ter sido realizada, variações da concentração da razão de solvente:extractante e do número de equilíbrio foram feitas no extrator. Sendo esses fatores de controle escolhidos com base em resultados experimentais para que fosse possível realizar a validação dos resultados. Com isto, a matriz experimental foi preenchida de acordo com a Tabela 8, conforme o planejamento composto central rotacional.

Tabela 8 – Níveis das combinações dos parâmetros na extração de ácido propanoico.

Ensaio	Concentração da razão (g.L ⁻¹)	Número de pratos
1	1 (-1)	5(-1)
2	1 (-1)	15 (1)
3	3 (1)	5 (-1)
4	3 (1)	15 (1)
5	0,58 (-1,41)	1 (0)
6	3,41 (1,41)	10 (0)
7	2 (0)	2,92 (-1,41)
8	2 (0)	17,07 (1,41)
9	2 (0)	10 (0)

Fonte: Autor, 2022.

Ao analisar a Tabela 8, pode-se observar que a concentração se trata na unidade de medida (g.L⁻¹), sendo assim foi necessário que fossem realizadas conversões através da densidade e massa molecular dos componentes, a fim de conseguir. Sendo assim, estes e outros cálculos foram realizados com o auxílio do *software Excel*.

5.2. Análise estatística da produção

Com a variação dos fatores de controle foram realizadas as análises da matriz experimental, para as isotermas avaliando as concentrações de substrato, produto e biomassa e temperatura, fazendo uso de uma análise comparativa com os dados da literatura.

Logo, através da simulação e da análise paramétrica foi possível obter resultados passíveis a interpretações com o objetivo de determinar a condição ótima de operação na produção do ácido propanoico, tais resultados estão obtidos na Tabela 9.

Tabela 9- Matriz experimental da produção de ácido propanoico.

Ensaio	Fatores de Controle			Variáveis de resposta			
	Concentração Biomassa (g.L ⁻¹)	Temperatura (°C)	Concentração Substrato (g.L ⁻¹)	molAP/molGlicerol		Yp/s	
				Aeróbico	Anaeróbico	Aeróbico	Anaeróbico
1	0,5	30	40	0,640	0,703	0,799	0,794
2	0,5	30	70	0,647	0,645	0,650	0,795
3	1	30	40	0,621	0,767	0,660	0,796
4	1	30	70	0,623	0,645	0,799	0,804
5	0,5	36	40	0,647	0,648	0,799	0,795
6	0,5	36	70	0,647	0,644	0,799	0,794
7	1	36	40	0,647	0,643	0,799	0,792
8	1	27,95	70	0,647	0,646	0,660	0,796
9	0,75	38,05	55	0,622	0,646	0,799	0,796
10	0,75	33	55	0,647	0,644	0,799	0,793
11	0,33	33	55	0,647	0,647	0,799	0,794
12	1,17	33	55	0,647	0,647	0,799	0,794
13	0,75	33	29,77	0,647	0,643	0,799	0,792
14	0,75	33	80,23	0,621	0,645	0,640	0,794
15	0,75	33	55	0,640	0,703	0,799	0,884

Fonte: Autor, 2022.

Ao analisar a Tabela 9, pode-se interpretar que ao comparar os valores ao que foi obtido experimentalmente nos trabalhos apresentados na Tabela 2, há de se observar a similaridade das simulações com os trabalhos da literatura. Vale ressaltar que, os valores de rendimento, alcançaram valores próximos a 0,8 que se trata do valor de rendimento teórica da reação da produção do ácido, exibida na Equação 3.

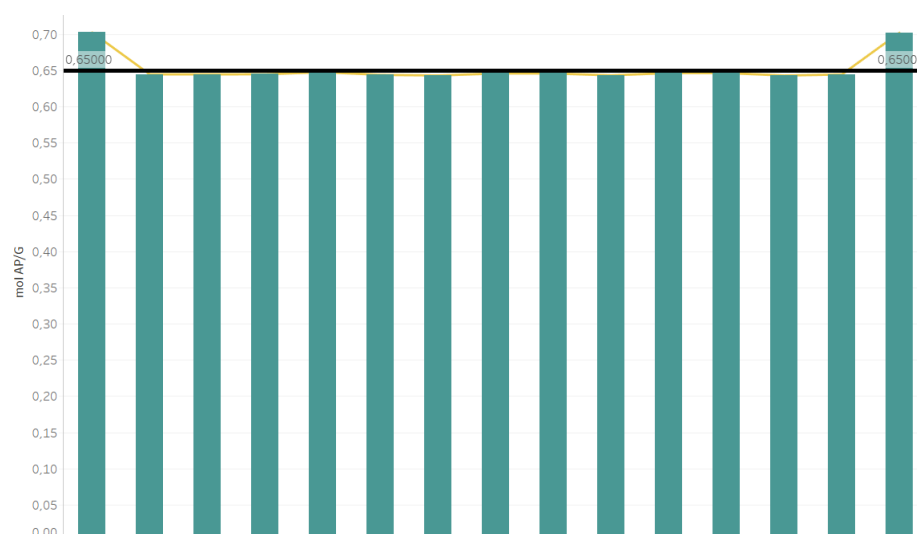
Porém, há de se destacar que esse rendimento de 0,79 atingido no máximo nas simulações, é um ótimo valor e que foi obtido por alguns atores em condições de processo muito similares, pode-se destacar os trabalhos de (CAVERO-OLGUIN et al., 2021; HIMMI et al., 2000; ZHU et al., 2010) , os quais obtiveram rendimentos variando de 0,75 a 0,79, apresentando similaridade a simulação.

Tal valor alto de rendimento pode ser explicado pela simulação só levar em consideração a produção do ácido propanoico e, um bom ponto a ressaltar é que conforme (BARBIRATO; BORIES, 1997; HIMMI et al., 2000) vários são os produtos que a bactéria pode produzir, dentre elas, utilizando como substrato a glicerina os produtos observados na fermentação foram apenas o ácido propanoicos e o ácido succínico. Sendo assim, por só ter um produto a tendência é de produzi-lo de forma mais eficiente.

Segundo, (PERRY; GREEN, 2018) todo o processo tem seus pontos satisfatórios e insatisfatórios, que trazem determinada viabilidade ou não para a aplicação de determinada melhoria, otimização ou aplicação deste processo na indústria, logo para este em questão o que se destaca é a inibição que o processo apresenta, ao aumentar a concentração de substrato.

Assim, para os resultados obtidos exibidos na Tabela 9, observa-se no ensaio 14 para a concentração de 80,23 g/L, o rendimento abaixou consideravelmente se comparado com os outros valores, durante as outras bateladas, mostrando assim outra similaridade com os experimentos reais, visto que no trabalho de ao alcançar concentrações próximas a 78 g/L não foi possível obter resultados satisfatórios na produção.

Ao analisar os valores da fração de ácido propanoico e substrato utilizado, no caso glicerol, também pode-se observar uma relação muito similar ao o que foi exposto na Tabela 3, visto que a média dos trabalhos foi de aproximadamente 0,65 e ao comparar com os valores obtidos na Tabela 9 essa similaridade se constata, podendo ser observada na Figura 11.

Figura 11 – Valores da fração de produto por substrato.

Fonte: Autor, 2022.

A Figura 11 traz em linha amarela a fermentação anaeróbia e em barras azuis a realizada com presença de oxigênio, já a linha preta reta, determina a média dos trabalhos que foram utilizados como base para tal trabalho, evidenciando assim, a regularidade dos resultados quanto aos experimentais.

Há de salientar que o ponto que obteve um maior rendimento em termos de produção de ácido foi o último ensaio da Tabela 9 obtendo 0,799 e 0,884 de rendimento, para as condições sem e com oxigênio respectivamente, logo as características da corrente deste ponto foram utilizadas como alimentação na extração.

Neste ensejo, a Tabela 10 demonstra os valores da corrente de entrada da purificação do ácido propanoico. É de suma importância salientar que a concentração em questão tem como foco a presença de água e glicerol na corrente, ou seja, ajustada para tal condição de processo com a presença desses dois componentes.

Tabela 10 - Dados da corrente de alimentação da extração.

Pressão (atm)	1
Temperatura (°C)	28
Vazão (L/h)	1,5
Concentração de glicerol (g/L)	54,5

Fonte: Autor, 2022.

5.3. Análise estatística da extração

Com o resultado da fermentação, foram realizadas análises a fim de encontrar relações entre a concentração de solvente e o número de pratos com a eficiência do processo, tal resultado pode ser observado na Tabela 11.

Sendo assim, as análises realizadas foram: se o aumento da razão e do número de equilíbrios no extrator poderia ter como resultado um aumento proporcional extração do ácido e se os resultados estavam de acordo com a literatura, realizando a interpretação a partir destas análises.

Tabela 11 - Matriz experimental da recuperação do ácido propanoico.

Fatores de Controle			Variáveis de resposta			
Ensaio	Concentração da razão (g.L ⁻¹)	Número de pratos	Eficiência		Recuperação de substrato	
			Aeróbico	Anaeróbico	Aeróbico	Anaeróbico
1	1	5	87%	87%	0,640	0,703
2	1	15	87%	85%	0,644	0,645
3	3	5	87%	85%	0,632	0,655
4	3	15	88%	86%	0,648	0,645
5	0,58	10	87%	85%	0,690	0,654
6	3,41	10	88%	86%	0,685	0,658
7	2	2,93	92%	92%	0,698	0,680
8	2	17,07	94%	92%	0,705	0,705
9	2	10	96%	95%	0,704	0,702

Fonte: Autor, 2022.

Ao observar a Tabela 11, pode-se inferir que os valores para a eficiência de remoção mostraram valores ótimos, sendo estes variando de 90% a 99%, este resultado pode ser comparado com os trabalhos de Keshav, Wasewar, Chand, 2008a, 2009 com condições muito similar ao o que foi feito nos trabalhos citados.

Para a verossimilhança do trabalho, ao utilizar um extrator líquido-líquido similar ao utilizado na simulação do trabalho e a proporção de solvente e extractante próxima ao ponto 0 do trabalho, foi de aproximadamente 95% e ao ser observado o ponto 9 dos ensaios na Tabela 9, pode-se observar os valores semelhantes aos trabalhos utilizados como base.

Ainda, vale ressaltar que os valores variando de 90% a 95% são considerados ótimos para as condições que se encontram as extrações com os ácidos carboxílicos, em específico o ácido propanoico, visto que segundo Djas e Henczka, 2018 grande maioria dos trabalhos utilizando o extractante TOA não ultrapassa a barreira dos 70 a 75% do extração para tal ácido, este fato se constata devido as condições de processo não se mostrarem tão favoráveis a formação do complexante tão essencial na extração reativa.

Logo, um ponto a ser avaliado é que a simulação conseguiu atingir objetivos maiores que esperados com o tocante a efetividade, visto que as propriedades dos componentes e dos equilíbrios formados durante o processo foram levadas em consideração em condições variadas dos ensaios feitos.

Por mais que a variável independente de foco para a otimização do processo de extração do ácido propanoico escolhida tenha sido a eficiência, pode-se ver que a variável recuperação de substrato, que avalia o quão de substrato que é alimentado no processo, pode ser reutilizado como alimentação, mostrou valores bastante satisfatórios para a simulação feita em questão, apresentado médias dos ensaios semelhantes ao dos trabalhos de Ayan, Baylan, Çehreli, 2020; Kesha, Wasewar, Chand, 2009.

5.4.Otimização da produção

Ao analisar a estatística do processo no software Statistica, deve-se levar em consideração a montagem do experimento, visto que para a produção esta foi realizada utilizando o método DCCR que tem como foco utilizar a superfície de resposta do processo a ser otimizado, utilizando as diferentes variáveis independentes.

Logo, ao desejar analisar a variância das médias dos coeficientes estimados pelos mínimos quadrados β_{ii} , pode-se inferir a necessidade da realização de novos experimentos, no caso simulações, analisando o quão a variável resposta tem de relação com as variáveis independentes.

Assim, ao inserir os resultados da simulação no Statistica este gera, entre diversos resultados, uma tabela ANOVA, a qual possui os valores de variância associados a cada fator

e até ao o quão ele se associa a outro fator, ou seja, o quão significativa cada variável é no processo.

Porém os fatores desta devem ser recalculados a fim da obtenção da matriz como esta é usualmente citada na literatura, logo na Tabela 12 pode-se observar a ANOVA, logo pode-se observar que o erro para o SQ foi muito baixo, mostrando uma pouca variação entre os valores, porém para o GL este não foi semelhante.

Tabela 12 - Tabela ANOVA para a produção anaeróbia.

Fonte de variação	Soma quadrática	Graus de liberdade	Média quadrática	Fobs
Regressão	0,007	9	0,0008	22,68
Erro	0,0002	5	0,000	
Total	0,0075	14		

Fonte: Autor, 2022.

Outro fator a ser levado em consideração é o teste F com a tabela ANOVA, o qual tem como enfoque analisar se $\beta_{ii} = \beta_{...} = \beta_{nn}$, assim ao observar o valor do F_{obs} e do F na tabela sendo este $F_{9,5}$ com o valor de α sendo 0,05. Logo no teste F, pode-se obter $F_{obs} < F_{9,5}$, mostrando então a H_0 como hipótese verdadeira, evidenciando a sua veracidade a partir da variável resposta ter bastante relação com os fatores escolhidos.

Ao analisar, a Tabela 13 que relata a ANOVA para o processo com a presença de oxigênio, pode-se observar a similaridade com a anterior, visto que o teste F também apontou a presença da H_0 para tal experimento, porém um valor a ser levado em consideração é o coeficiente de determinação que alerta sobre a relação entre as variáveis para uma regressão linear simples.

Tabela 13 - Tabela ANOVA para a produção aeróbia.

Fonte de variação	Soma quadrática	Graus de liberdade	Média quadrática	Fobs
Regressão	0,03	9	0,000	0,631
Erro	0,003	5	0,01	
Total	0,006	14		

Fonte: Autor, 2022.

Este valor não se mostra muito alarmante para este tipo de planejamento visto que, esta trata de uma regressão linear e o modelo tratado no trabalho se trata de um modelo quadrático, o qual tem valor de k sendo 3, ou seja, este não vai ao encontro dos padrões lineares requeridos pelo R^2 .

Assim, para o modelo dos processos, este segue nas equações 6 e 7, que são as equações para o processo com e sem oxigênio respectivamente, nelas estão contidos os coeficientes para cada variável do modelo tridimensional, no caso para cada simulação evidenciando os sinais a fim de analisar a significância.

Vale ressaltar que segundo Ayan, Baylan, Çehreli, 2020 o software Statistica destaca qual coeficiente é significativo na simulação devido a variação no ponto 0, visto que pela segunda derivada da equação, pode-se obter o ponto máximo, então analisando os coeficientes, este tem a função de observar qual variou entre o 0 para analisar sua significância.

$$Y_{ae} = 0,804 + 0,011X_1 - 0,007X_2 - 0,009X_3 - 0,007X_1^2 - 0,031X_2^2 - 0,0035X_3^2 - 0,019X_1X_2 - 0,016X_1X_3 + 0,019X_2X_3 \quad \text{Equação 6}$$

$$Y_{an} = 0,883 - 0,001X_1 - 0,030X_2 - 0,001X_3 - 0,030X_1^2 + 0,001X_2^2 - 0,0030X_3^2 - 0,001X_1X_2 - 0,001X_1X_3 + 0,001X_2X_3 \quad \text{Equação 7}$$

Sendo assim, os valores destacados primeiramente para a simulação com o oxigênio, pode-se inferir que o que possui valor significativo é somente o β_0 isto evidencia que a significância do coeficiente do ajuste dos 3 fatores, ou seja demonstra o quão estes fatores juntos tem papel importante para a simulação.

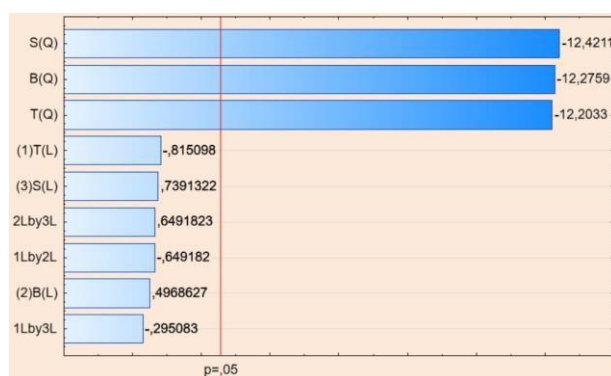
Esse fator separadamente não desempenha um papel tão importante no processo visto que, segundo Myers, Montgomery, Anderson-Cook, 2009 as interações entre os fatores devem ser levadas em consideração caso o mesmo, esteja nos níveis de todas variáveis explanatórias.

Segundo Rodrigues e Lemma, 2014, os valores significativos podem estar presentes no modelo, porém para tanto o nível de confiabilidade deve ser menor, logo para a simulação do trabalho, um fator importante no modelo é que se fosse utilizado um nível de confiança menor do que 95%, como 90%, provavelmente alguns coeficientes poderiam se tornar significativos, no entanto, a acurácia do modelo estaria comprometida, o que não é buscado no trabalho.

Já para o processo em forma anaeróbia pode-se inferir que os coeficientes β_0 , β_2 , β_{11} , e β_{33} , onde está análise dos coeficientes pode significar que os fatores de cada nível isolado são bem significativos, sendo os mais importantes a concentração de biomassa e concentração de substrato, visto que estes são os que possuem o índice 1 e 3.

Para embasar determinada significância destes fatores, pode-se analisar o gráfico de Pareto dos fatores do processo o qual pode ser observado na Figura 12, onde os fatores à direita da linha vertical horizontal, para a significância de 95%

Figura 12 – Gráfico de Pareto da simulação anaeróbia.

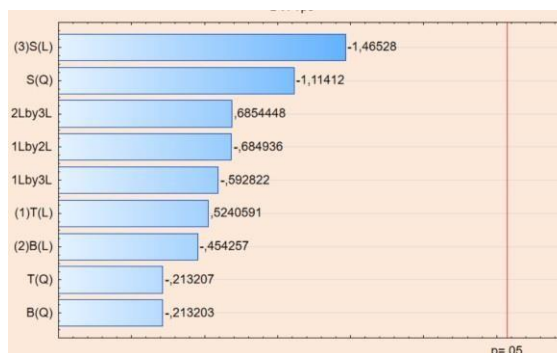


Fonte: Autor, 2022.

Logo, para o gráfico na Figura 12, pode-se inferir que as três variáveis são bastante significativas para o processo, mostrando assim que hipótese feita anteriormente ao analisar o modelo da simulação. Sendo assim, como explicado nos trabalhos de Myers, Montgomery, Anderson-cook, 2009; Rodrigues E Lemma, 2014; Ayan, Baylan, Çehreli, 2020 quando há uma significância tão alta, o processo tende a ser mais assertivo aos pontos ótimos de processo.

É notório que a hipótese de relação entre as variáveis ser tão expressiva como o anaeróbio, para o processo com a presença de oxigênio não se mostra efetiva, logo para tanto a Figura 13 exibe o gráfico de Pareto para o aeróbico. Ao analisar este, pode-se observar a não conformidade das hipóteses com nenhum fator significativo.

Figura 13 – Gráfico de Pareto da simulação aeróbica.

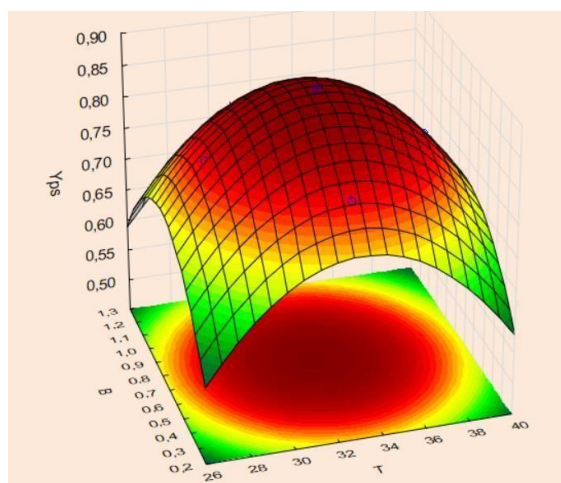


Fonte: Autor, 2022.

Assim, com estas informações pode-se obter a superfície de resposta, para o processo anaeróbico, esta se encontra na Figura 14, que analisa a resposta para a concentração de substrato pela temperatura.

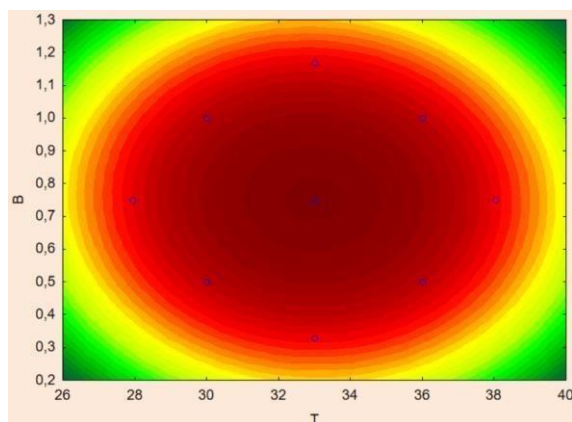
Ao analisar esta, há de se inferir que é muito provável que os valores ótimos estão no centro da superfície, devido a sua cor avermelhada escura, indicando uma melhor resposta a tais valores.

Figura 14 – Superfície de resposta do processo anaeróbico.



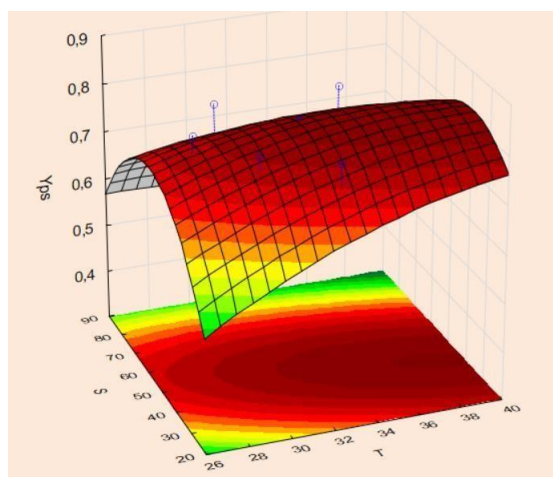
Fonte: Autor, 2022.

Esta também pode ser analisada no plano bidimensional, o qual é a projeção da superfície em um plano, logo para a relação da temperatura com a concentração de biomassa no 2D tem-se a Figura 15. Ao analisar a figura, pode-se notar o mesmo padrão inferido na Figura 17, logo pode-se ter como ótimas possibilidade de ótimas variáveis próximas dos níveis centrais.

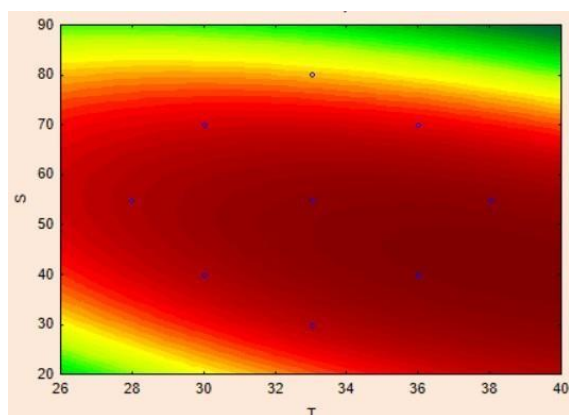
Figura 15 – Plano do processo anaeróbio.

Fonte: Autor, 2022.

Para anaeróbio, tem-se que a análise nas projeções para as concentrações de substrato e biomassa obtiveram perfis parecidos com esses dois eixos variados, estes podem ser visto nas Figuras 16 e 17.

Figura 16 – Superfície para o processo aeróbico.

Fonte: Autor, 2022.

Figura 17 – Plano do processo aeróbico.

Fonte: Autor, 2022.

Ao analisar o processo aeróbico nas Figuras 16 e 17, pode-se inferir a diferença com o processo anterior, logo este apresenta valores ótimos nos extremos dos pontos, do que no ponto central, de forma mais eficiente, pode-se analisar os valores críticos disponibilizados pelo próprio software.

A determinação do ponto ótimo por análise visual das curvas é difícil. Logo visando uma melhor acurácia de tais valores, o valor numérico exato do ponto de ótimo, deveria ser feito ao resolver um sistema de equações, com 3 equações e 3 incógnitas, desta maneira o Statistica tem a funcionalidade de apresentar estes valores já calculados seguidos do valor provável da variável resposta.

Dentro desta temática, o software Statistica apresenta valores críticos para as variáveis a serem otimizadas, nas condições de processo, logo os modelos das Equações 6 e 7 apresentam tais valores.

Ao analisar os pontos ótimos oferecidos pelo modelo, os quais são conhecidos como *critical values*, onde estes ultrapassam os valores estipulados pelas variáveis utilizadas na matriz experimental especificando o rendimento de 0,74, para a presença de oxigênio.

Logo, contrário ao processo sem oxigênio, o seu oposto apresenta como os valores ótimos condições mais altas para as variáveis utilizadas, ou seja, temperaturas, concentração de substrato e de biomassa do que realizado, como pode ser observado nas Figuras 18 e 19.

O fato de a forma com oxigênio não ser tão eficiente, pode ser explicada pelas circunstâncias da mesma, visto de acordo com o que foi discutido por Gonzalez-Garcia et al., 2017; Ranaei et al., 2020 que ela não é bem aceita pela comunidade acadêmica, devido a sua complexibilidade de execução e por causa desta dificuldade, não possui trabalhos na literatura sobre tal tema.

No que tange ao processo anaeróbico, este apresenta valores ótimos muito próximos aos pontos centrais dos fatores, porém ligeiramente maiores e o rendimento para este valor é de 0,80, sendo assim para o processo anaeróbico a otimização da produção do ácido propanoico este se mostrou eficiente e real aos resultados experimentados nos trabalhos de Cavero-Olguin et al., 2021; Himmi et al., 2000, exibindo assim a autenticidade do mesmo a trabalhos experimentais.

5.5.Otimização da extração

No processo da extração, este foi feito de forma análoga a produção, no âmbito da alimentação dos resultados no software Statistica. Logo, analisando primeiramente a tabela ANOVA calculada para o processo feito de forma anaeróbia, esta pode ser observada na Tabela 14.

Tabela 14 - Tabela ANOVA para a extração anaeróbia.

Fonte de variação	Soma quadrática	Graus de liberdade	Média quadrática	Fobs
Regressão	0,008	5	0,0016	3
Erro	0,001	3	0,000	
Total	0,009	8		

Fonte: Autor, 2022.

Ao observar a Tabela 14 pode-se inferir que a ANOVA apresenta alguns fatores a serem levados em consideração, como o erro para o SQ que foi baixo, mostrando uma pouca variação entre os valores, porém para o GL este não foi semelhante e outro fator é observar o teste F que sinaliza H_0 como hipótese verdadeira, logo é notório a relação da efetividade com as variáveis selecionadas.

Este aspecto se torna mais evidente ao comparar com trabalhos anteriores, visto que ao otimizar a extração reativa do ácido Ayan, Baylan, Çehreli, 2020 evidenciou a razão de extractante a fim de aumentar a extração, já nos trabalhos de Keshav, Wasewar, Chand, 2008b, 2009 evidenciam a necessidade do controle do número de estágios e da razão dos solventes utilizados para o processo.

Logo, ao analisar, Tabela 15 que relata a ANOVA para o processo com a presença de oxigênio, pode-se observar a similaridade com a anterior, visto que o teste F também apontou a presença da H_0 para tal experimento, analisando que para os dois casos houve a correta seleção dos fatores. Ao analisar este resultado, há de salientar que o trabalho de Datta e Kumar, 2015 analisou a presença de oxigênio na entrada com ácido propanoico e relatou a presença deste componente como distinto ao processo, ou seja, não causou nenhuma mudança substancial para a extração reativa.

Tabela 15 - Tabela ANOVA para a extração anaeróbia.

Fonte de variação	Soma quadrática	Graus de liberdade	Média quadrática	Fobs
Regressão	0,01	5	0,00	0,24
Erro	0,000	3	0,01	
Total	0,01	8		

Fonte: Autor, 2022.

Para o quociente de determinação R^2 , não apresentou valores ótimos para o processo, porém este valor será alarmante ou não de acordo com a análise do gráfico de Pareto e com a utilização dos coeficientes do modelo, visto que este indica as variáveis mais significativas.

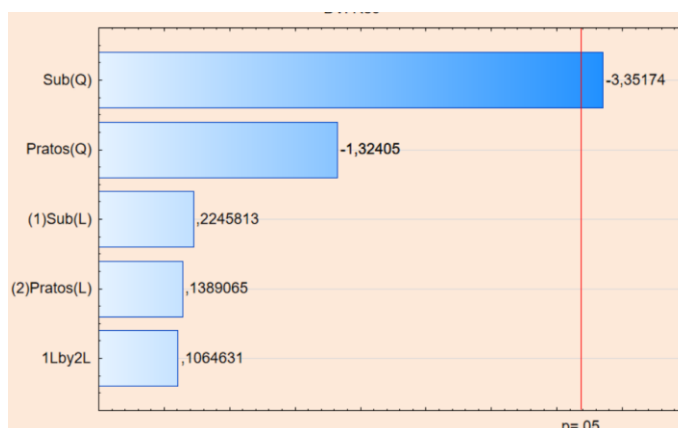
Dentro deste ensejo, é importante informar que para o modelo da extração, diferentemente do modelo da produção, possui 2 níveis, ou seja, somente X_1 e X_2 foram utilizados na tabela dos coeficientes. Logo, as Equações 8 e 9 evidenciam os coeficientes para as duas formas de extração, sendo estas do processo aeróbico e anaeróbio respectivamente.

$$Y_{ae} = 0,990 + 0,002X_2 - 0,051X_2 + 0,003X_1^2 - 0,0023X_2^2 \quad \text{Equação 8}$$

$$Y_{an} = 0,948 - 0,054X_2 - 0,001X_1^2 - 0,0021X_2^2 + 0,007X_1X_2 \quad \text{Equação 9}$$

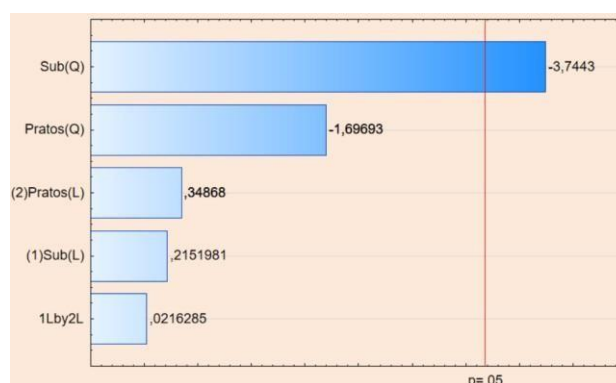
Ao analisar as Equações 8 e 9 pode-se ver a variação do ponto 0 para os coeficientes relacionados a 1º variável, ou seja, ao número de pratos presentes no extrator, algumas análises podem ser feitas a fim de evidenciar essa percepção retirada das equações. Outro fator é a similaridade dos valores para os dois modelos, evidenciando assim a pouca relevância da presença do oxigênio do processo de purificação do ácido.

A fim de refinar a análise da significância das variáveis do processo, pode-se analisar o gráfico de Pareto no caso anaeróbio para o nível de significância em 95% na Figura 18. Ao observar tal gráfico, tem-se um fator significativo, sendo ela a razão do substrato e extractante. Vale salientar que, fica notório pelo gráfico que, caso α fosse maior, ou seja, um nível de significância fosse menor do que 95% o número de pratos seria mais substancial.

Figura 18 – Gráfico de Pareto da extração anaeróbia.

Fonte: Autor, 2022.

Para o processo ocorrido com oxigênio, pode-se observar um perfil parecido do que sem tal componente, ao observar a Figura 19, este fato reforça a hipótese antes feita sobre a presença do oxigênio nas extrações com ácidos carboxílicos, mais especificamente com o propanoico.

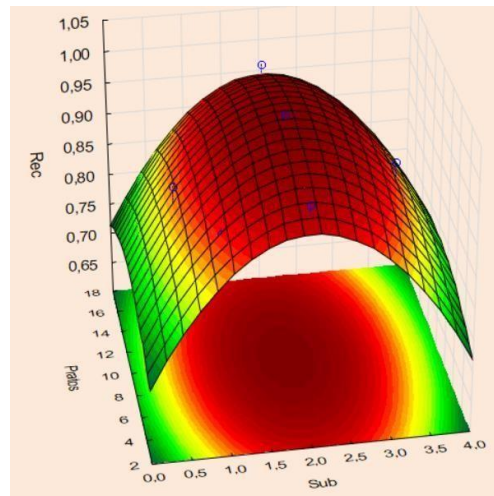
Figura 19 – Gráfico de Pareto da extração aeróbica.

Fonte: Autor, 2022.

Assim, com estas informações pode-se então a superfície de resposta, esta se encontra na Figura 20, que analisa a resposta do processo de forma tridimensional com os dois fatores do processo.

Ao analisar esta, há de se inferir que é muito provável que os valores ótimos estão no centro da superfície, devido a sua cor avermelhada escura, indicando uma melhor resposta na região central da superfície.

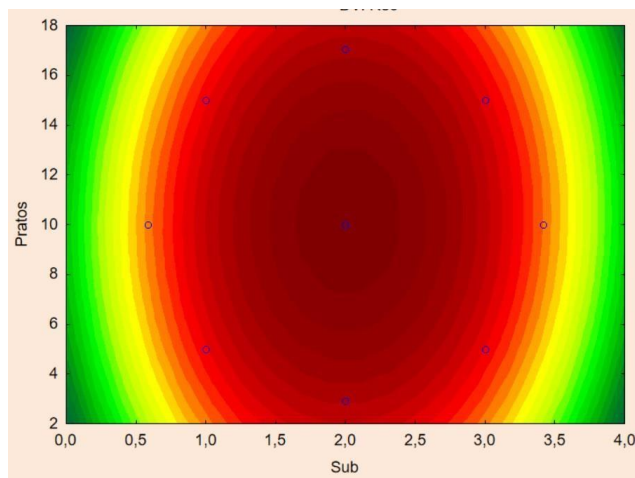
Figura 20 – Superfície de resposta da extração anaeróbia.



Fonte: Autor, 2022.

Para mais acurácia, é importante analisa-la em duas dimensões, relatado pela Figura 26. Com a Figura 21, pode-se notar o mesmo padrão inferido na Figura 27, assim a área central indica uma melhor resposta para a variação dos fatores, logo o mesmo é averiguado com os valores fornecidos pelo Statistica, para mais precisão.

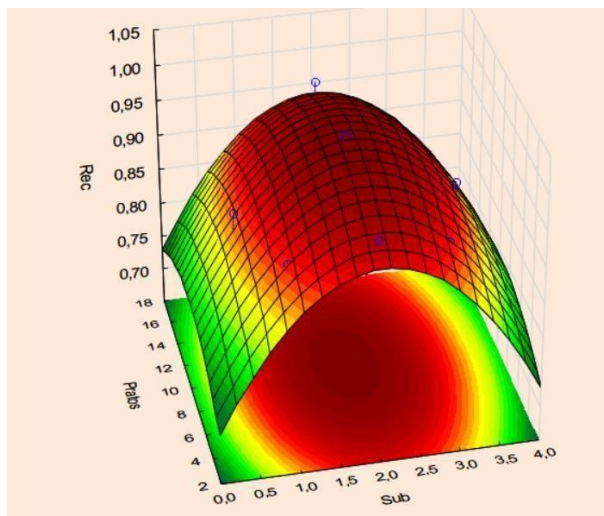
Figura 21 – Plano da extração anaeróbia.



Fonte: Autor, 2022.

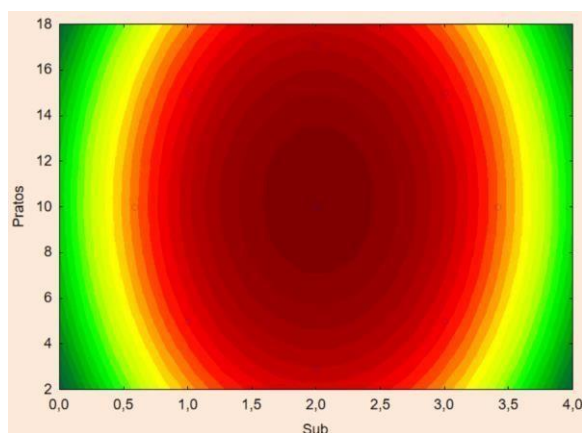
Para o processo de forma aeróbica, tem-se que a superfície de resposta e a projeção da extração nas condições da simulação exibidas nas Figuras 22 e 23, respectivamente.

Figura 22 – Superfície para a extração aeróbica.



Fonte: Autor, 2022.

Figura 23 – Plano da extração aeróbica.



Fonte: Autor, 2022.

Ao analisar o processo aeróbico, presente nas Figuras 22 e 23, pode-se analisar a similaridade desta extração com a da forma sem oxigênio, mostrando assim as similaridades, que estavam sendo mostradas pelas outras características da análise estatística

Ao analisar os valores ótimos fornecidos pelo Statistica, pode-se inferir são quando a razão é de aproximadamente 1:2 de 1-decanol e TOA, precisamente o que foi utilizado nos trabalhos de Keshav, Wasewar, Chand, 2008a, 2009 para conseguir a efetividade de 92 a 96% do trabalho, mostrando uma acurácia muito boa do modelo obtido no trabalho.

Além disto, para o número de pratos no extrator, este seguiu o que foi feito nos trabalhos de Ayan, Baylan, Çehreli, 2020, Djas e Henczka, 2018a os quais sugeriram a utilização de 9 a 10 pratos para a utilização com TOA associado a extração do ácido propanoico.

O fato de a forma com oxigênio não ter sido um fato relevante para a variação dos valores do processo, evidencia ainda mais a veracidade do modelo, salientando que os sítios de interações entre as moléculas no equilíbrio foram respeitados de acordo com as propriedades termodinâmicas.

6. CONCLUSÃO

Os resultados obtidos sugerem que as simulações da produção performaram de forma melhor que esperado, visto que os valores de Y_p/s e $molAP/G$, se mostraram muito similar ao o que foi encontrado na literatura, além disso a análise estatística desta simulação mostrou a efetividade das variáveis escolhidas, a serem otimizadas.

Quanto a otimização da simulação acerca do processo de produção de ácido propanoico de forma aeróbica e anaeróbia, este mostrou valores também próximos a trabalhos experimentais, visto que a adequação e precisão das equações do modelo foi confirmada por meios de análise gráfica e parâmetros estatísticos.

Logo, foi concluído que as equações modelos obtidas estavam de acordo com os dados experimentais. Quanto aos fatores que afetam a eficiência de extração estes foram as 3 variáveis selecionadas, mostrando a importância destas, quanto aos valores ótimos para a temperatura, concentração de substrato e de biomassa, estes foram $29,27\text{ }^{\circ}\text{C}$, $1,07\text{ g.L}^{-1}$ e $57,97\text{ g.L}^{-1}$ respectivamente para o processo com oxigênio, já em anaerobiose foram $32,93\text{ }^{\circ}\text{C}$, $0,75\text{ g.L}^{-1}$ e $55,30\text{ g.L}^{-1}$.

A extração reativa utilizando Trioctilamina e 1-decanol se mostrou muito efetiva, se simulada com uma certa semelhança aos trabalhos experimentais, visto que os valores de extração do ácido e recuperação dos extractante e solvente, mostraram ser muito semelhante ao o que acontece no projeto experimental.

Quanto ao modelo gerado com os níveis selecionados, este foi ótimo para a perda de valores, conseguindo prever os valores com uma acurácia muito boa, levando em consideração detalhes mínimos aos trabalhos de referência, como a presença de oxigênio na corrente de entrada. Os valores ótimos para a razão de solvente e número de estágio foram $2,01\text{ g.L}^{-1}$ e 10 estágios para o processo aeróbico e $2,02$ e 10 estágios do anaeróbio.

REFERÊNCIAS

- AGHAZADEH, M.; ENGELBERTH, A. S. Techno-economic analysis for incorporating a liquid-liquid extraction system to remove acetic acid into a proposed commercial scale biorefinery. **Biotechnology Progress**, v. 32, n. 4, p. 971–977, 8 jul. 2016.
- AHMADI, N. et al. Fed-Batch Fermentation for Propionic, Acetic and Lactic Acid Production. **Oriental Journal of Chemistry**, v. 31, n. 1, p. 581–590, 28 mar. 2015.
- ALI, R. et al. Propionic acid production from food waste in batch reactors: Effect of pH, types of inoculum, and thermal pre-treatment. **Bioresource Technology**, v. 319, 1 jan. 2021.
- ALKHALDI, K. H. A. E.; AL-JIMAZ, A. S.; ALTUWAIM, M. S. Liquid Extraction of Toluene from Heptane, Octane, or Nonane Using Mixed Ionic Solvents of 1-Ethyl-3-methylimidazolium Methylsulfate and 1-Hexyl-3-methylimidazolium Hexafluorophosphate. **Journal of Chemical & Engineering Data**, v. 64, n. 1, p. 169–175, 10 jan. 2019.
- AL-LAHHAM, S. H. et al. Biological effects of propionic acid in humans; metabolism, potential applications and underlying mechanisms. **Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular and Cell Biology of Lipids**, v. 1801, n. 11, p. 1175–1183, nov. 2010.
- AL-MALIKI, W. A. K. et al. Advances in Process Modelling and Simulation of Parabolic Trough Power Plants: A Review. **Energies**, v. 15, n. 15, p. 5512, 29 jul. 2022.
- ALTERTHUM, F. et al. **Biotecnologia Industrial: Processos Fermentativos e Enzimáticos**. 2. ed. São Paulo: Blucher, 2019. v. 3
- ALTERTHUM, F. et al. **Biotecnologia Industrial: Fundamentos**. 2. ed. São Paulo: Blucher, 2020. v. 1
- ALTERTHUM, F. et al. **Biotecnologia Industrial: Engenharia Bioquímica**. 2. ed. São Paulo: Blucher, 2021. v. 2
- ANTONY, F. M.; PAL, D.; WASEWAR, K. Separation of bio-products by liquid–liquid extraction. **Physical Sciences Reviews**, v. 6, n. 4, 7 maio 2021.
- ANTUES, E. E. C. **Separação de ácido succínico através de extração líquido-líquido usando contactor de membrana**. Rio de Janeiro: Universidade do Rio de Janeiro, 2018.
- ATASOY, M. et al. **Bio-based volatile fatty acid production and recovery from waste streams: Current status and future challenges**. **Bioresource Technology** Elsevier Ltd, , 1 nov. 2018.
- AYAN, E.; BAYLAN, N.; ÇEHRELI, S. Optimization of reactive extraction of propionic acid with ionic liquids using central composite design. **Chemical Engineering Research and Design**, v. 153, p. 666–676, jan. 2020.

- BARBIRATO, F.; BORIES, A. Relationship between the physiology of *Enterobacter agglomerans* CNCM 1210 grown anaerobically on glycerol and the culture conditions. **Research in Microbiology**, v. 148, n. 6, p. 475–484, jul. 1997.
- BILGIN, M.; BIRMAN, İ. Separation of propionic acid by diethyl carbonate or diethyl malonate or diethyl fumarate and the synergistic effect of phosphorus compounds and amines. **Fluid Phase Equilibria**, v. 292, n. 1–2, p. 13–19, maio 2010.
- BLAGA, A. C.; TUCALIUC, A.; KLOETZER, L. Applications of Ionic Liquids in Carboxylic Acids Separation. **Membranes**, v. 12, n. 8, p. 771, 9 ago. 2022.
- BUSTAMANTE, C. et al. Mechanical Processes in Biochemistry. **Annual Review of Biochemistry**, v. 73, n. 1, p. 705–748, jun. 2004.
- CAVALCANTE, H. DE O. E. et al. Otimização da estabilidade de um gel fitoterápico usando Box-Behnken Design e Metodologia de Superfície de Resposta. **Research, Society and Development**, v. 11, n. 2, p. e20811225695, 23 jan. 2022.
- CAVERO-OLGUIN, V. H. et al. Propionic acid production from glycerol in immobilized cell bioreactor using an acid-tolerant strain of *Propionibacterium acidipropionici* obtained by adaptive evolution. **Process Biochemistry**, v. 110, p. 223–230, 1 nov. 2021.
- CEBREIROS, F.; GUIGOU, M. D.; CABRERA, M. N. Integrated forest biorefineries: Recovery of acetic acid as a by-product from eucalyptus wood hemicellulosic hydrolysates by solvent extraction. **Industrial Crops and Products**, v. 109, p. 101–108, dez. 2017.
- ÇEHRELI, S.; ÖZMEN, D.; TATLI, B. (Liquid+liquid) equilibria of (water+propionic acid+diethyl phthalate) at several temperatures. **The Journal of Chemical Thermodynamics**, v. 37, n. 10, p. 1144–1150, out. 2005.
- COBLENTZ, W. K.; BERTRAM, M. G. Effects of a propionic acid-based preservative on storage characteristics, nutritive value, and energy content for alfalfa hays packaged in large round bales. **Journal of Dairy Science**, v. 95, n. 1, p. 340–352, jan. 2012.
- COELHO, D. **Modelagem e otimização de processo de síntese do ácido propanoico via fermentação do glicerol**. Campinas: Universidade Estadual de Campinas, 4 jul. 2011.
- COELHO, D. **Desenvolvimento de processo biotecnológico na síntese do ácido propanoico por fermentação da glicerina**. Campinas: Universidade Estadual de Campinas, 5 ago. 2014.
- CORAL, J. et al. Batch Fermentation Model of Propionic Acid Production by *Propionibacterium acidipropionici* in Different Carbon Sources. **Applied Biochemistry and Biotechnology**, v. 151, n. 2–3, p. 333–341, 2 dez. 2008.

- COSTA-GUTIERREZ, S. B. et al. **Glycerol as a substrate for actinobacteria of biotechnological interest: Advantages and perspectives in circular economy systems.** **Chemosphere** Elsevier Ltd, , 1 set. 2021.
- DATTA, D.; KUMAR, S. Reactive Extraction of Picolinic Acid Using Tri-octylamine Dissolved in Different Diluents: Effect of Solvent Polarity. **Journal of Chemical & Engineering Data**, v. 60, n. 9, p. 2709–2716, 10 set. 2015.
- DECHOW, F. J. Separation and purification techniques in biotechnology. **Reed & Carnrick Pharmaceuticals Piscataway**, 1989.
- DISHISHA, T.; ALVAREZ, M. T.; HATTI-KAUL, R. Batch- and continuous propionic acid production from glycerol using free and immobilized cells of *Propionibacterium acidipropionici*. **Bioresource Technology**, v. 118, p. 553–562, ago. 2012.
- DJAS, M.; HENCZKA, M. Reactive extraction of carboxylic acids using organic solvents and supercritical fluids: A review. **Separation and Purification Technology**, v. 201, p. 106–119, ago. 2018a.
- DJAS, M.; HENCZKA, M. Reactive extraction of carboxylic acids using organic solvents and supercritical fluids: A review. **Separation and Purification Technology**, v. 201, p. 106–119, ago. 2018b.
- DORAN, P. M. **Bioprocess Engineering Principles**. 1. ed. San diego: Academic press, 1995. v. 1
- DORAN, P. M. **Bioprocess Engineering Principles**. 3. ed. New York: Elsevier, 2013.
- EŞ, I. et al. Current advances in biological production of propionic acid. **Biotechnology Letters**, v. 39, n. 5, p. 635–645, 1 maio 2017.
- FARHADI, S. et al. Production of propionic acid in a fermented dairy beverage. **International Journal of Dairy Technology**, v. 66, n. 1, p. 127–134, fev. 2013.
- FATEMA, J. et al. Gasification of kitchen wastes in an updraft fluidized bed gasifier and simulation of the process with Aspen Plus. **Journal of Cleaner Production**, v. 371, p. 133670, out. 2022.
- FENG, X. et al. Kinetic Analysis and pH-Shift Control Strategy for Propionic Acid Production with *Propionibacterium Freudenreichii* CCTCC M207015. **Applied Biochemistry and Biotechnology**, v. 160, n. 2, p. 343–349, 15 jan. 2010.
- FENG, X. et al. Green and economical production of propionic acid by *Propionibacterium freudenreichii* CCTCC M207015 in plant fibrous-bed bioreactor. **Bioresource Technology**, v. 102, n. 10, p. 6141–6146, maio 2011.

- FOULADVAND, M. T.; ASADI, J.; LOTFOLLAHI, M. N. Simulation and optimization of aromatic extraction from lube oil cuts by liquid-liquid extraction. **Chemical Engineering Research and Design**, v. 165, p. 118–128, jan. 2021.
- GALDÁMEZ, E. V. C. **Aplicação das técnicas de planejamento e análise de experimentos na melhoria da qualidade de um processo de fabricação de produtos plásticos**. São Carlos: Universidade Federal de São Carlos, 2002.
- GHALAMI-CHOOBAR, B.; GHANADZADEH, A.; KOUSARIMEHR, S. Salt Effect on the Liquid-Liquid Equilibrium of (Water + Propionic Acid + Cyclohexanol) System at T=(298.2, 303.2, and 308.2) K. **Chinese Journal of Chemical Engineering**, v. 19, n. 4, p. 565–569, ago. 2011.
- GHANADZADEH, H. et al. (Liquid+liquid) equilibria of (water+propionic acid+2-ethyl-1-hexanol): Experimental data and correlation. **The Journal of Chemical Thermodynamics**, v. 40, n. 5, p. 879–884, maio 2008.
- GOMES, R. F.; PEREIRA, M. M.; LEÃO, V. A. Aplicação de planejamentos experimentais multivariados à lixiviação de cobre presente em placas de circuito impresso. **Tecnologia em Metalurgia, Materiais e Mineração**, v. 17, n. 4, 2020.
- GONZALEZ-GARCIA, R. et al. Microbial Propionic Acid Production. **Fermentation**, v. 3, n. 2, p. 21, 15 maio 2017.
- GÖSSI, A. et al. In-situ recovery of carboxylic acids from fermentation broths through membrane supported reactive extraction using membrane modules with improved stability. **Separation and Purification Technology**, v. 241, p. 116694, jun. 2020.
- GUAN, N. et al. Understanding of how *Propionibacterium acidipropionici* respond to propionic acid stress at the level of proteomics. **Scientific Reports**, v. 4, n. 1, p. 6951, 7 maio 2015.
- GUO, Y. et al. Liquid-liquid equilibrium for n-hexane + benzene + sulfolane, + 1-ethyl-3-methylimidazolium bis(trifluoromethylsulfonyl)imide ([EMIM][NTf₂]), + 1-ethyl-3-methylimidazolium ethylsulfate ([EMIM][EtSO₄]) and + the mixtures of [EMIM][NTf₂] and [EMIM][EtSO₄]. **Fluid Phase Equilibria**, v. 529, p. 112882, fev. 2021.
- GYURANOVÁ, D. et al. Elimination of biodiesel contaminants by recombinant glucoside hydrolase produced from crude glycerol. **Fuel**, v. 330, p. 125550, dez. 2022.
- HANO, T. et al. Extraction equilibria of organic acids with tri-n-octylphosphineoxide. **JOURNAL OF CHEMICAL ENGINEERING OF JAPAN**, v. 23, n. 6, p. 734–738, 1990.
- HASHEMI, S. M. B.; ROOHI, R. Kinetic models for production of propionic acid by *Propionibacter freudenreichii* subsp. *shermanii* and *Propionibacterium freudenreichii* subsp.

freudenreichii in date syrup during sonication treatments. **Biocatalysis and Agricultural Biotechnology**, v. 17, p. 613–619, jan. 2019.

HENCZKA, M.; DJAS, M. Reactive extraction of acetic acid and propionic acid using supercritical carbon dioxide. **The Journal of Supercritical Fluids**, v. 110, p. 154–160, abr. 2016.

HILBE, J. M. STATISTICA 7. **The American Statistician**, v. 61, n. 1, p. 91–94, fev. 2007.

HIMMI, E. H. et al. Propionic acid fermentation of glycerol and glucose by *Propionibacterium acidipropionici* and *Propionibacterium freudenreichii* ssp. *shermanii*. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 53, n. 4, p. 435–440, 12 abr. 2000.

KAGLIWAL, L. D. et al. Wheat flour based propionic acid fermentation: An economic approach. **Bioresource Technology**, v. 129, p. 694–699, fev. 2013.

KERTES, A. S.; KING, C. J. Extraction chemistry of fermentation product carboxylic acids. **Biotechnology and Bioengineering**, v. 28, n. 2, p. 269–282, fev. 1986.

KESHAV, A.; WASEWAR, K. L.; CHAND, S. Extraction of Propionic Acid Using Different Extractants (Tri- *n* -butylphosphate, Tri- *n* -octylamine, and Aliquat 336). **Industrial & Engineering Chemistry Research**, v. 47, n. 16, p. 6192–6196, 1 ago. 2008a.

KESHAV, A.; WASEWAR, K. L.; CHAND, S. Extraction of propionic acid with tri-*n*-octyl amine in different diluents. **Separation and Purification Technology**, v. 63, n. 1, p. 179–183, out. 2008b.

KESHAV, A.; WASEWAR, K. L.; CHAND, S. Reactive extraction of propionic acid using tri-*n*-octylamine. **Chemical Engineering Communications**, v. 197, n. 4, p. 606–626, 15 dez. 2009.

KING, J. C. **Separation processes**. 2. ed. London: Dover Publications, 2013. v. 1

KÓSMIDER, A. et al. Propionic acid production by *propionibacterium freudenreichii* ssp. *shermanii* using crude glycerol and whey lactose industrial wastes. **Polish Journal of Environment**, v. 19, n. 6, p. 1249–1253, 2010.

LARSON, A. G.; NARLIKAR, G. J. The Role of Phase Separation in Heterochromatin Formation, Function, and Regulation. **Biochemistry**, v. 57, n. 17, p. 2540–2548, 1 maio 2018a.

LARSON, A. G.; NARLIKAR, G. J. The Role of Phase Separation in Heterochromatin Formation, Function, and Regulation. **Biochemistry**, v. 57, n. 17, p. 2540–2548, 1 maio 2018b.

LI, J. et al. Electrocatalytic oxidation of *n*-propanol to produce propionic acid using an electrocatalytic membrane reactor. **Chemical Communications**, v. 49, n. 40, p. 4501, 2013a.

- LI, J. et al. Electrocatalytic oxidation of n-propanol to produce propionic acid using an electrocatalytic membrane reactor. **Chemical Communications**, v. 49, n. 40, p. 4501, 2013b.
- LIU, Y. et al. Process Simulation of Preparing Biochar by Biomass Pyrolysis Via Aspen Plus and Its Economic Evaluation. **Waste and Biomass Valorization**, v. 13, n. 5, p. 2609–2622, 4 maio 2022.
- LIU, Z. et al. Efficient utilization of hemicellulose hydrolysate for propionic acid production using *Propionibacterium acidipropionici*. **Bioresource Technology**, v. 114, p. 711–714, jun. 2012.
- LOPES, H. J. S.; RAMOS, L. R.; SILVA, E. L. Co-Fermentation of Cheese Whey and Crude Glycerol in EGSB Reactor as a Strategy to Enhance Continuous Hydrogen and Propionic Acid Production. **Applied Biochemistry and Biotechnology**, v. 183, n. 3, p. 712–728, 20 nov. 2017.
- LÓPEZ-GARZÓN, C. S.; STRAATHOF, A. J. J. Recovery of carboxylic acids produced by fermentation. **Biotechnology Advances**, v. 32, n. 5, p. 873–904, set. 2014.
- LU, J. et al. Current advances in organic acid production from organic wastes by using microbial co-cultivation systems. **Biofuels, Bioproducts and Biorefining**, v. 14, n. 2, p. 481–492, 18 mar. 2020.
- LUO, L. et al. Phase equilibria of (water+propionic acid or butyric acid+2-methoxy-2-methylpropane) ternary systems at 298.2K and 323.2K. **Fluid Phase Equilibria**, v. 403, p. 30–35, out. 2015.
- MATHEW, G. M. et al. Recent advances in biodiesel production: Challenges and solutions. **Science of The Total Environment**, v. 794, p. 148751, nov. 2021.
- MURALI, N.; SRINIVAS, K.; AHRING, B. K. Biochemical Production and Separation of Carboxylic Acids for Biorefinery Applications. **Fermentation**, v. 3, n. 2, p. 22, 19 maio 2017.
- MYERS, R. H.; MONTGOMERY, D. C.; ANDERSON-COOK, C. M. **Response surface methodology**. 3. ed. New Jersey: Wiley, 2009. v. 1
- NELSON, R. et al. Mixed Carboxylic Acid Production by *Megasphaera elsdenii* from Glucose and Lignocellulosic Hydrolysate. **Fermentation**, v. 3, n. 1, p. 10, 1 mar. 2017.
- NGOME, T. M. **Produção de ácido propiônico em soro lácteo por cultura mista de propionibacterium fredenreichii PS-1 e lactobacillus helveticus**. Lavras: Universidade Federal de Lavras, 22 fev. 2013.
- NOBLE, R. D. Principles of chemical separations with environmental applications. **Cambridge University Press**, 2004.

- NUNES, D. F. et al. Propriedades químicas e físicas de misturas com adjuvantes. Em: **Tópicos em Ciências Agrárias - Volume 3**. [s.l.] Editora Poisson, 2019.
- ÖZMEN, D. (Liquid+liquid) equilibria of (water+propionic acid+dipropyl ether or diisopropyl ether) at T=298.2K. **The Journal of Chemical Thermodynamics**, v. 39, n. 1, p. 123–127, jan. 2007.
- PAIK, H.-D.; GLATZ, B. A. Propionic acid production by immobilized cells of a propionate-tolerant strain of *Propionibacterium acidipropionici*. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 42, n. 1, p. 22–27, out. 1994.
- PEREIRA, F.; PEREIRA-FILHO, E. Aplicação de programa computacional livre em planejamento de experimentos: um tutorial. **Química Nova**, v. 2018, 2018.
- PERRY, R.; GREEN, D. **Perry's Chemical Engineers' Handbook**. 9. ed. London: Mc Graw Hisher Hill Education, 2018. v. 1
- RANAELI, V. et al. Propionic Acid: Method of Production, Current State and Perspectives. **Food technology and biotechnology**, v. 58, n. 2, p. 115–127, 31 jul. 2020.
- RASRENDRA, C. B. et al. Recovery of acetic acid from an aqueous pyrolysis oil phase by reactive extraction using tri-n-octylamine. **Chemical Engineering Journal**, v. 176–177, p. 244–252, dez. 2011.
- RODRIGUES, M. I.; LEMMA, F. A. **Planejamento de experimentos e otimização de processos**. 3. ed. [s.l.] Casa do Espírito Amigo Fraternidade Fé e Amor, 2014. v. 1
- ŞAHIN, M. O.; ŞANLI, O. In situ synthesis of ZnO nanoparticles in poly(vinyl alcohol) membranes and its use in separation of acetone/water mixtures via pervaporation. **Journal of Molecular Structure**, v. 1225, p. 129285, fev. 2021.
- SAIEN, J. et al. (Liquid+liquid) equilibria for the ternary (water+acetic acid+toluene) system at different temperatures: Experimental data and correlation. **The Journal of Chemical Thermodynamics**, v. 57, p. 76–81, fev. 2013.
- SELDER, L. et al. Co-cultures with integrated in situ product removal for lactate-based propionic acid production. **Bioprocess and Biosystems Engineering**, v. 43, n. 6, p. 1027–1035, 13 jun. 2020.
- SHAHBAZI, F.; MOHADESI, M. Experimental Investigation and Thermodynamic Modeling in Liquid-Liquid Equilibrium of Water + Propionic Acid + Cyclic Alcohols at T= 303.2, 313.2, and 323.2 K. **Journal of Chemical and Petroleum Engineering**, v. 56, n. 1, p. 89–104, 1 jun. 2022.
- SILVA, A. P. **Avaliação da Produção de Ácido Propiônico por Propionibacterium acidipropionici a partir da Fração Hemicelulósica de Sorgo Sacarino Aplicando**

Sistemas de Células Imobilizadas. Rio de Janeiro: Universidade Federal do Rio de Janeiro, 15 maio 2019.

SILVAMANI, S. et al. Experimental studies and design of liquid-liquid extraction column for separation of propionic acid from its aqueous solution using organic solven. Em:

NALLUASAMY, S. et al. (Eds.). **Emerging trends in engineering and technology.** First ed. Delhi: Manglam, 2020. v. 4p. 416–430.

SINELI, P. E. et al. Genomic analysis and proteomic response of the chromium-resistant and phenanthrene-degrading strain *Streptomyces* sp. MC1. **Journal of Applied Microbiology**, v. 131, n. 2, p. 719–727, 17 ago. 2021.

SINGH, M. et al. Simulation of biomass-plastic co-gasification in a fluidized bed reactor using Aspen plus. **Fuel**, v. 319, p. 123708, jul. 2022.

SMIRNOV, A.; SAMAROV, A.; TOIKKA, M. Liquid–Liquid Equilibrium, Solubility, and Critical States in an Acetic Acid–Butyl Alcohol–Butyl Acetate–Water System at 328.15 K and 101.3 kPa: Topology of Phase Diagrams and NRTL Modeling. **Journal of Chemical & Engineering Data**, v. 66, n. 3, p. 1466–1474, 11 mar. 2021.

SPRAKEL, L. M. J.; SCHUUR, B. Solvent developments for liquid-liquid extraction of carboxylic acids in perspective. **Separation and Purification Technology**, v. 211, p. 935–957, mar. 2019.

SUWAL, S. et al. Application of electro-membrane separation for recovery of acetic acid in lignocellulosic bioethanol production. **Food and Bioproducts Processing**, v. 109, p. 41–51, maio 2018.

SUWANNAKHAM, S.; YANG, S.-T. Enhanced propionic acid fermentation by *Propionibacterium acidipropionici* mutant obtained by adaptation in a fibrous-bed bioreactor. **Biotechnology and Bioengineering**, v. 91, n. 3, p. 325–337, 5 ago. 2005.

TAMADA, J. A.; KERTES, A. S.; KING, C. J. Extraction of carboxylic acids with amine extractants. 1. Equilibria and law of mass action modeling. **Industrial & Engineering Chemistry Research**, v. 29, n. 7, p. 1319–1326, 1 jul. 1990.

TELES, J. C. **Produção de ácido propiônico por propionibacterium acidipropionici a partir da fermentação de efluentes agroindustriais.** Ponta Grossa: Universidade Estadual de Ponta Grossa, 29 abr. 2016.

TIWIKRAMA, A. H.; ALTWAY, S. Effect of EPPS Buffer on the Liquid-Liquid Equilibria of Carboxylic Acids (Acetic Acid or Propionic Acid)-Water-Methyl Isobutyl Ketone at Elevated Temperatures. **Journal of Chemical and Engineering Data**, 2022.

- TSOSKOUNOGLOU, M.; AYERIDES, G.; TRITOPOULOU, E. The end of cheap oil: Current status and prospects. **Energy Policy**, v. 36, n. 10, p. 3797–3806, out. 2008.
- USLU, H.; İNCI, İ. (Liquid+liquid) equilibria of the (water+propionic acid+Aliquat 336+organic solvents) at T=298.15K. **The Journal of Chemical Thermodynamics**, v. 39, n. 5, p. 804–809, maio 2007.
- USMAN, M. A. et al. ASPEN plus simulation of liquid–liquid equilibria data for the extraction of aromatics from waste tyre pyrolysis gasoline using organic and deep eutectic solvents: a comparative study. **Applied Petrochemical Research**, v. 11, n. 1, p. 113–122, 11 maio 2021.
- WANG, K. et al. Equilibrium study on reactive extraction of propionic acid with N1923 in different diluents. **Fluid Phase Equilibria**, v. 278, n. 1–2, p. 103–108, abr. 2009.
- WANG, P.; JIAO, Y.; LIU, S. Novel fermentation process strengthening strategy for production of propionic acid and vitamin B12 by *Propionibacterium freudenreichii*. **Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology**, v. 41, n. 12, p. 1811–1815, 1 dez. 2014.
- WANKAT, P. C. **Separation process engineering**. 3. ed. Denver: Prentice Hall, 2011. v. 1
- WARD, O. P. Biochemical Separations. Em: **Bioprocessing**. Boston, MA: Springer US, 1991. p. 55–72.
- WOOLEY, R. J.; PUTSCHE, V. **Development of an ASPEN PLUS physical property database for biofuels components**. Golden, CO: [s.n.].
- YANG, H. et al. Propionic acid production from soy molasses by *Propionibacterium acidipropionici*: Fermentation kinetics and economic analysis. **Bioresource Technology**, v. 250, p. 1–9, 1 fev. 2018.
- ZHANG, A.; YANG, S.-T. Propionic acid production from glycerol by metabolically engineered *Propionibacterium acidipropionici*. **Process Biochemistry**, v. 44, n. 12, p. 1346–1351, dez. 2009.
- ZHANG, P. et al. Numerical simulation of gas production from natural gas hydrate deposits with multi-branch wells: Influence of reservoir properties. **Energy**, v. 238, p. 121738, jan. 2022a.
- ZHANG, W. et al. Performance evaluation and molecular dynamics simulation in the Liquid–liquid extraction process of low transition temperature mixture + n-hexane + 1,2-Dichloroethane. **Journal of Molecular Liquids**, v. 364, p. 119913, out. 2022b.
- ZHU, Y. et al. Optimization and scale-up of propionic acid production by propionic acid-tolerant *Propionibacterium acidipropionici* with glycerol as the carbon source. **Bioresource Technology**, v. 101, n. 22, p. 8902–8906, nov. 2010.

ANEXO

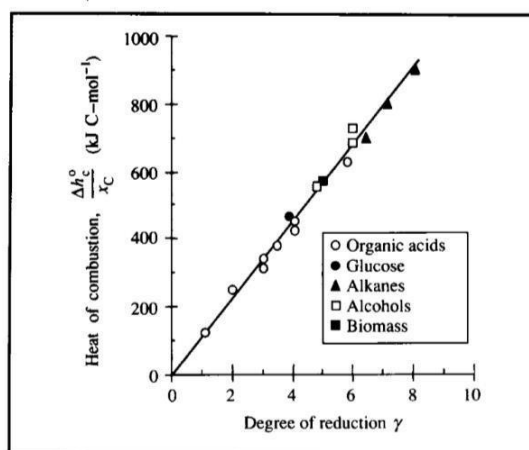
ANEXO 1: Tabela de biomassa com grau de redução

Compound	Formula	Degree of reduction γ relative to NH_3	Degree of reduction γ relative to N_2
Threonine	$\text{C}_4\text{H}_9\text{O}_3\text{N}$	4.00	4.75
Thymine	$\text{C}_5\text{H}_6\text{O}_2\text{N}_2$	3.20	4.40
Tryptophan	$\text{C}_{11}\text{H}_{12}\text{O}_2\text{N}_2$	4.18	4.73
Tyrosine	$\text{C}_9\text{H}_{11}\text{O}_3\text{N}$	4.22	4.56
Uracil	$\text{C}_4\text{H}_4\text{O}_2\text{N}_2$	2.50	4.00
Valeric acid	$\text{C}_5\text{H}_{10}\text{O}_2$	5.20	5.20
Valine	$\text{C}_5\text{H}_{11}\text{O}_2\text{N}$	4.80	5.40
Biomass	$\text{CH}_{1.8}\text{O}_{0.5}\text{N}_{0.2}$	4.20	4.80

Fonte: Doran, 1995.

ANEXO 2: Relação da redução com os compostos

Figure 5.5 Relationship between degree of reduction and heat of combustion for various organic compounds. (From J.A. Roels, 1987, *Thermodynamics of growth*. In: J. Bu'Lock and B. Kristiansen, Eds, *Basic Biotechnology*, Academic Press, London.)



Fonte: Doran, 1995.