

Cultivo de *Rhodotorula mucilaginosa* utilizando hidrolisado hemicelulósico da casca de soja como fonte de carbono

Cultivation of *Rhodotorula mucilaginosa* using hemicellulosic hydrolyzate from soybean hulls as a carbon source

Fábia Gizella da Silva dos Anjos¹, Andréia Anschau²

RESUMO

O estado do Paraná é o segundo maior produtor de soja no Brasil, gerando assim uma quantidade significativa de resíduos agroindustriais, como as cascas de soja. Essas cascas são uma fonte abundante de lignocelulose, com um grande potencial como substrato no cultivo de microrganismos visando a produção de bioprodutos. A *Rhodotorula mucilaginosa* se destaca como um microrganismo capaz de sintetizar lipídios, carotenóides e ácidos graxos poli-insaturados. Este estudo teve como objetivo avaliar a eficácia da hidrólise das cascas de soja como fonte de carbono para o cultivo da *R. mucilaginosa*. A hidrólise ácida foi estudada utilizando o ácido sulfúrico nas concentrações de 2%, 4% e 6%.

A hidrólise à 6% de ácido sulfúrico resultou em uma concentração de açúcares redutores de $12,36 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1} \pm 0,10$, demonstrando ser uma abordagem promissora para o cultivo da *R. mucilaginosa*.

PALAVRAS-CHAVE: Casca de soja; Hidrólise ácida; Resíduos agroindustriais; *Rhodotorula mucilaginosa*.

ABSTRACT

The state of Paraná is the second largest soybean producer in Brazil, thus generating a significant amount of agro-industrial waste, such as soybean hulls. These peels are an abundant source of lignocellulose, with great potential as a substrate for the cultivation of microorganisms for the production of bioproducts. *Rhodotorula mucilaginosa* stands out as a microorganism capable of synthesizing lipids, carotenoids and polyunsaturated fatty acids. This study aimed to evaluate the effectiveness of hydrolysis of soybean hulls as a carbon source for the cultivation of *R. mucilaginosa*. Acid hydrolysis was studied using sulfuric acid at concentrations of 2%, 4% and 6%.

Hydrolysis at 6% sulfuric acid resulted in a reducing sugar concentration of $12.36 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1} \pm 0.10$, proving to be a promising approach for the cultivation of *R. mucilaginosa*.

KEYWORDS: Soybean hulls; Acid hydrolysis; Agro-industrial waste; *Rhodotorula mucilaginosa*.

INTRODUÇÃO

A busca por fontes alternativas de substrato para o cultivo microbiano tem ganhado destaque, impulsionada pela necessidade de atender à crescente demanda por bioprodutos. Há um interesse crescente em reutilizar resíduos da agroindústria, muitas vezes descartados de maneira inadequada, além de reduzir os custos dos processos.

De acordo com a Agência Estadual de Notícias (AEN), o estado do Paraná é o segundo maior produtor de soja, correspondendo a 14% da safra brasileira (AEN, 2023). E de acordo com Liu e Li (2017), a casca de soja é o maior resíduo agroindustrial, gerando 75 kilos a cada tonelada de soja processada. A casca de soja é uma fonte rica

¹ Voluntária. Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Dois Vizinhos, Paraná, Brasil. E-mail: fabiagizella@alunos.utfpr.edu.br. ID Lattes: 0084784454683171.

² Docente do Curso de Engenharia de Bioprocessos e Biotecnologia e Chefe do Departamento de Ensino. Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Dois Vizinhos, Paraná, Brasil. E-mail: andreiaanschau@utfpr.edu.br. ID Lattes: 3961734985713527.

em lignocelulose, e possui grande potencial para ser utilizada no cultivo de microrganismos (AGUIAR, 2010).

Dentre os microrganismos de interesse biotecnológico, a levedura *Rhodotorula mucilaginosa* tem despertado crescente interesse devido sua versatilidade metabólica e sua capacidade de produzir produtos de alto valor agregado, como carotenóides, lipídios e ácidos graxos poli-insaturados. Os lipídios produzidos por leveduras podem ser utilizados como matéria-prima para a produção de biocombustíveis e podem substituir os óleos já usados, tornando a produção do biodiesel mais econômica, uma vez que o principal custo é com a matéria-prima (SPIER, 2014).

As cascas da soja são compostas em grande parte por hemicelulose e lignina, todavia, a levedura não consegue realizar a bioconversão diretamente desses materiais lignocelulósicos, e, portanto, é necessário realizar o tratamento de hidrólise nas cascas. A hidrólise ácida diluída converte materiais lignocelulósicos a açúcares fermentescíveis (xilose, glicose), sob alta temperatura e pressão. Nesta reação, compostos tóxicos como furfural, hidroximetilfurfural (HMF), inibidores do subsequente processo fermentativo, podem ser formados. O presente estudo teve por objetivo a hidrólise ácida das cascas de soja para obtenção de substrato alternativo e de baixo custo para o cultivo da levedura *Rhodotorula mucilaginosa*.

MATERIAIS E MÉTODOS

As cascas de soja foram doadas pela empresa Insuagro Insumos Agrícolas, localizada em Dois Vizinhos - PR.

Para a obtenção do hidrolisado hemicelulósico de casca de soja (HCS), foi determinada a proporção 1:10 (biomassa/solvente). As cascas foram utilizadas com granulometria <1 mm e Mesh 35, além disso, foram realizadas três hidrólises ácidas, com ácido sulfúrico, distintas da casca de soja para avaliar a liberação de açúcares: 2%, 4% e 6%. Para obtenção do hidrolisado, as soluções ácidas foram mantidas em banho-maria por 7 minutos, com constante agitação, e após foi adicionado água destilada até completar o volume. Os frascos foram então autoclavados a 121 °C por 30 min. Após resfriados foram filtrados em papel filtro qualitativo. Foi utilizado o DNS (ácido 3,5-dinitrosalicílico) para determinação dos açúcares redutores totais, assim como descrito por Miller (1959).

A *Rhodotorula mucilaginosa* ATCC 15124 foi reativada em ágar inclinado YMA (10 g/L de dextrose, 3 g/L de extrato de malte, 3 g/L de extrato de levedura, 5 g/L de peptona e 20 g/L de ágar), e incubada a 25 °C. Após ativação da cepa, ela foi pré-inoculada em 180 mL de caldo YM em frascos *Erlenmeyer* e após 48 h, em agitação de 180 rpm e temperatura a 25 °C, foi transferido 20 mL do pré-inóculo para o inóculo, mantendo as mesmas condições de temperatura e agitação até atingir o mínimo de 1×10^8 células mL⁻¹, determinado por câmara de Neubauer (SPIER, 2014).

De acordo com a metodologia utilizada por Rocha (2019), os cultivos foram realizados em batelada simples, conduzido em frascos *Erlenmeyer* de 250 mL, contendo 20 mL do meio de cultura e 180 mL da solução ácida do hidrolisado, com pH regulado em 5,5. Os experimentos foram realizados em triplicada e cultivados por 240 h. A biomassa microbiana foi determinada pela metodologia de Choi e Park (2003).

RESULTADOS E DISCUSSÕES

Os resultados, apresentados na Tabela 1, demonstraram que a hidrólise com 2% de ácido liberou $2,67 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ de glicose, enquanto a concentração de 4% produziu $8,64 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ e a de 6% resultou em $12,36 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ de glicose disponível para o cultivo. Portanto, maiores concentrações de açúcares fermentescíveis foram obtidos com o aumento das concentrações de ácido sulfúrico.

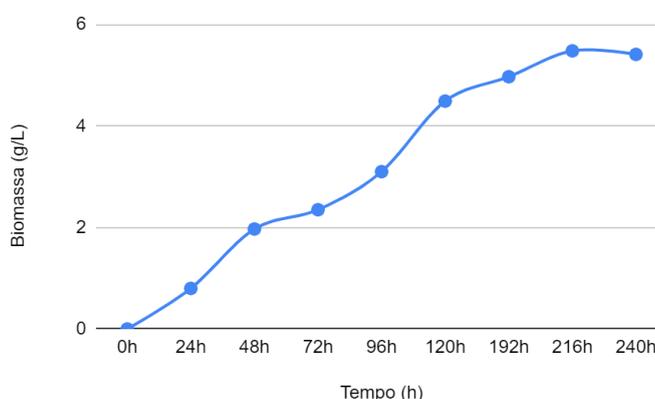
Tabela 1 - Açúcares Redutores sob diferentes porcentagens de ácido sulfúrico.

Condições de Pressão, Temperatura e Tempo.	Ácido Sulfúrico (%)	Açúcares Redutores ($\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$)
1,1 atm, 122 °C e 30 min.	2%	$2,67 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1} \pm 0,01$
	4%	$8,64 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1} \pm 0,01$
	6%	$12,36 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1} \pm 0,10$

Fonte: Elaborado pelos autores (2023).

O valor obtido para o cultivo em batelada simples foi de $5,48 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ em biomassa, como é demonstrado no Gráfico 1.

Gráfico 1- Acompanhamento da concentração de biomassa durante o cultivo da *R. mucilaginosa*.



Fonte: Elaborado pelo autor (2023).

Estes resultados demonstraram a eficácia do cultivo utilizando HCS como fonte de carbono, e a proposta obteve valor similar com resultados de outros pesquisadores.

CONCLUSÃO

Neste estudo, investigamos o cultivo de *R. mucilaginosa* utilizando hidrolisado hemicelulósico da casca de soja como fonte de carbono. Dentre as três soluções ácidas, a proposta com 6% de ácido foi a que apresentou maior liberação de açúcares. Além disso, o cultivo em batelada simples resultou em $5,48 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ de biomassa em 240 h. Esses

resultados indicam uma relação direta entre a concentração de ácido na hidrólise e a disponibilidade de glicose para o crescimento da levedura, sugerindo um potencial promissor para a produção de biomassa microbiana a partir de resíduos de casca de soja. O uso do HCS se mostra promissor como fonte de carbono e sugere-se estudos futuros com propostas de diferentes condições à hidrólise, ao cultivo da levedura e mais análises para determinação de lipídios produzidos.

AGRADECIMENTOS

Agradeço à UTFPR - *campus* Dois Vizinhos e ao Laboratório Multiusuário de Biotecnologia Ambiental e Alimentos (LABMULT LABIA) da Universidade Tecnológica Federal do Paraná (UTFPR), *campus* Dois Vizinhos, pelo suporte analítico durante a realização deste trabalho e à orientação da Prof^a. Dr^a. Andréia Anschau.

CONFLITO DE INTERESSE

Não há conflito de interesse.

REFERÊNCIAS

AGUIAR, C. M. **Hidrólise enzimática de resíduos lignocelulósicos utilizando celulasas produzidas pelo fungo *Aspergillus niger***. Toledo: [s.n.]. v. 117

ARISTIZÁBAL, R. V. **Produção de leveduras oleaginosas em meio de cultura contendo hidrolisado de bagaço de cana-de-açúcar**. Campinas: [s.n.]. v. 130

CANILHA, L. et al. Bioconversion of sugarcane biomass into ethanol: an overview about composition, pretreatment methods, detoxification of hydrolysates, enzymatic saccharification, and ethanol fermentation. **Journal of biomedicine & biotechnology**, v. 2012, p. 989572, 2012.

Casca de soja: Extração e caracterização da polpa celulósica e obtenção de carboximetilcelulose. Disponível em:

<<https://www.abq.org.br/cbq/2015/trabalhos/13/8103-19026.html>>. Acesso em: 2 sep 2023.

CHOI, M. H.; PARK, Y. H. Production of yeast biomass using waste Chinese cabbage. **Biomass & bioenergy**, v. 25, n. 2, p. 221–226, 2003.

FAVERIN, V. **Soja: produção no Paraná salta 82%. Confirma área e produtividade**. Disponível em:

<<https://www.canalrural.com.br/agricultura/soja-producao-no-parana-salta-82-confirma-area-e-productividade/>>. Acesso em: 2 sep. 2023.

MILLER, G. L. Use of dinitrosalicylic acid reagent for determination of reducing sugar. **Analytical chemistry**, v. 31, n. 3, p. 426–428, 1959.



ROCHA, K. R. DA. **Biossíntese de lipídios por Rhodotorula mucilaginosa CCT 7688 a partir de hidrolisado de cascas de soja**, 2019.

Segundo maior produtor de soja, Paraná responde por 14% da safra brasileira.

Disponível em:

<<https://www.aen.pr.gov.br/Noticia/Segundo-maior-produtor-de-soja-Parana-responde-por-14-da-safra-brasileira>>. Acesso em: 27 aug. 2023.

SPIER, F. **Produção de lipídios microbianos a partir de glicerol bruto gerado na síntese de biodiesel**. 2014. 190 f. Tese (Doutorado em Engenharia e Ciência de Alimentos). Rio Grande: [s.n.].