

## 1,3-PROPANODIOL: PRODUÇÃO, APLICAÇÕES E POTENCIAL BIOTECNOLÓGICO

Gervásio Paulo da Silva<sup>\*a</sup>, Jonas Contiero<sup>b</sup>, Paulo Marcelo Ávila Neto<sup>b</sup> e Cristian Jacques Bolner de Lima<sup>b</sup><sup>a</sup>Departamento de Educação, Universidade do Estado da Bahia, BR 407, Km 127, 48970-000 Senhor do Bonfim – BA, Brasil<sup>b</sup>Departamento de Bioquímica e Microbiologia, Universidade Estadual Paulista, Av. 24A, 1515, Bela Vista, 13506-900 Rio Claro – SP, Brasil

Recebido em 27/08/2013; aceito em 28/10/2013; publicado na web em 03/12/2013

1,3-PROPANEDIOL: PRODUCTION, APPLICATIONS AND BIOTECHNOLOGICAL POTENTIAL. 1,3-propanediol is a high-value specialty chemical which has many industrial applications. Its main use is the production of the polymer polypropylene terephthalate, a thermoplastic used in the textile and automobile industries. The interest in 1,3-propanediol production from glycerol bio-conversion has increased after the employment of biodiesel by various countries, being produced by chemical synthesis from petroleum intermediates or biotechnologically by microbial fermentation. Glycerol is an abundant low-cost byproduct from biodiesel refineries, and it is the only substrate that can be naturally or enzymatically converted to 1,3-propanediol by microbial fermentation. In this review, information on 1,3-propanediol's importance, production and purification are presented, along with results from recent research on glycerol microbial conversion to 1,3-propanediol. The bio-production of this intermediate compound from glycerol is very attractive both economically and environmentally, since it allows the replacement of fossil fuels by renewable resources.

Keywords: Green Chemistry; glycerol fermentation; 1,3-propanediol.

## INTRODUÇÃO

Os atuais problemas ambientais causados pela utilização de combustíveis fósseis são tema de amplo debate. Entre os problemas associados a esses combustíveis, estão o fato de não serem renováveis, apresentarem alto custo e instabilidade de preços, além da instabilidade geopolítica nas principais regiões produtoras. Desta forma, alguns países tem incentivado a utilização de fontes alternativas de energia, em complementação às fontes fósseis tradicionais. Existe também a preocupação de buscar novas fontes para a produção de importantes intermediários químicos, atualmente derivados do petróleo. Os biocombustíveis, como o etanol (obtido da cana-de-açúcar), e o biodiesel (obtido de óleos e gorduras), estão entre as mais importantes alternativas energéticas consideradas para substituir combustíveis derivados do petróleo. Os biocombustíveis também podem, direta ou indiretamente, contribuir para o desenvolvimento de novos processos para a produção de intermediários químicos. Um exemplo é a produção de plásticos a partir do etanol (denominado “polietileno verde”), cuja primeira fábrica mundial foi inaugurada em 2010 na cidade de Triunfo, RS, Brasil, pela Braskem<sup>®</sup>,<sup>1</sup> com capacidade para produzir 200 mil t/ano. Este é apenas um exemplo da denominada *química verde*,<sup>2,3</sup> setor que busca utilizar matérias-primas renováveis e cujos métodos de produção reduzam os impactos negativos sobre o meio ambiente, sendo a utilização da biomassa um de seus princípios.<sup>3</sup> As reações biocatalisadas, empregando-se células integras ou enzimas,<sup>4</sup> representam uma extensão das rotas clássicas de síntese, com significantes reduções nos impactos ambientais, sendo um dos processos que podem ser explorados no desenvolvimento da química verde.<sup>5</sup> Assim, a obtenção de intermediários químicos utilizando resíduos agroindustriais e biossíntese microbiana está em consonância com os princípios da química verde.

O glicerol, um subproduto das indústrias de biodiesel, pode ser convertido em diversos intermediários químicos de valor industrial, tanto por síntese química,<sup>6,7</sup> quanto por conversão biotecnológica.<sup>8</sup> A conversão microbiana do glicerol apresenta vantagens em relação

às sínteses químicas, como por exemplo, requer menor número de etapas, emprega temperaturas medianas e pressão ambiente, não gera intermediários tóxicos e geralmente são obtidos isômeros opticamente puros. O 1,3-propanodiol (1,3-PDO), um intermediário químico obtido a partir da fermentação do glicerol, tem despertado maior interesse em anos recentes. Nesta revisão, são apresentadas informações sobre a importância do 1,3-PDO, sua produção biotecnológica a partir da fermentação do glicerol e sobre a purificação desse importante intermediário químico.

## O 1,3-propanodiol

O 1,3-PDO (trimetileno glicol ou polipropileno glicol) é um composto alifático linear, líquido, incolor, inodoro, inócuo, miscível em água, álcool e éter (Figura 1). Este intermediário químico foi um dos primeiros produtos da fermentação microbiana conhecidos, descoberto em 1881 pelo químico Austríaco August Freund, em cultura mista de fermentação contendo *Clostridium pasteurianum*.<sup>9,10</sup> Apesar de conhecido há mais de um século e apresentar propriedades físico-químicas interessantes para aplicações industriais, a impossibilidade de sua produção de forma abundante e econômica fez com que o 1,3-PDO apresentasse aplicação limitada durante todos estes anos.<sup>11</sup> Um maior interesse industrial pelo 1,3-PDO é relativamente recente, surgindo depois que foram desenvolvidos processos para sua síntese química em larga escala; esse interesse aumentou ainda mais após a adoção do biodiesel, pois esta indústria gera grandes quantidades de glicerol,<sup>8,9</sup> a partir do qual o 1,3-PDO pode ser produzido.

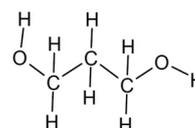
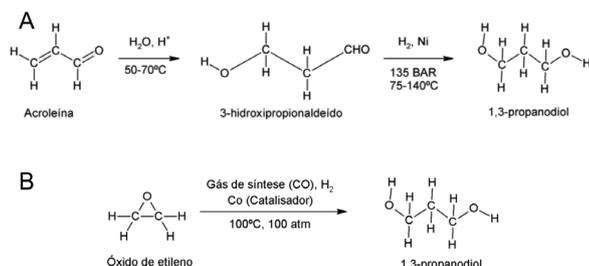


Figura 1. 1,3-propanodiol. A demanda e o interesse industrial por este intermediário químico tem aumentado nos últimos anos, utilizado principalmente na produção do termoplástico polipropileno tereftalato (PPT)

\*e-mail: gpsilva@uneb.br

Atualmente, o 1,3-PDO é quimicamente produzido por dois processos diferentes (Figura 2). Em uma das rotas, a acroleína é hidratada a 3-hidroxi-propionaldeído, que é posteriormente hidrogenado, obtendo-se o 1,3-PDO.<sup>12</sup> Na outra rota, o óxido de etileno reage com monóxido de carbono na presença de um catalisador organometálico (por ex. cobalto), produzindo hidroxi-aldeído, que é finalmente reduzido ao diol por hidrogenação. De um modo geral, a síntese química do 1,3-PDO requer altas temperaturas, alta pressão e catalisadores de alto custo, gera intermediários tóxicos e poluentes, além de depender de combustíveis fósseis para sua produção.

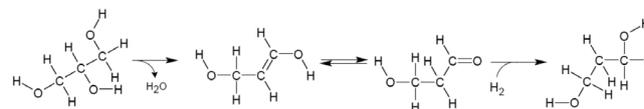


**Figura 2.** Síntese química do 1,3-propanodiol, partindo da acroleína como matéria prima (tecnologia da Degussa) (A) e do óxido de etileno (tecnologia da Shell) (B) (Modificado de Saxena *et al.*, 2009 e Kraus, 2008)

O 1,3-propanodiol também pode ser quimicamente obtido a partir do glicerol, através da desoxigenação seletiva do álcool secundário usando catalisadores organometálicos. A desoxigenação pode ser obtida através de uma reação de desidratação/hidrogenação, ou por meio da redução de um intermediário catiônico.<sup>12</sup> A hidrogenólise é um tipo de redução que envolve a dissociação de ligações químicas em um substrato orgânico com adição simultânea de hidrogênio aos fragmentos das moléculas resultantes. Como o glicerol é um composto saturado e tem maior conteúdo O/C do que a maioria das commodities químicas, a hidrogenólise C-O é uma das rotas mais atrativas para a conversão química do glicerol.<sup>13</sup> Segundo Nakagawa *et al.*, a hidrogenólise seletiva do glicerol em 1,3-propanodiol não é um processo fácil; apesar de ter sido muito estudada nos últimos anos, ainda se obtém principalmente produtos de menor valor comercial, como o 1,2-propanodiol (1,2-PDO) e o propanol, sendo que a produção química do 1,3-PDO a partir do glicerol ainda é um processo que apresenta baixo rendimento, com valores máximos reportados ficando em torno de 26,8%.<sup>14</sup>

Segundo ten Dan e Hanefeld,<sup>15</sup> o produto comercial mais interessante obtido a partir da hidrogenólise do glicerol é o 1,3-propanodiol; as reações de desidratação/hidrogenação do glicerol para produção do 1,3-propanodiol são apresentadas na Figura 3.<sup>15</sup> Kurosaka *et al.*, ao avaliarem a atividade catalítica de metais nobres para a hidrogenólise do glicerol, reportam um rendimento de 24% para 1,3-PDO e a formação concomitante de 1,2-PDO e principalmente *n*-propanol (provavelmente devido às severas condições de reação), além de outros produtos que totalizaram cerca de 10% do rendimento total.<sup>16</sup> O principal problema para a produção do 1,3-PDO ainda continua sendo a formação seletiva desse composto.<sup>15</sup> Em estudo de hidrogenólise seletiva do glicerol utilizando diferentes catalisadores metálicos em meio aquoso, Nakagawa *et al.* obtiveram 81% de conversão do glicerol, com rendimento máximo de 1,3-PDO igual a 38% em 36 h, valores muito superiores a outros processos anteriormente descritos.<sup>14</sup> Mais recentemente, Oh *et al.*, em um estudo visando avaliar diferentes catalisadores para a conversão seletiva do glicerol em 1,3-propanodiol, reportam um rendimento de 55,6%.<sup>17</sup> A hidrogenólise do glicerol para a produção de 1,3-PDO, processo revisado por ten Dam e Hanefeld,<sup>15</sup> depende de catalisadores de alto custo, requer altas temperaturas, alta pressão e, dependendo do processo

empregado, são utilizados diferentes tipos de solventes. Ultimamente tem sido dada muita atenção à produção microbiana do 1,3-PDO, pois este é um processo mais simples, não gera intermediários tóxicos<sup>18</sup> e ainda contém menos impurezas em relação ao 1,3-PDO sintetizado quimicamente.<sup>12</sup>



**Figura 3.** Produção química do 1,3-propanodiol através da desidratação/hidrogenação do glicerol (adaptado de ten Dan e Hanefeld)<sup>15</sup>

Em 2007, as empresas DuPont Tate & Lyle Bio Products iniciaram a produção do 1,3-propanodiol empregando *Escherichia coli* geneticamente modificada. Esta bactéria foi clonada com os genes de *Saccharomyces cerevisiae* para produzir glicerol a partir de glicose e com os genes de *Klebsiella pneumoniae* para converter o glicerol em 1,3-PDO. Dessa forma, *E. coli* recombinante passou a produzir glicerol a partir de glicose de milho e 1,3-PDO a partir do glicerol intracelularmente acumulado. O 1,3-PDO da DuPont recebeu a denominação comercial Bio-PDO™, cuja fábrica está localizada em Loudon, Tennessee, EUA, sendo a primeira fábrica a produzir 1,3-PDO em escala comercial a partir de fonte renovável. O Bio-PDO está disponível em duas formas: Zemea® e Susterra®. O Zemea® é o 1,3-PDO com maior pureza, não causando irritação ou sensibilização da pele, destinado a aplicações em produtos de higiene e cosméticos, podendo substituir o propileno glicol, o butileno glicol ou a glicerina. O Susterra® é o 1,3-PDO de grau industrial, utilizado na indústria de poliuretanos e também destinado a aplicações como descongelante e anticongelante, entre outras possíveis aplicações.<sup>19</sup>

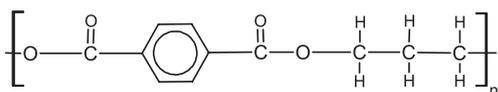
As propriedades físico-químicas do 1,3-PDO são apresentadas na Tabela 1. Como composto bifuncional, este pode ser utilizado em muitas das mesmas aplicações poliméricas em que atualmente são empregados outros dióis de baixa massa molecular, tais como o etileno glicol, o propileno glicol, o 1,3-butanodiol e o 1,4-butanodiol.<sup>20</sup> O 1,3-PDO é considerado uma substância segura para a saúde, apresentando baixa toxicidade. Em estudo feito com cobaias, o 1,3-PDO aparentemente não apresenta significativo risco à saúde por inalação do vapor ou de mistura de vapor/aerosol.<sup>21</sup>

**Tabela 1.** Propriedades físico-químicas do 1,3-propanodiol

Nome IUPAC	Propan-1,3-diol
Outros nomes	1,3-propanodiol, trimetilenoglicol, 1,3-di-hidroxi-propano
Número CAS	504-63-2
Fórmula molecular	C <sub>3</sub> H <sub>8</sub> O <sub>2</sub>
Solubilidade em água	100 g L <sup>-1</sup>
Massa molar	76.09 g mol <sup>-1</sup>
Temperatura de ebulição	210-212 °C
Temperatura de fusão	-28 °C
Índice de refração	1,436 (20 °F)
Densidade	1,0597 g cm <sup>-3</sup>
Calor específico	0,53 BTU/lb/°F
Viscosidade	52 cp
Temperatura de fulgor	131 °C
Temperatura de autoignição	405 °C
Pressão de vapor	0,08 mmHg

Fonte: MSDS. Condições padrão: 25 °C e 1 bar (100 KPa).

O 1,3-PDO é utilizado na produção de cosméticos, como anti-congelante e como fluido para transferência de calor, bem como base em soluções para refrigeração de motores que requerem estabilidade em ampla escala de temperaturas. Pode ser utilizado na fabricação de resinas baseadas em poliésteres e *cross linker* na química do uretano, em áreas como a automotiva, engenharia de polímeros, fibras e revestimentos.<sup>22</sup> Uma das principais aplicações do 1,3-PDO é na produção do polímero polipropileno tereftalato (PPT), também denominado politrimetileno tereftalato (PTT) ou 3GT (glicol de 3 carbonos/tereftalato). Após a descoberta do polietileno tereftalato (PET) por Whinfield e Dickson em 1941, muitos outros poliésteres aromáticos foram sintetizados e estudados. Entre estes, o PET e o polibutileno tereftalato (PBT) são produzidos e comercializados há mais de 50 anos, enquanto que o PPT começou a ser comercializado apenas recentemente.<sup>23</sup> A escassez e o alto custo do 1,3-PDO impediram a produção do PPT em escala comercial, uma realidade que só começou a mudar após o desenvolvimento de rotas químicas para a síntese do 1,3-PDO, que possibilitou sua produção de forma abundante e a custo industrialmente viável. O PPT (Figura 4) é obtido a partir da condensação entre 1,3-propanodiol e ácido tereftálico. Em 1995, a Shell apresentou o polímero Corterra®, denominação comercial do PPT, criando uma nova demanda pelo 1,3-PDO.



**Figura 4.** Polipropileno tereftalato (PPT), polímero produzido pela condensação entre o 1,3-propanodiol e o ácido tereftálico

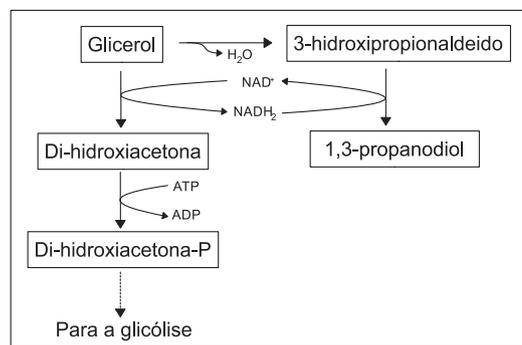
O PPT é um polímero relacionado ao PET, produzido a partir do óxido de etileno (etileno glicol), e ao PBT, produzido a partir do 1,4-butanodiol.<sup>24</sup> No entanto, as características físico-químicas fazem do PPT um polímero com melhores propriedades do que os polímeros produzidos a partir de 1,2-propanodiol, butanodiol ou etileno glicol,<sup>25</sup> como o PBT e o PET. Uma característica diferencial que confere propriedades únicas ao PPT é o número ímpar de carbonos do 1,3-PDO,<sup>26,27</sup> diferentemente dos intermediários do PET e do PBT que contém número par de carbonos. O PPT apresenta melhor resiliência, maior facilidade de coloração e melhores propriedades elásticas. Ainda, o PPT é resistente à descoloração (lavagens sucessivas) e à estática, podendo ser utilizado em áreas tão distintas como carpetes, vestuário, têxtil, termoplásticos de engenharia e monofilamentos. Para aplicações na indústria de vestuários, as características que fazem do PPT um polímero interessante incluem maciez, elasticidade e coloração duradoura.

A primeira planta produtora do polipropileno tereftalato (Corterra®) em escala comercial, com capacidade para produzir 95.000 toneladas métricas por ano, foi a Poly Canada, localizada em Montreal e inaugurada em 2004, uma *joint venture* entre a Shell Chemicals Canada Ltd. e a Societé Générale de Financement du Quebec. Esta empresa encerrou suas atividades em março de 2009, devido à redução da demanda provocada pela crise econômica mundial.<sup>28</sup> No final de 2009, a Poly Canadá foi adquirida por um grupo português, visando adaptar a fábrica para a produção de PET tradicional.<sup>29</sup> O 1,3-PDO produzido pela Shell, utilizado na produção do Corterra®, utiliza o óxido de etileno derivado do petróleo.<sup>12</sup> As pesquisas e melhorias nos processos fermentativos para a produção do 1,3-PDO podem fazer com que este se torne mais competitivo em relação ao 1,3-PDO derivado de fonte fóssil, principalmente com o emprego de uma fonte abundante e de baixo custo como o glicerol. A DuPont produz o PPT sob a denominação comercial Sorona®, em Decatur, Illinois, EUA, a partir do 1,3-PDO (Susterra®) obtido pela fermentação da glicose de milho<sup>9</sup> por *Escherichia coli* recombinante.

## Produção biotecnológica do 1,3-propanodiol

Os únicos microrganismos naturalmente capazes de produzir 1,3-PDO até agora identificados pertencem ao grupo das bactérias,<sup>10</sup> utilizando exclusivamente o glicerol como fonte de carbono,<sup>11</sup> não se conhecendo quaisquer microrganismos capazes de converter, diretamente, açúcares a 1,3-PDO.<sup>24</sup> Alguns microrganismos recombinantes para a produção de 1,3-PDO foram obtidos introduzindo genes para a conversão de açúcares em glicerol, que posteriormente pode ser convertido em 1,3-PDO,<sup>30,31</sup> ou introduzindo os genes da via propanodiolica em microrganismos naturalmente incapazes de produzi-lo.<sup>30,32,33</sup>

Entre as bactérias capazes de converter glicerol em 1,3-PDO estão algumas espécies de *Lactobacillus*,<sup>34,35</sup> *Enterobacter agglomerans*,<sup>36-38</sup> *Citrobacter freundii*,<sup>39-42</sup> *Klebsiella pneumoniae*,<sup>20</sup> e *Clostridium*,<sup>43-48</sup> sendo estas duas últimas as mais estudadas. A utilização microbiana do glicerol requer uma via oxidativa e outra redutora. A via oxidativa é catalisada pelas enzimas glicerol desidrogenase, que converte glicerol em di-hidroxiacetona, e di-hidroxiacetona cinase, que fosforila este substrato a di-hidroxiacetona-fosfato, que canalizado para a via glicolítica, gera ATP e equivalentes redutores (NADH). A via redutora é catalisada pelas enzimas glicerol desidratase, que remove uma molécula de H<sub>2</sub>O do glicerol, convertendo-o em 3-hidroxiacetaldeído, e 1,3-propanodiol oxirredutase, que reduz 3-HPA a 1,3-propanodiol,<sup>8</sup> regenerando os NADH gerados na via oxidativa (Figura 5). Como o glicerol é mais reduzido do que o material celular, durante a formação de biomassa é gerado NADHs adicionais, que podem ser utilizados na produção extra de 1,3-PDO.<sup>10</sup> Em *Escherichia coli* existe outra 1,3-propanodiol oxidoreductase, codificada pelo gene *yqhD*, que converte 3-HPA a 1,3-PDO.<sup>31</sup> Uma enzima semelhante foi descrita em *K. pneumoniae* por Seo *et al.*<sup>49,50</sup>



**Figura 5.** Esquema da produção microbiana do 1,3-propanodiol. A via oxidativa produz energia (ATP) e os equivalentes redutores (NADH). Parte dos NADH são reoxidados na via redutora, possibilitando o crescimento microbiano em glicerol e produzindo 1,3-propanodiol

A enzima glicerol desidratase (GDHt, E.C.4.2.1.3.0) requer coenzima B<sub>12</sub> (adenosilcobalamina) para converter glicerol em seu aldeído correspondente.<sup>51-53</sup> A descoberta de uma GDHt em *C. butyricum* que não requer coenzima B<sub>12</sub> foi descrita em 2003 por Raynaud *et al.*,<sup>54</sup> possibilitando o desenvolvimento de um processo mais econômico para a produção de 1,3-PDO a partir de fontes renováveis, eliminando a necessidade de adicionar essa vitamina ao meio de fermentação. Diferente da GDHt de *C. pasteurianum*, a enzima de *C. butyricum* não apresenta homologia com outras GDHts, todas dependentes de vitamina B<sub>12</sub>.<sup>55</sup>

Durante a fermentação do glicerol, as culturas que apresentam maior rendimento em 1,3-PDO são as que produzem somente ácido acético como coproduto, além de CO<sub>2</sub> e H<sub>2</sub>, convertendo 64% do glicerol consumido em 1,3-PDO. Ao contrário, se as duas moléculas

de NADH produzidas durante a formação de uma molécula de piruvato forem utilizadas na formação de etanol ou butanol, o rendimento do 1,3-PDO é menor, aumentando a produção de biomassa. O rendimento de 1,3-PDO pode ainda ser melhorado reduzindo-se a evolução de  $H_2$ .<sup>10</sup>

As espécies de *Clostridium* produzem principalmente 1,3-PDO e ácido butírico a partir do glicerol.<sup>48,56</sup> *C. pasteurianum* produz relativamente grande variedade de produtos, incluindo butanol, etanol, 1,3-PDO, ácidos butírico, acético e láctico. Os principais coprodutos são o butanol e etanol, provavelmente devido ao maior rendimento energético proporcionado por estas vias. Em cultura contínua com excesso de nutrientes, 1,3-PDO e ácido láctico são os principais produtos da fermentação.<sup>57</sup> Segundo Zeng *et al.*, a preferência por determinada via metabólica depende da fonte do nutriente limitante. Se a fonte de carbono é limitante, será utilizada a via que rende o máximo de energia, ou seja, a via do ácido butírico em *C. butyricum* e a via do etanol em *Klebsiella pneumoniae*, em detrimento da via do 1,3-PDO e do ácido acético.<sup>58</sup>

Segundo Petitdemange *et al.*,<sup>48</sup> diversos isolados de *C. butyricum* obtidos de coleções de cultura não crescem em glicerol bruto. No entanto, estes autores isolaram algumas cepas que convertem glicerol bruto principalmente a 1,3-PDO. O isolado *C. butyricum* E5 foi muito resistente a altos níveis de glicerol e 1,3-propanodiol. Utilizando 109 g de glicerol bruto  $L^{-1}$ , em batelada alimentada, obteve-se 58 g de 1,3-PDO  $L^{-1}$ , 2,2 g de acetato  $L^{-1}$  e 6,1 g de ácido butírico  $L^{-1}$ ,<sup>48</sup> resultados semelhantes aos de Biebl *et al.*,<sup>46</sup> que obtiveram um isolado de *Clostridium* (SH1 = DSM 5431) que produziu 56 g de 1,3-PDO  $L^{-1}$  a partir de 110 g de glicerol  $L^{-1}$ . Himmi *et al.*,<sup>25</sup> utilizando *C. butyricum* em fermentação em batelada, obtiveram uma produção de 67 g de 1,3-PDO  $L^{-1}$  a partir de 129 g  $L^{-1}$  de glicerol puro e 65 g de 1,3-PDO  $L^{-1}$  a partir de 121 g de glicerol bruto  $L^{-1}$ .

Visando obter microrganismos capazes de produzir 1,3-PDO sem adição de vitamina  $B_{12}$ , González-Pajuelo *et al.* transformaram *C. acetobutylicum* com genes da via do 1,3-PDO de *C. butyricum*. O recombinante DG1 produziu 1104 mmol  $L^{-1}$  de 1,3-PDO em batelada alimentada, apresentando produtividade maior do que *C. butyricum*. Em cultivo contínuo, a concentração de 1,3-PDO foi de 788 mmol  $L^{-1}$  e a produtividade volumétrica foi de 3 g  $L^{-1} h^{-1}$ .<sup>59</sup> Em meio definido contendo glicerol bruto, *C. butyricum* VPI 3266 produziu 30 g de 1,3-PDO  $L^{-1}$ .<sup>60</sup> Em cultura contínua contendo 60 g de glicerol  $L^{-1}$ , esta bactéria produziu 30 g de 1,3-PDO  $L^{-1}$ , com produtividade de 10,3 g  $L^{-1} h^{-1}$ .<sup>61</sup> Abbad-Andaloussi *et al.* isolaram um mutante de *C. butyricum* (2/2) mais resistente a 1,3-PDO e ao glicerol, obtendo maior produção de biomassa (3,72 g  $L^{-1} = +63\%$ ), maior consumo de glicerol (1.413 mmol  $L^{-1} = +49\%$ ) e maior produção de 1,3-PDO (928 mmol  $L^{-1}$ , 70 g  $L^{-1} = +58\%$ ) em relação à cepa selvagem.<sup>62</sup> Papanikolaou *et al.* avaliaram a fermentação do glicerol por um novo isolado de *C. butyricum*, obtendo 35-48 g de 1,3-PDO  $L^{-1}$ . Utilizando um método de fermentação contínua em dois estágios, a produção de 1,3-PDO foi de 41-46 g  $L^{-1}$ .<sup>63</sup>

Um problema importante em processos fermentativos é a inibição que o substrato e os produtos da fermentação exercem sobre o microrganismo. Segundo Biebl, quando a fonte de carbono está em excesso e existe limitação de um nutriente inorgânico ou inibição por um produto, os metabólitos formados serão aqueles que causam menor inibição, ou seja, 1,3-PDO e ácido acético em detrimento de ácido butírico ou etanol.<sup>57</sup> A fermentação do glicerol por enterobactérias sofre inibição devido ao acúmulo de 3-hidroxipropionaldeído, intermediário da via propanodiolica que é altamente tóxico. A inibição reduz significativamente a atividade biológica e é dependente do pH, não sendo observado com *C. butyricum*.<sup>37,64</sup> De acordo com Barbirato *et al.*, na fermentação de 220 mmol  $L^{-1}$  de glicerol, as bactérias *E. agglomerans*, *K. pneumoniae* e *C. freundii* não acumulam 3-HPA no

meio. Em meio contendo 760 mmol  $L^{-1}$  de glicerol, as duas últimas acumulam 3-HPA de forma transitória, e o glicerol é totalmente consumido.<sup>37</sup>

Visando reduzir o acúmulo de 3-HPA e aumentar o suprimento da coenzima NADH em *K. pneumoniae*, Chen *et al.* avaliaram o efeito da superexpressão dos genes *dhaD* (glicerol desidrogenase, GDH) e *dhaT* (1,3-propanodiol oxidoreductase, PDOR). Nos recombinantes, a atividade das respectivas enzimas foi maior, bem como aumentou a razão entre a atividade enzimática entre PDOR/GHDt e a produção de NADH, com a razão NADH/NAD maior que 1,0. Desta forma, observou-se redução no acúmulo de 3-HPA devido a maior conversão deste em 1,3-PDO. Em comparação com o controle em batelada, o acúmulo de 3-HPA reduziu em 52,2%, enquanto em batelada alimentada, a redução foi de 33,3%, com concentração de 1,3-PDO de 59,2 g  $L^{-1}$ .<sup>65</sup> De acordo com Cheng *et al.*, o efeito inibitório que o substrato e os produtos exercem sobre *K. pneumoniae* são diferentes em anaerobiose ou aerobiose. Em relação ao glicerol, a tolerância é maior em aerobiose (133 g  $L^{-1}$ ) do que em anaerobiose (110 g  $L^{-1}$ ). Em anaerobiose, acetato (15 g  $L^{-1}$ ) é o principal metabólito inibidor, seguido de lactato (19 g  $L^{-1}$ ) e etanol (26 g  $L^{-1}$ ). A tolerância ao 1,3-PDO é de 69 g  $L^{-1}$ . Em aerobiose, a inibição maior ocorre devido ao etanol (17 g  $L^{-1}$ ), seguido de lactato (26 g  $L^{-1}$ ) e acetato (24 g  $L^{-1}$ ), tolerando até 77 g de 1,3-PDO  $L^{-1}$ .<sup>66</sup>

O crescimento de *C. pasteurianum* e *C. butyricum* diminui quando a osmolaridade total do meio aumenta.<sup>62</sup> Em cultura contínua em pH 6,5, o crescimento de *C. butyricum* é totalmente inibido a partir de 60 g de 1,3-PDO  $L^{-1}$ , 27 g de ácido acético  $L^{-1}$  e 19 g de ácido butírico  $L^{-1}$ . Pequena inibição pelo glicerol só é detectável em concentrações acima de 80 g  $L^{-1}$ .<sup>67</sup> Segundo Colin *et al.*, em batelada alimentada, a produção de 1,3-PDO aumenta linearmente com a concentração inicial de glicerol (20 a 140 g  $L^{-1}$ ), atingindo máximo de 63,7 g de 1,3-propanodiol  $L^{-1}$ . A produção é fortemente reduzida com 150 g de glicerol  $L^{-1}$  e inexistente com 160 g  $L^{-1}$ . No entanto, *C. butyricum* CNCM 1211 pode tolerar até 83,7 g de 1,3-PDO  $L^{-1}$ , cujo efeito inibitório é atribuído a função diol.<sup>68</sup>

A bactéria *Klebsiella pneumoniae* utiliza glicerol tanto em aerobiose quanto em anaerobiose.<sup>69</sup> Em aerobiose é utilizada a via do regulon *glp*, na qual uma cinase ATP-dependente fosforila o glicerol a glicerol-3-fosfato, que é convertido em di-hidroxiacetona-fosfato.<sup>70</sup> De acordo com Forage e Lin, o regulon *dha* é induzido em anaerobiose independentemente da concentração de glicerol. Em aerobiose, esta via só é induzida com alta concentração de glicerol, pois em baixa concentração, o regulon *glp* será induzido.<sup>71</sup> Com o objetivo de avaliar as melhores condições para a produção de 1,3-PDO por *K. pneumoniae*, diferentes abordagens já foram estudadas. Oh *et al.* aplicaram a metodologia de superfícies de resposta para encontrar as condições otimizadas para a bioconversão do glicerol em 1,3-PDO, obtendo em batelada, 13,8 g de 1,3-PDO  $L^{-1}$ , a partir de 35 g de glicerol  $L^{-1}$ , em pH 7,37 e 36,88 °C.<sup>72</sup>

Em estudo teórico sobre a bioconversão do glicerol em 1,3-propanodiol por *K. pneumoniae*, Chen *et al.*, concluem que a produção de 1,3-PDO em microaerobiose é favorecida em relação a anaerobiose ou aerobiose. O rendimento máximo teórico de 1,3-PDO a partir de glicerol poderia chegar a 0,85 mol  $mol^{-1}$ , em vez de 0,72 mol  $mol^{-1}$  (0,60 g/g), se todo o acetyl-CoA entrasse no ciclo dos ácidos tricarbóxicos em detrimento da via do ácido acético, como ocorre em condições anaeróbicas. A concentração final e o rendimento de 1,3-PDO em microaerofilia se aproximam dos valores encontrados sob anaerobiose, com menor produção de etanol, além de ocorrer em tempo muito menor em relação à fermentação anaeróbica.<sup>73</sup> Por exemplo, durante a fermentação microaerófila em batelada, com duração de 6 h e 40 g de glicerol  $L^{-1}$ , *K. pneumoniae* DSM 2026 produziu 17,65 g de 1,3-PDO  $L^{-1}$ , com produtividade de 2,94 g  $L^{-1} h^{-1}$ .

Em batelada alimentada e microaerofilia, a produção de 1,3-PDO foi 59,50 g L<sup>-1</sup> e a produtividade foi de 1,57 g L<sup>-1</sup> h<sup>-1</sup>. A produtividade em microaerofilia foi quase o dobro em relação à fermentação anaeróbica.

Cheng *et al.* avaliaram a fermentação por *K. pneumoniae* em anaerobiose/aerobiose, observando que a formação de biomassa é maior à medida que se aumenta a aeração, com mais substrato canalizado para a via oxidativa, reduzindo o rendimento de 1,3-PDO. Na presença de O<sub>2</sub>, houve certa inibição na produção de acetato e de etanol, acumulando ácido láctico e 2,3-butanodiol, uma resposta à maior demanda pelos equivalentes redutores e por energia. A alteração de anaerobiose/aerobiose não beneficiou a produção de 1,3-PDO, porém reduziu a inibição provocada pelo ácido acético e pelo etanol, que podem afetar adversamente a fermentação do glicerol. Nesse estudo, estes autores obtiveram 70 g de 1,3-PDO L<sup>-1</sup> e 16 g de 2,3-butanodiol L<sup>-1</sup>.<sup>74</sup>

Ma *et al.* investigaram a produção de 1,3-PDO por *Klebsiella pneumoniae* XJPD-Li em diferentes condições de aeração a partir de 20 g de glicerol L<sup>-1</sup>. Em anaerobiose, a produção de 1,3-PDO foi 13,44 g L<sup>-1</sup>, enquanto que sem aeração, obteve-se 11,55 g L<sup>-1</sup>. Em aerobiose observou-se apenas 8,73 g de 1,3-PDO L<sup>-1</sup>, apresentando o menor rendimento e a maior produção de biomassa entre as três condições avaliadas. Em batelada alimentada, a concentração final de 1,3-PDO foi de 60,82 g L<sup>-1</sup> em anaerobiose, de 56,43 g L<sup>-1</sup> sem aeração e de 65,26 g L<sup>-1</sup> em aerobiose. Os autores concluem que a produção semelhante em anaerobiose e em aerobiose pode ser benéfica em aplicações industriais, reduzindo custos em relação à fermentação anaeróbica.<sup>75</sup>

Uma abordagem utilizada para melhorar a produção biotecnológica de determinado metabólito é reduzir ou eliminar a formação de coprodutos que concorrem diretamente com o produto de interesse. Objetivando reduzir a formação de 2,3-BDO (produzido entre os pHs 5,0-6,5) e ácido láctico (produzido entre os pHs 7,1-8,0), Ji *et al.* avaliaram o efeito da oscilação do pH durante a fermentação em batelada alimentada por *K. pneumoniae*. A produção de 1,3-PDO foi de 70,0 g L<sup>-1</sup>, apresentando baixa produção desses coprodutos.<sup>76</sup> A produção de etanol durante a fermentação propanodiólica por *K. pneumoniae* reduz a produção de 1,3-PDO, pois a primeira etapa da fermentação etanólica utiliza acetil-CoA, catalisada pela enzima aldeído desidrogenase, que compete com 1,3-propanodiol oxidorreductase pelo cofator NADH. Para eliminar a formação de etanol, Zhang *et al.* inativaram o gene aldeído desidrogenase de *K. pneumoniae*, obtendo produção final igual a 927,6 mmol L<sup>-1</sup>, resultados melhores em relação à cepa parental.<sup>77</sup>

O emprego de células ou enzimas imobilizadas apresentam muitas vantagens em fermentações, como maior produtividade e a simplificação do processo biotecnológico. Zhao *et al.*<sup>78</sup> avaliaram a conversão contínua de glicerol em 1,3-PDO utilizando *K. pneumoniae* imobilizada em microcápsulas de sulfato de sódio celulose/cloroeto de poli-dimetil-dialil-amônio. Em batelada, a produção foi de 63,1 g de 1,3-PDO L<sup>-1</sup>. Em batelada alimentada, a atividade das células encapsuladas permaneceu por 67 h, produzindo 51,86 g de 1,3-PDO L<sup>-1</sup>. Em outro estudo de imobilização, Jun *et al.*<sup>79</sup> avaliaram a produção de 1,3-PDO a partir de glicerol bruto utilizando, além de células em suspensão, células imobilizadas em poliuretano hidrofóbico poroso em reator de leito fixo. Em batelada alimentada, a produção de 1,3-PDO foi mais efetiva a partir de glicerol bruto do que a partir de glicerol puro, com produtividade de 1,51 g L<sup>-1</sup> h<sup>-1</sup> versus 0,84 g L<sup>-1</sup> h<sup>-1</sup>, respectivamente. Foi obtido mais de 80 g de 1,3-PDO L<sup>-1</sup>, a maior produção já relatada utilizando glicerol bruto por *K. pneumoniae*. No trabalho de Mu *et al.*<sup>80</sup> utilizando glicerol bruto, a concentração de 1,3-PDO foi de 51,3-53 g L<sup>-1</sup>. Apesar de apresentar produção inferior ao glicerol puro (61,9 g L<sup>-1</sup>), a produtividade semelhante entre glicerol puro e bruto indica que este último pode ser diretamente utilizado sem

qualquer tratamento prévio, simplificando o processo e reduzindo os custos operacionais.

A maioria dos estudos de produção biotecnológica do 1,3-PDO foram feitos em escala laboratorial. Liu *et al.*<sup>81</sup> avaliaram a fermentação microaerófila em batelada, até 1,0 m<sup>3</sup>, obtendo 72 g de 1,3-PDO L<sup>-1</sup>, resultados próximos aos obtidos sob anaerobiose (75 g L<sup>-1</sup>). Em outro estudo em escala piloto com *K. pneumoniae*, utilizando reatores de 5.000 l e batelada alimentada, a produção de 1,3-PDO foi de 58,8 g L<sup>-1</sup>, com produtividade de 0,92 g L<sup>-1</sup> h<sup>-1</sup>.<sup>82</sup> Já Zheng *et al.*<sup>83</sup> obtiveram 66,8 g de 1,3-PDO L<sup>-1</sup> em reatores de 500 l e 63,3 g L<sup>-1</sup> em reatores de 50.000 l.

### Purificação do 1,3-propanodiol

Após a fermentação, o meio contém diversas substâncias que devem ser separadas do produto de interesse. De modo geral, estas substâncias se encontram bastante diluídas em água, em meio contendo nutrientes residuais, sais e outros produtos da fermentação (etanol, 2,3-butanodiol, succinato, lactato, acetato, formato, etc), células microbianas e macromoléculas como proteínas, ácidos nucleicos e polissacarídeos. Essas impurezas devem ser separadas do produto de interesse, sendo esta uma das etapas mais onerosas em sistema fermentativo, podendo representar mais de 50% do custo total.<sup>84,85</sup> Os custos para a purificação são ainda maiores quando a substância de interesse deve ser obtida em alto grau de pureza. Considerando a baixa volatilidade e propriedades hidrofílicas do 1,3-PDO, a recuperação deste diol a partir do mosto complexo e diluído é crítica para o desenvolvimento de processos comercialmente viáveis.<sup>86</sup> Segundo Xiu e Zeng,<sup>84</sup> as maiores dificuldades em desenvolver processos eficientes para separar o 1,3-PDO do mosto estão relacionadas com a alta hidrofobicidade do 1,3-propanodiol, ao alto ponto de ebulição (214 °C em pressão atmosférica)<sup>87</sup> e a complexidade do meio fermentado. Por exemplo, a semelhança entre os pontos de ebulição do 1,3-PDO e do 2,3-BDO representa um obstáculo a mais para a purificação do 1,3-propanodiol.<sup>49,84</sup> A purificação do 1,3-PDO representa uma mudança tecnológica e permanece como um obstáculo econômico para uma produção microbiana eficiente; desse modo, o desenvolvimento de um processo de purificação para o 1,3-PDO em larga escala, que seja simples e economicamente viável poderá representar um dos avanços mais importantes para a bioconversão microbiana do glicerol em 1,3-PDO, agregando valor ao biodiesel.<sup>88</sup>

Na Tabela 2 são apresentadas as etapas para purificação do 1,3-PDO propostas por Xiu e Zeng.<sup>84</sup> As células microbianas podem ser removidas por um ou mais métodos, incluindo centrifugação, filtração em membrana ou floculação.<sup>84</sup> Segundo Hao *et al.*,<sup>26</sup> primeiro devem ser removidas impurezas tais como proteínas e fragmentos de células, que podem provocar emulsificação durante a extração. O 1,3-propanodiol pode ser purificado por diversos métodos diferentes, tais como extração reativa, extração líquido-líquido, evaporação, destilação, filtração em membrana, pervaporação e cromatografia de troca iônica.<sup>9,84</sup> A destilação pode ser utilizada para separar o 1,3-PDO do glicerol, no entanto, ambos os compostos têm alto ponto de ebulição, exigindo muita energia para a separação.<sup>85,89,90</sup>

Segundo Malinowski,<sup>86</sup> a substituição das técnicas convencionais de destilação por técnicas de extração por solventes, mais eficientes energeticamente, pode reduzir significativamente o custo de separação do produto. Malinowski<sup>91</sup> avaliou a extração líquido-líquido do 1,3-PDO diluído em solução aquosa, concluindo que a distribuição do 1,3-PDO em solventes de extração mostra-se insuficiente para uma purificação simples e eficiente, necessitando de outras estratégias para resolver o problema de separação desta substância em sistema aquoso diluído. Outra possibilidade para lidar com este problema é converter o 1,3-PDO em uma substância sem grupos hidroxila e

**Tabela 2.** Etapas para a purificação do 1,3-propanodiol

Etapa	Objetivo	Processos
1a. etapa	Pré-tratamento	Ajuste do pH por adição de base Adição de um floculante (quitosana, poli(acrilamida))
	Remoção das células microbianas	Filtração em membranas Centrifugação
2a. etapa	Remoção das impurezas e separação primária do 1,3-PDO	Evaporação: remoção da água, etanol e ácido acético Eletrodialise: dessalinização Cristalização: remoção de proteínas e sais Extração por solventes e extração reativa, cromatografia de troca iônica, adsorção (carvão ativado, peneira molecular), pervaporação (membrana de zeólitas)
3a. etapa	Purificação final	Destilação a vácuo Cromatografia líquida preparativa

Adaptado de Xiu e Zeng, (2008).

então recuperá-lo pelo método de extração líquida,<sup>86</sup> método denominado extração reativa.<sup>92</sup> Malinowski<sup>91</sup> avaliou também o processo de extração reativa combinando reação reversível do 1,3-propanodiol com acetaldeído, convertendo-o a 2-metil-1,3-dioxano, com extração simultânea do produto por solvente orgânico. O rendimento do dioxano foi 91-92%, a conversão total do 1,3-propanodiol foi de aproximadamente 98%, e a recuperação do dioxano no extractante orgânico (o-xileno, tolueno ou etilbenzeno) foi de 75%. O 1,3-PDO é obtido no final do processo por hidrólise do 2-metil-dioxano.

Li *et al.*<sup>93</sup> avaliaram o efeito que a estrutura de membranas de zeólita exerce sobre a separação entre 1,3-propanodiol e glicerol e entre glicose por pervaporação. As membranas de zeólita apresentam o potencial de separar continuamente e simultaneamente misturas de moléculas por adsorção e por peneira molecular, devido aos poros de tamanho molecular da zeólita, apresentando vantagens sobre materiais poliméricos, tais como melhor estabilidade química e térmica. Membranas de zeólita de Na-ZSM-5 foram efetivas em separar 1,3-PDO de glicerol glicose em água por pervaporação.<sup>89</sup> De acordo com Xiu e Zeng,<sup>84</sup> nenhum método isoladamente tem se mostrado adequado, e melhorias devem ser feitas visando maior rendimento, maior pureza e diminuição no consumo de energia.

Hao *et al.*<sup>26</sup> avaliaram a floculação, a extração reativa e a destilação reativa. Entre vários métodos de precipitação, a floculação é importante em separações sólido-líquido, pois remove a maior parte do material sólido e parte das proteínas solúveis. Neste estudo, a concentração de proteínas solúveis foram reduzidas utilizando quitosana (150 ppm) em combinação com poli(acrilamida) (70 ppm). O 1,3-propanodiol e outros alcoóis foram extraídos reagindo-os com butiraldeído. Posteriormente, os acetais produzidos foram hidrolisados em coluna de destilação reativa, utilizando resinas de troca catiônica fortemente ácidas como catalisador. O produto final obtido foi uma mistura de 1,3-propanodiol (407 g L<sup>-1</sup>), 2,3-butanodiol (252 g L<sup>-1</sup>), glicerol (277 g L<sup>-1</sup>) e glicerol acetal (146 g L<sup>-1</sup>). Segundo os autores, como o ponto de ebulição do 1,3-PDO, do 2,3-BDO e do glicerol são diferentes, as substâncias podem ser separada pelo método tradicional de destilação a vácuo.

Durante a fermentação, o acúmulo de subprodutos como o ácido acético e o ácido láctico inibem o crescimento bacteriano. Portanto, para neutralizar os ácidos orgânicos, é adicionado hidróxido de potássio, formando sais orgânicos no meio de fermentação. Durante a purificação do 1,3-PDO, a existência destes sais resulta em alto consumo de energia e perda de 1,3-PDO.<sup>94,95</sup> Gong *et al.*<sup>94</sup> empregaram eletrodialise para remover sais orgânicos e inorgânicos do caldo de fermentação contendo 1,3-PDO, concluindo que 90% destes sais podem ser assim removidos com pequena perda (cerca de 6%) do 1,3-PDO no processo. A condutividade de oito tipos de membranas de troca iônica comerciais e os coeficientes de difusão

de solutos neutros através destas membranas foi estudada por Gong *et al.*<sup>95</sup> que avaliaram a dessalinização do meio pela eletrodialise. À medida que aumenta a condutividade das membranas de troca aniônica, o tempo de operação necessário torna-se mais curto e a eficiência de dessalinização é maior. Ao considerar a condutividade da membrana e o coeficiente de difusão de solutos neutros através destas em conjunto, chegou-se às melhores membranas de troca aniônica e catiônica para a dessalinização do caldo de fermentação contendo 1,3-PDO. Impurezas como macromoléculas e sais representam um problema para a purificação do 1,3-PDO.<sup>92</sup> A desnaturação de macromoléculas faz com que o caldo se torne muito viscoso e os sais sejam cristalizados após a condensação, o que leva a baixa efetividade de evaporação. Apesar de a eletrodialise poder ser utilizada para remover macromoléculas e sais do meio, ela tem limitações em escala industrial devido à alta contaminação das membranas e ao consumo de energia. Para contornar estes problemas, foi apresentado um novo método para remoção destas impurezas. A ultrafiltração foi inicialmente aplicada para remover células (99%), proteínas (89,4%) e ácidos nucleicos (69%) de modo efetivo e simples. Após condensar o caldo por destilação a vácuo, etanol 95% foi adicionado para remover eficientemente as macromoléculas, sais inorgânicos e orgânicos. Finalmente, o sobrenadante total foi destilado, e o 1,3-PDO coletado.

Cho *et al.*<sup>96</sup> utilizaram um método envolvendo separação por fase e cromatografia. Primeiro, glicerol e glicose foram removidos (obtidos na fase inferior) de uma mistura contendo 1,3-PDO, 1,2-PDO, glicerol e glicose (presentes no meio de fermentação quando se emprega microrganismos geneticamente modificados). Os dióis presentes na fase superior foram então separados por cromatografia em sílica-gel, obtendo-se 1,3-PDO com 98% de pureza e rendimento de 82%. Li *et al.*<sup>87</sup> utilizaram um sistema de extração aquosa em duas fases, composto de solventes hidrofílicos (etanol) e sais inorgânicos (sulfato de amônio). Em sistema composto de 46% (v/v) de etanol e sulfato de amônio saturado, estes autores obtiveram 93,7% de recuperação do 1,3-PDO, ao mesmo tempo em que coprodutos como 2,3-butanodiol e acetoína também foram extraídos com alta eficiência, e ainda, as células microbianas (99,7%) e as proteínas (79%) foram simultaneamente removidas do mosto.

Saxena *et al.*<sup>9</sup> mencionam uma nova técnica para a purificação de 1,3-propanodiol, em três etapas, sendo que o 1,3-PDO pode ser recuperado com rendimento de 98%, nas seguintes etapas: a) remoção de proteínas, b) concentração do caldo de fermentação e c) separação de 1,3-propanodiol por cromatografia. Segundo estes autores, o método é mais barato que os métodos atualmente disponíveis. Foi utilizado um composto mais barato do que a quitosana para a remoção de proteínas, e a destilação a vácuo foi usada para a concentração do caldo, que foi posteriormente purificado por cromatografia. A

purificação de 1,3-PDO ainda representa um desafio tecnológico e um obstáculo econômico para produção microbiana eficiente. Deste modo, é necessário desenvolver um processo simples de purificação e que seja economicamente viável, possibilitando a produção microbiana do 1,3-propanodiol em larga escala.<sup>9</sup> Recentemente, um novo processo de purificação do 1,3-propanodiol foi descrito.<sup>88</sup> Foi utilizado microfiltração para remover 98,7% das células e tratamento com carvão vegetal para remover proteínas solúveis e outras impurezas. Posteriormente, sais inorgânicos foram cristalizados por destilação a vácuo e finalmente o 1,3-propanodiol foi purificado por cromatografia em gradiente usando sílica gel como fase estacionária e clorofórmio-metanol como fase móvel, atingindo 75,47% de eficiência na purificação do 1,3-PDO com 98% de pureza. Segundo os autores, o método proposto faz uso de equipamentos simples e de fácil manutenção, barateando os custos de purificação em relação a outros métodos, podendo contribuir para solucionar um dos pontos críticos para a produção microbiana do 1,3-propanodiol.

### CONSIDERAÇÕES FINAIS E PERSPECTIVAS

O interesse industrial pelo 1,3-propanodiol é recente e foi impulsionado após o desenvolvimento do processo de síntese química desse diol, o que possibilitou sua produção economicamente viável, criando uma demanda pelo mesmo. A síntese química do 1,3-PDO depende de derivados do petróleo, cujos preços tem apresentado alta instabilidade e vem se mantendo em patamares muito altos; aliado ao fato de os combustíveis fósseis não serem renováveis, o interesse pela produção biotecnológica do 1,3-PDO recebeu um grande impulso devido ao excesso de glicerol gerado como subproduto das indústrias de biodiesel. A bioconversão microbiana do glicerol apresenta excelentes perspectivas, sendo uma alternativa viável e ambientalmente correta ao possibilitar a substituição da matéria-prima fóssil por fonte renovável. Apresenta ainda a vantagem de ser produzido a partir de um subproduto das biorrefinarias de biodiesel, valorizando a cadeia produtiva deste biocombustível.

O Brasil, em relação a outros países, apresenta grandes vantagens na implantação da produção biotecnológica do 1,3-PDO, devido à possibilidade de adaptação das usinas de etanol para fermentação do glicerol, se beneficiando da infraestrutura existente para a produção deste biocombustível no país. Como a safra de cana dura apenas parte do ano, as usinas de etanol permanecem paradas durante a entressafra, mantendo custos com manutenção. O glicerol poderia ser armazenado durante a safra da cana-de-açúcar para ser fermentado durante a entressafra, possibilitando manutenção de empregos durante todo o ano e produzindo um intermediário químico com mercado amplo e crescente. O Brasil apresenta *know-how* em fermentações em grande escala, adquirido através de décadas de produção e uso do etanol combustível, estando em melhores condições tecnológicas que outros países para implementar a cadeia de produção do 1,3-propanodiol através da fermentação do glicerol.

### AGRADECIMENTOS

Ao Banco do Nordeste do Brasil (BNB) e à Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado da Bahia (FAPESB) pelo suporte financeiro.

### REFERÊNCIAS

1. [http://www.braskem.com.br/site/portal\\_braskem/pt/sala\\_de\\_imprensa/sala\\_de\\_imprensa\\_detalhes\\_10338.aspx](http://www.braskem.com.br/site/portal_braskem/pt/sala_de_imprensa/sala_de_imprensa_detalhes_10338.aspx), acessada em Agosto 2011.
2. Farias, L. A.; Fávaro, D. I. T.; *Quim. Nova* **2011**, *34*, 1089.
3. Lenardão, E. D.; Freitag, R. A.; Dabdoub, M. J.; Batista, A. C. F.; Silveira, C. C.; *Quim. Nova* **2003**, *26*, 123.
4. Silva, F. M.; Lacerda, P. S. B.; Jones Jr., J.; *Quim. Nova* **2005**, *28*, 103.
5. Prado, A. G. S.; *Quim. Nova* **2003**, *26*, 738.
6. Zhou, C.-H. C.; Beltrami, J. N.; Fan, Y.-X.; Lu, G. Q. M.; *Chem. Soc. Rev.* **2008**, *37*, 527.
7. Zheng, Y.; Chen, X.; Shen, Y.; *Chem. Rev.* **2008**, *108*, 5253.
8. da Silva, G. P.; Mack, M.; Contiero, J.; *Biotechnol. Adv.* **2009**, *27*, 30.
9. Saxena, R. K.; Anand, P.; Saran, S.; Isar, J.; *Biotechnol. Adv.* **2009**, *27*, 895.
10. Biebl, H.; Menzel, K.; Zeng, A.; Deckwer, W. D.; *Appl. Microbiol. Biotechnol.* **1999**, *52*, 289.
11. Deckwer, W. D.; *FEMS Microbiol. Rev.* **1995**, *16*, 143.
12. Kraus, G. A.; *Clean - Soil Air Water.* **2008**, *36*, 648.
13. Nakagawa, Y.; Tomishige, K.; *Catal. Sci. Technol.* **2011**, *1*, 179.
14. Nakagawa, Y.; Shinmi, Y.; Koso, S.; Tomishige, K.; *J. Catal.* **2010**, *272*, 191.
15. ten Dam, J.; Hanefeld, U.; *ChemSusChem* **2011**, *4*, 1017.
16. Kurosaka, T.; Maruyama, H.; Naribayashi, I.; Sasaki, Y.; *Catal. Commun.* **2008**, *9*, 1360.
17. Oh, J.; Dash, S.; Lee, H.; *Green Chem.* **2011**, *13*, 2004.
18. Lin, R.; Liu, H.; Hao, J.; Cheng, K.; Liu, D.; *Biotechnology Letters* **2005**, *27*, 1755.
19. <http://duponttateandlyle.com/>, acessada em Novembro 2013.
20. Huang, H.; Gong, C. S.; Tsao, G. T.; *Appl. Biochem. Biotechnol.* **2002**, *98*, 687.
21. Scott, R. S.; Frame, S. R.; Ross, P. E.; Loveless, S. E.; Kennedy, G. L.; *Inhalation Toxicol.* **2005**, *17*, 487.
22. <http://www.duponttateandlyle.com/susterra>, acessada em Novembro 2013.
23. Pang, K.; Kotek, R.; Tonelli, A.; *Prog. Polym. Sci.* **2006**, *31*, 1009.
24. Cameron, D. C.; Altaras, N. E.; Hoffman, M. L.; Shaw, A. J.; *Biotechnol. Prog.* **1998**, *14*, 116.
25. Himmi, E. H.; Bories, A.; Barbirato, F.; *Bioresource Technology* **1999**, *67*, 123.
26. Hao, J.; Xu, F.; Liu, H.; Liu, D.; *J. Chem. Technol. Biotechnol.* **2006**, *81*, 102.
27. Smith, J. G.; Kibler, C. J.; Sublett, B. J.; *J. Polym. Sci., Part A: Polym. Chem.* **1966**, *4*, 1851.
28. <http://www.newswire.ca/en/releases/archive/March2009/03/c5216.html>, acessada em Fevereiro 2010.
29. <http://www.newswire.ca/en/releases/archive/December2009/09/c9468.html>, acessada em Fevereiro de 2010.
30. Rao, Z.; Ma, Z.; Shen, W.; Fang, H.; Zhuge, J.; Wang, X.; *J. Appl. Microbiol.* **2008**, *105*, 1768.
31. Nakamura, C. E.; Whited, G. M.; *Curr. Opin. Biotechnol.* **2003**, *14*, 454.
32. Tang, X.; Tan, Y.; Zhu, H.; Zhao, K.; Shen, W.; *Appl. Environ. Microbiol.* **2009**, *75*, 1628.
33. Zhang, X.; Li, Y.; Zhuge, B.; Tang, X.; Shen, W.; Rao, Z.; Fang, H.; Zhuge, J.; *World J. Microbiol. Biotechnol.* **2006**, *22*, 945.
34. Shutz, H.; Radler, F.; *Syst. Appl. Microbiol.* **1984**, *5*, 169.
35. Sobolov, M.; Smiley, K.; *J. Bacteriol.* **1960**, *79*, 261.
36. Barbirato, F.; Soucaille, P.; Bories, A.; *Appl. Environ. Microbiol.* **1996**, *62*, 4405.
37. Barbirato, F.; Grivet, J. P.; Soucaille, P.; Bories, A.; *Appl. Environ. Microbiol.* **1996**, *62*, 1448.
38. Barbirato, F.; Astruc, S.; Soucaille, P.; Camarasa, C.; Salmon, J. M.; Bories, A.; *Microbiology* **1997**, *143*, 2423.
39. Daniel, R.; Boenigk, R.; Gottschalk, G.; *J. Bacteriol.* **1995**, *177*, 2151.
40. Daniel, R.; Stuert, K.; Gottschalk, G.; *J. Bacteriol.* **1995**, *177*, 4392.
41. Seyfried, M.; Daniel, R.; Gottschalk, G.; *J. Bacteriol.* **1996**, *178*, 5793.
42. Seifert, C.; Bowien, S.; Gottschalk, G.; Daniel, R.; *Eur. J. Biochem. FEBS* **2001**, *268*, 2369.
43. Luers, F.; Seyfried, M.; Daniel, R.; Gottschalk, G.; *FEMS Microbiol. Lett.* **1997**, *154*, 337.

44. Saint-Amans, S.; Vasconcelos, I.; Soucaille, P.; *J. Bacteriol.* **2001**, *183*, 1748.
45. Asad-ur-Rehman; Wijesekara, R.; Nomura, N.; Sato, S.; Matsumura, M.; *J. Chem. Technol. Biotechnol.* **2008**, *83*, 1072.
46. Biebl, H.; Marten, S.; Hippe, H.; Deckwer, W. D.; *Appl. Microbiol. Biotechnol.* **1992**, *36*, 592.
47. Heyndrickx, M.; P. de Vos, M.; Vancanneyt, M.; de Ley, J.; *Appl. Microbiol. Biotechnol.* **1991**, *34*, 637.
48. Petitdemange, E.; Dürr, C.; Abbad-Andaloussi, S.; Raval, G.; *J. Ind. Microbiol. Biotechnol.* **1995**, *15*, 498.
49. Seo, M.-Y.; Seo, J.-W.; Heo, S.-Y.; Baek, J.-O.; Rairakhwada, D.; Oh, B.-R.; Seo, P.-S.; Choi, M. H.; Kim, C. H.; *Appl. Microbiol. Biotechnol.* **2009**, *84*, 527.
50. Seo, J. W.; Seo, M.; Oh, B. R.; Heo, S. Y.; Baek, J. O.; Rairakhwada, D.; Luo, L. H.; Hong, W. K.; Kim, C. H.; *Appl. Microbiol. Biotechnol.* **2010**, *85*, 659.
51. Xu, X.; Zhang, G.; Wang, L.; Ma, B.; Li, C.; *J. Mol. Catal. B: Enzym.* **2009**, *56*, 108.
52. Toraya, T.; Honda, S.; Kuno, S.; Fukui, S.; *J. Bacteriol.* **1978**, *135*, 726.
53. Toraya, T.; Kuno, S.; Fukui, S.; *J. Bacteriol.* **1980**, *141*, 1439.
54. Raynaud, C.; Sarçabal, P.; Meynial-Salles, I.; Croux, C.; Soucaille, P.; *PNAS* **2003**, *100*, 5010.
55. Macis, L.; Daniel, R.; Gottschalk, G.; *FEMS Microbiol. Lett.* **1998**, *164*, 21.
56. Forsberg, C. W.; *Appl. Environ. Microbiol.* **1987**, *53*, 639.
57. Biebl, H.; *J. Ind. Microbiol. Biotechnol.* **2001**, *27*, 18.
58. Zeng, A. P.; Ross, A.; Biebl, H.; Tag, C.; Günzel, B.; Deckwer, W. D.; *Biotechnol. Bioeng.* **1994**, *44*, 902.
59. González-Pajuelo, M.; Meynial-Salles, I.; Mendes, F.; Andrade, J. C.; Vasconcelos, I.; Soucaille, P.; *Metab. Eng.* **2005**, *7*, 329.
60. González-Pajuelo, M.; Andrade, J. C.; Vasconcelos, I.; *J. Ind. Microbiol. Biotechnol.* **2004**, *31*, 442.
61. González-Pajuelo, M.; Andrade, J. C.; Vasconcelos, I.; *J. Ind. Microbiol. Biotechnol.* **2005**, *32*, 391.
62. Abbad-Andaloussi, S.; Manginot-Durr, C.; *Appl. Environ. Microbiol.* **1995**, *61*, 4413.
63. Papanikolaou, S.; Ruiz-Sanchez, P.; Pariset, B.; *J. Biotechnol.* **2000**, *77*, 191.
64. Barbirato, F.; Himmi, E.; Conte, T.; Bories, A.; *Ind. Crops Prod.* **1998**, *7*, 281.
65. Chen, Z.; Liu, H.; Liu, D.; *Enzyme Microb. Technol.* **2009**, *45*, 305.
66. Cheng, K. K.; Liu, H. J.; Liu, D.; *Biotechnology Letters* **2005**, *27*, 19.
67. Biebl, H. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* **1991**, *35*, 701.
68. Colin, T.; Bories, A.; Moulin, G.; Paper, O.; *Appl. Microbiol. Biotechnol.* **2000**, *54*, 201.
69. Zhao, L.; Zheng, Y.; Ma, X.; Wei, D.; *Bioprocess Biosyst. Eng.* **2009**, *32*, 313.
70. Ruch, F.; Lengeler, J.; *J. Bacteriol.* **1974**, *119*, 50.
71. Forage, R.; Lin, E.; *J. Bacteriol.* **1982**, *151*, 591.
72. Oh, B.; Seo, J.; Choi, M. H.; Kim, C. H.; *Biotechnol. Bioprocess Eng.* **2009**, *13*, 666.
73. Chen, X.; Zhang, D.-J.; Qi, W.-T.; Gao, S.-J.; Xiu, Z.-L.; Xu, P.; *Appl. Microbiol. Biotechnol.* **2003**, *63*, 143.
74. Cheng, K. K.; Liu, D. H.; Sun, Y.; Liu, W. B.; *Biotechnology Letters* **2004**, *26*, 911.
75. Ma, B. B.; Xu, X. L.; Zhang, G. L.; Wang, L. W.; Wu, M.; Li, C.; *Appl. Biochem. Biotechnol.* **2009**, *152*, 127.
76. Ji, X.-J.; Huang, H.; Zhu, J.-G.; Hu, N.; Li, S.; *Appl. Biochem. Biotechnol.* **2009**, *159*, 605.
77. Zhang, Y.; Li, Y.; Du, C.; Liu, M.; Cao, Z.; *Metab. Eng.* **2006**, *8*, 578.
78. Zhao, Y.-N.; Chen, G.; Yao, S.-J.; *Biochem. Eng. J.* **2006**, *32*, 93.
79. Jun, S.; Moon, C.; Kang, C.-H.; Kong, S. W.; Sang, B.-I.; Um, Y.; *Appl. Biochem. Biotechnol.* **2010**, *161*, 491.
80. Mu, Y.; Teng, H.; Zhang, D.-J.; Wang, W.; Xiu, Z.-L.; *Biotechnology Letters* **2006**, *28*, 1755.
81. Liu, H.-J.; Zhang, D.-J.; Xu, Y.-H.; Mu, Y.; Sun, Y.-Q.; Xiu, Z.-L.; *Biotechnology Letters* **2007**, *29*, 1281.
82. Cheng, K.; Zhang, J.; Liu, D.; Sun, Y.; Liu, H.; Yang, M.; Xu, J.; *Process Biochem.* **2007**, *42*, 740.
83. Zheng, Z.; Guo, N.; Hao, J.; Cheng, K.; Sun, Y.; Liu, D.; *Process Biochem.* **2009**, *44*, 944.
84. Xiu, Z.; Zeng, A. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* **2008**, *78*, 917.
85. Huang, H.; Gong, C. S.; Tsao, G. T.; Lafayette, W.; *Appl. Biochem. Biotechnol.* **2002**, *98-100*, 687.
86. Malinowski, J. J.; *Biotechnol. Prog.* **2000**, *16*, 76.
87. Li, Z.; Jiang, B.; Zhang, D.; Xiu, Z.; *Sep. Purif. Technol.* **2009**, *66*, 472.
88. Anand, P.; Saxena, R. K.; Marwah, R. G.; *Appl. Microbiol. Biotechnol.* **2011**, *90*, 1267.
89. Li, S.; Tuan, V. A.; Falconer, J. L.; Noble, R. D.; *Journal of Membrane Science* **2001**, *191*, 53.
90. Li, S.; Tuan, V. A.; Falconer, J. L.; Noble, R. D.; *Ind. Eng. Chem. Res.* **2001**, *40*, 1952.
91. Malinowski, J. J.; *Biotechnology Techniques* **1999**, *13*, 127.
92. Gao, S.; Zhang, D.; Sun, Y.; Xiu, Z.; *Front. Chem. Eng. Chin.* **2007**, *1*, 202.
93. Li, S.; Tuan, V. A.; Falconer, J. L.; Noble, R. D.; *Chem. Mater.* **2001**, *13*, 1865.
94. Gong, Y.; Tang, Y.; Wang, X.; Yu, L.; *Desalination* **2004**, *161*, 169.
95. Gong, Y.; Dai, L.; Wang, X.; Yu, L.; *Desalination* **2006**, *191*, 193.
96. Cho, M.; Joen, S.; Pyo, S.; Mun, S.; Kim, J.; *Process Biochem.* **2006**, *41*, 739.