



ANÁLISE DE ÓLEO RESIDUAL PROCESSADO POR MICRORGANISMOS LIPOLÍTICOS ISOLADOS DE ÓLEOS RESIDUAIS

Dâmaris Hadassa Rangel Fonseca (1) Sandro Rogério De Sousa (2)

RESUMO

O meio ambiente é direito de todos e a sua preservação deve ser exercida para que futuras gerações possam usufruir e obter boa qualidade de vida. Visando esse objetivo o presente trabalho busca analisar óleos residuais processados por leveduras lipolíticas, com isso podem-se obter alternativas para o reciclo desse resíduo, que se descartados incorretamente podem provocar impactos significativos ao meio ambiente. Leveduras lipolíticas são capazes de alterar os ácidos graxos presentes no óleo residual obtendo um óleo com propriedades semelhantes ao de coco, elas também atuam em ruminantes obtendo produtos da fermentação de carboidratos e produzem ácidos graxos com importância na alimentação humana. Nesta pesquisa foram utilizadas linhagens de leveduras selecionadas de óleo residual comparadas com a *Yarrowia lipolytica*, fizeram-se análises através de cromatografia gasosa e índice de acidez, observando alterações na estrutura e acidez do óleo. Os produtos finais podem ser usados na produção de sabões, indústria farmacêutica e cosmética, produção de biodiesel, e para estudos futuros a possível extração de ômega 3 e ômega 9 na utilização em cápsulas para uma dieta humana.

PALAVRAS-CHAVE: Óleo residual, *Yarrowia lipolytica*, Meio ambiente

SUMMARY

The environment is everyone's right and its preservation must be exercised so that future generations can enjoy and get good quality of life. Just for that purpose this paper is to analyze residual oils processed by lipolytic yeast, it can be obtained alternatives for the recycling of this waste, which is disposed of incorrectly can cause significant environmental impacts. lipolytic yeasts are capable of altering the fatty acids present in the residual oil obtained an oil with properties similar to coconut, they also act in ruminants getting products from the fermentation of carbohydrates and produce fatty acids that are important in human nutrition. In this study we used strains of yeast selected residual oil compared with the *Yarrowia lipolytica*, analyzes were made by gas chromatography and acid number, observing changes in structure and oil acidity. The final products can be used in the production of soaps, pharmaceutical and cosmetic industry, biodiesel production, and future studies the possible extraction of omega 3 and omega 9 in use in capsules for a human diet.

KEYWORDS: residual oil, *Yarrowia lipolytica*, Environment

⁽¹⁾ Agência Paulista de Tecnologia dos Agronegócios – APTA/SAA, Avenida Bandeirantes 2419, CEP 14030-670, Ribeirão Preto, SP. jrscarpellini@apta.sp.gov.br



INTRODUÇÃO

A preocupação com o meio ambiente começou na década de 1960 a 1970, onde a industrialização crescia fortemente e os impactos ambientais já eram visíveis. Desde então políticas, leis e conferências vêm surgindo para buscar uma diminuição do impacto ambiental mundialmente. No Brasil a importância com a preservação ambiental é buscada desde o surgimento de políticas ao meio ambiente, pode-se observar a resolução do Conselho Nacional do Meio Ambiente (CONAMA) 275 de abril 2001, onde se busca a reciclagem de resíduos para se reduzir o consumo de matérias-primas, recursos naturais não renováveis, energia e água.

Dentro desses resíduos se enquadra o óleo, que seu reaproveitamento é de suma importância para que se diminuam grandes impactos ao meio ambiente. Esses impactos são significativos, pois quando os óleos são descartados em ambientes aquáticos podem ocorrer a morte de peixes, plantas marinhas e microrganismos (RIZZO; GASPARINI; SILVA, 2013)¹. Se descartados em pias e vasos sanitários ocorre o entupimento de tubulações e na rede de esgoto pode ocasionar a infiltração no solo, poluindo o lençol freático.

Para que esse óleo seja reaproveitado ele precisa ser quebrado com a utilização de catalisadores, como por exemplo, as lipases, estas enzimas podem ser produzidas por leveduras lipolíticas (TORTORA; FUNKE; CASE, 2012)². Estudos feitos em ruminantes observou que as leveduras foram capazes de mudar as concentrações de ácidos graxos presentes nesses seres vivos (CHAUCHEYRAS, F. et.al, 2012)³.

As leveduras são capazes de modificar o óleo obtendo propriedades similares ao óleo de coco (BEOPOULUS, A. 2009)⁴ e também absorvem e modificam ácidos graxos que se encontravam em meio fermentativo (BELLUCO, A.E.S., 2001)⁵. De acordo ainda com (SILVA, L.V. 2010)⁶ pode-se concluir que a levedura *Yarrowia lipolytica* é capaz de produzir ácido cítrico utilizando glicerol PA e glicerol bruto como sua única fonte de carbono. Além do glicerol as leveduras lipolíticas podem assimilar glicose, álcoois, acetato e substratos hidrófobos, como ácidos graxos ou alcanos. (BARTH; GAILLARDIN, 1997)⁷.

Então pode-se observar que ao longo de pesquisas e estudos, as leveduras são capazes de modificar e consumir o óleo residual, sendo assim este trabalho busca analisar as mudanças que as leveduras lipolíticas selecionadas de óleos residuais fazem quando são submetidas a uma única fonte de carbono, que neste caso é o próprio óleo residual. Essas análises serão realizadas através de cromatógrafo a gás (CG-FID), cálculo do índice de acidez e análise visual na mudança de cor e por meio deles poderá observar se houve alguma modificação do óleo antes do tratamento com as leveduras e após o mesmo.



OBJETIVOS

Análise de óleo residual submetido a fermentação como única fonte de carbono para leveduras lipolíticas previamente selecionadas em comparação com a *Yarrowia lipolytica* antes e após o tratamento.

MATERIAIS E MÉTODOS

O meio de cultura sólido utilizado foi o YEPD (Extrato de levedura, Peptona e glicose), estriou-se 8 linhagens de leveduras, selecionadas previamente de óleos residuais, por dois dias a 28°C em uma câmara de germinação. O meio mineral para a fermentação foi baseado de acordo com (PAPANIKOLAOU, S.; AGGELIS, G., 2001)⁸ utilizou-se então em g/L, 7 KH₂PO₄; 2,5 Na₂HPO₄ . 7 H₂O; 1,5 MgSO₄ . 7 H₂O; 0,15 CaCl₂ . 2 H₂O; 0,02 FeCl₃ . 6 H₂O; 0,06 ZnSO₄ . 7 H₂O; 0,5 MnSO₄ . H₂O; 0,5 extrato de levedura, pH 6. Em 9 erlenmeyers foram colocados 100 mL do meio e 50 mL de óleo residual, foram autoclavadas por 15 minutos, a 120°C e após foram inoculadas com as leveduras selecionadas e o crescimento foi realizado em uma incubadora shaker, sob agitação de 240 rpm, a 28°C, durante 7 dias, depois de uma semana foram retirados os frascos do shaker, e foram colocados em uma estufa a 80°C por dois dias retirando parte da água, em seguida por meio de filtração separou-se as leveduras da parte líquida e voltou os frascos para a estufa por dois dias a fim de realizar por completo a secagem das amostras. Na etapa dois realizou-se a análise das amostras com o óleo antes de ser fermentado pelas leveduras e depois da fermentação, primeiro uma alíquota foi retirada e titulada com NaOH e calculou-se o índice de acidez, para análise em cromatografia as amostras foram preparadas de acordo com as normas ISSO 12966-2 e ISSO 12966-4 e o cromatógrafo usado foi o gasoso com detector por ionização de chama e por fim observou-se a mudança de cor.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

O índice de acidez foi então calculado, podendo obter os seguintes resultados apresentados na tabela 1. Foram observados que o óleo tratado com as leveduras apresentou um índice de acidez maior que a amostra que não foi tratada com leveduras, isso pode ter ocorrido devido à presença de ácidos graxos livres (GONÇALVES, A. et al. 2009)⁹ mostrando que as leveduras interferem na acidez do óleo.

As amostras de óleo foram comparadas visualmente antes da fermentação e posterior, notou-se o clareamento das mesmas.

Na cromatografia gasosa, ocorreu mudanças significativas do óleo, a tabela 2 mostra os ácidos graxos que sofreram alterações, a análise feita antes do tratamento apresenta em maiores proporções o C18:2n6C (45,7%), C18:1n9C (26,8%), C16:0 (12,9%), na amostra da *Y. lipolytica* não ocorreu mudanças significativas, as leveduras 4 e 5 não foram analisadas por problemas técnicos, na tabela pode-se observar todas as alterações e os ácidos considerados mais importantes com valores significativos, a exemplo o ácido graxo C18:1n9C (ácido oleico), produzido principalmente na levedura 1, proporciona redução nos teores



de colesterol total plasmático (LDL e na relação LDL/HDL) (BONANOME, A.; GRUNDY, S.M., 1988)¹⁰. O ácido C22:6n3 (DHA), em destaque na levedura 7, atua na formação, desenvolvimento e funcionamento do cérebro e da retina. (LIMA, M.F., 2004)¹¹. O C6:0 (ácido caproico), presente em maior proporção na levedura 8, segundo (NETO, N.S. et al. 2013)¹² este ácido está presente no óleo de coco em conjunto com outros ácidos graxos saturados, também é muito utilizado em emulsões cosméticas de cremes, condicionadores, desodorantes em bastão, pode reagir com a glicerina para formar um produto com propriedades emolientes e lubrificantes, sendo empregado em óleos de banhos infantis e na síntese e manufaturas de perfumes e fragrâncias. O C18:0 (ácido esteárico) pode ser utilizado na área cosmética e farmacêutica (ROWE, R.C.; SHESKEY, P.J.; QUINN, M.E., 2009)¹³ teve maior proporção na levedura 7. O C15:1 produzido na levedura 1, está sendo estudado.

Tabela 1 Índice de acidez em mgKOH/g óleo das amostras antes e após o tratamento

AMOSTRAS	ÍNDICE DE ACIDEZ MGKOH/G DE ÓLEO
Óleo residual antes do tratamento	0,55
Óleo residual <i>Yarrowia lipolytica</i>	5,29
Levedura 1	1,42
Levedura 2	1,12
Levedura 3	1,21
Levedura 6	0,9
Levedura 7	0,93
Levedura 8	1,37

Tabela 2- Resultados de ácidos graxos em CG-FID, antes e após o tratamento com leveduras

Ácidos graxos	Óleo Residual	Y1095	Levedura 1	Levedura 2	Levedura 3	Levedura 6	Levedura 7	Levedura 8
C6:0	0,10%	----	0,40%	0,30%	0,30%	0,40%	0,50%	30,00%
C8:0	0,30%	0,30%	0,60%	0,40%	0,60%	0,50%	0,70%	----
C14:0	0,20%	0,20%	0,10%	0,10%	0,20%	0,20%	----	----
C15:1	----	----	15,80%	----	----	----	----	----
C16:0	12,90%	12,90%	----	14,30%	15,10%	15,00%	16,30%	9,50%
C16:1	0,10%	0,10%	0,10%	0,10%	0,10%	0,10%	0,10%	----
C17:0	0,10%	0,10%	0,10%	0,10%	0,10%	0,10%	0,10%	----
C17:1	----	0,10%	0,10%	----	0,10%	0,10%	----	----
C18:0	4,00%	4,00%	4,80%	4,40%	4,60%	4,60%	5,10%	2,60%
C18:1n9T	0,20%	0,20%	0,20%	0,20%	0,20%	0,20%	0,30%	----
C18:1n9C	26,80%	26,80%	30,20%	28,50%	29,40%	29,10%	29,70%	17,80%
C18:2n6T	0,10%	0,10%	----	0,10%	0,10%	0,10%	0,10%	----
C18:2N6C	45,70%	45,60%	37,30%	41,30%	38,30%	38,70%	34,60%	24,20%
C20:0	0,40%	0,30%	0,40%	0,50%	0,40%	0,40%	0,50%	----
C18:3n6	0,40%	0,50%	0,30%	0,30%	0,30%	0,30%	0,20%	----



C20:1	0,60%	0,70%	2,20%	0,60%	0,60%	----	0,50%	----
C18:3n3	3,10%	3,20%	-----	2,30%	1,90%	2,00%	1,30%	1,60%
C21:0	0,10%	0,10%	-----	----	0,10%	0,10%	----	----
C22:0	0,50%	0,40%	-----	0,50%	0,50%	0,50%	0,60%	----
C20:4n6	----	-----	-----	----	0,10%	0,10%	0,10%	----
C24:0	0,20%	0,20%	-----	----	0,20%	0,20%	0,20%	----
C20:5n3	0,10%	0,10%	-----	0,10%	0,10%	0,10%	0,10%	----
C22:6n3	0,20%	0,20%	0,70%	0,50%	0,60%	0,60%	0,90%	----

CONCLUSÕES

A maioria das leveduras lipolíticas selecionadas são capazes de modificar os ácidos graxos, a acidez e a cor do óleo residual. Pela sua alta acidez esse óleo não pode ser consumido na dieta humana, no entanto os ácidos graxos produzidos podem ser utilizados em indústrias farmacêuticas e cosméticas, o óleo com característica semelhantes ao de coco pode ser otimizado e utilizado na produção de biodiesel, e como proposta de futuros estudos, os ácidos benéficos a saúde sendo extraídos do óleo tratado podem ser usados para uma dieta humana.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. RIZZO, M. R.; GASPARINI, S. T.; SILVA, N. F., **Óleos saturados: um estudo do descarte em estabelecimentos de Três Lagoas e Andradina**, [S.I.], ANAP Brasil, v. 6, n. 7, p. 85-104, jul. 2013. Disponível em <file:///C:/Users/User/Downloads/424-862-1-SM%20(1).pdf> Acesso em 15 de nov. 2015.
2. TORTORA, G. J.; FUNKE, B.R.; CASE, C. L. Eucariotos: Fungos, Algas, Protozoários e Helminthos. In: **Microbiologia**, 10ª Edição, Artmed, Rio Grande do Sul: Porto Alegre, 2012. p. 332. ISBN: 9780321550071
3. CHAUCHEYRAS, F. D., et al. **Probiotic in animals. Veterinay Medicine and Science**, [s.l.], 2013, ISBN: 978-953-51-0777-4. Disponível em:<http://www.intechopen.com/books/probiotic-in-animals/use-of-yeast-probiotics-in-ruminants-effects-and-mechanisms-of-action-on-rumen-ph-fibre-degradation-#article-front> Acesso em 01 de março de 2016.
4. BEOPOLUS, A. et al., **Yarrowia lipolytica as a model for bio-oil production, Progress in lipid research**, p. 375-387, ago. 2009.
5. BELLUCO, A. E. S., **Alterações fisiológicas e de composição em Saccharomyces cerevisiae sob condições não ploriferantes, 2001**, 100p. Dissertação: (Mestre em ciências), Escola Superior de Agricultura Luíz de Queiroz, Universidade de São Paulo, Piracicaba, São Paulo, 2001. Disponível em:<file:///C:/Users/User/Downloads/Belluco%20(2).pdf>. Acesso em 01 de março de 2016.
6. SILVA, L. V. **Produção de ácido cítrico por Yarrowia lipolytica utilizando glicerol como fonte de carbono**. 2010. 94p. Dissertação (Mestre em ciências) - Pós-graduação em Tecnologia de Processos Químicos e Bioquímicos, Escola de Química da Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2010.



- Disponível em:<<http://tpqb.eq.ufrj.br/download/producao-de-acido-citrico-por-yarrowia-lipolytica-utilizando-glicerol.pdf>> Acesso em: 22 de out. 2015.
7. BARTH, G.; GAILLARDIN, C., **Physiology and genetics of the dimorphic fungus *Yarrowia lipolytica***, [S.l.], FEMS Microbiology Reviews, v. 19, n. 4, p. 219-237, abr. 1997. Disponível em:<<http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.1574-6976.1997.tb00299.x/pdf>> Acesso em: 12 de nov. 2015.
 8. PAPANIKOLAOU, S.; AGGELIS, G., 2001. **Lipid production by *Yarrowia lipolytica* growing on industrial glycerol in a single-stage continuous culture.**
 9. GONÇALVES A., et al., **Determinação do índice de acidez de óleos e gorduras residuais para produção de biodiesel**, III Congresso da Rede Brasileira de Tecnologia em Biodiesel. p. 187-188. Disponível em:<http://www.alexbrasil.com.br/_upload/4dcebf0217424536ba08a1686dc0edca.pdf> Acesso em 04 de março de 2016
 10. BONANOME, A.; GRUNDY, S.M.,1988, **Effect of dietary stearic acid on plasma cholesterol and lipoprotein levels.** Disponível em:<<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/3362176>> Acesso em 15 de nov. 2015.
 11. LIMA, M.F., et al. 2004, **Ácido graxo ômega 3 docosahexaenóico (DHA: C22:6 n-3) e desenvolvimento neonatal: aspectos relacionados a sua essencialidade e suplementação.**, Nutrire: Rev. Soc. Bras. Alim. Nutr. v.28:65-77. Disponível em:<https://naturalis.com.br/pdf/DHA/artigo_01.pdf> Acesso em: em 04 de mar. 2016.
 12. NETO, N.S. et al.,2013, **Caracterização química e físico-química do óleo de coco extra virgem (cocos nucifera L.)**, Natal. Disponível em:<<http://annq.org/eventos/upload/1362423693.pdf>> Acesso em: 01 de mar. 2016.
 13. ROWE, R.C.; SHESKEY, P.J.; QUINN, M.E., 2000, **Handbook of pharmaceutical excipients. 3ªed. U.S.A. American pharmaceutical association and pharmaceutical press.**