

# REVISTA BRASILEIRA DE ENERGIAS RENOVÁVEIS

## ESTUDOS SOBRE A BIORREMEDIAÇÃO DO GLICEROL, RESULTANTE DA PRODUÇÃO DE BIODIESEL PARA A PRODUÇÃO DE BIOMASSA CELULAR, FONTE DE PROTEÍNAS<sup>1</sup>

CAMILA, A. GASPAROTO<sup>2</sup>, SANDRO, ROGÉRIO DE SOUSA<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Apresentado no 7º Congresso de Iniciação Científica e Tecnológica do IFSP: 29 de novembro a 02 de dezembro de 2016 - Matão-SP, Brasil

<sup>2</sup>Camila Aparecida Gasparoto, Graduanda em Tecnologia em Biocombustíveis, Bolsista PIBIT, CNPq, Câmpus Matão, c.gasparotto29@gmail.com

<sup>3</sup> Sandro Rogério de Sousa, Químico, Doutor em Biotecnologia, Professor ensino básico, técnico e tecnológico, IFSP, Câmpus Matão, srsousa@ifsp.edu.br

**RESUMO:** Este trabalho tem como objetivo apresentar formas de como o glicerol sendo um subproduto da síntese do biodiesel, pode ser utilizado na produção de biomassa celular através de microrganismo e os processos envolvidos para obtenção da mesma.

**PALAVRAS-CHAVE:** *Glicerol, biodiesel, biomassa.*

**STUDIES ON THE BIOREMEDIATION OF GLYCEROL, RESULTING FROM  
BIODIESEL PRODUCTION TO BIOMASS PRODUCTION, CELL PROTEIN  
SOURCE**

**ABSTRACT:** This work aims to present way of how glycerol being a byproduct of the synthesis of biodiesel, can be used in the production of cell biomass through micro-organism and the processes involved to obtain the same.

**KEYWORDS:** *Glycerol, biodiesel, biomass.*

## INTRODUÇÃO

Atualmente, tem ocorrido um aumento significativo do uso e produção de biocombustíveis, tais como bioetanol, biodiesel e biogás. As tecnologias utilizadas para produção deste tipo de energia são alternativas renováveis, seguras, sustentáveis, e consequentemente ambientalmente menos danosas que os combustíveis fósseis (VIANA, 2011).

O aumento na produção de biodiesel consequentemente aumentou a quantidade de resíduos gerados pelo processo, como o glicerol (1,2,3-propanotriol).

Um dos desafios de hoje é encontrar meios para utilizá-lo sem que haja uma degradação do ambiente, pois nele ainda são encontrados: sais, óleos, ácidos graxos, metanol, entre outros, que em contato com o meio ambiente sem o tratamento adequado pode causar problemas como formação de espumas, intoxicação, mau cheiro alterando assim, em um determinado ecossistema suas características naturais.

No processo de biorremediação são utilizados organismos vivos no caso deste, leveduras para reduzir os contaminantes presentes no glicerol. A levedura *Yarrowia lipolytica* é uma levedura estritamente aeróbia particularmente adaptada a substratos hidrofóbicos. A afinidade por estes substratos se dá devido à elevada hidrofobicidade celular apresentada por esta espécie, a mesma apresenta percentual de lipídios em sua biomassa em contato com um meio de cultura adequado, se desenvolve podendo assim, chegar na obtenção da biomassa celular com fonte de proteínas.

## MATERIAL E MÉTODOS

Foram realizadas placas que continham: yeast extract 1%, peptone 2%, glicose 2%, ágar 2% no total de 300ml, para crescimento da *yarrowia* 1095 onde as mesmas foram utilizadas para a realização de semeadura onde a levedura viesse a se desenvolver.

Para que houvesse o crescimento da levedura, foi utilizado um meio de cultura que continha: melaço (245 g / L, teor de sacarose de 600 g / L),  $\text{NH}_4\text{Cl}$  (4,0 g / L),  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  (0,5 g / L),  $\text{MgCl}_2$  (1,0 g / L), YNB (sem aminoácidos) e sulfato de amônio, 1,5 g / L. Foi utilizado glicerol bruto e o volume adicionado foi de: 100, 200, 250, 350 e 450 g/L e o  $\text{NH}_4\text{Cl}$  variou entre 4 e 12,5 g / L.

No início do processo de cultura a concentração do glicerol no meio de alimentação foi de 300 g/L sendo este volume adicionado separadamente, isto ocorreu devido a observações onde a concentração da fonte de carbono nas médias da alimentação resulta numa maior oxigenação da cultura e produção de lipídios maior. A alimentação do reator ocorria sempre no mesmo horário.

Todo o processo de desenvolvimento da cultura ocorreu num reator (fermentador, 5L) de tanque agitado, a temperatura foi mantida em 28°C, o pH foi mantido a 6,0. A taxa de fluxo de ar era de 4,0 L / min e a agitação velocidade era de 300 rpm.

As pré-culturas foram cultivadas em meio com glicerol, onde as mesmas ficaram 24horas no reator para que ocorresse a identificação da cultura e a mesma se desenvolvesse.

Após as primeiras 24horas do reconhecimento da levedura com o meio, começou a ser realizado a análise do glicerol, onde o resultado obtido é em porcentagem de glicerina livre. O processo consistia em: pesar 100g da amostra e transferir para um funil de separação completando com volumes pequeno de éter etílico até completar 250ml, depois, era adicionado 50ml de água acidificada e agitava-se o funil para que ocorresse a extração sempre aliviando a pressão do sistema durante o processo. O funil ficava então em repouso até que ocorresse a total separação das camadas de éter e aquosa, então recolhia-se a fase aquosa que era mantida em um balão volumétrico (250ml). A agitação do funil era realizada mais duas vezes para que no total fossem realizadas 3 extrações. O volume do balão volumétrico era completado com água deionizada. Em quatro erlenmeyers(400ml) pipetava-se 20ml da solução de ácido periódico e 50ml da camada aquosa obtida no processo em apenas dois frascos, e 50ml de água deionizada nos frascos que não continham a camada aquosa obtida na extração os frascos eram tampados e deixados em repouso por 30 minutos na temperatura ambiente.

Passado o tempo de repouso 20ml de uma solução de iodeto de potássio era adicionado nos frascos, para realização da titulação e deixado em repouso de 1 a 5 minutos.

A bureta utilizada era completada com uma solução de tiosulfato de sódio 0,05 mol/L<sup>-1</sup>, a titulação ocorria até que a solução estivesse amarela clara, então, era adicionado 2ml da

solução de amido e retornava o processo até que a cor azul desaparecesse. O volume gasto na titulação era anotado para realização do cálculo da porcentagem de glicerina livre.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

A análise do açúcar foi realizada através da leitura da absorbância em espectrofotômetro a 540 nm. O resultado da absorbância obtido foi de 0,178 estando dentro dos resultados possíveis do procedimento que varia de 0,1 a 0,4.

Tabela 1 – Quantidade de glicerina livre, proveniente da análise do glicerol.

<b>Data</b>	<b>Quantidade adicionada (ml)</b>	<b>Valor obtido (%)</b>
04/05/2016	300	
05/05/2016	200	7,0150
06/05/2016	200	18,375
07/05/2016	200	24,25
08/05/2016	200	36,6388
09/05/2016	200	42,15
10/05/2016	200	50,41
11/05/2016	200	63,37
12/05/2016		40,6
16/05/2016		33,97
17/05/2016		32,15

## CONCLUSÕES

Concluimos que o consumo de glicerol existe, porém nos próximos estudos deverá fazer a padronização da fermentação para que a levedura possa produzir óleo através do glicerol, assim, este consumo aumentará. Os resultados obtidos foram satisfatórios, e esperançosos já que a produção de óleo pode de fato ocorrer.

## **AGRADECIMENTOS**

Agradecemos ao IFSP- Câmpus Matão, por toda estrutura oferecida nos laboratórios e ao CNPq pela bolsa concedida para realização do projeto.

## **REFERÊNCIAS**

TORRES, Fernando A. Gonçalves, Proteínas recombinantes produzidas em leveduras. Disponível em :< <http://www.biotecnologia.com.br/revista/bio12/proteinas.pdf>> Acesso em: 19, Novembro de 2015. KNOTHE, Gerhard. Et.al. Manual do Biodiesel. Curitiba, Blucher. VIANA, M.B. Produção de biogás a partir de glicerol oriundo de biodiesel. Universidade de São Paulo, Escola de Engenharia de São Carlos. São Paulo- SP. 2011. VIANA, M.B. Produção de biogás a partir de glicerol oriundo de biodiesel. Universidade de São Paulo, Escola de Engenharia de São Carlos. São Paulo- SP. 2011. Disponível em: < <http://www.teses.usp.br/teses/disponiveis/18/18138/tde-01092011-162845/pt-br.php>