

PRODUÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DE BIOMASSA FERMENTADA E DE HIDROLISADOS PROTEICOS DE LEVEDURA *YARROWIA LIPOLYTICA*

MATEUS H. A. P. ALVES^{1,2}, LUIZ EDUARDO B. BABARESCO³, THIAGO B.
BITENCOURT⁴, LUISA HELENA CAZAROLLI⁵, SILVIA ROMÃO⁶

1 Introdução

A formação de resíduos e subprodutos é uma consequência natural do beneficiamento em diferentes setores produtivos, principalmente no processamento de frutas, verduras e grãos. Com a crescente preocupação ambiental, torna-se cada vez mais evidente o desafio de conciliar, nas próximas décadas, a produção de alimentos, o crescimento econômico, a justiça social e a preservação ambiental. Os resíduos sólidos agroindustriais, por apresentarem grande quantidade de nutrientes, podem ser aproveitados por micro-organismos, que os transformam em matérias-primas ou produtos de interesse comercial. (Morales *et al.*, 2017)

Esses micro-organismos são capazes de metabolizar compostos orgânicos com baixo teor de proteínas e convertê-los, por meio da bioconversão, em alimentos mais nutritivos e ricos em proteínas. A levedura *Yarrowia lipolytica* (YL) se destaca nesse contexto por sua versatilidade no uso de diferentes substratos, sua capacidade de gerar biomassa microbiana e metabólitos relevantes, além de apresentar elevada atividade secretora, o que reforça sua importância industrial. (Araujo *et al.*, 2009; Hamza *et al.*, 2017; Ledesma-Amaro *et al.*, 2016)

A utilização de resíduos agrícolas e da indústria de alimentos por meio da bioconversão tem recebido grande atenção, especialmente devido ao papel da fermentação nesse processo, permitindo a produção de compostos de alto valor agregado e de interesse econômico. Entre as vantagens desse método estão o baixo custo, a facilidade de aplicação de micro-organismos, a melhoria da digestibilidade e do valor nutricional, o controle simplificado e a não utilização de substâncias químicas. (Machado *et al.*, 2015; Morales *et al.*, 2013)

Dessa forma, a fermentação com *Yarrowia lipolytica* surge como uma alternativa

¹ Graduando em Agronomia – UFFS - Campus Laranjeiras do Sul, contato: mateus.av97@gmail.com

² Grupo de pesquisa: Produção, transformação e armazenamento de alimentos - UFFS

³ Mestrando em Ciência e Tecnologia de Alimentos – PPGCTAL – UFFS – Campus Laranjeiras do Sul.

⁴ Doutor em Química – Professor na UFFS – Campus Laranjeiras do Sul

⁵ Doutora em Farmácia – Professora na UFFS – Campus Laranjeiras do Sul

⁶ Doutora em Biologia – Professora na UFFS – Campus Laranjeiras do Sul, **Orientadora.**

promissora para o aproveitamento de resíduos, contribuindo para a redução de impactos ambientais e, ao mesmo tempo, agregando valor a esses materiais por meio da geração de compostos com potencial econômico.

2 Objetivos

O trabalho tem como objetivo principal empregar a levedura *Yarrowia lipolytica* QU69 em processos de bioconversão com a finalidade de agregar valor nutricional aos resíduos agroindustriais.

Avaliar os resíduos agroindustriais quanto aos seus conteúdos de proteínas e lipídios, conduzir experimentos de bioconversão utilizando esses resíduos e examinar a biomassa obtida em relação aos teores proteico e lipídico, desenvolver etapas de otimização do processo de bioconversão visando aprimorar os resultados alcançados.

3 Metodologia

Todos os reagentes e solventes empregados apresentavam grau de pureza para Análise (P.A.) e foram utilizados sem etapas adicionais de purificação. A cepa *Yarrowia lipolytica* QU69 foi disponibilizada pela Professora Patrícia Valente, do Departamento de Microbiologia, Imunologia e Parasitologia da UFRGS (RS, Brasil).

Nos experimentos foram utilizadas cascas de mandioca (*Manihot esculenta*) como resíduo agroindustrial, coletado em propriedades rurais próximas a Universidade Federal da Fronteira Sul (UFFS), *campus* Laranjeiras do Sul - PR. Os resíduos foram previamente secos a 50°C por 24 horas, triturados em moinho de martelo (Fortinox STAR FT53) e peneirados em peneiras de 6-8 mesh, estocados em frascos de vidro com tampa em temperatura ambiente.

As células da levedura *Yarrowia lipolytica* QU69 foram cultivadas em meio com glicose e extrato de levedura (GYP) e mantidas a 28 °C por 48 horas. Após a incubação, utilizando-se uma alça de platina, parte das células foi transferida para tubos de ensaio contendo 10 mL de solução salina estéril, até que a turbidez atingisse a equivalência visual aos padrões da escala de McFarland, previamente preparada para a contagem celular. Foi utilizado meio de suplementação mineral descrito por Santos *et al.* (2013) com modificações, composto de uréia ($\text{N}_2\text{H}_4\text{CO}$) de fosfato de potássio monobásico (KH_2PO_4) e de sulfato de magnésio heptahidratado ($\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$). Foram utilizados frascos erlenmeyer com capacidade de 125 mL, contendo 5% de resíduo como fonte de carbono e 50 mL do meio de suplementação. Os fras-

cos contendo o resíduo e o meio mineral foram autoclavados, adicionados de 1 mL da suspensão de células contendo 2×10^6 UFC/mL e incubados em banho com agitação de 150 rpm, sob diferentes temperaturas por 9 dias. As fermentações foram realizadas em banho com agitação tipo Dubnoff (Nova Instruments NI 1232).

Após o processo de bioconversão a biomassa obtida foi liofilizada (Liotop L101) e analisada quanto ao teor de proteínas e lipídeos totais (%). Tanto para os resíduos *in natura* quanto para a biomassa foram realizadas análises de proteínas utilizando metodologia descrita por Kjeldahl, conforme procedimento AOAC (1990) com modificações e utilizado fator de 6,25 para o cálculo do teor de proteínas, análise de lipídios com a metodologia descrita por Bligh e Dyer (1959) com modificações.

4 Resultados e Discussão

Inicialmente, foram preparados diferentes meios de suplementação afim de avaliar o teor de proteínas e lipídeos (%) obtidos em diferentes temperaturas com agitação de 150 rpm durante nove dias. Os resultados estão demonstrados na Tabela 1.

Tabela 1. Resultados obtidos quanto ao teor de proteínas e lipídeos (%) obtidas a partir da fermentação por YL utilizando cascas de mandioca (5%) como fonte de carbono.

Temperatura Meio*	25 °C		30 °C		35 °C	
	Prot. (%)	Lip. (%)	Prot. (%)	Lip. (%)	Prot. (%)	Lip. (%)
1	33,03 ± 6,3	6,0 ± 1,3	45,88 ± 10,3	6,3 ± 2,5	35,86 ± 15,1	9,4 ± 1,8
2	22,19 ± 3,2	n.d.**	17,03 ± 8,1	n.d.	18,25 ± 9,3	n.d.
3	30,43 ± 9,1	n.d.	36,44 ± 7,5	n.d.	33,10 ± 5,8	n.d.
4	35,21 ± 5,3	n.d.	41,35 ± 2,3	n.d.	28,63 ± 7,0	n.d.

* condições de cultivo: **1)** 1% Ureia, 0,1% de fosfato de potássio monobásico (KH_2PO_4) e 0,05 % de sulfato de magnésio heptahidratado ($\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$). **2)** 0% Ureia, 0,1% de fosfato de potássio monobásico (KH_2PO_4) e 0,05 % de sulfato de magnésio heptahidratado. **3)** 1% Ureia, 0% de fosfato de potássio monobásico (KH_2PO_4) e 0,05 % de sulfato de magnésio heptahidratado. **4)** 1% Ureia, 0,1% de fosfato de potássio monobásico (KH_2PO_4) e 0 % de sulfato de magnésio heptahidratado.

** resultado ainda não obtidos.

Os resultados da Tabela 1 se mostram bastante promissores, pois houve um aumento significativo do teor de proteínas e lipídeos em todas as condições acima se comparados com os teores do resíduo de mandioca *in natura* (teor de proteínas de $8,0 \pm 0,8\%$ e lipídeos de 1,2

$\pm 0,4 \%$). Pode-se observar nos resultados que o teor de lipídeos obtido aumenta com o aumento da temperatura somente para o meio 1. Os demais meios ainda estão em análise. Quanto ao teor de proteínas, pode-se observar para o meio 2 (ausência de uréia) que os valores obtidos são os mais baixos, demonstrando a importância da fonte de nitrogênio para o crescimento e reprodução celular, ou seja, incremento da biomassa microbiana. Nos demais meios com ausência de KH_2PO_4 ou $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ (meios 3 e 4) não se observam diferenças significativas quanto ao teor de proteínas. Os experimentos estão sendo novamente realizados para a confirmação desses resultados para que possam prosseguir para a etapa subsequente que envolve a formação de hidrolisados proteicos utilizando proteases de diferentes fontes.

5 Conclusão

Os resultados preliminares apresentados demonstram que a YL pode ser utilizada em processos de bioconversão utilizando resíduos agroindustriais com relativa eficiência. Os processos utilizados nestes experimentos não possuem alto custo e são verdes, isto é, não utilizam materiais que contaminam o meio ambiente.

Referências Bibliográficas

ARAÚJO, L. F. *et al.* Enriquecimento proteico de alimentos por levedura em fermentação semissólida: alternativa na alimentação animal. João Pessoa: Tecnologia e Ciência Agropecuária, v.3, n.3, p. 47-53, set., 2009.

ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS– AOAC. Official Methods of Analysis. 15.ed. Arlington, Virginia: 1117p.1990.

BLIGH, E. G.; DYER, W. J.; A rapid method of total lipid extraction and purification. Can J Biochem Physiol. 1959 Aug; 37(8):911-7. doi: 10.1139/o59-099. PMID: 13671378.

HAMZA, F. *et al.* Selenium nanoparticle-enriched biomass of *Yarrowia lipolytica* enhances growth and survival of *Artemia salina*. Enzyme And Microbial Technology, [s.l.], v. 106, p.48 54, nov. 2017. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.enzmictec.2017.07.002> . 54

LEDESMA-AMARO, R. *et al.* Metabolic Engineering for Expanding the Substrate Range of *Yarrowia lipolytica*. Trends In Biotechnology, [s.l.], v. 34, n. 10, p.798-809, out. 2016. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.tibtech.2016.04.010> .

MACHADO J. F. R. S. *et al.* Biomass production by *Yarrowia lipolytica* as a source of lipids: bench scale cultivation on raw glycerol-based medium. International Food Research Journal, v. 22, p. 1253-1260, 2015.

MORALES, E. M.; *et al.* Utilization of Agro-Industrial Residues as Substrate of Solid-State Fermentation. In: Abulude, F. Olawale; Ganguly, Subha. (Org.). Current trends in advancement of scientific research an opinion in applied microbiology an biotechnology: An introduction to readers. 1ed. Akure: Science and education development Institute, 2013, v. 1, p. 59-71.

SANTOS, C. C. *et al.*, Detecção de lipase por cepa de *Rhizopus arrhizus* var. *arrhizus*. In: CONICBIO/ CONBIO / SIMCBIO,. 2013, Recife - PE. Resumos Expandidos. Recife, v. 2, p. 1 – 11, 2013.

Palavras-chave: leveduras, fermentação, resíduos agroindustriais, proteínas, lipídeos.

Nº de Registro no sistema Prisma: PES 2024 - 0437

Financiamento

