

ALTA BIOCONVERSÃO DE LACTOSE DO SORO DE QUEIJO A ETANOL EM REATORES DE CÉLULAS IMOBILIZADAS DE DIFERENTES LINHAGENS DE *Kluyveromyces marxianus*

Juliana Curzel Zapparoli¹, Sabrina Gabardo¹, Rosane Rech¹, Marco Antônio Záchia Ayub¹

¹UFRGS/ Instituto de Ciência e Tecnologia de Alimentos/ (julicz@msn.com, sabrina.gabardo@ufrgs.br, rrech@ufrgs.br, mazayub@ufrgs.br)

INTRODUÇÃO

O soro de queijo, um subproduto da indústria laticínica, altamente poluidor, constitui-se como um substrato rico em nutrientes e de grande potencial de aproveitamento em bioprocessos. Contudo, a maioria das indústrias tratam este subproduto como um resíduo industrial, descartando-o muitas vezes inadequadamente em corpos de água superficiais, o que pode acarretar em sérios problemas ambientais. O emprego de substratos alternativos de baixo custo, tais como o soro de queijo, além de auxiliar na produção de etanol pode, ainda, solucionar um problema de geração de subprodutos para as indústrias laticínicas.

OBJETIVOS

O presente trabalho teve como objetivo avaliar a produção de etanol através da bioconversão da lactose presente em meio de soro de queijo pelas linhagens de *Kluyveromyces marxianus* CBS 6556, CCT 4086 e CCT 6498 em agitador rotacional e em biorreatores de células imobilizadas e comparar a produção obtida pelas diferentes linhagens, além de avaliar a influência de diferentes temperaturas de cultivo na produção do etanol em reatores com *K. marxianus* CBS 6556 imobilizada.

MATERIAL E MÉTODOS

Soro de queijo

O soro de queijo em pó foi fornecido pela Elegê Laticínios S.A. (RS, Brasil) e permaneceu estocado em freezer a -16 °C.

Material biológico, manutenção e renovação das culturas microbianas

Kluyveromyces marxianus CBS 6556, CCT 4086 e CCT 6498.

As linhagens foram mantidas em placas de Petri contendo meio nutritivo YEPD, composto de extrato de levedura (10 g.L⁻¹), peptona bacteriológica (20 g.L⁻¹), lactose (20 g.L⁻¹), e ágar (20 g.L⁻¹), pH 7,0. As linhagens foram incubadas em estufa a 30 °C por 24 horas e, posteriormente armazenadas a 4 °C.

Fermentação em frascos agitados

O experimento foi conduzido em erlenmeyers de 250 mL contendo 135 mL de soro de queijo 7% previamente hidrolisado com protease comercial e esterilizado, pH 7,0, contendo 10% de inóculo padronizados com DO 1. As culturas foram mantidas em agitador orbital a uma temperatura de 30 °C, 150 rpm, por 48 horas.

Fermentação em biorreatores

O preparo do pré-inóculo foi realizado através da transferência de células de cultura em 800 mL de meio YEPD e, posteriormente, crescidas em agitador rotacional a 180 rpm, 30 °C por 15 horas. Em seguida, os meios foram centrifugados a 3000 g por 15 minutos a 30 °C e as células lavadas por duas vezes com água destilada estéril, sendo, novamente centrifugadas, e posteriormente, ressuspendidas em 10 mL de água destilada estéril a 4 °C. Essa suspensão celular foi adicionada em uma solução alginato de sódio 4%, e em seguida, gotejada através de bomba peristáltica em solução de cloreto de cálcio 0,1M a 35 °C.

Biorreator de coluna foi preenchido com 85 ml de esferas e 250 mL de soro de queijo 70 g.L⁻¹ hidrolisado. O sistema foi acondicionado em termostato para a manutenção da temperatura a 30°C durante as 24 horas de cultivo e a fluidização do sistema foi realizada através de bomba peristáltica. Diferentes temperaturas de cultivo também foram testadas para avaliar a produção de etanol em biorreator contendo *K. marxianus* CBS 6556 imobilizada. Todos os experimentos foram realizados em duplicata.

Métodos analíticos

O preparo das amostras foi realizado através da centrifugação a 3000 xg por 15 minutos, 4 °C e o sobrenadante foi analisado. O consumo da lactose foi determinado pelo método do ácido 3,5-dinitrosalicílico-DNS (CHAPPLIN e KENNEDY, 1994). A concentração de etanol foi determinada através de cromatografia gasosa (SHIMADZU, modelo GC 14-B, Japão).

RESULTADOS

A bioconversão da lactose a etanol foi verificada para as três linhagens de leveduras testadas em incubadora rotatória.

A tabela 1 apresenta os resultados obtidos em biorreator de coluna com as diferentes linhagens de *K. marxianus*. O perfil de consumo de lactose e produção de etanol por *K. marxianus* CBS 6556 em diferentes temperaturas é verificado na figura 1 e os parâmetros de fermentação podem ser observados na tabela 2.

Tabela 1. Fator de conversão de lactose a etanol ($Y_{P/S}$), eficiência de conversão (η) e produtividade volumétrica (QP) pelas 3 linhagens de *K. marxianus*.

Linhagem	$Y_{P/S}$ (g etanol / g lactose)	Eficiência de conversão (%)	Qp (g.L ⁻¹ .h ⁻¹)
<i>K. marxianus</i> CBS 6556	0,45	83,3	0,96
<i>K. marxianus</i> CCT 4086	0,43	79,1	0,81
<i>K. marxianus</i> CCT 6498	0,45	83,3	0,84

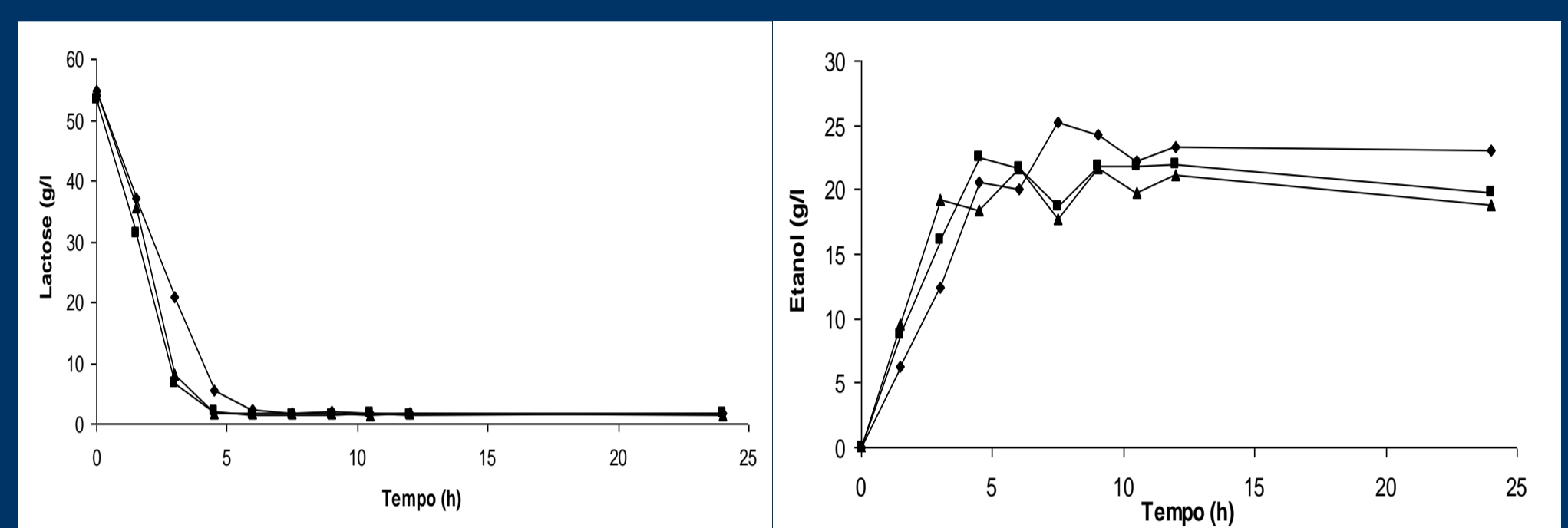


Figura 1. Consumo de lactose e produção de etanol por *K. marxianus* CBS 6556 a 30, 35 e 40 °C em biorreator de coluna de leito fluidizado. Temperatura de 30 °C (♦); temperatura de 35 °C (■); temperatura de 40 °C (▲).

Tabela 2. Fator de conversão de lactose a etanol ($Y_{P/S}$), eficiência de conversão (η) e produtividade volumétrica (QP) em diferentes temperaturas pela linhagem *K. marxianus* CBS 6556.

Temperatura (°C)	$Y_{P/S}$ (g etanol / g lactose)	Eficiência de conversão (%)	Qp (g.L ⁻¹ .h ⁻¹)
30	0,45	83,5	0,96
35	0,41	76,3	0,82
40	0,36	66,1	0,78

DISCUSSÃO

A conversão da lactose a etanol foi verificada para as três linhagens testadas em experimento em shaker, sugerindo que as linhagens são capazes de produzir etanol. Experimentos em biorreatores demonstraram que o fator de conversão de lactose a etanol ($Y_{P/S}$) foi semelhante para as três leveduras testadas, sendo que todas apresentaram altos valores de eficiência de conversão.

Os ensaios realizados em diferentes temperaturas apresentaram eficiência de conversão que variou entre 66,1 e 83,5 % e a produtividade volumétrica entre 0,78 a 0,96 g.L⁻¹.h⁻¹. Verifica-se um consumo mais lento até as primeiras 6 horas de cultivo na temperatura de 30 °C, sendo que após esse período o perfil de consumo permaneceu semelhante para as diferentes temperaturas testadas. Em relação à produção de etanol, se observa que a produção foi inferior a 30 °C do que para as demais temperaturas nas primeiras 6 horas. Contudo, após as 12 horas de cultivo, verifica-se que a maior produção de etanol foi para a temperatura de 30 °C, fato que sugere uma provável evaporação do etanol em temperaturas mais elevadas.

CONCLUSÕES

Neste trabalho, as três linhagens de *K. marxianus* apresentaram bom desempenho na bioconversão de lactose a etanol. Devido a provável evaporação do etanol a menor temperatura foi a mais eficiente. A utilização do soro de queijo, revelou-se uma opção bastante vantajosa, apresentando grande potencial de aproveitamento e representando uma alternativa interessante em termos de produtividade. Desse modo, a utilização deste subproduto industrial pode minimizar o seu potencial poluidor, além de tornar a produção de etanol um processo menos oneroso e contribuinte para a redução de emissões de resíduos decorridos de indústrias de laticínios.

AGRADECIMENTOS:

