

Introdução e Objetivos

O glicerol é considerado uma fonte de carbono altamente reduzida e assimilável por leveduras sob condições aeróbicas e anaeróbicas para a obtenção de compostos intermediários com inúmeras aplicações e de extrema relevância para indústria.

Além disso, leveduras oleaginosas têm habilidade de crescer e acumular lipídios quando se utiliza glicerol como substrato. Utilizar glicerol para produção de ácido graxo como matéria prima do biodiesel compensaria nos custos de produção dessa energia renovável. Por isso o objetivo desse trabalho é estudar e analisar a produção de lipídios, crescimento de biomassa e produção de derivados do glicerol em culturas de leveduras.

Materiais e Métodos

Floresta Amazônica	Pantanal	Cerrado
AQ 5	M3	AAI 4
AJ 10	-	AAN 1

Linhagens de leveduras oleaginosas



Cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC)



Incubadora rotativa utilizada nas fermentações

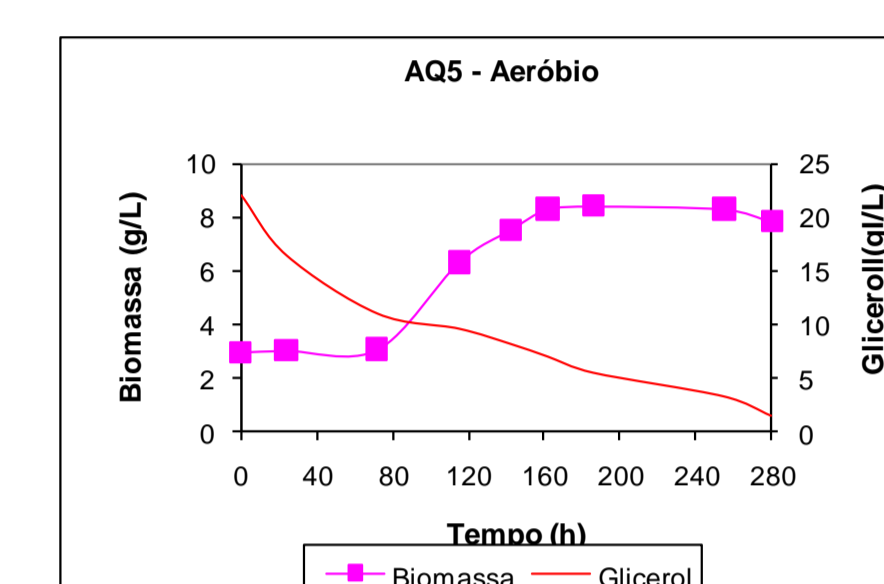
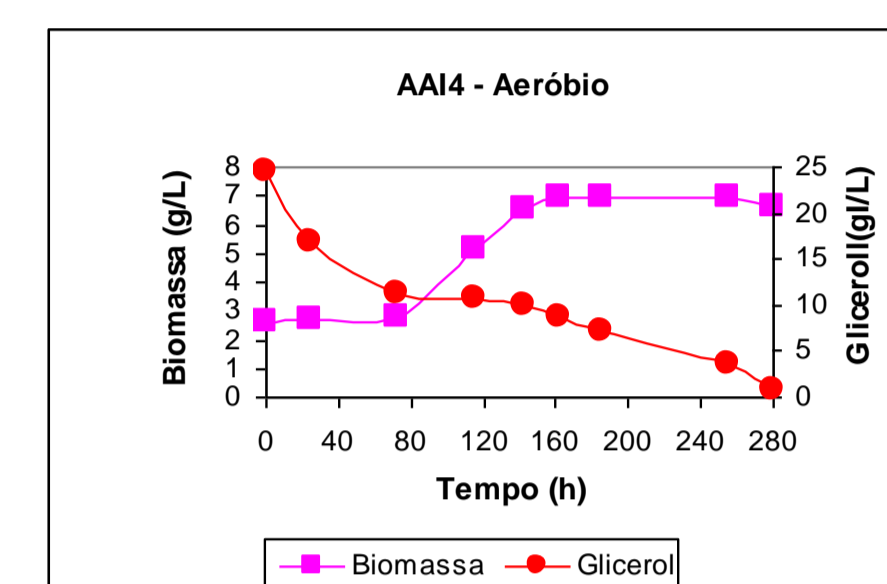
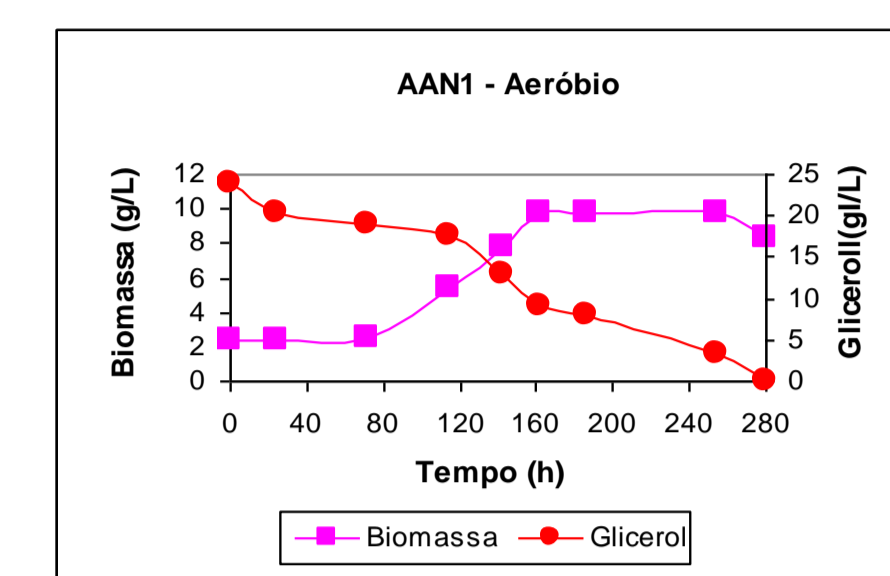
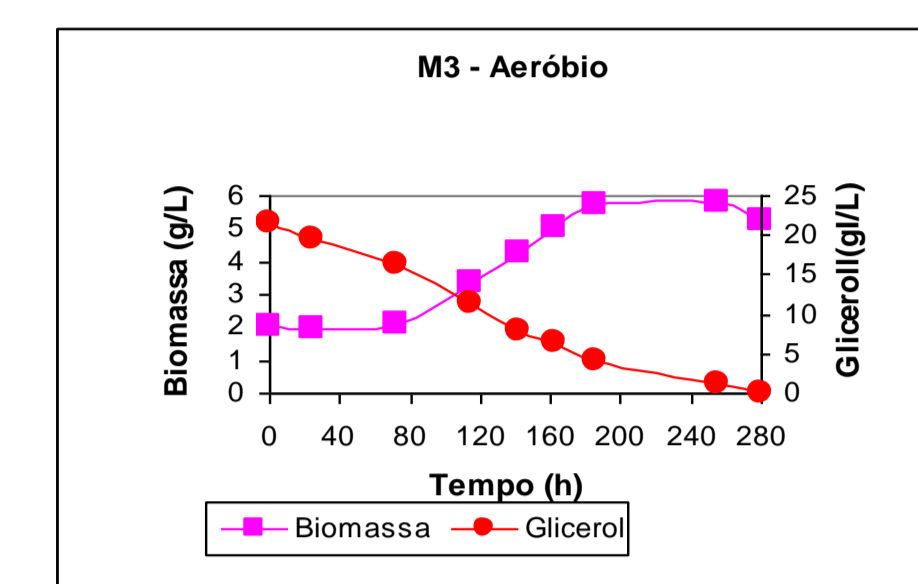
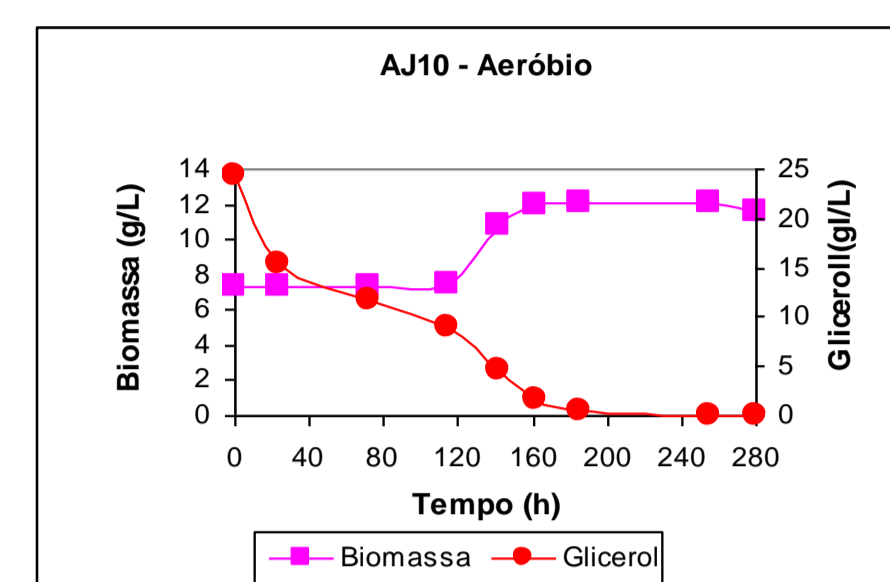
Após a seleção das linhagens de leveduras oleaginosas, preparou-se o meio de cultura para o inóculo com as seguintes quantidades de reagentes: 7,0 g/L de KH_2PO_4 , 2,5 g/L de Na_2HPO_4 , 1,5 g/L de $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 0,15 g/L de CaCl_2 , 0,5 g/L de extrato de levedura, 0,15 g/L de $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$, 0,02 g/L de $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 0,06 g/L de $\text{MnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$, 0,5 g/L de $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ e 30 g/L de glicerol. O inóculo foi dividido para erlenmeyers para depois serem incubados a 35°C por 24-48 horas a 200 rpm. O período de incubação foi determinado até o inóculo atingir aproximadamente 1×10^7 cél/mL.

Enquanto esperava-se a ação do inóculo foi preparado o meio de cultura para a fermentação com os mesmos reagentes do inóculo. O processo de fermentação foi realizado de duas formas distintas: aerobiose e anaerobiose. A fermentação ocorreu em shakers nas condições de 35°C e 200 rpm (para microorganismos aeróbios) e 30°C e 100 rpm (para microorganismos anaeróbios).

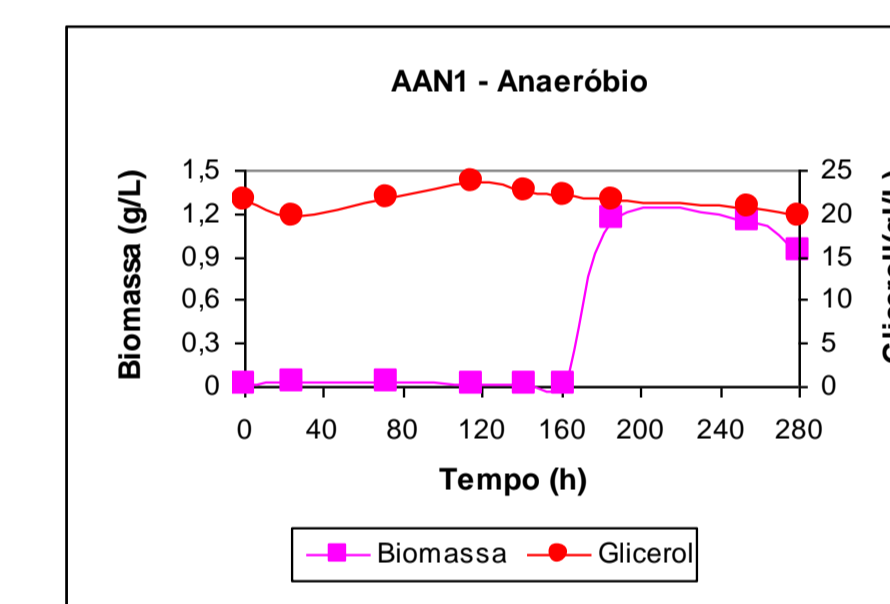
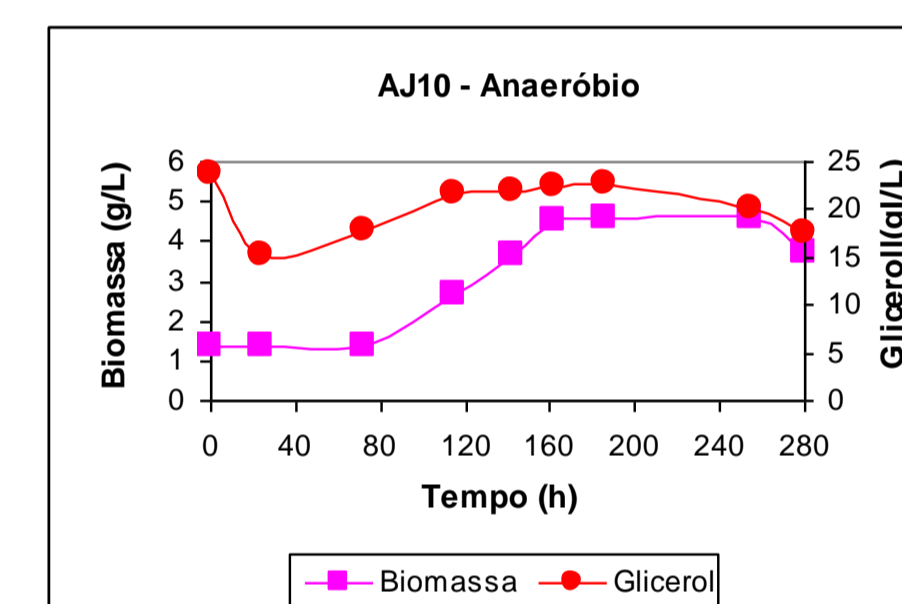
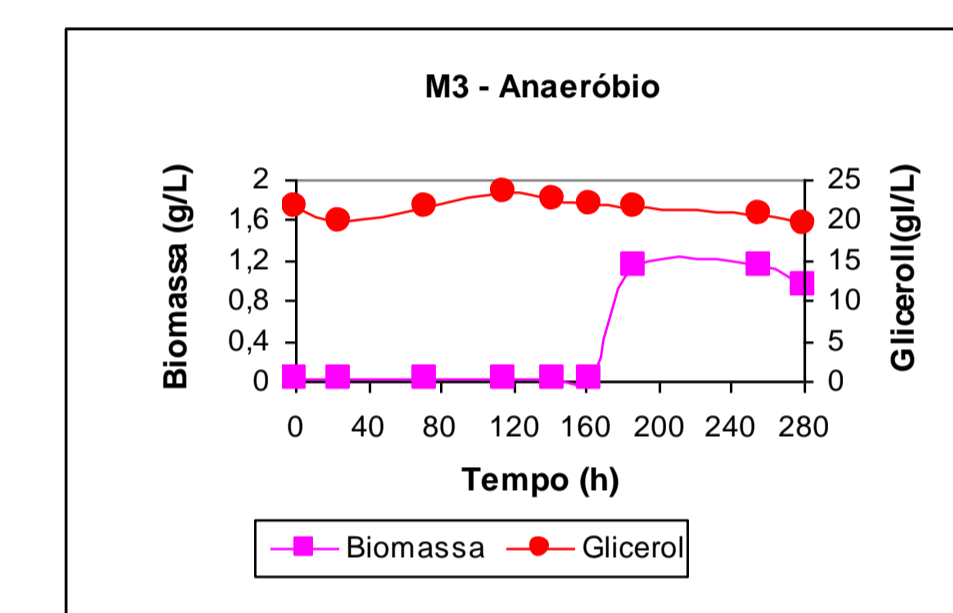
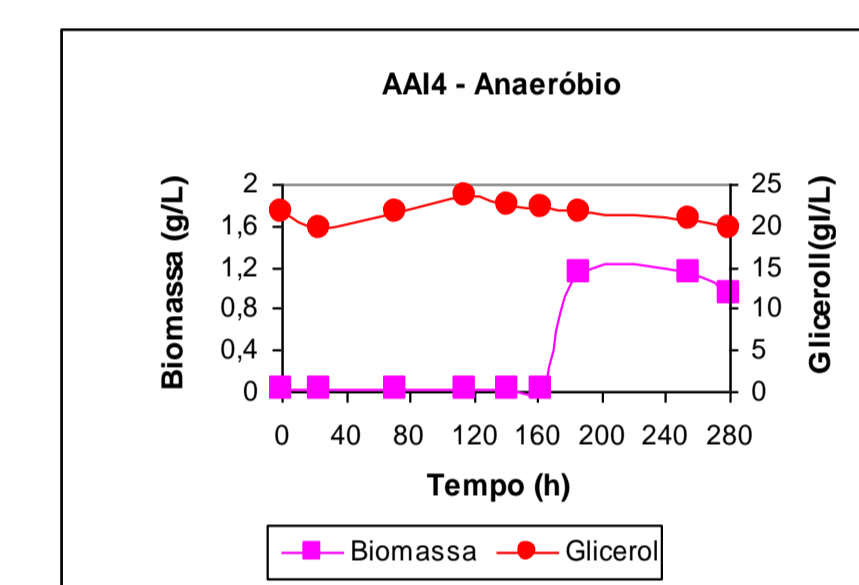
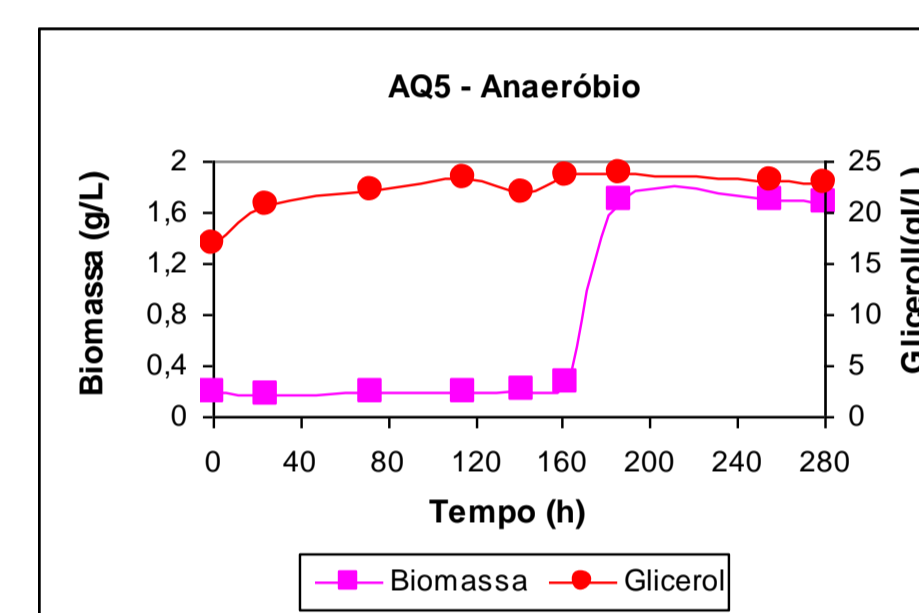
O procedimento para quantificação de lipídios foi realizado conforme o método Bligh Dyer e a concentração do glicerol foi determinada empregando-se cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC). A detecção dos compostos foi realizada empregando-se o detector UV-Vis e o tempo total da análise foi de 30 minutos e 6 compostos puderam ser separados e quantificados: 1,3 propanodiol, etanol, ácido acético, ácido láctico, ácido succínico e ácido cítrico.

Resultados e Discussão

CRESCIMENTO EM AEROBIOSE



CRESCIMENTO EM ANAEROBIOSE



Porcentagem de lipídio encontrado em cada microorganismo

Linhagens	Volume (mL)	Biomassa (g)	Lipídios (g)	%
AQ5 Aero	0,4	0,2023	0,0016	0,7909
AQ5 Anaero	0,4	0,2354	0,0167	7,0943
AJ10 Aero	0,4	0,2074	0,0020	0,9643
AJ10 Anaero	0,4	0,2516	0,0374	14,8648
M3 Aero	0,4	0,2165	0,0021	0,9699
M3 Anaero	0,4	0,2082	0,0077	3,6983
AA14 Aero	0,4	0,2028	0,0045	2,2189
AA14 Anaero	0,4	0,2092	0,0135	6,4531
AAN1 Aero	0,4	0,2050	0,0032	1,5609
AAN1 Anaero	0,4	0,2006	0,0080	3,9880

O projeto compara a capacidade de acúmulo de lipídios em diferentes microorganismos e os resultados validam que o glicerol é uma fonte de carbono viável para produção de lipídios em leveduras oleaginosas, agindo melhor em meio fermentativo anaeróbio.

Um estudo preliminar a respeito da formação de outros produtos a partir do glicerol também foi realizado e os resultados indicaram que em meio aeróbio (intenso consumo de glicerol), houve pouca formação desses produtos, enquanto em meio anaeróbio, aonde há baixo consumo de glicerol e posterior canalização deste para outras vias de produção, houve formação significativa de novos produtos.

Conclusão

Ao considerar-se lipídios derivado de leveduras oleaginosas adequado para utilização como combustível (produção de biodiesel), diversos fatores devem ser analisados. Todas as leveduras estudadas são de espécies desconhecidas e apresentaram, principalmente em condições de fermentação anaeróbia, uma produção razoável de lipídios. É válido ressaltar, no entanto, que nessas mesmas condições o glicerol foi muito pouco degradado. Como esse composto foi objeto de estudo do projeto em questão, estes dados preliminares mostraram que há boa perspectiva de sua utilização, principalmente no que tange à produção de lipídeos. Para os outros compostos produzidos em processos anaeróbicos, mais estudos ainda são necessários para definir sua real potencialidade.