

# Leveduras oleaginosas: micro-fábricas para gerar valor a partir de resíduos

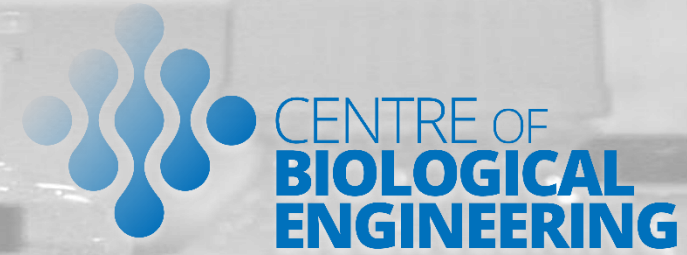
Marlene Lopes

25 novembro 2020





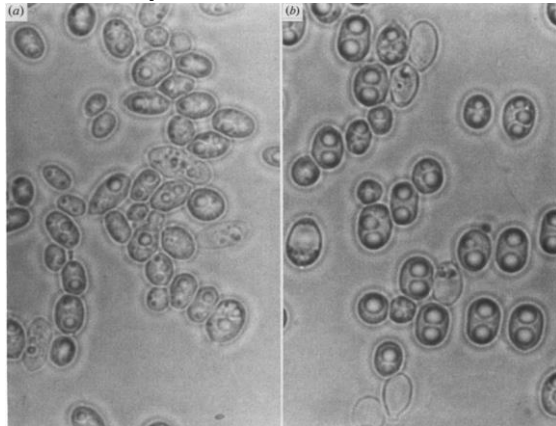
# Leveduras oleaginosas



University of Minho  
School of Engineering

- Acumulam lípidos intracelulares – **Lípidos Microbianos** ou **Óleos Microbianos**
- Conteúdo em lípidos ultrapassa 20 % do seu peso seco, podendo acumular mais de 70 %
- Composição dos lípidos varia de acordo com os substratos e as condições de cultura

*Rhodospiridium toruloides*



*Lipomyces starkeyi*



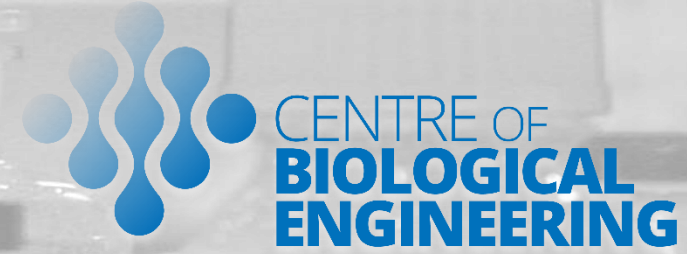
*Yarrowia lipolytica*



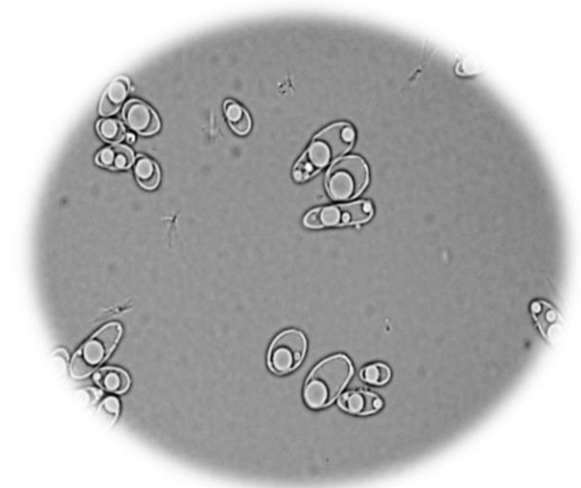


# *Yarrowia lipolytica*

University of Minho  
School of Engineering



- Levedura não patogénica com estatuto *GRAS*
- Produtos obtidos a partir de processos com *Y. lipolytica* são aprovados pela *FDA*
- Estritamente aeróbia
- Isolada a partir de produtos lácteos, carne, meios ricos em lípidos e ambientes marinhos e hipersalinos
- Todo o genoma sequenciado
- Modelo para o estudo do metabolismo de lípidos
- Modelo para o estudo de dimorfismo

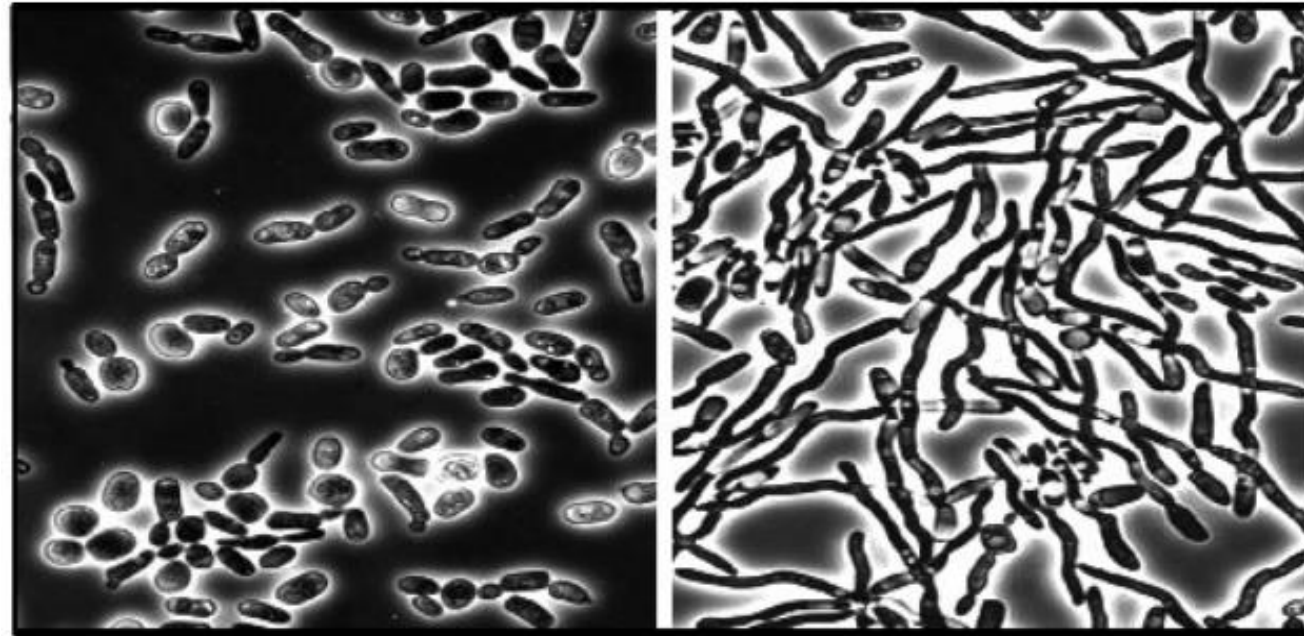
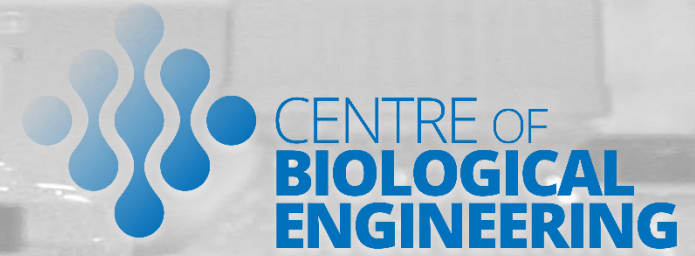






# *Yarrowia lipolytica*

University of Minho  
School of Engineering



Forma oval (levedura)

Micélio (hifas)

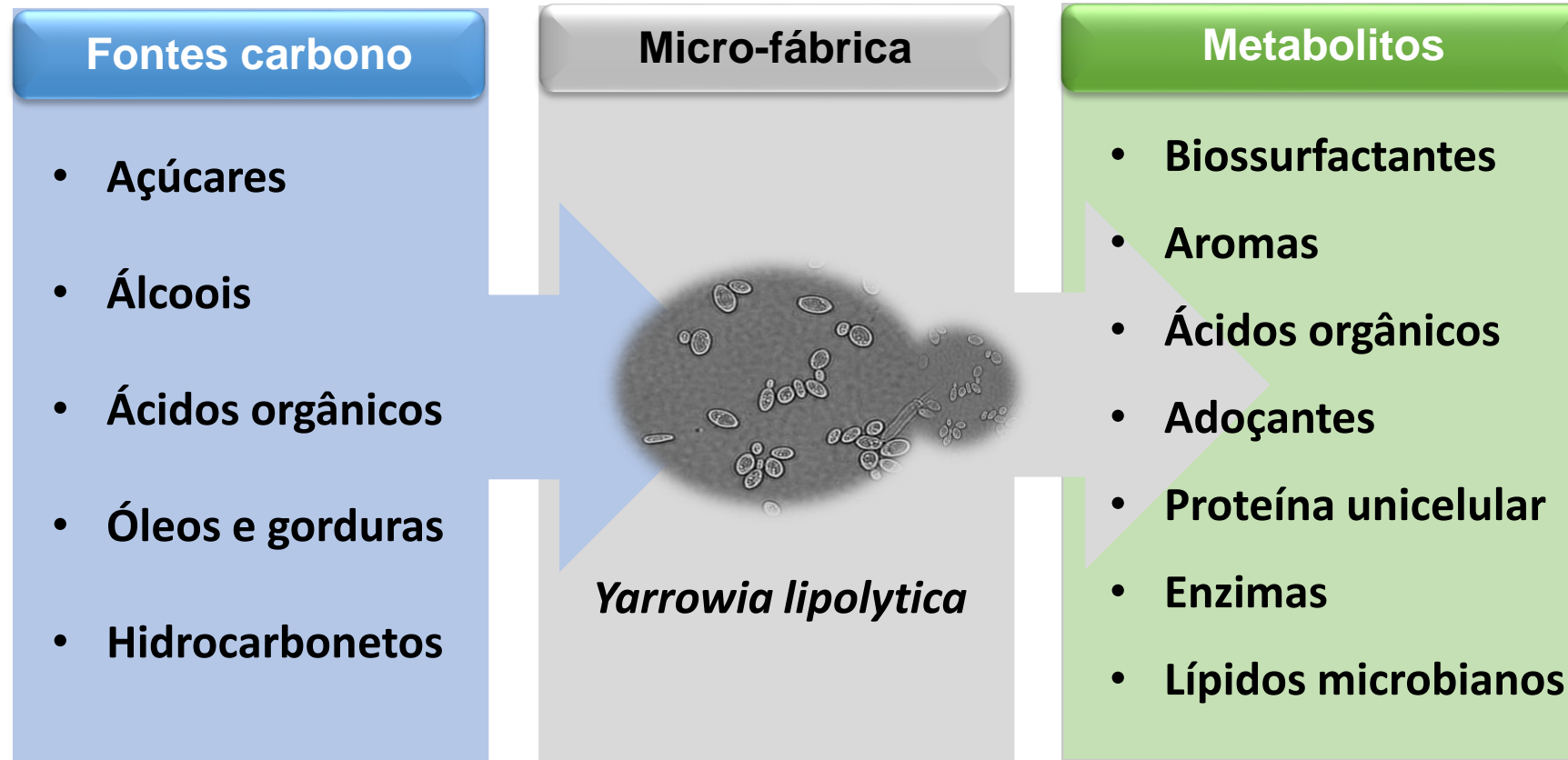


# Interesse biotecnológico de *Yarrowia lipolytica*



CENTRE OF  
**BIOLOGICAL  
ENGINEERING**

University of Minho  
School of Engineering

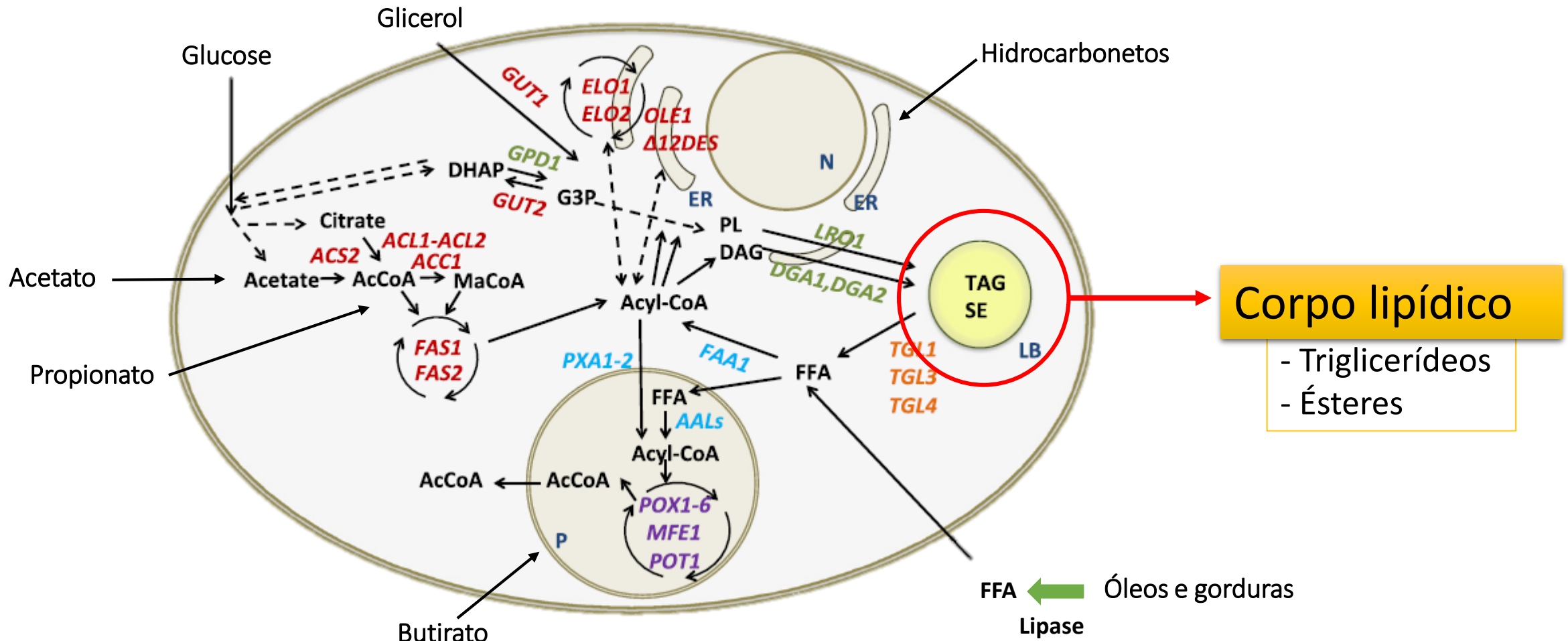




# Produção de lípidos em *Yarrowia lipolytica*

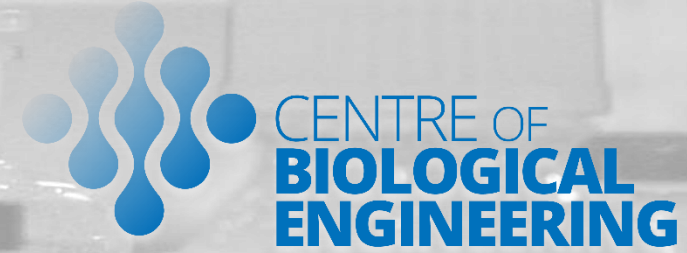


University of Minho  
School of Engineering

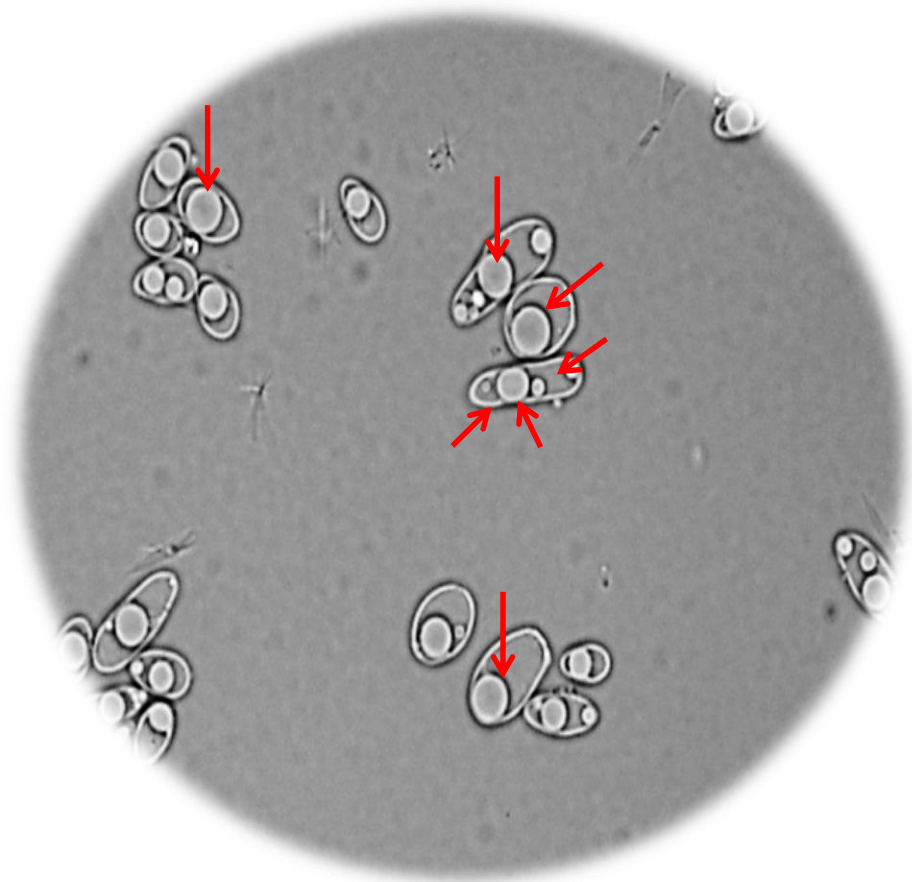




# Interesse dos lípidos microbianos



University of Minho  
School of Engineering



## Composição

- **Ác. palmítico (C16:0)**
- **Ác. esteárico (C18:0)**
- **Ác. oleico (C18:1)**
- **Ác. linoleico (C18:2)**
  
- **Ác. palmitoleico (C16:1)**
- **Ác. linolénico (C18:2)**
- **Ác. margárico (C17:0)**

## Aplicação

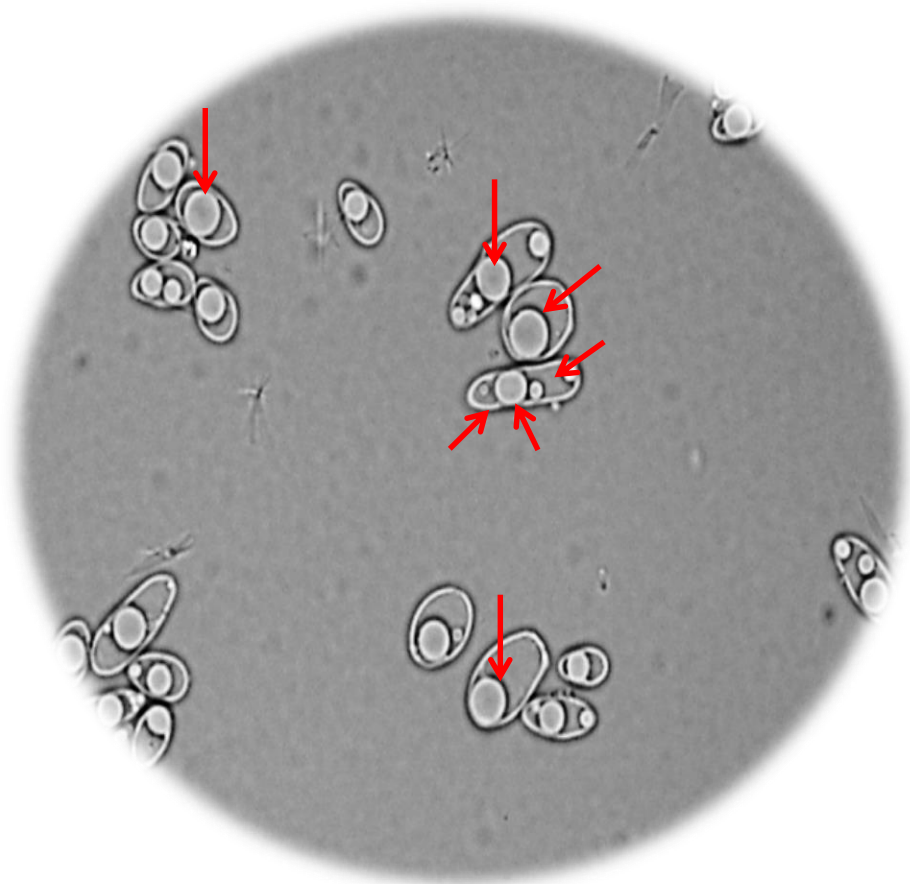
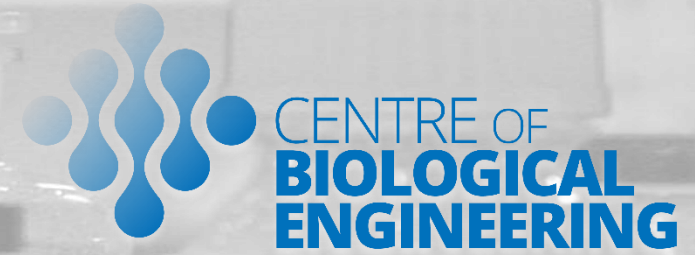
- **Ração animal**
- **Suplemento alimentar**
- **Biocombustíveis**





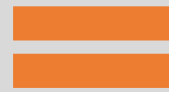
# Interesse dos lípidos microbianos

University of Minho  
School of Engineering



## Composição

Ác. palmítico (C16:0)  
Ác. esteárico (C18:0)  
Ác. oleico (C18:1)  
Ác. linoleico (C18:2)



Óleos vegetais comuns

## Aplicação

Biodiesel







# Limitações e oportunidades dos lípidos microbianos

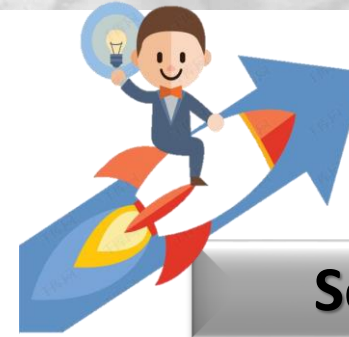
CENTRE OF  
**BIOLOGICAL  
ENGINEERING**

University of Minho  
School of Engineering



## Limitação

- Quantidade de óleo por célula
- Baixa eficácia na extração
- Elevado custo produção
  - Matérias primas puras representam cerca de 75 % do custo total do processo

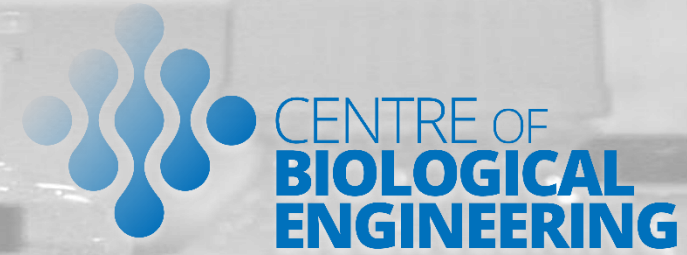


## Solução

- ✓ Culturas de elevada densidade celular
- ✓ Usar células de levedura inteiras
- ✓ Utilizar substratos de baixo custo
  - Resíduos agro-alimentares
  - Sub-produtos da indústria
  - Efluentes



# Óleos Alimentares Usados (OAU)



University of Minho  
School of Engineering



- Aproximadamente 1 000 000 toneladas produzidas por ano na EU
- 77 000 toneladas em Portugal
- 23 000 toneladas foram recicladas



- Descartados nos sistemas de esgotos
- 1 L OAU contamina 1 000 000 L água
- Aumenta os custos de tratamento nas ETAR



- Pontos de recolha seletiva implementados pelas autarquias
- Várias empresas recolhem no canal HORECA (hotéis, restaurantes e catering)
- Principais aplicações: sabões/sabonetes e biodiesel





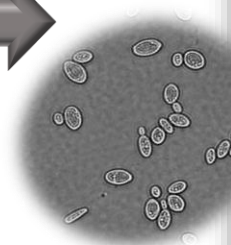
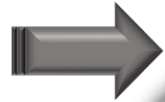
# OAU como fonte de carbono para *Y. lipolytica*



University of Minho  
School of Engineering

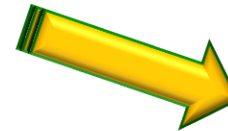
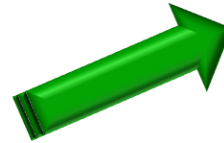


OAU: fonte de carbono



Biotransformação por *Y. lipolytica*

Possui mecanismos específicos para degradar substratos oleosos



## Lipase

### Indústrias:

- Alimentar
- Detergentes
- Farmacêutica
- Biodiesel

## Lípidos Microbianos

- Ácido oleico e linoleico
- Mais insaturados que OAU



Ração animal



Suplemento alimentar





> 220 matadouros em Portugal

## - Efluentes líquidos

- Resultantes do abate, processamento de carne e limpeza de equipamentos
- Ricos em matéria orgânica, nutrientes, sólidos suspensos, óleo e gordura

## - Resíduos sólidos

- Sangue, tecidos não comestíveis, penas, ossos e sebo
- Ricos em proteína e lípidos

## - Tradicionalmente

- Rede de esgotos
- Incinerados
- Aterro sanitário





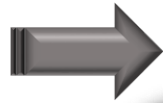


# Gordura animal: fonte de carbono para *Y. lipolytica*

University of Minho  
School of Engineering



Banha de porco



Biotransformação  
por *Y. lipolytica*



**Lipase**



**Ácido cítrico**

- Indústria alimentar e de bebidas
- Antioxidante, acidulante, regulador de acidez



**Lípidos Microbianos**

- Ácido oleico e linoleico
- Mais insaturados que banha



Ração animal



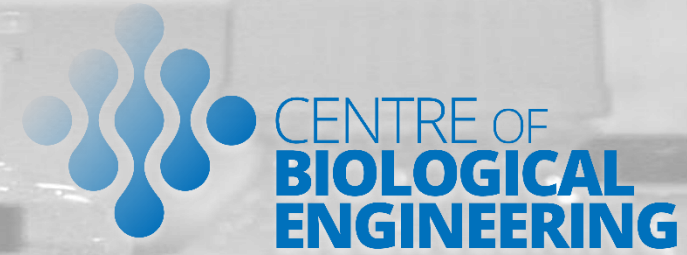
Suplemento alimentar



Manteiga de cacau



# Biorrefinaria a partir de óleos e gorduras



University of Minho  
School of Engineering

Reconversão de óleos e gorduras em lípidos microbianos com maior valor nutricional

Produção simultânea de lipase e ácido cítrico reduz os custos globais do processo

Processos atrativos ambientalmente e sem grandes necessidades energéticas

Biorrefinaria com base em matérias primas gordurosas e a levedura *Y. lipolytica*, permitindo ao mesmo tempo a redução do excedente destes resíduos



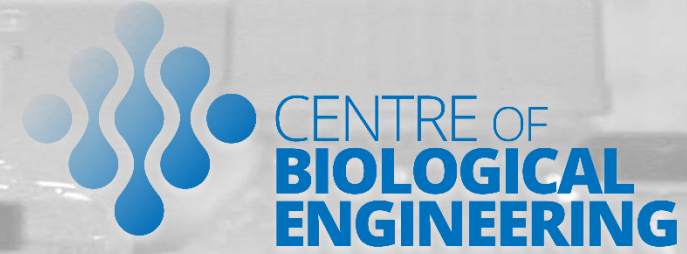
Sem geração de mais resíduos

**ECONOMIA CIRCULAR**





# Resíduos orgânicos municipais (ROM)



University of Minho  
School of Engineering



- ROM correspondem a 40 % - 60 % dos resíduos municipais
- 88 000 000 toneladas de comida são desperdiçadas na UE → 143 000 milhões €
- Carga orgânica, humidade e instabilidade biológica promovem o crescimento de microrganismos indesejáveis e rápida deterioração



- Descarte impróprio e ilegal origina graves problemas ambientais
- Legislação restritiva e que obriga a reduzir a deposição de ROM em aterro sanitário (Directiva 1999/31/EC)
- Pontos de recolha seletiva de ROM (Directiva 2008/98/EC)





## Métodos mais comuns



Incineração



Compostagem

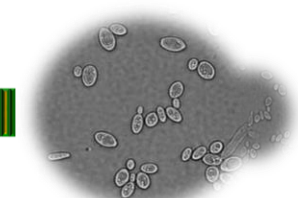
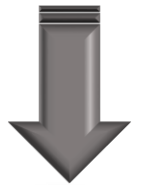


Digestão anaeróbia  
- biogás

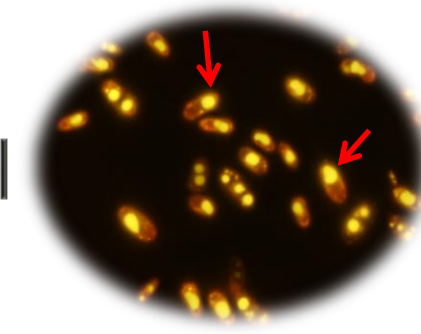
## Alternativa



Moagem  
Homogenização



*Y. lipolytica*

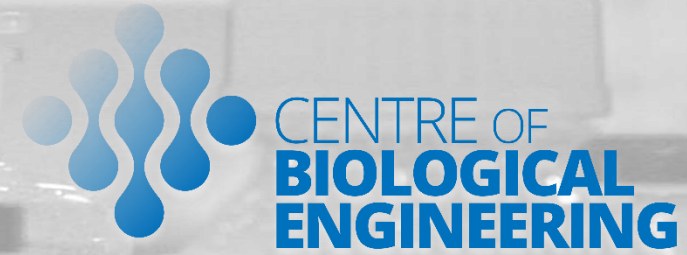


Lípidos microbianos





# Produção de lípidos a partir de ROM

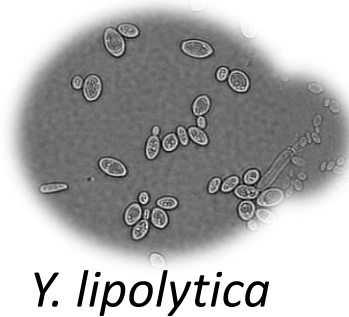


University of Minho  
School of Engineering

## 1ª abordagem – fermentação em substrato sólido



Inocular com  
suspensão celular



*Y. lipolytica*

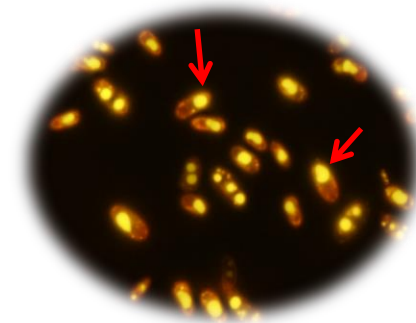
Incubar a 27 °C  
sem agitação



Sólido fermentado com  
células de levedura  
ricas em lípidos



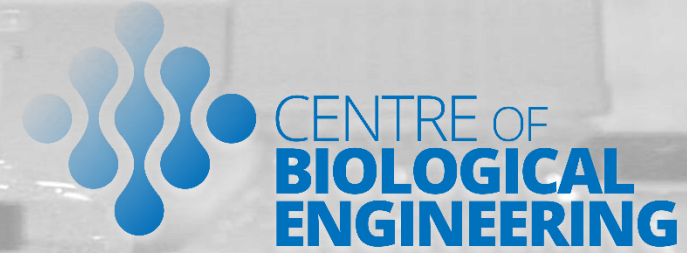
Transesterificação  
de todo o sólido





# Produção de lípidos a partir de ROM

University of Minho  
School of Engineering



## 2ª abordagem – pré-tratamento ROM e fermentação submersa

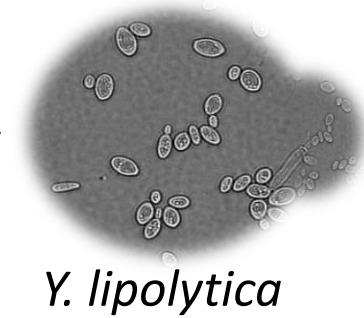


Acidogénese  
Inóculo anaeróbio

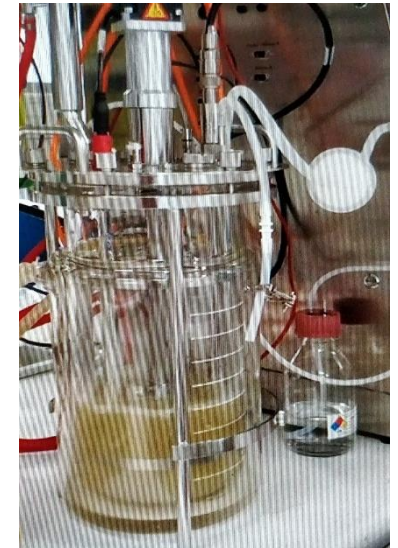


Caldo rico em ácidos gordos voláteis (AGV)

Inocular com  
suspensão celular



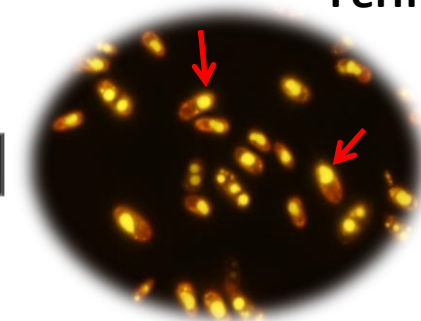
*Y. lipolytica*



Fermentação submersa



Transesterificação  
Células inteiras

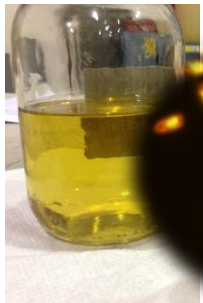




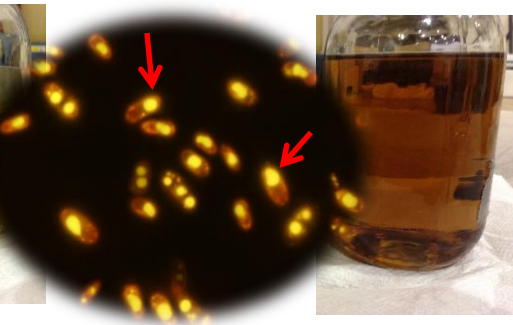
# Lípidos microbianos: agentes da economia circular

University of Minho  
School of Engineering

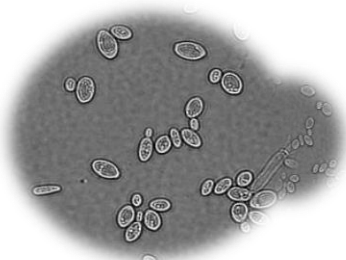
CENTRE OF  
BIOLOGICAL  
ENGINEERING



Biodiesel



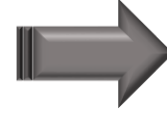
Glicerol bruto



*Y. lipolytica*



Fermentação submersa



- Ácido cítrico
- Eritritol
- Lípidos microbianos

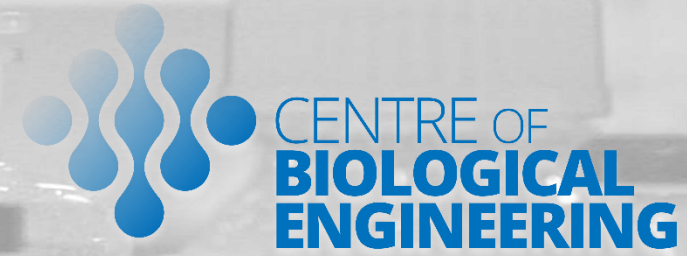


ECONOMIA CIRCULAR

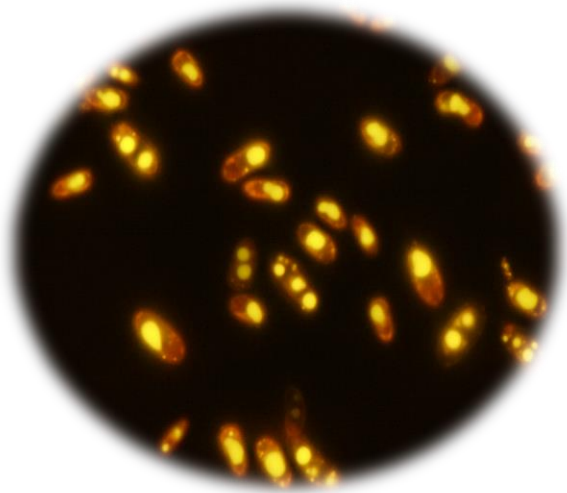




# Lípidos microbianos vs óleos vegetais



University of Minho  
School of Engineering



- Matéria prima renovável
- Produzidos durante todo o ano
- Cultura de leveduras é simples



- Ocupação de terrenos de cultivo
- Competição com a alimentação
- Aumento dos preços dos óleos vegetais e por conseguinte do biodiesel





# Lípidos microbianos vs OAU e gorduras animais

CENTRE OF  
**BIOLOGICAL  
ENGINEERING**

University of Minho  
School of Engineering



- Quantidade não é suficiente
- Muitas impurezas que podem afetar estabilidade do biodiesel



- Biodiesel obtido é instável para oxidação devido ao conteúdo de ácidos gordos livres saturados





# *Linking life and technology to shape the future*

University of Minho  
School of Engineering



CENTRE OF  
**BIOLOGICAL  
ENGINEERING**

Email: [ceb@ceb.uminho.pt](mailto:ceb@ceb.uminho.pt)

Website: [www.ceb.uminho.pt](http://www.ceb.uminho.pt)

## Agradecimentos:

CEB

Isabel Belo

Ana Sofia Pereira

Silvia Miranda

Funding: Portuguese Foundation for Science and Technology (FCT) under the scope of the project TUBITAK 2014 (TUBITAK/0009/2014), the strategic funding of UIDB/04469/2020 unit, Doctoral grants (SFRH/BD/144188/2019; SFRH/BD/129592/2017) and BioTecNorte operation (NORTE-01-0145-FEDER-000004) funded by the European Regional Development Fund under the scope of Norte2020 - Programa Operacional Regional do Norte.