



Fermentação da levedura *Rhodotorula mucilaginosa* utilizando subprodutos industriais para a obtenção de bioprodutos

Fermentation of the yeast *Rhodotorula mucilaginosa* using industrial byproducts to obtain bioproducts

Isabela Maria Rotta¹, Andréia Anschau²

RESUMO

Nos últimos anos, tem havido um crescente interesse na utilização de resíduos industriais como substratos para a fermentação de microrganismos visando a produção de bioprodutos. Seu uso tem se destacado como substratos alternativos, uma vez que demonstram potencial para substituir componentes sintéticos em meios de cultura, além de oferecer uma abordagem sustentável e econômica por meio do reaproveitamento. A levedura *Rhodotorula mucilaginosa* tem apresentado resultados promissores na produção de lipídios e carotenoides a partir de fontes de carbono alternativas, como soro de leite e glicerol. A obtenção desses compostos a partir de leveduras é de grande interesse para diversos setores industriais devido à viabilidade econômica e potencial aumento da produção.

Os resultados do experimento foram positivos, com cultivos contendo soro de leite atingindo 8,7 g.L⁻¹ de massa celular, cultivos com glicerol puro 7,8 g.L⁻¹ e cultivos com glicerol bruto 7,2 g.L⁻¹. Portanto, a utilização de resíduos industriais para a produção de bioprodutos se revela como uma opção atrativa e eficaz para atender às necessidades da indústria.

PALAVRAS-CHAVE: Bioprodutos; Resíduos industriais; *Rhodotorula mucilaginosa*.

ABSTRACT

In recent years, there has been a growing interest in the use of industrial waste as substrates for the fermentation of microorganisms for the production of bioproducts. Their use has stood out as alternative substrates, as they demonstrate the potential to replace synthetic components in culture media, in addition to offering a sustainable and economical approach through reuse. The yeast *Rhodotorula mucilaginosa* has shown promising results in the production of lipids and carotenoids from alternative carbon sources, such as whey and glycerol. Obtaining these compounds from yeast is of great interest to several industrial sectors due to their economic viability and potential increase in production.

The results of the experiment were positive, with cultures containing whey reaching 8.7 g.L⁻¹ cell mass, cultures with pure glycerol 7.8 g.L⁻¹ and cultures with crude glycerol 7.2 g.L⁻¹. Therefore, the use of industrial waste for the production of bioproducts appears to be an attractive and effective option to meet the needs of the industry.

KEYWORDS: Bioproducts; Industrial waste; *Rhodotorula mucilaginosa*.

INTRODUÇÃO

Subprodutos industriais podem ser definidos como produtos secundários provindos do processamento industrial, como o soro de leite, glicerol, água de maceração de milho e cascas de cereais. Geralmente, esses subprodutos são classificados como resíduos, e por isso não possuem valor agregado devido à sua falta de aproveitamento e aplicação nas indústrias. No entanto, a presença de açúcares e nutrientes contidos na composição desses

¹ Graduanda no Curso de Engenharia de Bioprocessos e Biotecnologia. Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Dois Vizinhos, Paraná, Brasil. E-mail:isabelarotta@alunos.utfpr.edu.br. ID Lattes: <http://lattes.cnpq.br/7598010347323419>

² Docente no curso de Engenharia de Bioprocessos e Biotecnologia. Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Dois Vizinhos, Paraná, Brasil. E-mail:andreaanschau@utfpr.edu.br. ID Lattes: <http://lattes.cnpq.br/3961734985713527>



resíduos os tornam ótimas fontes alternativas de carbono e nitrogênio, substituindo componentes sintéticos no cultivo de microrganismos (SANTOS *et al.*, 2018).

A utilização desses resíduos em processos biotecnológicos é promissora por ser uma alternativa sustentável, visto que minimiza problemas ambientais por diminuir descartes, além de ter um baixo custo, podendo obter resultados equiparáveis ou até superiores comparados à utilização dos produtos sintéticos tradicionais de alto valor (TAMANINI; HAULY, 2004). A aplicação desses resíduos no cultivo de leveduras oleaginosas, como a *Rhodotorula mucilaginosa*, é interessante considerando sua capacidade de produção de lipídios e carotenoides.

O soro de leite é um resíduo proveniente da produção de queijos e laticínios, sendo uma fonte rica em proteínas e nutrientes. Na região sudoeste do Paraná sua produção é abundante devido a relevância da agricultura e pecuária na economia local. O glicerol é um subproduto resultante do processo de produção de biodiesel, sendo que, em sua forma bruta, é um resíduo de difícil descarte ou utilização em outros processos, requerendo um procedimento de purificação de alto valor para torná-lo um produto de maior interesse (CROSSE *et al.*, 2020). Portanto, a utilização do glicerol bruto e soro de leite em meios de cultivo são alternativas viáveis economicamente pensando na otimização da síntese de bioprodutos.

No contexto da biotecnologia, a obtenção de bioprodutos por microrganismos vem ganhando destaque nos últimos anos. Dois grupos de produtos microbianos de particular interesse são os carotenoides e os lipídios. Carotenoides são pigmentos naturais que possuem propriedades antioxidantes e têm aplicações na indústria alimentícia, farmacêutica e cosmética. Os lipídios microbianos são frequentemente usados na produção de biocombustíveis, produtos químicos industriais e na indústria alimentícia (LI *et al.*, 2022).

A síntese de lipídios e carotenoides a partir de microrganismos, como as leveduras da linhagem *Rhodotorula*, apresenta várias vantagens do ponto de vista industrial. Esses processos podem ser adaptados visando utilizar subprodutos industriais como fonte de carbono e nutrientes, reduzindo os custos de produção e minimizando o impacto ambiental (VILLEGAS-MÉNDEZ *et al.*, 2023). Portanto, a utilização de resíduos industriais na fermentação da levedura *Rhodotorula mucilaginosa* para a obtenção desses compostos torna-se uma estratégia promissora, alinhada com as demandas atuais da indústria e da sociedade (MARTINEZ-SILVEIRA *et al.*, 2022).

O intuito desse estudo foi utilizar subprodutos de baixo custo no cultivo da levedura oleaginosa *Rhodotorula mucilaginosa* a fim de obter bioprodutos de interesse industrial.

MATERIAIS E MÉTODOS

Os subprodutos utilizados na fermentação da levedura foram o soro de leite, cedido pelo laticínio Lamberdor, localizado em Verê, Paraná; o glicerol puro e glicerol bruto, que foram cedidos pela empresa Meridional TCS, localizada em Ponta Grossa, Paraná. Os experimentos foram realizados no Laboratório Multiusuário de Biotecnologia Ambiental e Alimentos (LABMULT LABIA), na UTFPR campus Dois Vizinhos.

O microrganismo empregado nos cultivos foi a levedura *Rhodotorula mucilaginosa* ATCC 58901, que foi mantida em meio YMA (10 g.L⁻¹ de glicose, 3 g.L⁻¹ de extrato de levedura, 3 g.L⁻¹ de extrato de malte, 5 g.L⁻¹ de peptona e 20 g.L⁻¹ de ágar), com pH 5,5.

Para a fermentação, foram preparados diferentes meios de cultivo utilizando os componentes do meio YM (*Yeast Malt Extract*), substituindo a glicose por fontes de carbono



alternativas. As fontes de carbono utilizadas em cada cultivo foram: cultivo 1 – glicerol puro (99,81% de pureza); cultivo 2 – glicerol bruto (82,36% de pureza); cultivo 3 – soro de leite pasteurizado, todos feitos em duplicata em Erlenmeyers de 250 mL com volume útil de 100 mL com pH ajustado em 5,5. Para a caracterização do soro de leite, foram realizadas análises de carbono total, por meio da análise de TOC (Total Organic Carbon), e nitrogênio total, com a análise de TN (Total Nitrogen) no Laboratório Multiusuário Central de Análises (LABMULT LABCA) da UTFPR *campus* Dois Vizinhos. As especificações técnicas do glicerol puro e o glicerol bruto foram disponibilizadas pelo fornecedor dos produtos.

Para o cultivo 1 e 2 foi padronizada a razão C/N 20, mantendo 12 g.L⁻¹ de C e 0,6 g.L⁻¹ de N. Para o cultivo 3, foi utilizado 80 mL de soro de leite pasteurizado para 100 mL de volume útil do meio. Os meios de cultivo foram autoclavados a 121°C por 15 minutos e resfriados para o inóculo. O soro de leite foi pasteurizado à temperatura de 60°C por 30 minutos e adicionado aos nutrientes já esterilizados.

Os cultivos foram mantidos em 29°C a 120 rpm em incubadora orbital tipo Shaker durante 138 horas. Foram retiradas amostras diariamente, para a quantificação de massa celular seca, e, ao fim da fermentação, foi feita a separação da biomassa do meio de cultivo através de centrifugação a 3500 rpm por 15 minutos.

RESULTADOS E DISCUSSÕES

Na Tabela 1 estão representados os resultados das análises de carbono total e nitrogênio total, respectivamente para o soro de leite. Verifica-se que os valores são aproximados aos encontrados na literatura, considerando que a composição do soro de leite pode sofrer alterações dependendo do seu processamento (DE QUEIROZ, 2013).

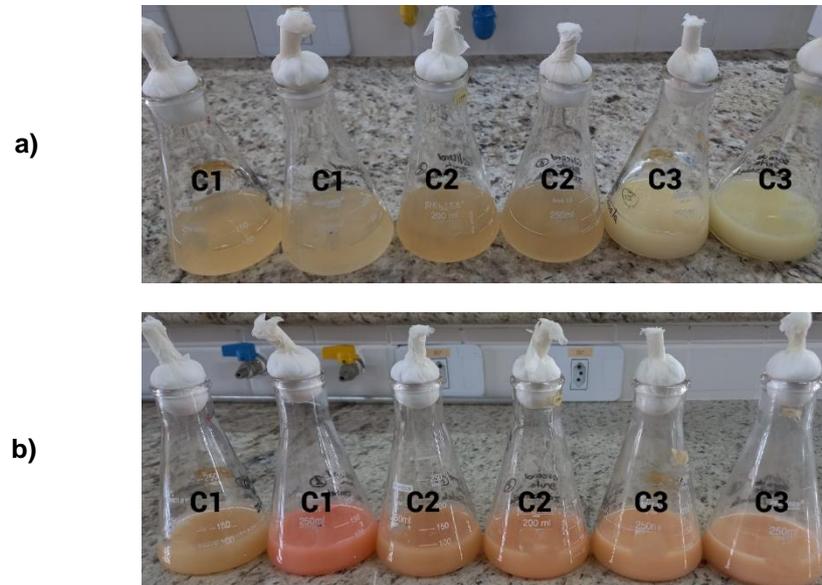
Tabela 1 – Caracterização do soro de leite em de TOC e TN

Análise	Concentração (g.L ⁻¹)
Carbono total	89,5
Nitrogênio total	3,25

Fonte: Autoria própria (2023).

A Figura 1 apresenta o estágio inicial (Fig. 1a) e final (Fig. 1b) da fermentação, que ocorreu após 138 horas. A duplicata C1 é referente ao glicerol puro, C2 ao glicerol bruto e C3 ao soro de leite pasteurizado.

Figura 1 – Comparativo entre início (a) e fim (b) da fermentação da levedura nos diferentes meios de cultivo

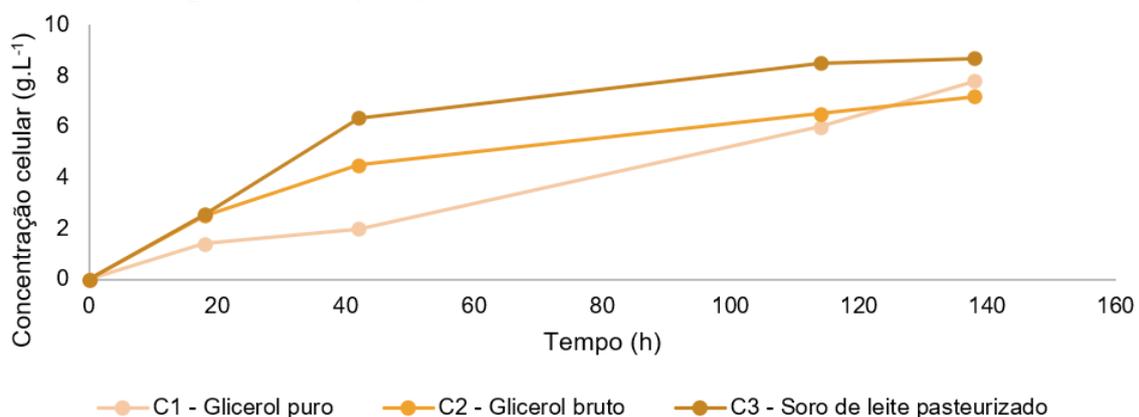


Fonte: Autoria própria (2023)

Verifica-se que a levedura cresceu nos três meios de cultivo, sendo que ao final, C1 apresentou maior concentração de carotenoides, em comparação a C2 e C3, apesar de todos os ensaios terem produzido o pigmento.

A Figura 2 apresenta o crescimento celular dos três cultivos.

Figura 2 – Comparação do crescimento celular dos três cultivos



Fonte: Autoria própria (2023)

Analisando os cultivos com glicerol (razão C/N 20), o cultivo contendo glicerol bruto apresentou crescimento celular maior no início da fermentação, porém ao final ambos os ensaios apresentaram resultados similares, chegando a 7,8 g.L⁻¹ (C1) e 7,2 g.L⁻¹ (C2). O cultivo contendo soro de leite apresentou os melhores resultados chegando a 8,7 g.L⁻¹ em 138h de fermentação. Assim, verifica-se que a *Rhodotorula mucilaginosa* cresce bem nos três substratos estudados, porém evidencia-se um melhor resultado no ensaio contendo



soro de leite, em função da maior concentração de carbono no meio, bem como demais minerais presentes nesse subproduto.

CONCLUSÃO

Os subprodutos utilizados como fontes de carbono nesse estudo possuem nutrientes que podem favorecer o crescimento da levedura *Rhodotorula mucilaginosa*, sendo um fator positivo por ser uma forma de aproveitar resíduos que seriam descartados para a obtenção de produtos microbianos com alto valor agregado.

O uso do soro de leite pasteurizado na fermentação da levedura resultou em maior concentração celular, no entanto, os três subprodutos industriais testados possuem potencial para a obtenção de produtos microbianos, como massa celular, lipídeos e carotenoides, a partir da fermentação do microrganismo.

Agradecimentos

Agradeço à UTFPR - *campus* Dois Vizinhos, 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

BELLUCCI, Elisiane Raquel Bonadio. Otimização da produção de lipídeos e carotenoides a partir da levedura *Rhodotorula glutinis* NRRL-Y-12905. **Universidade de São Paulo**, [s. l.], 2018.

BRAZ, Ana Caroline Silva. Estudo da fermentação do bagaço de cana para obtenção de etanol de segunda geração. **Universidade Federal da Paraíba**, [s. l.], 2016.

CROSSE, Amanda Jane *et al.* Biodiesel's trash is a biorefineries' treasure: the use of "dirty" glycerol as an industrial fermentation substrate. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, [s. l.], v. 36, n. 1, p. 2, 2020.

DE QUEIROZ, Samira Furtado. Soro ácido de leite associado a doses de nitrogênio em cobertura na cultura do milho. **Universidade Estadual Paulista**, [s. l.], 2013.

LI, Zhiheng *et al.* *Rhodotorula mucilaginosa*—alternative sources of natural carotenoids, lipids, and enzymes for industrial use. **Heliyon**, [s. l.], v. 8, n. 11, p. e11505, 2022.



MARTINEZ-SILVEIRA, Adalgisa *et al.* Production of microbial oils by the oleaginous yeast *Rhodotorula graminis* S1/2R in a medium based on agro-industrial by-products. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, [s. l.], v. 38, n. 3, p. 46, 2022.

SANTOS, Priscila Souza *et al.* Fermentação em estado sólido em resíduos agroindustriais para a produção de enzimas: uma revisão sistemática. **The Journal of Engineering and Exact Sciences – JCEC**, [s. l.], 2018.

TAMANINI, Carolina; HAULY, Maria Celia de Oliveira. Resíduos agroindustriais para produção biotecnológica de xilitol. **Semina: Ciências Agrárias**, [s. l.], v. 25, n. 4, p. 315, 2004.

VILLEGAS-MÉNDEZ, Miguel Ángel *et al.* Scale-up and fed-batch cultivation strategy for the enhanced co-production of microbial lipids and carotenoids using renewable waste feedstock. **Journal of Environmental Management**, [s. l.], v. 339, p. 117866, 2023.