

Produção de 1,3-Propanodiol por *Clostridium butyricum* NCIMB 8082 Utilizando Glicerina Bruta

Fernanda F. Martins¹, Vanessa S. Saab¹, Cláudia M. S. Ribeiro³, Maria Alice Z. Coelho¹ e Tatiana F. Ferreira²

¹ Universidade Federal do Rio de Janeiro – Departamento de Engenharia Bioquímica
CEP 21941-909 Rio de Janeiro – RJ - E-mail: fernandafmartinss@gmail.com

² Universidade Federal do Rio de Janeiro – Departamento de Processos Orgânicos
CEP 21941-909 Rio de Janeiro – RJ

³ Centro de Pesquisa Leopoldo Américo Miguez de Mello/PETROBRAS
CEP 21941-915 Rio de Janeiro – RJ

RESUMO

*A demanda contínua por biocombustíveis resultou em um aumento significativo na produção brasileira de biodiesel na última década, como consequência, altos volumes de glicerina bruta têm sido acumulados. A conversão desta fonte de carbono em produtos com alto valor agregado, por rotas biotecnológicas, consiste em uma oportunidade significativa para a bioindústria. A glicerina pode ser utilizada em diversos processos, incluindo a bioconversão em 1,3-PDO, intermediário químico na síntese de polímeros. O presente trabalho visou à produção de 1,3-PDO a partir de glicerina bruta por *Clostridium butyricum*. A cepa estudada apresentou alta capacidade de conversão de glicerina em 1,3-PDO, atingindo o rendimento de 0,52 g.g⁻¹ e produtividade de 2,38 g.L⁻¹.h⁻¹ de 1,3-PDO.*

Palavras-chave: *Clostridium butyricum*, 1,3-propanodiol, glicerina.

INTRODUÇÃO

O 1,3-propanodiol (1,3-PDO) é um composto orgânico de caráter bifuncional que possui grande potencial de ser utilizado em várias reações de síntese como monômero. É comumente usado para produzir poliésteres, poliuretanos e poliéteres (Ferreira et al., 2012). O 1,3-PDO é produzido principalmente a partir de rota petroquímica, possuindo elevado custo de produção, alta emissão de gases do efeito estufa. Portanto, devido ao cenário mundial atual, as empresas vêm direcionando o seu interesse para o desenvolvimento de produtos provenientes de fontes de matéria-prima renovável.

A alta produção de biodiesel vem gerando uma quantidade excessiva de glicerina bruta que o mercado não consegue absorver. Sendo assim, diversos pesquisadores vêm investigando o consumo deste resíduo como fonte de carbono na produção de bioprodutos. Algumas espécies de bactérias são conhecidas pela capacidade de produzir 1,3-PDO a partir de glicerina, *Klebsiella pneumoniae*, *Citrobacter freundii*, *Clostridium pasteurianum* e *Clostridium butyricum* (Saxena et al., 2009).

O objetivo deste trabalho foi investigar a produção de 1,3-propanodiol por *Clostridium butyricum* a partir de glicerina bruta, utilizando como estratégia o processo de batelada.

MATERIAL E MÉTODOS

Metodologia Experimental

A cepa *Clostridium butyricum* NCIMB 8082 foi obtida da National Collection of Industrial, Food and Marine Bacteria (NCIMB). O meio utilizado para reativação da cultura foi o Reinforced Clostridia Medium (RCM) e o meio fluido de tioglicolato. A glicerina bruta cedida de uma planta piloto de geração de biodiesel da Petróleo Brasileiro S/A (Petrobras).

A cepa crescida foi mantida em frascos de penicilina contendo 50 mL do meio RCM a 4° C. Para inoculação, os frascos de penicilina foram incubadas a 37° C e 30 min a 150 rpm. Posteriormente, as células foram inoculadas em frascos SCHOTT® contendo 400 mL de meio mineral contendo (g.L⁻¹): KH₂PO₄, 7 g.L⁻¹; NH₄Cl, 0,5 g.L⁻¹; MgSO₄, 0,15 g.L⁻¹; CaSO₄, 0,01 g.L⁻¹; extrato de levedo, 0,5 g.L⁻¹; ZnCl₂, 0,75 g.L⁻¹; NaMoO₄, 0,075 g.L⁻¹; CuCl₂, 0,15 mg.L⁻¹; FeSO₄, 10 mg.L⁻¹; Na₂SeO₃, 0,15 mg.L⁻¹ e 25 g.L⁻¹ glicerina bruta (80% de glicerol). Após 16 horas, todo o meio contido no frasco foi transferido para um reator contendo 600 mL de meio mineral e 75 g.L⁻¹ de glicerina. Amostras foram obtidas ao longo do tempo para analisar o consumo de glicerol, a produção de 1,3-PDO e o crescimento celular. O experimento foi realizado em biorreator com capacidade útil de 1 L, a 37°C e 200 rpm com controle de pH. Todo o procedimento experimental foi realizado sob condições anaeróbicas.

Metodologia Analítica

O crescimento foi acompanhado através da leitura de densidade ótica (D.O.) a 600 nm. O glicerol e o 1,3-PDO foram quantificados através da técnica de Cromatografia Líquida de Alta Eficiência utilizando a coluna Aminex® HPX-87H, fase móvel H₂SO₄ 5 mM com vazão de 0,8 mL/min e temperatura de corrida 60°C.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A Figura 1 apresenta a cinética de crescimento celular, consumo de substrato e síntese de 1,3-PDO e subprodutos da fermentação de *C. butyricum* crescendo em meio mineral contendo glicerina bruta. É possível observar que as células apresentam uma fase de adaptação de 2 horas após inoculação, alcançando uma concentração final de células de 3,2 g.L⁻¹ após 12,8 horas de experimento. Enquanto que, a síntese de metabólitos, incluindo 1,3-PDO, iniciou em 3 horas de ensaio. No final da fermentação, o consumo total de glicerol foi de 58,42 g.L⁻¹ e a produção de 1,3-PDO atingiu 30,50 g.L⁻¹, obtendo-se assim um rendimento de 0,52 g.g⁻¹.

Resultados alcançando uma concentração final de 1,3-PDO similares ao deste estudo foram reportados pela literatura, conforme descritos na Tabela 1. Szymanowska-Powałowska (2014) obteve uma concentração máxima de PDO de 31,8 g.L⁻¹ e uma produtividade de 0,80 g/L/h quando investigou *C. butyricum* DSPI em meio contendo glicerina bruta como substrato. Ao comparar os dados de produtividade (Tabela 1), é possível visualizar que a produtividade de 2,38 g/L/h obtida neste trabalho é significativamente maior do que a apresentada por Szymanowska-Powałowska (2014).

Tabela 1. Parâmetros cinéticos obtidos na produção de 1,3-PDO por diferentes espécies de *Clostridium* cultivadas sob a estratégia de batelada em meio mineral contendo glicerina bruta.

Fermentação	Cepa	P (g.L ⁻¹)	Y _{PDO} (g.g ⁻¹)	Q (g.L ⁻¹ .h ⁻¹)	Referência
Batelada	<i>C. butyricum</i> NCIMB 8082	30,50	0,52	2,38	Presente estudo
Batelada	<i>C. butyricum</i> DSPI	31,80	0,53	0,80	Szymanowska-Powałowska (2014)

P – produção de 1,3-PDO, Y – produção de 1,3-PDO por consumo de glicerol, Q – produtividade de 1,3-PDO

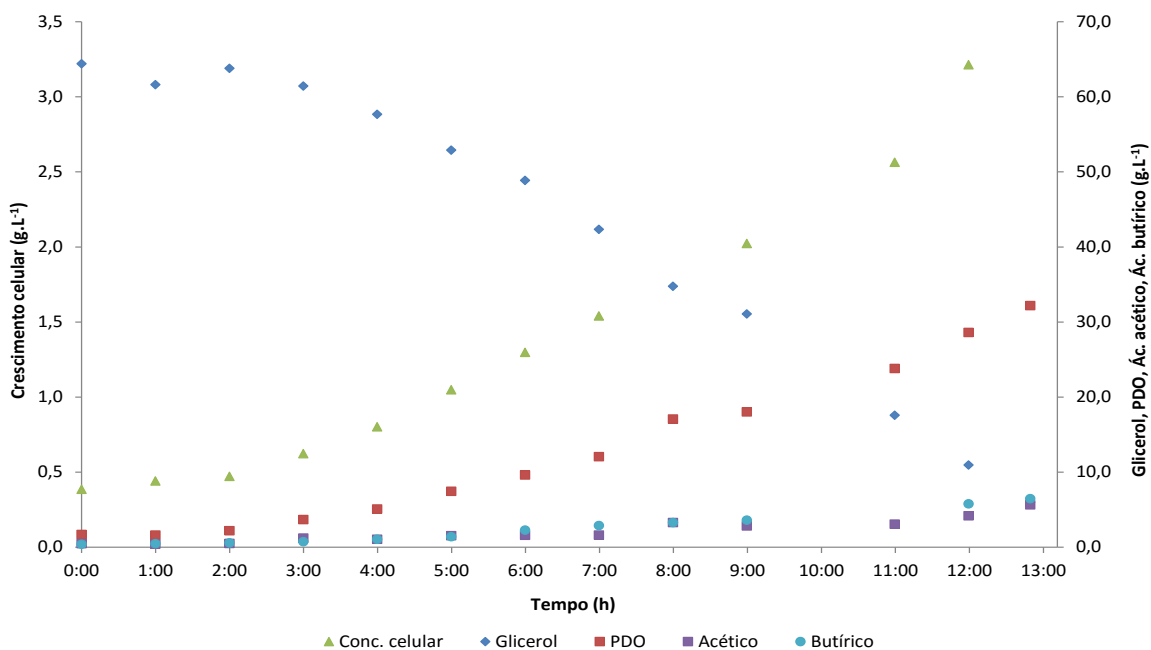


Figura 1. Perfil de crescimento, consumo de glicerol, produção de 1,3-PDO e subprodutos observados durante a fermentação em batelada utilizando glicerina como fonte de carbono.

CONCLUSÕES

A cepa estudada apresentou potencial para a produção de 1,3-PDO, visto que, trata-se de uma estirpe sem modificação genética, com produtividade significativa. Além disso, a mesma foi capaz de utilizar glicerina, um resíduo industrial do mercado brasileiro, como fonte de carbono. Na literatura podem-se encontrar resultados de produtividade satisfatórios em processos visando a produção de 1,3 PDO por *C. butyricum* como os obtidos no presente trabalho, porém tratam-se muitas vezes de estirpes geneticamente modificadas, fato que dificulta a sua utilização em escala industrial.

Dessa forma, o presente trabalho motiva a continuidade dos estudos de produção de 1,3-PDO a partir de glicerina bruta utilizando *C. butyricum* NCIMB 8082, demonstrando que se trata de uma cepa com potencial para esta finalidade.

AGRADECIMENTOS: PETROBRAS e Biologycal Systems Engineering (BIOSE)

REFERÊNCIAS

- FERREIRA, T.F.; RIBEIRO, R.R.; RIBEIRO, C.M.S.; FREIRE, D.M.G.; COELHO, M.A.Z. **Evaluation of 1,3-Propanediol Production from Crude Glycerol by *Citrobacter freundii* ATCC 8090**. Chemical Engineering Transactions, v. 27, p. 157-162, 2012.
- SAXENA, R.K.; ANAND, P.; SARAN, S.; ISAR, J. **Microbial production of 1,3-propanediol: recent development and emerging opportunities**. Biotechnology Advances, v. 27, N.6, p. 895-913, 2009.
- SZYMANOWSKA--POWALOWSKA, D. **1,3-Propanediol production from crude glycerol by *Clostridium butyricum* DSP1 in repeated batch**. Electronic Journal of Biotechnology, v. 17, p. 322-328, 2014.