



Produção de etanol por diferentes linhagens de *Kluyveromyces marxianus* em soro e permeado de soro de queijo

Laísa Quadros Barsé¹, Marco Antônio Záchia Ayub²

¹ Graduanda em Biotecnologia - UFRGS

² Professor Titular – Instituto de Ciência e Tecnologia de Alimentos/UFRGS



INTRODUÇÃO

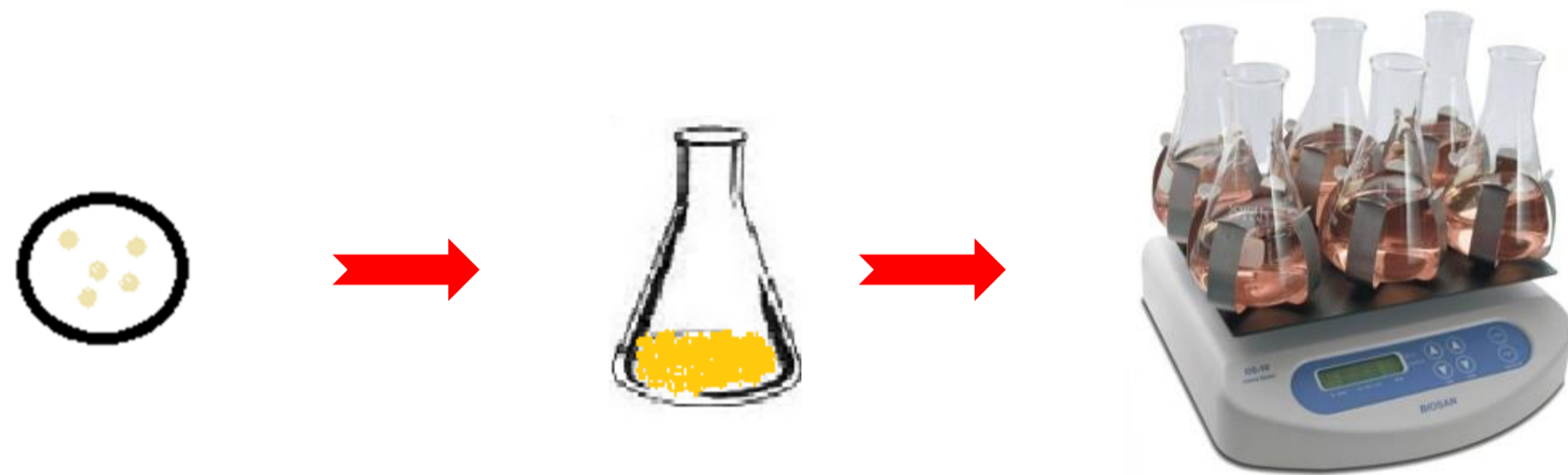
O incremento da demanda por biocombustíveis associado aos problemas ambientais relacionados à utilização de fontes fósseis, tem contribuído para a geração de tecnologias capazes de otimizar a produção de etanol. O etanol é uma fonte de energia renovável que pode ser produzida pela fermentação de diferentes açúcares por diferentes microrganismos.

A utilização de substratos alternativos e de baixo custo para a produção de etanol vem sendo recentemente estudada. O permeado de soro de queijo, um subproduto da indústria de laticínios, é um substrato rico em nutrientes e de grande potencial de aproveitamento em bioprocessos.

A partir desse cenário o presente trabalho teve como objetivo investigar a produção de etanol a partir de soro e permeado de soro por diferentes linhagens de *Kluyveromyces marxianus*.

MATERIAIS E MÉTODOS

Experimento em shaker: Uma triagem de seis linhagens de *K. marxianus* (CBS 6556, CCT 4086, CCT 2653, UFMG 95 302.2, UFMG 95 205.3 e UFMG 95 270.1) e seis diferentes meios de cultivo foi realizada em shaker para avaliar a bioconversão de lactose em etanol. Essas linhagens foram transferidas através de alçada para erlenmeyer de 250 mL contendo 50 mL de meio YEP-Lactose e cultivadas em shaker, sob agitação de 180 rpm por 12 h a 30 °C. As linhagens que apresentaram maior capacidade de bioconversão foram selecionadas para a produção de etanol a partir de células imobilizadas.



Experimento em biorreator (batelada): O experimento foi realizado em biorreator de coluna de vidro (85 mL de esferas de alginato de cálcio com 250 mL de permeado de soro de queijo). A temperatura do biorreator foi mantida a 30 °C através da recirculação da água proveniente de um banho termostato. A fluidização do sistema foi realizada através da recirculação do meio de cultivo por meio de uma bomba peristáltica, sendo a vazão volumétrica utilizada de 250 mL min⁻¹ (fluxo ascendente). O permeado de soro de queijo 60 g L⁻¹ foi utilizado como meio de cultivo e o bioprocesso foi conduzido por 24 h. Os experimentos foram realizados em duplicata.

RESULTADOS

Tabela 1. Fator de conversão ($Y_{EtOH/S}$ (g g⁻¹)) e produtividade de etanol (Q_p (g L⁻¹ h⁻¹)) das linhagens de *Kluyveromyces marxianus* variando o meio de fermentação em shaker a 30 °C e 150 rpm.

Linhagens	Meio de fermentação											
	S		SEL		SEB		PS		PSEL		PSEB	
	$Y_{EtOH/S}$	Q_p	$Y_{EtOH/S}$	Q_p	$Y_{EtOH/S}$	Q_p	$Y_{EtOH/S}$	Q_p	$Y_{EtOH/S}$	Q_p	$Y_{EtOH/S}$	Q_p
KM CBS 6556	0.50±0.02	1.00±0.09	0.39±0.00	0.65±0.16	0.38±0.03	0.58±0.01	0.51±0.01	1.13±0.04	0.47±0.02	1.10±0.06	0.50±0.00	1.02±0.14
KM CCT 4086	0.48±0.08	0.65±0.11	0.40±0.01	1.63±0.03	0.43±0.01	0.72±0.05	0.51±0.03	1.14±0.03	0.50±0.01	1.15±0.00	0.49±0.03	1.02±0.04
KM CCT 2653	0.49±0.02	1.00±0.08	0.35±0.05	0.69±0.07	0.34±0.01	0.68±0.02	0.51±0.03	0.77±0.02	0.51±0.02	0.79±0.04	0.48±0.06	0.66±0.00
KM UFMG 95 302.2	0.30±0.08	0.08±0.00	0.19±0.01	0.09±0.01	0.21±0.03	0.13±0.02	0.38±0.16	0.18±0.08	0.28±0.04	0.18±0.05	0.30±0.04	0.13±0.02
KM UFMG 95 205.3	0.32±0.00	0.11±0.01	0.18±0.03	0.13±0.03	0.19±0.09	0.12±0.00	0.37±0.01	0.15±0.03	0.25±0.03	0.12±0.02	0.35±0.04	0.17±0.05
KM UFMG 95 270.1	0.30±0.07	0.12±0.01	0.18±0.01	0.11±0.01	0.17±0.01	0.12±0.02	0.39±0.07	0.11±0.03	0.25±0.04	0.14±0.02	0.34±0.02	0.21±0.00

S: soro; SEL: soro suplementado com extrato de levedura; SEB: soro suplementado com extrato de levedura e peptona; PS: permeado de soro; PSEL: permeado de soro suplementado com extrato de levedura; PSEB: permeado de soro suplementado com extrato de levedura e peptona

Figura 1. Cinética do consumo de lactose (a) e produção de etanol por *Kluyveromyces marxianus* (b) em biorreator batelada. *K. marxianus* CBS 655 (-■-), *K. marxianus* CCT 4086 (-●-) and *K. marxianus* CCT 2653 (-▲-).

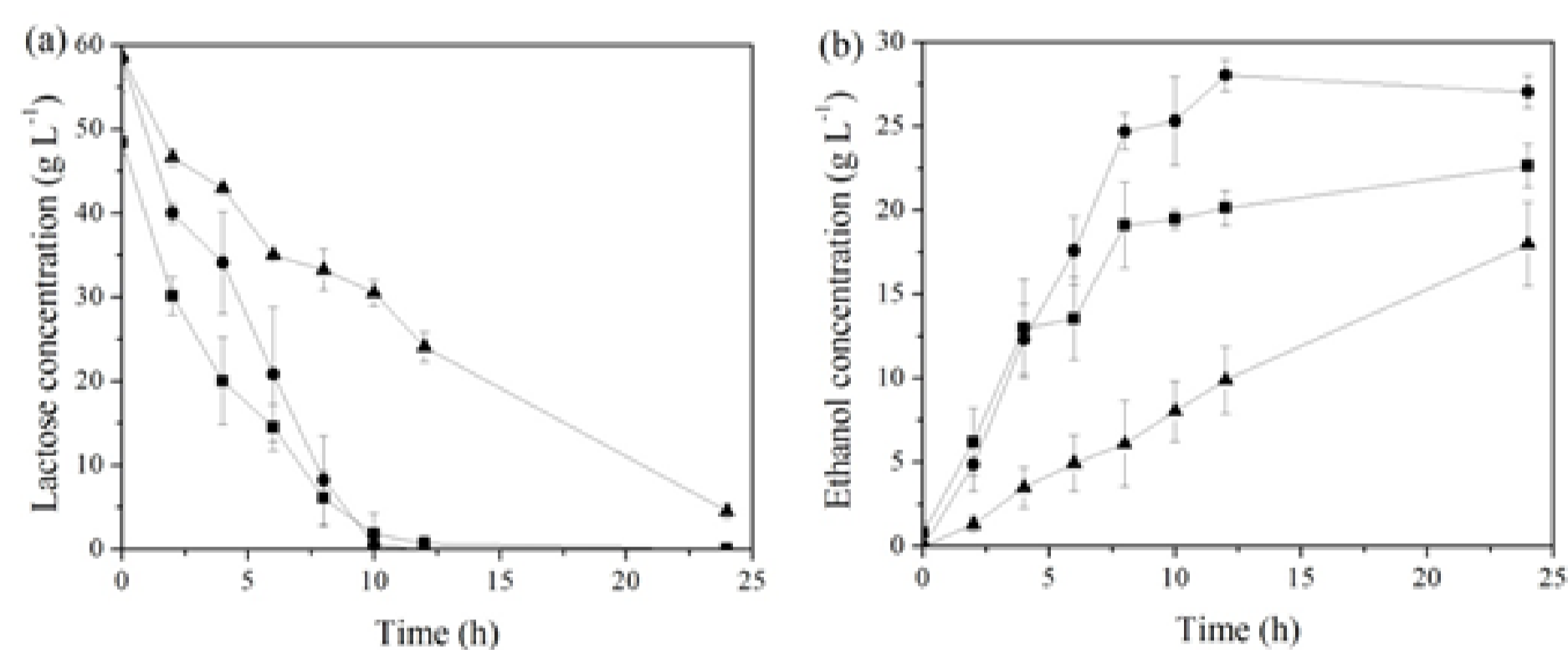


Tabela 2. Fator de conversão ($Y_{EtOH/S}$), eficiência de conversão (η), e produtividade do etanol (Q_p) das três melhores linhagens de *Kluyveromyces marxianus* em biorreator de batelada.

Linhagem	$Y_{EtOH/S}$ (g g ⁻¹)	η (%)	Q_p (g L ⁻¹ h ⁻¹)
CBS 6556	0.45±0.00	83.6±0.31	1.96±0.06
CCT 4086	0.47±0.05	89.2±9.08	2.53±0.26
CCT 2653	0.33±0.04	61.8±7.82	0.75±0.15

Na triagem em shaker, os maiores fatores de conversão de lactose em etanol, $Y_{EtOH/S}$ (0,51 g g⁻¹) e as maiores produtividades volumétricas (Q_p) (0,77 a 1,14 g L⁻¹ h⁻¹) foram obtidos para as linhagens CBS 6556, CCT 4086 e CCT 2653 em meio permeado de soro de queijo não suplementado.

Em biorreator de batelada, um fator de conversão elevado de etanol, $Y_{EtOH/S}$, foi observado para as linhagens CBS 6556 e CCT 4086 (0,45 g g⁻¹ e 0,47 g g⁻¹, respectivamente), correspondendo a uma eficiência de conversão de 84 % e 89 % e tiveram a lactose completamente depletada em 12 h de cultivo, enquanto que a linhagem CCT 2653 apresentou menor valor de $Y_{EtOH/S}$ (0,33 g g⁻¹) e levou 24 h para consumir a lactose. As maiores concentrações e produtividades volumétricas (Q_p) foram obtidas para a linhagem CCT 4086 (28,0 g L⁻¹ e 2,53 g L⁻¹ h⁻¹) em comparação com as outras duas linhagens CBS 6556 (1,96 g L⁻¹ h⁻¹) e CCT 2653 (0,75 g L⁻¹ h⁻¹).

Os resultados foram avaliados por análise de variância (ANOVA) e teste de Tukey utilizando Statistica 10.0 software (StatSoft, EUA).

CONCLUSÃO

Nesse trabalho, os parâmetros fermentativos ($Y_{EtOH/S}$, Q_p) foram maiores do que os reportados em literatura, especialmente em biorreator com células imobilizadas, o que indica este último sistema ser interessante para melhoria das condições desse bioprocessos.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BRITO, A. Leveduras na produção de álcool. *Jornal da Universidade de Campinas*, junho de 2003.
 CANAKCI, M.; SANLI, H. Biodiesel production from various feedstocks and their effects on the fuel properties. *Journal of Industrial and Microbiology Biotechnology*, v. 35, p. 431-441, 2008.
 DEMIRBAS, A. Progress and recent trends in biofuels. *Progress in Energy and Combustion Science*, v. 33, p. 1-18, 2007.
 DOMINGUES, L.; LIMA, N.; TEIXEIRA, J.A. Alcohol production from cheese whey permeate using genetically modified flocculent yeast cells. *Biotechnology Bioengineering*, v. 72, p. 507-514, 2001.
 GABARDO, S.; RECH, R.; AYUB, M.A.Z. Performance of different immobilized-cell systems to efficiently produce ethanol from whey: fluidized batch, packed-bed and fluidized continuous bioreactors. *Journal of Chemical Technology and Biotechnology*, v. 87, p. 1194-1201, 2012.
 GUIMARÃES, P.M.R.; TEIXEIRA, J.A.; DOMINGUES, L. Fermentation of lactose to bio-ethanol by yeasts as part of integrated solutions for the valorization of cheese whey. *Biotechnology Advances*, v.28, p. 375–384, 2010.
 TIMSON, D. J. Galactose metabolism in *Saccharomyces cerevisiae*. *Dynamic Biochem., Process Biotechnol. Molecular Biology*. In: Global Sci. Books, v.1, p.63-73, 2007.