

USO DA GLICERINA COMO FONTE DE CARBONO PARA FERMENTAÇÃO E PRODUÇÃO DE BUTANOL TÍTULO

Joice T. de S. Lima¹, Aristeu G. Tininis², Guilherme Christiani³, Claudia R. C. S. Tininis⁴

¹ Graduando em Tecnologia de Biocombustíveis, Bolsista do IFSP, Câmpus Matão, joicetiane06@hotmail.com.

² Doutorado Direto em Química pela UNESP, aristeu@ifsp.edu.br

³ Mestrando no Programa de Ensino e Processos Formativos - Unesp Jaboticabal guilherme.christiani@ifsp.edu.br

⁴ Doutorado em Química pela Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, sgorlonif@ifsp.edu.br

Área de conhecimento: 1.06.01.03-1

Apresentado no
8º Congresso de Inovação, Ciência e Tecnologia do IFSP
06 a 09 de novembro de 2017 - Cubatão-SP, Brasil

RESUMO: O crescimento atual da demanda energética é significativo e não poderá ser suprido apenas por fontes de combustíveis fósseis, o que tem levado à implementação de programas que visam à utilização de combustíveis renováveis, destacando-se o biodiesel (Silva, 2015). No entanto, com o aumento da demanda de biodiesel a produção da glicerina residual se torna maior, podendo ser um problema para o meio ambiente. Este trabalho teve por objetivo utilizar este coproduto para produção de butanol, por rota metabólica, utilizando a levedura *Saccharomyces cerevisiae*. Foram utilizados meios com 50% e 100% de glicerina bruta como fonte de carbono, em substituição à glicose. Os resultados foram analisados por cromatografia gasosa, e verificou-se que a produção de butanol é possível com a utilização da glicerina bruta, nas condições estabelecidas. Como perspectivas futuras, pretende-se fazer a quantificação do butanol produzido e a otimização das condições experimentais visando maior rendimento de butanol.

PALAVRAS-CHAVE: glicerina; biodiesel; levedura; butanol; fermentação; *Saccharomyces cerevisiae*

USE OF GLYCERIN AS A SOURCE OF CARBON FOR FERMENTATION AND BUTANOL PRODUCTION

ABSTRACT: The current growth of energy demand is significant and can not be supplied solely by fossil fuel sources, which has led to the implementation of programs aimed at the use of renewable fuels, especially biodiesel (Silva, 2015). However, as the demand for biodiesel increases, the production of residual glycerin becomes larger and may be a problem for the environment. This work aimed to use this co-product to produce butanol, by metabolic route, using *Saccharomyces yeast. Cerevisiae*. Means were used with 50% and 100% crude glycerin as a carbon source, replacing glucose. The results were analyzed by gas chromatography, and it was found that the production of butanol is possible with the use of the crude glycerin, under the established conditions. As prospects, it is intended to quantify the produced butanol and optimize the experimental conditions aiming at a higher butanol yield.

KEYWORDS: glycerin; Biodiesel; yeast; Butanol; fermentation; *Saccharomyces cerevisiae*.

INTRODUÇÃO

Um dos principais desafios do século XXI inclui majoritariamente o desenvolvimento sustentável, ou seja, o progresso industrial que atende às necessidades das gerações atuais sem comprometer a capacidade das gerações futuras em atender as suas necessidades (Maciel et al., 2012). O Brasil tem a segunda indústria química do continente americano e situa-se entre os dez mais importantes no ranking mundial (Fernandes et al., 2015). O que implica em uma maior demanda energética, e não poderá ser suprido apenas por fontes de combustíveis fósseis, o que tem levado à implementação de programas que visam à utilização de combustíveis renováveis, destacando-se o biodiesel (Silva, 2015). A produção do biodiesel, uma fonte renovável de energia (via etanol) é em geral baseada na transesterificação das gorduras vegetais com catálise básica homogênea. (COSTA, 2017; MENDES, 2017; ANASTAS, 1998); tal reação libera a glicerina e uma das alternativas para a utilização da glicerina, proposta deste trabalho, é a sua reforma em butanol. O butanol (C_4H_9OH) é um álcool líquido incolor, com odor sufocante. Apresenta ponto de fusão de $-89^\circ C$, ponto de ebulição de $118^\circ C$, (SCHADEWEG, 2016). Atualmente, o Brasil importa dois terços de sua necessidade anual de butanol. Segundo Lee et al., o butanol pode ser utilizado como combustível substituto da gasolina ou como aditivo. O n-butanol é produzido pela levedura *Saccharomyces cerevisiae* com vantagens significativas em termos de fermentação industrial. O presente trabalho visou analisar a utilização da glicerina bruta como fonte de carbono para produção de butanol, utilizando *S. cerevisiae* no processo fermentativo, buscando melhor aproveitamento de um subproduto excedente do biodiesel.

MATERIAL E MÉTODOS

Utilizou-se, para composição do meio de fermentação, glicerina bruta oriunda da produção de biodiesel, fornecida pela Universidade de Araraquara – UNIARA, como fonte de carbono, em substituição parcial e total à glicose. Outros reagentes como fosfato de potássio e sulfato de potássio, além extrato de levedura e do aminoácido glicina, foram adicionados ao meio de fermentação. O meio utilizado para o crescimento celular foi o YEPD. As células utilizadas neste processo fermentativo foram de *Saccharomyces cerevisiae* obtidos na forma de fermento úmido da Fleischmann.

Os equipamentos utilizados para o desenvolvimento do trabalho foram autoclave (Primatec); câmara de germinação com fotoperíodo (SPlabor); centrífuga (Hettich); câmara de fluxo laminar; evaporador rotativo (Logen) e CG-FID (modelo Trace GC Ultra, marca Thermo Scientific; acoplado a um detector de ionização por chama). Erlenmeyers; placas de Petri; tubos de ensaio e demais vidrarias comuns de laboratório foram utilizadas.

As células do fermento Fleischmann foram multiplicadas, em meio YEPD, por 48h a $30^\circ C$ sob agitação, 250 RPM, antes de serem inoculadas para promover a fermentação para produção do butanol. Após o crescimento as células foram separadas por centrifugação durante 10 minutos a 9000 RPM, e lavadas por duas vezes com água destilada esterilizada. Procedeu-se então a inoculação das células nos meios de fermentação, previamente preparados e esterilizados em Erlenmeyers 500mL. Os Erlenmeyers foram levados ao BOD, a $30^\circ C$ por 48 horas para a fermentação. Após este tempo, as amostras foram centrifugadas por 10 minutos a 9000 RPM, cada sobrenadante foi recolhido em balão de fundo redondo de 1000mL e levado ao evaporador rotativo, com banho de glicerina a $120^\circ C$. O material destilado foi recolhido em outro balão de fundo redondo de 1000mL, e uma alíquota (6mL) do destilado foi transferida para um vial de Headspace e encaminhada para injeção e análise no CG-FID.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Com o objeto de produzir butanol por processo fermentativo utilizando *Saccharomyces cerevisiae* e tendo como referência o trabalho desenvolvido por VIDAL, E. E., 2012, foram preparados os meios para a fermentação com diferentes concentrações de glicerina bruta, em substituição à glicose. No primeiro meio (controle) foi utilizada apenas a glicose como fonte de carbono (0% de glicerina), no segundo meio foi utilizado 50% de glicose e 50% de glicerina (do total da fonte de carbono) e no terceiro meio, preparado para fermentação e produção de butanol, utilizou-se apenas a glicerina bruta como fonte de carbono (100% de glicerina). Após destilação e análise das amostras no CG-FID pode-se verificar nos cromatogramas obtidos que no tempo de retenção de 5,3 minutos foi observada a eluição de butanol para todas as amostras, demonstrando, portanto que ocorreu produção de butanol, mesmo com a utilização da glicerina bruta como fonte de carbono. Na próxima etapa deste trabalho o

butanol será quantificado para cada uma das amostras e novos testes para melhoria do rendimento serão realizados. Pela análise dos cromatogramas pode-se confirmar ainda a eficiência das condições de fermentação para produção do butanol em comparação a produção de etanol que apresentou sinais analíticos cromatográficos menores que os do butanol.

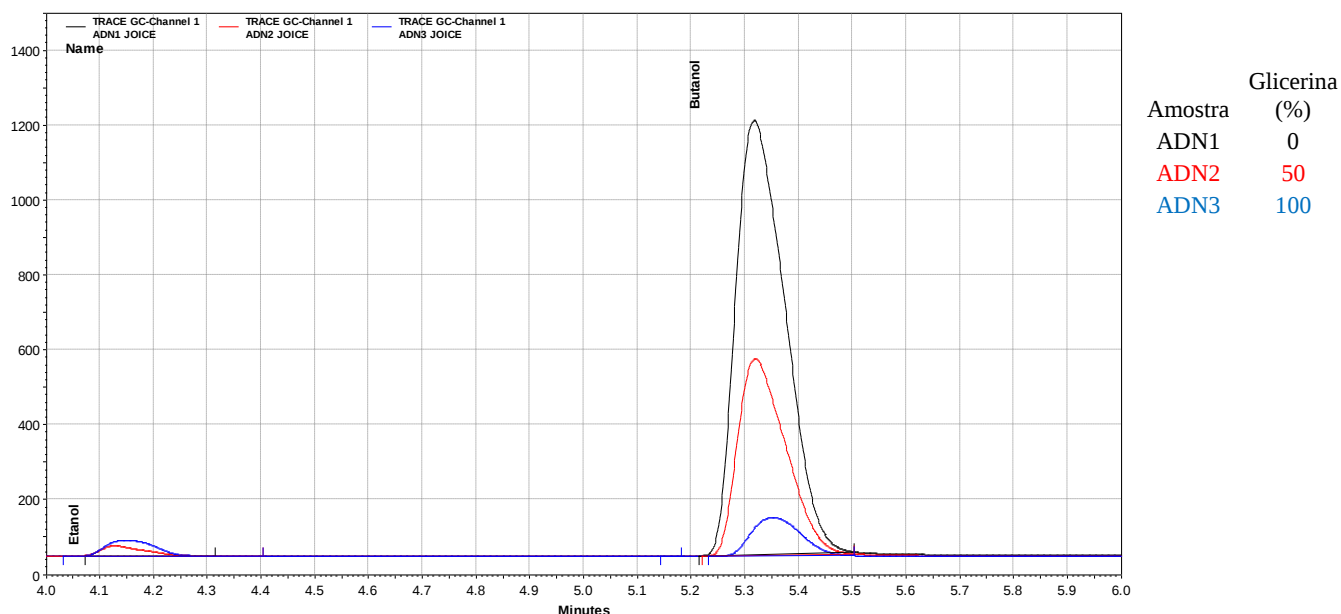


FIGURA 1. Cromatograma indicando a produção de butanol e etanol, após fermentação, pela *S. cerevisiae*, de amostras contendo 0%, 50% e 100% de glicerina bruta como fonte de carbono.

CONCLUSÕES

Para produção de butanol, por rota metabólica, via *Saccharomyces cerevisiae*, em meios contendo 50% e 100% de glicerina bruta como fonte de carbono, em substituição à glicose, verificou-se que a produção de butanol é possível nas condições estabelecidas neste trabalho, em detrimento a produção de etanol. Como perspectivas futura, pretende-se fazer a quantificação do butanol produzido e a otimização das condições experimentais visando maior rendimento de butanol.

AGRADECIMENTOS

Agradecemos ao Campus Matão, onde o trabalho foi realizado, ao Prof. Dr. Danilo Flumignam, pela colaboração e ao MCTIC pelo fomento ao projeto.

REFERÊNCIAS

ANASTAS, P. T., WARNAR, J. C. Green chemistry theory and practice, Oxford University Press, New York, 1998.

COSTA, J. B. "Produção biotecnologia de hidrogênio, etanol e outros produtos a partir de glicerol da reação de formação de biodiesel" Porto Alegre- RS, Junho/ 2010, <http://hdl.handle.net/10183/25509> acesso em: 19/04/17.

FERNANDES, F. M.; Biodiesel no mundo e no brasil: situação atual e cenários futuros. Anais do 10º Congresso sobre Geração Distribuída e Energia no Meio Rural, 2015, Universidade de São Paulo – USP – São Paulo.

MACIEL, A. J. S.; Produção de biodiesel a partir 015 de óleos vegetais residuais, promovendo a inclusão social e a preservação do meio ambiente, Pesquisa a Serviço da Sociedade, 2012, 28.

MENDES, J. S. Produção de etanol a partir de fermentação de glicerol bruto usando klebsiella Peneumoniase. <http://www.repositorio.ufc.br/handle/riufc/15770> acesso em: 24/04/2017.

LEE S. Y., PARK J. H., JANG S. H., NIELSEN L. K., KIM J., JUNG K. S. Fermentative butanol production by Clostridia. *Biotechnol Bioeng.* 2008 Oct 1;101(2):209-28.

SCHADEWEG, V.; BOLES, E. n-Butanol production in *Saccharomyces cerevisiae* is limited by the availability of coenzyme A and cytosolic acetyl-CoA. *Biotechnol Biofuels*, 2016, 9: 44.

SILVA, F.M.; LACERDA, P.S.B.; JR., J. JONES. Desenvolvimento Sustentável e Química Verde, *Química Nova*, 28 (1), 102, 2005.

VIDAL, E. E. Influência da Fonte de Nitrogênio no Perfil Fermentativo, Transcriptômico, e na Produção de Álcoois Superiores em *Saccharomyces cerevisiae*. 2012. 90f. (doutorado em genética) Universidade Federal de Pernambuco, Centro de Ciências Biológicas, Departamento de Genética, Recife. 2012.