

FIXAÇÃO BIOLÓGICA DE CO, CO<sub>2</sub> E H<sub>2</sub>:  
FERMENTAÇÃO DE GÁS DE SÍNTESE COM PRODUÇÃO DE ÁCIDOS ORGÂNICOS DE CADEIA  
CURTA

Pacheco M., Ortigueira J., Gírio F., Moura P.

\* Unidade de Bioenergia e Biorrefinarias, Laboratório Nacional de Energia e Geologia, Estrada do Paço do Lumiar 22, 1649-038 Lisboa, Portugal, [patricia.moura@lneg.pt](mailto:patricia.moura@lneg.pt)

<https://doi.org/10.34637/cies2020.1.4084>

RESUMO

Os perfis de assimilação de monóxido de carbono (CO), dióxido de carbono (CO<sub>2</sub>) e hidrogénio (H<sub>2</sub>) de gás de síntese (singás) por *Butyribacterium methylotrophicum* foram caracterizados e foram determinadas as percentagens de fixação de carbono. Testaram-se duas formulações diferentes de singás, duas condições de pH para a cultura do microorganismo e o efeito da suplementação do meio com acetato de sódio (NaAc). Foi observada uma assimilação mais rápida do CO por *B. methylotrophicum* acompanhada por crescimento celular. A assimilação de CO<sub>2</sub> foi limitada pela disponibilidade de H<sub>2</sub>. O microorganismo produziu maioritariamente ácido acético, mas a razão butirato/acetato aumentou significativamente após suplementação do meio de cultura com NaAc. O valor mais elevado de fixação de carbono do singás por *B. methylotrophicum* foi de 87 % (mol/mol). Este trabalho veio demonstrar o potencial da fermentação de singás para a fixação biológica de carbono na forma de ácidos orgânicos como possíveis precursores de combustíveis avançados, por ex. ácido butírico para esterificação a butil-butirato.

PALAVRAS-CHAVE: Gás de síntese, Bactérias acetogénicas, Ácido butírico

ABSTRACT

The assimilation profiles of carbon monoxide (CO), carbon dioxide (CO<sub>2</sub>) and hydrogen (H<sub>2</sub>) of synthesis gas (syngas) by *Butyribacterium methylotrophicum* were characterized and the percentages of carbon fixation were determined. Two different syngas formulations, two pH conditions for the culture of the microorganism and the effect of supplementing the medium with sodium acetate (NaAc) were tested. A faster assimilation of CO by *B. methylotrophicum* was observed, accompanied by cell growth. The assimilation of CO<sub>2</sub> was limited by the availability of H<sub>2</sub>. The microorganism produced mostly acetic acid, but the butyrate/acetate ratio increased significantly with the supplementation of the culture medium with NaAc. The highest value of carbon fixation from syngas by *B. methylotrophicum* was 87 % (mol/mol). This work demonstrated the potential of syngas fermentation for the biological carbon fixation in the form of organic acids as possible precursors of advanced fuels, as for example butyric acid for esterification to butyl-butyrates.

KEYWORDS: Synthesis gas, Acetogenic bacteria, Butyric acid

INTRODUÇÃO

A gasificação de biomassa é um processo termoquímico amplamente estudado e já implementado em larga escala, capaz de transformar o carbono presente em fluxos de resíduos recalcitrantes em energia (De Tissera *et al.*, 2017). Baseia-se na combustão parcial da matéria-prima, resultando na geração de energia, uma mistura de gases combustíveis (gás de síntese ou singás) e alcatrão. A gasificação permite alta flexibilidade da matéria-prima, uma vez que admite praticamente qualquer tipo de biomassa, como por exemplo as lenhinas técnicas que são obtidas como subproduto da produção de etanol celulósico (Liakakou *et al.*, 2019). O singás resultante da gasificação é maioritariamente composto por monóxido de carbono (CO), dióxido de carbono (CO<sub>2</sub>), hidrogénio (H<sub>2</sub>) e metano (CH<sub>4</sub>), e quantidades menores de hidrocarbonetos gasosos superiores (C<sub>n</sub>H<sub>m</sub>), compostos de azoto e compostos de enxofre (Pinto *et al.*, 2015). Alguns microrganismos anaeróbios, conhecidos como acetogénicos, podem ser utilizados como biocatalisadores para a conversão microbiana de singás em álcoois e ácidos orgânicos de cadeia curta. Estes microrganismos dispõem das vias metabólicas necessárias para realizar uma fermentação carboxidotrófica na ausência de luz e oxigénio, sob condições de pressão e temperatura próximas das condições ambientais.

A fermentação microbiana de singás consiste na fixação biológica de CO, CO<sub>2</sub> e H<sub>2</sub> por bactérias acetogénicas autotróficas, como por exemplo *Acetobacterium woodii*, *Butyribacterium methylotrophicum*, *Clostridium carboxidivorans*, *Clostridium ljungdahlii*, *Eubacterium limosum* e *Moorella thermoacetica* (Dürre, 2016; Liu *et al.*, 2014). As bactérias acetogénicas usam a via de Wood-Ljungdahl (WL) para incorporar duas moléculas de CO ou CO<sub>2</sub> (+H<sub>2</sub>) numa molécula de acetil-CoA (Figura 1). O acetil-CoA pode ser usado para a síntese de carbono celular ou pode servir como intermediário para a produção de compostos C<sub>2</sub> e C<sub>4</sub> que servem de precursores a compostos químicos plataforma e biocombustíveis. Até à data foi demonstrada a produção em grande escala de compostos como ácido acético, etanol e 2,3-butanodiol por bactérias acetogénicas mesofílicas, a partir de singás. Esta capacidade de síntese a partir do carbono gasoso, aliada ao facto de os microrganismos acetogénicos conseguirem resistir a algumas das impurezas contidas no singás, fazem deles uma alternativa interessante a processos catalíticos convencionais de conversão de gás em líquidos (GTL).

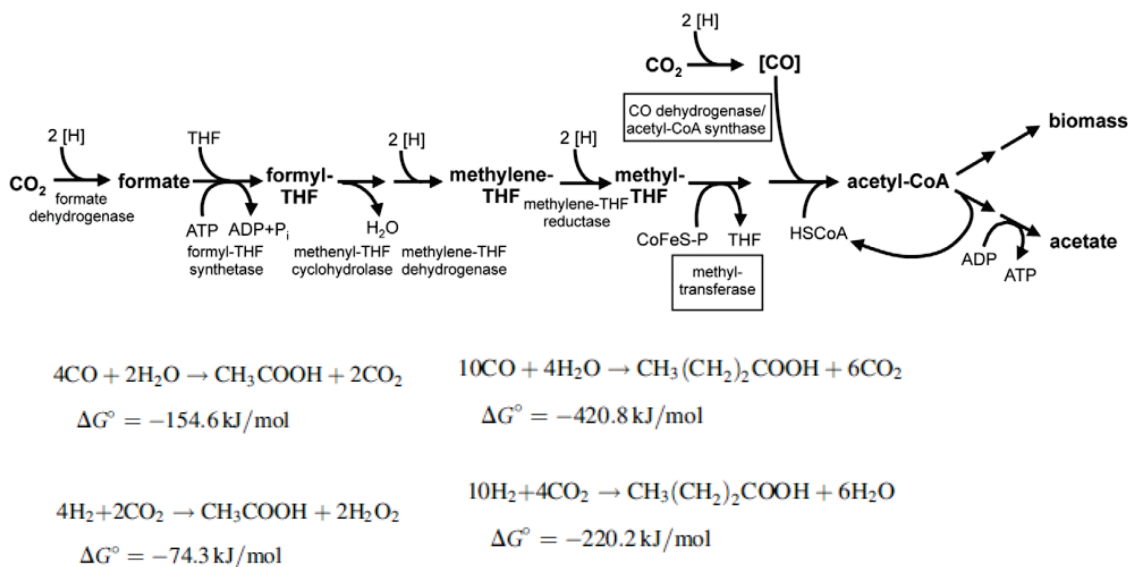


Figura 1. Via de Wood-Ljungdahl (WL): via metabólica para a conversão de CO, CO<sub>2</sub> e H<sub>2</sub> em acetil-CoA e estequiometria da produção de ácido acético e butírico (Poehlein *et al.*, 2012)

Com vista a caracterizar a eficiência da conversão microbiana de singás em ácido acético e butírico, foram estudados os perfis de assimilação de CO, CO<sub>2</sub> e H<sub>2</sub> pela bactéria *B. methylotrophicum*. Para o efeito foram utilizadas duas misturas sintéticas de singás, em que uma das composições simulou o singás real produzido a partir da gasificação de lenhina técnica. Foram comparadas três condições de cultura microbiana, a diferentes valores de pH e com ou sem suplementação do meio de cultura com acetato de sódio (NaAc), para determinação das respectivas eficiências de fixação de carbono e do rendimento na produção de ácidos orgânicos de cadeia curta.

## MATERIAIS E MÉTODOS

### Misturas de Singás

Neste trabalho foram utilizadas duas misturas sintéticas de singás, designadas por *Syngas I* e *Syngas II*, cuja composição é apresentada na Tabela 1. A composição de *Syngas II* foi concebida de modo a mimetizar a concentração dos 4 componentes gasosos principais da mistura de singás real obtida a partir da gasificação de lenhina técnica. As misturas gasosas sintéticas foram adquiridas à Air Liquide Portugal.

### Estirpe Microbiana, Meio de Cultura e Adaptação a Singás

O microrganismo acetogénico utilizado neste estudo foi *Butyribacterium methylotrophicum* DSM 3468, adquirido à Colecção Alemã de Microrganismos e Culturas Celulares (DSMZ, Braunschweig, Alemanha). *B. methylotrophicum* foi cultivado em meio mínimo Syn 1 (adaptado de Oswald *et al.* 2016) composto por 20 g/L de ácido 2-(N-morfolino) etanossulfónico (MES), 2,5 g/L NH<sub>4</sub>Cl, 2 g/L NaCl, 0,25 g/L KCl, 0,25 g/L KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, 0,5 g/L MgSO<sub>4</sub>·H<sub>2</sub>O, 0,1 g/L CaCl<sub>2</sub>·2H<sub>2</sub>O, 10 mL/L de solução de oligoelementos e de solução de vitaminas, 0,001 g/L resazurina e 0,56 g/L cisteína-HCl·H<sub>2</sub>O. O meio Syn 1 continha uma concentração residual de 2 g/L de extrato de levedura para minimizar a influência de fontes de carbono que não as presentes na própria composição do singás, e foi opcionalmente suplementado com NaAc a 50 mmol/L.

A adaptação de *B. methylotrophicum* a singás decorreu ao longo de três gerações, após um crescimento inicial em meio suplementado com glucose. A adaptação foi concretizada por meio de transferências sequenciais, em meio Syn 1 com *Syngas I* ou *Syngas II* como fonte de carbono e energia, com incubação a 37 °C e agitação a 150 rpm. Ao ser atingido um valor de densidade óptica de Abs<sub>600nm</sub> de 0,5, a cultura respectiva foi repicada para meio de cultura fresco com atmosfera de singás, até se obter um tempo de replicação constante de 48h (Figura 2).

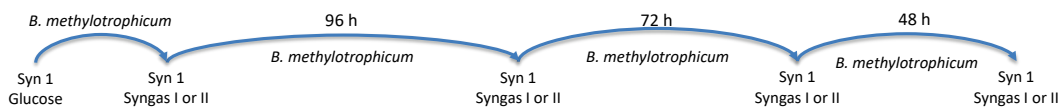


Figura 2. Representação esquemática das transferências sequenciais necessárias para a adaptação de *B. methylotrophicum* ao crescimento em singás

### Testes de Assimilação de CO, CO<sub>2</sub> e H<sub>2</sub>

A assimilação de CO, CO<sub>2</sub> e H<sub>2</sub> por *B. methylotrophicum* foi testada em 4 condições de cultura: (i) *Syngas I* a pH 7,0, (ii) *Syngas I* a pH 6,0, (iii) *Syngas I* a pH 6,0 com suplementação de NaAc e (iv) *Syngas II* a pH 6,0 com suplementação de NaAc. Foram preparados 18 a 27 frascos independentes para cada condição a testar, referentes aos triplicados dos respectivos tempos de amostragem (t = 0, 24, 42, 48, 60, 72, 84, 96, 120 h).

Ao fim de cada tempo de amostragem, duas das três réplicas com cultura microbiana foram utilizadas para a caracterização da mistura gasosa no *headspace* do frasco de cultura por cromatografia gasosa (GC) num Agilent/HP 6890 equipado com uma válvula de amostragem, duas colunas de enchimento (Molecular Sieve 5A, Porapak Q), um detector de condutividade térmica (TCD) e um detector de chama ionizante (FID) montados em série. Cada amostra gasosa foi aquecida a 40 °C durante 17 min, seguida de uma rampa de aquecimento a 15 °C/min até 185 °C durante 43 min. Foi utilizado árgon como gás de arraste a um fluxo constante de 18,5 mL/min. A análise quantitativa de CO, CO<sub>2</sub> e H<sub>2</sub> foi efectuada por comparação com padrões externos. Após a análise por GC, os frascos foram abertos para determinação do valor de pH e leitura da densidade óptica. A quantificação dos produtos de fermentação (ácidos acético e butírico) foi efectuada por cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC), com uma coluna Aminex HPX 87-H (Bio-Rad Laboratories) a 35 °C, com um fluxo de 0,4 mL/min de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> a 0,5 mM. A detecção dos compostos foi efectuada num detector diferencial de índice de refração, e a quantificação de acetato e butirato foi realizada por comparação das áreas e tempos de retenção com padrões externos.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Composição das Misturas de Singás

A primeira composição de singás seleccionada para o presente trabalho, denominada *Syngas I*, foi adaptada de Oswald et al. (2016), para testar a conversão acetogénica usando uma razão de H<sub>2</sub>:CO igual a 1,0 (Tabela 1). Todos os ensaios iniciais para estabelecer os padrões de assimilação de CO, CO<sub>2</sub> e H<sub>2</sub> por *B. methylotrophicum* e caracterizar a produção dos ácidos acético e butírico foram realizados com *Syngas I*.

No seguimento do trabalho de investigação, a composição volumétrica de CO, H<sub>2</sub> e CO<sub>2</sub> na mistura sintética de singás foi planeada de modo a que a razão H<sub>2</sub>:CO reproduzisse o valor do singás real produzido a partir da gasificação de lenhina técnica na instalação termoquímica do LNEG. Foi estabelecido um compromisso entre os objectivos de fermentação e de gasificação: por um lado seria visada a maior concentração possível de CO no singás devido à importância crucial deste para o metabolismo fermentativo de *B. methylotrophicum*; por outro lado, a maximização do CO teria que ser ajustada a uma boa operabilidade do gasificador de leito fluidizado borbulhante (BFB), para evitar ou minimizar a ocorrência de deposições dentro do gasificador.

O melhor compromisso foi obtido com a gasificação da lignina a 750 °C, tendo-se obtido um singás real com uma razão H<sub>2</sub>:CO de 0,7 (Tabela 1). Esta composição foi seleccionada como modelo para a aquisição da mistura sintética *Syngas II* a testar no presente trabalho.

Tabela 1. Composições sintéticas das misturas de CO, H<sub>2</sub>, CO<sub>2</sub> e N<sub>2</sub> utilizadas e do singás obtido a partir da gasificação de lenhina técnica. Os valores de concentração dos gases são apresentados em percentagem volumétrica (%vol.) em condições normais de pressão e temperatura (PTN)

	CO	CO <sub>2</sub>	H <sub>2</sub>	N <sub>2</sub>	CH <sub>4</sub>	C <sub>n</sub> H <sub>m</sub>	H <sub>2</sub> :CO
Oswald <i>et al.</i> 2016	32,5	16	32,5	19	-	-	1,0
<i>Syngas I</i>	30	20	30	20	-	-	1,0
Singás de lenhina <sup>†</sup>	26	19	18	21	12	4	0,7
<i>Syngas II</i>	26	19	18	37	-	-	0,7

Estirpe Microbiana e Adaptação a Singás

A Tabela 2 apresenta as taxas específicas de crescimento máximas e as concentrações de acetato e butirato registadas na primeira e na quarta transferência em série de *B. methylotrophicum* sob atmosfera de *Syngas II*. A 1<sup>a</sup> transferência em série referiu-se à passagem microbiana do meio Syn 1 suplementado com glucose para Syn 1 com *Syngas II*. A 4<sup>a</sup> transferência em série foi alcançada após 3 transferências sucessivas da cultura de *B. methylotrophicum* em gás de síntese como fonte de carbono e energia.

Tabela 2. Taxas de crescimento e produção de ácido butírico e acético por *B. methylotrophicum* antes e após a adaptação a *Syngas II*

	1 <sup>a</sup> transferência sequencial	4 <sup>a</sup> transferência sequencial
Taxa específica de crescimento máxima (h <sup>-1</sup> )	0,01	0,03
Acetato (mmol/L <sub>meio</sub> )	5,4 ± 0,01	21,9 ± 0,04
Butirato (mmol/L <sub>meio</sub> )	n.d.	0,3 ± 0,0

n.d., não detectado

O tempo de incubação necessário para atingir um valor de Abs<sub>600nm</sub> igual ou superior a 0,5 em singás foi progressivamente reduzido de 96 h para 72 h, e para 48 h. Após a quarta transferência em série, a taxa máxima de crescimento no singás aumentou aproximadamente 3 vezes, a produção de ácido acético aumentou significativamente e tornou-se possível a detecção de butirato no meio de cultura.

Por conseguinte, a adaptação ao singás em 3 etapas foi considerada útil para melhorar o desempenho da fermentação de singás por *B. methylotrophicum*, e a estirpe adaptada foi mantida em meio Syn 1 sob atmosfera de singás, com renovação a cada 72 horas.

Assimilação de CO, CO<sub>2</sub> e H<sub>2</sub>

Os perfis de assimilação de CO, CO<sub>2</sub> e H<sub>2</sub> foram analisados e relacionados com o crescimento celular de *B. methylotrophicum* e a produção dos ácidos acético e butírico. A fixação do carbono de *Syngas I* a pH 7,0 ocorreu em três etapas distintas (Figura 3). A primeira etapa foi caracterizada pelo consumo total de CO até às 48 h de incubação, com uma taxa de assimilação específica pela bactéria acetogénica de 11,1 mmol/L<sub>headspace</sub>·g peso celular seco. A segunda etapa prosseguiu entre as 48 e 84 h, até ao desaparecimento de H<sub>2</sub> no *headspace* da cultura. Neste período de tempo houve assimilação e produção simultânea de CO<sub>2</sub> por *B. methylotrophicum*, que resultou num balanço negativo (assimilação) de apenas 1,3 mmol/L<sub>headspace</sub>. Na terceira etapa, a partir das 84 h de incubação, apenas foi detectado CO<sub>2</sub> no *headspace* da cultura e a assimilação deste componente de *Syngas I* foi de 2,5 mmol/L<sub>headspace</sub>. Globalmente, a pH 7,0, a percentagem de fixação de carbono de *Syngas I* por *B. methylotrophicum* atingiu 61 %(mol/mol), com produção de biomassa celular, ácido acético e ácido butírico (Tabela 3). A produção de ácido acético ocorreu em simultâneo com o aumento da densidade celular, enquanto a detecção de butirato apenas foi possível após 72 h de incubação (Figura 4), quando se verificou também um claro abrandamento do crescimento celular.

Nos testes de fermentação a pH 6,0, o CO, CO<sub>2</sub> e H<sub>2</sub> de *Syngas I* foram assimilados em simultâneo por *B. methylotrophicum*. O consumo completo de CO e H<sub>2</sub> foi observado, respectivamente, após 48 h e 72 h de incubação (Figura 3). O balanço entre a produção e assimilação de CO<sub>2</sub> no meio de cultura culminou num decréscimo total de 4,8 mmol/L<sub>headspace</sub> e 5,6 mmol/L<sub>headspace</sub>, respectivamente com e sem suplementação do meio com NaAc. A pH 6,0 com NaAc, a biomassa celular e os ácidos acético e butírico foram produzidos em simultâneo, sem fase de latência, à custa da fixação de 86 %(mol/mol) do carbono fornecido.

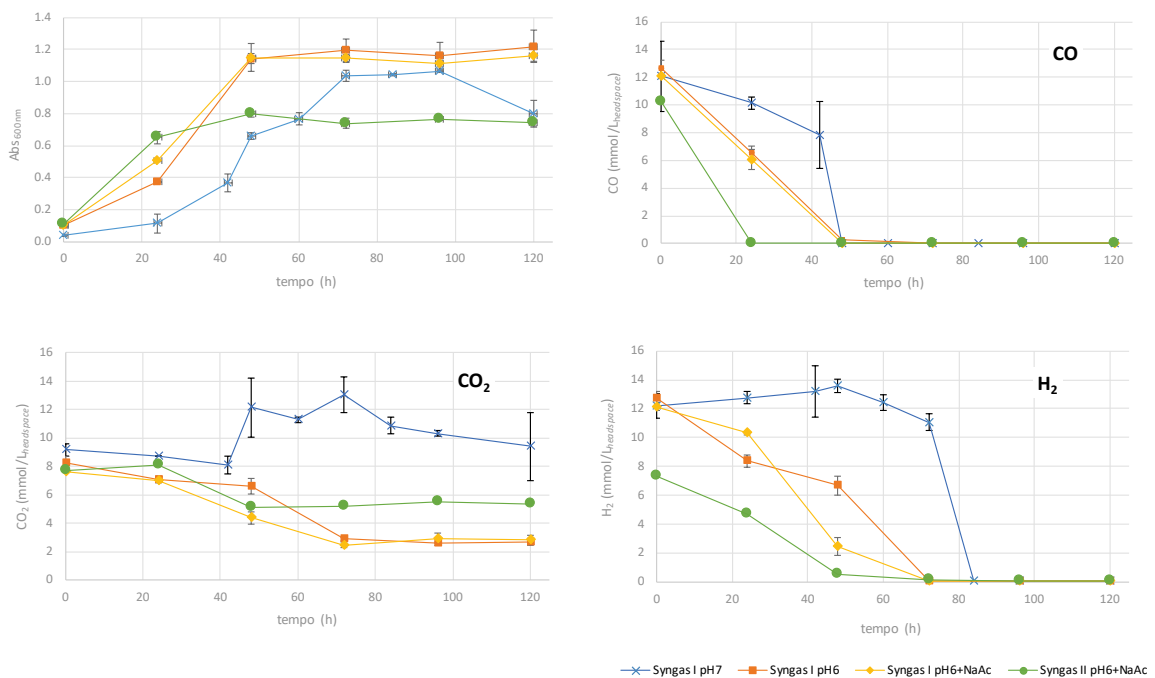


Figura 3. Comparação da densidade celular e perfis de assimilação de CO, CO<sub>2</sub> e H<sub>2</sub> por *B. methylotrophicum* a pH 6,0 e 7,0, com ou sem suplementação de meio de cultura com NaAc, e com *Syngas I* ou *Syngas II*

A assimilação quase simultânea de CO, CO<sub>2</sub> e H<sub>2</sub> foi também observada na fermentação de *Syngas II* a pH 6,0 com NaAc, tendo o CO sido totalmente consumido até às 24 h e o H<sub>2</sub> praticamente até às 48 h de incubação. O balanço entre a produção e a assimilação de CO<sub>2</sub> resultou num decréscimo total de 2,4 mmol/L<sub>headspace</sub>. O aumento da concentração de acetato e butirato no meio acompanhou o crescimento microbiano e a assimilação dos gases até às 48 h, com uma produção máxima de 11,9 mmol/L<sub>meio</sub> e 3,0 mmol/L<sub>meio</sub>, respectivamente, que resultou numa fixação de carbono de 70 %(mol/mol) (Tabela 3).

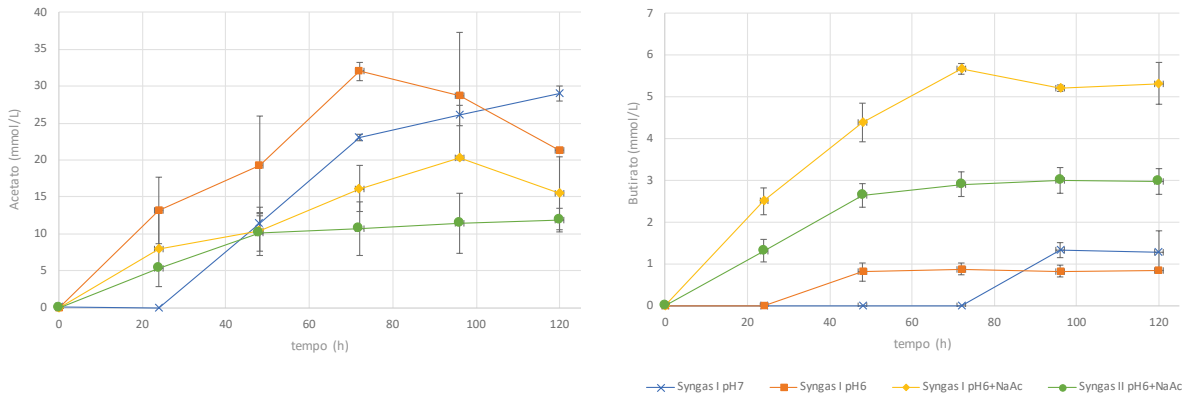


Figura 4. Produção de ácido acético e ácido butírico por *B. methylotrophicum* a pH 6,0 e 7,0, com ou sem suplementação de meio de cultura com NaAc, e na presença de *Syngas I* ou *Syngas II*

Tabela 3. Percentagens de fixação de carbono e produção de ácido acético e ácido butírico a partir de *Syngas I* ou *Syngas II*, em diferentes condições de cultura de *B. methylotrophicum*

	<i>Syngas I</i> (H <sub>2</sub> :CO = 1)		<i>Syngas II</i> (H <sub>2</sub> :CO = 0,7)	
	pH 7,0	pH 6,0	pH 6,0+NaAc	pH 6,0+NaAc
Fixação de carbono (%mol/mol)	61	87	86	70
Acetato (mmol/L <sub>meio</sub> )	29,0 ± 1,0	32,0 ± 1,2	20,3 ± 0,3	11,9 ± 1,6
Butirato (mmol/L <sub>meio</sub> )	1,3 ± 0,5	0,9 ± 0,1	5,7 ± 0,1	3,0 ± 0,3
Razão butirato/acetato	0,04	0,03	0,28	0,25

Analisando os perfis de assimilação dos gases por *B. methylotrophicum* foi possível observar que a pH 7,0 existiu um faseamento que não foi observável nas condições testadas a pH 6,0. Enquanto na cultura a pH 7,0 foram observados três patamares de assimilação distintos para cada um dos compostos do singás - primeiro a total assimilação do CO<sub>2</sub>, seguida de uma assimilação mais lenta de H<sub>2</sub> até à exaustão, e finalmente apenas a presença de CO<sub>2</sub> no *headspace* da cultura com manutenção da actividade metabólica de *B. methylotrophicum* - a pH 6,0 ocorreu uma assimilação quase simultânea entre CO e CO<sub>2</sub>+H<sub>2</sub>. No entanto, mesmo a pH 6,0, foi possível reconhecer que o componente CO das misturas de singás testadas foi preferencialmente assimilado por *B. methylotrophicum* em todos os casos. Isto deveu-se à fácil assimilação do CO pela via de WL, sendo directamente convertido em acetyl-CoA e, subsequentemente, em acetato e biomassa celular (Figura 1).

A assimilação de CO<sub>2</sub> por *B. methylotrophicum* esteve dependente da disponibilidade de H<sub>2</sub> no *headspace* da cultura. Uma vez que o H<sub>2</sub> foi totalmente esgotado pelo microrganismo em todas as condições testadas antes do desaparecimento completo do CO<sub>2</sub> do *headspace* das culturas, comprovou-se que existiria a necessidade de suplementar as misturas de *Syngas I* e *Syngas II* com H<sub>2</sub> para que pudesse ocorrer a fixação total do carbono do singás. Desta forma, no caso de *Syngas I* a pH 7,0 seria necessária uma suplementação de H<sub>2</sub> de 28,7 mmol/L<sub>headspace</sub>. Esta suplementação teria que ser efectuada ao longo da terceira fase de crescimento, após o esgotamento do H<sub>2</sub> inicialmente presente. Na fermentação com *Syngas II* a pH 6,0 + NaAc seria necessário adicionar 14,8 mmol/L<sub>headspace</sub> de H<sub>2</sub>, enquanto no caso de *Syngas I* a pH 6,0 com e sem suplementação de NaAc seria necessária, respectivamente, a adição de 6,6 e 6,3 mmol/L<sub>headspace</sub> de H<sub>2</sub>.

Neste trabalho foi também avaliado o efeito da suplementação do meio de cultura de *B. methylotrophicum* com NaAc. A pH 7,0, sem suplementação de NaAc, a produção de ácido butírico só ocorreu na fase estacionária de crescimento microbiano e após a concentração de acetato no meio ter atingido 23,1 mmol/L<sub>meio</sub> (Figuras 3 e 4). A pH 6,0, com a suplementação do meio com NaAc, foi possível a detecção de butirato logo desde o início do período de incubação, tanto nas fermentações com *Syngas I*, como com *Syngas II*. A conjugação de um valor de pH baixo com uma concentração elevada de acetato no meio de cultura está descrita como sendo um estímulo para a produção de ácido

butírico (Park et al., 2017). Os microrganismos acetogénicos têm a capacidade de desviar o seu metabolismo para a produção de ácido butírico, como proteção contra os efeitos tóxicos do ácido acético e da diminuição de pH associada à sua produção. O favorecimento desta via metabólica no caso da suplementação do meio com NaAc está bem expresso na Figura 4, onde se pode ver que a concentração de butirato ascendeu a 5,7 e 3,0 mmol/L com *Syngas I* e *Syngas II*, respectivamente, provocando um claro aumento da razão entre o ácido butírico e acético produzidos por *B. methylotrophicum* (Tabela 3).

## CONCLUSÕES

Foi possível adaptar o microrganismo *B. methylotrophicum* a singás como fonte de carbono e energia, reduzindo em 2,9 vezes o tempo de duplicação celular e com produção de ácido acético e ácido butírico. Verificou-se que o CO foi o composto das misturas de singás a ser primeiramente assimilado pelo microrganismo em todos os casos estudados, até às 24 ou 48 h de incubação. A concentração de CO<sub>2</sub> no *headspace* da cultura resultou de um balanço entre a sua assimilação e produção por *B. methylotrophicum*, sendo que a assimilação de CO<sub>2</sub> esteve limitada pela disponibilidade de H<sub>2</sub>. Os valores mais elevados de fixação de carbono de 86 e 87 % (mol/mol) foram obtidos com a cultura do microrganismo acetogénico na presença de *Syngas I* (30 %vol. CO, 20 %vol. CO<sub>2</sub>, 30 % vol. H<sub>2</sub>, 20 %vol. N<sub>2</sub>), a pH 6,0, respectivamente com e sem suplementação de NaAc, e com produção de 32,9 e 25,9 mmol/L<sub>meio</sub> de acetato + butirato.

## AGRADECIMENTOS

Este trabalho foi apoiado pelo projeto BRISK 2, que recebeu financiamento do programa de pesquisa e inovação Horizon 2020 da União Europeia ao abrigo do acordo de subvenção nº 731101. O trabalho foi desenvolvido no âmbito do programa Horizonte 2020, União Europeia, sob o contrato nº 731263 (AMBITION), com apoio da Infraestrutura de Investigação para a Biomassa e a Bioenergia (BBRI - Biomass and Bioenergy Research Infrastructure) - LISBOA-01-0145-FEDER-022059, financiada pelo Fundo Europeu de Desenvolvimento Regional (FEDER) através do Programa Operacional para a Competitividade e Internacionalização (PORTUGAL2020), do Programa Operacional Regional Lisboa Portugal (Lisboa 2020) e do Programa Operacional Regional Norte Portugal (Norte 2020) sob o acordo de parceria Portugal 2020.

## REFERÊNCIAS

- De Tissera S., Kopke M., Simpson S.D., Humphreys C., Minton N.P., and Dürre P. (2017) Syngas biorefinery and syngas utilization. *In Advances in Biochemical Engineering/Biotechnology*, Wagemann K. and Tippkotter N. (eds.), Vol. 166. Springer, Cham.
- Dürre P. (2016). Butanol formation from gaseous substrates. *FEMS Microbiol. Lett.*, 363, 1-7
- Liakakou E.T., Vreugdenhil B.J., Cerone N., Zimbardi F., Pinto F., André R., Marques P., Mata R., Gírio F. (2019) Gasification of lignin-rich residues for the production of biofuels via syngas fermentation: Comparison of gasification technologies. *Fuel*, 251, 580-592.
- Liu K., Atiyeh H.K., Stevenson B.S., Tanner R.S., and Wilkins M.R. (2014). Continuous syngas fermentation for the production of ethanol, n-propanol and n-butanol. *Bioresour. Technol.*, 151, 69-77.
- Oswald F., Dorsam S., Veith N., Zwick M., Neumann A., Ochsenreither K., and Syldatk C. (2016). Sequential mixed cultures: From syngas to malic acid. *Front. Microbiol.* 7, 891.
- Pinto F., André R., Carolino C., Miranda M., Abelha P., Direito D., Dohrup J., Sørensen H.R., Gírio F. (2015) Effects of experimental conditions and of addition of natural minerals on syngas production from lignin by oxy-gasification: Comparison of bench- and pilot scale gasification. *Fuel*, 140, 62-72.
- Park S., Yasin M., Jeong J., Cha M., Kang H., Jang N., et al. (2017). Acetate-assisted increase of butyrate production by *Eubacterium limosum* KIST612 during carbon monoxide fermentation. *Bioresour. Technol.*, 245, 560-566.
- Poehlein A., Schmidt S., Kaster A.K., Goenrich M., Vollmers, J., et al. (2012). An ancient pathway combining carbon dioxide fixation with the generation and utilization of a sodium ion gradient for ATP synthesis. *PLoS ONE*, 7, e33439.