



## MÉTODOS DE SECAGEM PARA PRESERVAÇÃO E ESTABILIDADE DA BIOMASSA DE *Phaffia rhodozyma* CULTIVADA EM MEIO AGROINDUSTRIAL

S.D.C. Ponce<sup>1</sup>, G. M.A. Pacheco<sup>2</sup>, L.H. Han<sup>3</sup>, L.A.A. Pinto<sup>4</sup>, C.A.V. Burkert<sup>5</sup>, J.F.M. Burkert<sup>6</sup>

1-Escola de Química e Alimentos – Universidade Federal do Rio Grande – CEP: 96203-900 – Rio Grande – RS – Brasil, Telefone: +55 (55) 991719790– e-mail: (ccoriponceshirleydenisse@gmail.com)

2-Escola de Química e Alimentos – Universidade Federal do Rio Grande – CEP: 96203-900 – Rio Grande – RS – Brasil, Telefone: +55 (83) 986240704– e-mail: (geizamichely@gmail.com)

3- Escola de Química de Alimentos – Universidade Federal do Rio Grande – CEP: 96203-900 – Rio Grande – RS – Brasil, Telefone: +55(53)9143-5824– e-mail: (luiz.h.h@hotmail.com)

4- Escola de Química e Alimentos – Universidade Federal do Rio Grande – CEP: 96203-900 – Rio Grande – RS – Brasil, Telefone: 55 (53) 99925-6515– e-mail: (dqmpinto@furg.br)

5- Escola de Química de Alimentos – Universidade Federal do Rio Grande – CEP: 96203-900 – Rio Grande – RS – Brasil, Telefone: +55 (53) – 32336660– e-mail: (burkert@furg.br)

6- Escola de Química de Alimentos – Universidade Federal do Rio Grande – CEP: 96203-900 – Rio Grande – RS – Brasil, Telefone: +55 (53) 32336542 – e-mail: (jfmb@furg.br)

**RESUMO** – A levedura *Phaffia rhodozyma* é produtora importante de carotenoides, pigmentos usados na indústria alimentícia por suas propriedades antioxidantes e corantes. A secagem da biomassa é essencial para preservar e otimizar sua extração. Este estudo comparou dois métodos de secagem: estufa a vácuo e estufa com circulação de ar. O microrganismo foi cultivado em biorreator (4 L úteis) a 25°C, 300 rpm e 1 vvm, utilizando melaço de soja (100 g.L<sup>-1</sup>) como meio de cultivo. As amostras foram secas a 40°C por 48h, com pressão de 100 mmHg na estufa a vácuo. Em 12 horas, ambas as amostras estabilizaram a umidade em 1,30%. E no mesmo tempo, a estufa com circulação de ar apresentou maiores concentrações de carotenoides específicos (104,66 µg. g<sup>-1</sup> de β-caroteno e 204,35 µg. g<sup>-1</sup> de astaxantina) e volumétricos (2509,63 µg.L<sup>-1</sup> de β-caroteno e 2607,48 µg.L<sup>-1</sup> de astaxantina). Já tempos de secagem prolongados reduziram os carotenoides.

**PALAVRAS-CHAVE:** carotenoides, estufas, umidade.

**ABSTRACT** – The yeast *Phaffia rhodozyma* is an important producer of carotenoids, pigments used in the food industry for their antioxidant and coloring properties. Drying the biomass is essential to preserve and optimize its extraction. This study compared two drying methods: a vacuum oven and an oven with air circulation. The microorganism was grown in a bioreactor (4 L useful) at 25°C, 300 rpm and 1 vvm, using soy molasses (100 g.L<sup>-1</sup>) as the growing medium. The samples were dried at 40°C for 48 hours at a pressure of 100 mmHg in a vacuum oven. Within 12 hours, both samples had



19 A 21 DE MAIO DE 2025 | BENTO GONÇALVES | RS

stabilized at 1.30% humidity. At the same time, the oven with air circulation showed higher concentrations of specific carotenoids (104.66  $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$  of  $\beta$ -carotene and 204.35  $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$  of astaxanthin) and volumetric carotenoids (2509.63  $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$  of  $\beta$ -carotene and 2607.48  $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$  of astaxanthin). Prolonged drying times, on the other hand, reduced the carotenoids.

**KEYWORDS:** carotenoids, drying oven, humidity

## 1. INTRODUÇÃO

Os carotenoides são pigmentos lipofílicos de coloração vermelha, laranja e amarelo presentes em microrganismo, plantas e animais, possuem uma estrutura tetraterpênica, com propriedade antioxidantes e anti-inflamatórias, eles são usados pela indústria alimentícia para colorir e enriquecer diferentes alimentos. (Cipolatti et al 2015, Gupta et al. 2022)

Entre os microrganismos carotenogênicos, a levedura *Phaffia rhodozyma* tem se destacado pela produção de carotenoides de alto valor comercial como  $\beta$ -caroteno e astaxantina, esta levedura pertence aos basiomicetos e é reconhecida pela certificação GRAS (*Generally Recognized as Safe*) (Gupta et al. 2022), possuindo uma adaptabilidade elevada em diferentes meios de cultivo com alta eficiência de produzir carotenoides, além de também possuir um crescimento rápido (Mussagy et al, 2023).

No entanto, os meios de cultivo padrão são considerados insustentáveis e de alto custo. Entre os meios de cultivo de baixo custo, o melão de soja, coproduto agroindustrial proveniente da extração hidroalcoólica do farelo de soja tem se tornado um substrato atrativo como fonte de nutriente para leveduras e bactérias (Siqueira et al, 2008), se tornando uma forma sustentável para cultivar leveduras carotenogênicas como é o caso do nosso estudo

A secagem reduz a umidade dos alimentos, prolonga a conservação, preserva compostos aromáticos e previne a degradação enzimática, eliminando a necessidade de refrigeração (Geankoplis, 1993). Na extração de carotenoides, a remoção de água livre da biomassa de leveduras facilita a ruptura celular, aumentando a eficiência na recuperação dos biocompostos (Fonseca et al., 2011). A estufa a vácuo opera com pressão reduzida, permitindo secagem a temperaturas moderadas (Travaglini, 1981), enquanto a estufa com circulação de ar controla temperatura, umidade e fluxo de ar por meio de calor artificial (Menezes et al., 2009).

Com isso este estudo tem como objetivo avaliar dois métodos de secagem da biomassa de *P. rhodozyma* cultivada em melão de soja: estufa a vácuo e estufa com circulação de ar. Buscando técnicas para preservar a biomassa e aprimorar a ruptura celular para a extração dos carotenoides.



19 A 21 DE MAIO DE 2025 | BENTO GONÇALVES | RS

## 2. MATERIAL E MÉTODOS

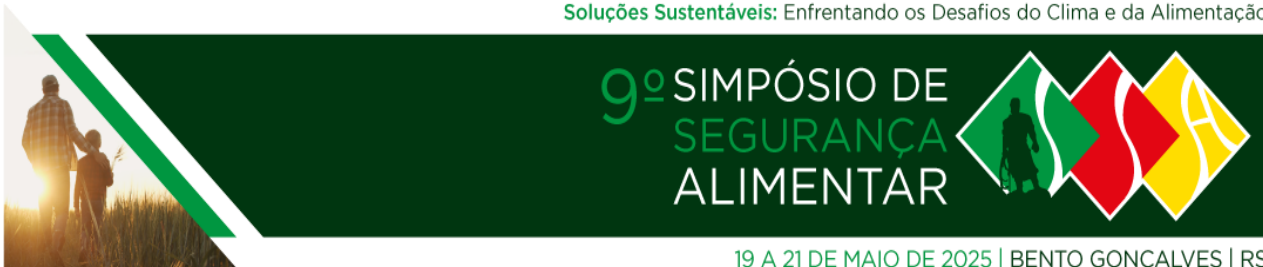
A levedura *P. rhodozyma* NRRL Y-17268 foi mantida e reativada em ágar inclinado YM (glicose (10 g/L), peptona (5 g/L), extrato de levedura e extrato de malte (3 g/L cada)) a 25°C por 48 horas. Para a preparação do pré-inóculo, utilizou-se caldo YM, seguindo o protocolo descrito por Nogueira, Prestes e Burkert (2017). O cultivo do inóculo ocorreu em caldo YM sob temperatura de 25°C, com agitação de 150 rpm e incubação por 48 horas (Rios et al., 2015). O cultivo de *P. rhodozyma* NRRL Y-17268 foi realizado em biorreator de bancada (Biostat B, B. Braun Biotech International, Alemanha), com volume total de 5L e volume útil de 4L. O meio de cultivo utilizado foi melão de soja a 100 g/L, com 3,6 L do meio no biorreator, e foi adicionado 10% de inóculo (v/v), iniciando o cultivo com  $1 \times 10^7$  células/mL e ajustando o pH para 6. As condições operacionais do cultivo foram 25°C, 300 rpm e 1 vvm (Silva et al., 2023).

A quantificação de biomassa e a determinação do pH seguiram o protocolo de Cipolatti et al. (2015). Para a biomassa, foram coletados 2 mL e a concentração foi calculada a partir da curva padrão do microrganismo, com base na absorbância medida a 620 nm em espectrofotômetro. O pH foi determinado no sobrenadante, conforme a metodologia da AOAC (2000).

Para análise de secagem foi retirado 8 ml de amostra em triplicata do ponto 168h de cultivo colocadas em placas de Petri previamente secas a 105°C. A secagem em estufa a vácuo foi realizada nas seguintes condições: 100 mmHg (13,3 kPa) e temperatura de 40°C com a resistência elétrica de 443 W (Comitre et al., 2015). A estufa com circulação de ar utilizou uma estufa com renovação contínua a 40°C (Demarco et al 2020). Foram avaliadas as amostragens da secagem durante 12h, 24h, 36h e 48h onde se acompanhou o teor de umidade e a estabilidade dos carotenoides ao longo do tempo. Foi determinado o tempo máximo de 48h de secagem baseando-se na secagem como pré-tratamento para extração de carotenoides (Fonseca et al, 2011).

A extração de carotenoides foi realizada pelo rompimento celular com dimetilsulfóxido (DMSO) segundo Fonseca et al, 2011, com adaptações na secagem como pré-tratamento. A concentração de carotenoides nos extratos foi determinada por espectrofotometria a 448 nm para  $\beta$ -caroteno e 474 nm para Astaxantina através da Equação 1.

$$CT = \frac{A \cdot V \cdot 10^6}{A_{1\text{cm}}^{1\%} \cdot 100 \cdot m_{\text{amostra}}} \quad (1)$$



19 A 21 DE MAIO DE 2025 | BENTO GONÇALVES | RS

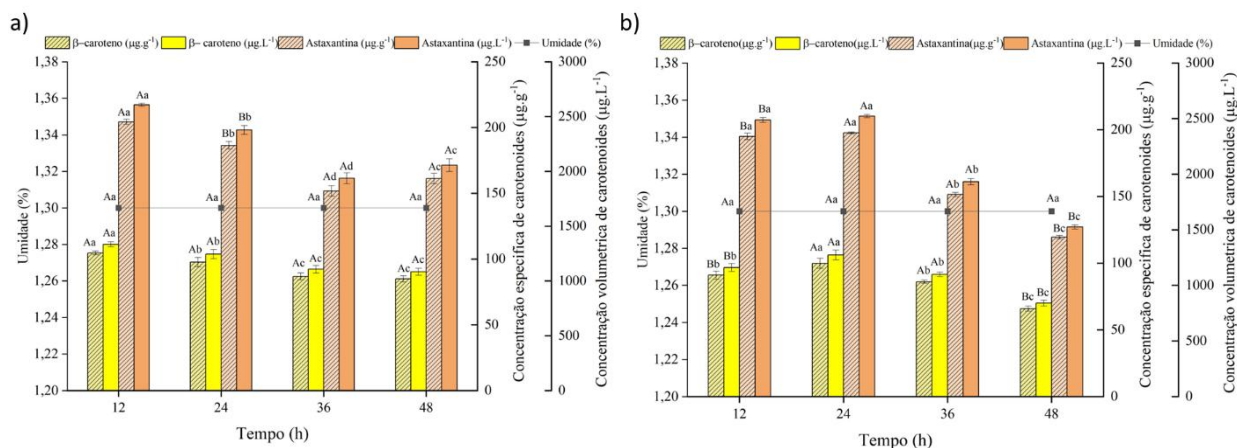
Onde: CT = Concentração específica de carotenoides totais ( $\mu\text{g. g}^{-1}$ ), A = absorvância, V= volume (mL),  $m_{\text{amostra}}$  = massa celular seca (g);  $A1_{cm}^{1\%}$  = absorvância específica.

Os dados experimentais foram analisados com o software Statistic 7.0, com um nível de confiança de 95%. As comparações entre as estufas no mesmo tempo foram feitas pelo Teste t, enquanto os resultados ao longo da secagem de cada estufa foram avaliados por ANOVA, seguida do teste de Tukey.

### 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Após 168 horas de cultivo a biomassa obtida foi de  $12,76 \text{ g. L}^{-1}$  com pH de 6,39. A Figura 1 mostram a umidade e a estabilidade dos carotenoides nas estufas de circulação de ar e a vácuo. A partir de 12 horas, ambas as estufas alcançaram uma umidade de 1,30%, mantendo-se constante ao longo de toda a secagem. Além disso, não houve diferença estatisticamente significativa ( $p < 0,05$ ) entre os métodos estudados, indicando que, após 12 horas, a biomassa estará seca independentemente da estufa utilizada.

**Figura 1:** Concentração de carotenoides específicos, volumétricos e umidade da biomassa de *P. rhodozyma* seca em estufa de circulação de ar (a) e estufa a vácuo (b)



Diferenças significativas ( $p < 0,05$ ) entre ensaios de diferentes estufas no mesmo tempo são indicadas por letras maiúsculas distintas e diferenças ao longo do tempo seco são indicadas por letras minúsculas distintas.

Em relação à estabilidade dos carotenoides na estufa de circulação de ar se obteve as maiores concentrações específicas de  $\beta$ -caroteno e astaxantina, com os valores de  $104,66 \mu\text{g.g}^{-1}$  e  $204,35 \mu\text{g.g}^{-1}$ , respectivamente, e concentrações volumétricas de  $2509,63 \mu\text{g.L}^{-1}$  e  $2607,48 \mu\text{g.L}^{-1}$ , no tempo de 12h. Após esse período, os valores diminuíram progressivamente ao longo da secagem, atingindo as menores concentrações de astaxantina ( $151,78 \mu\text{g.g}^{-1}$ ;  $1936,71 \mu\text{g.L}^{-1}$ ) e  $\beta$ -caroteno



19 A 21 DE MAIO DE 2025 | BENTO GONÇALVES | RS

(86,75  $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ ; 1106,95  $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ ) em 36 horas, mantendo-se estáveis até 48 horas. Em contrapartida a estufa a vácuo, teve a maior concentração de  $\beta$ -caroteno em 24h (99,85  $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ ; 1273,95  $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ ), diferenciando-se dos demais tempos avaliados. Para a Astaxantina, comportou-se semelhante a estufa de circulação de ar onde a maior concentração foi em 12h (194,95  $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ ; 2487,46  $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ ), mantendo-se estável até 24h e tendo um declínio na quantidade de carotenoides a partir desse tempo. O menor valor registrado no estudo foi dado pela estufa a vácuo para  $\beta$ -caroteno e astaxantina, no tempo 48h, com concentrações específicas de 65,86  $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$  e 119,48  $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$  e volumétricas de 840,45  $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$  e 1084,00  $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ , respectivamente.

A comparação entre as estufas revelou que a estufa de circulação de ar preservou a maior concentração de carotenoides em menor tempo de secagem. Por outro lado, a estufa a vácuo apresentou a menor concentração, provavelmente em razão da maior pressão do equipamento, que favoreceu a degradação dos carotenoides, visto que são altamente instáveis e sensíveis a fatores como pH, calor e exposição à luz, sua degradação pode ser acelerada, limitando seu uso na indústria (Menegazzy et al. 2020).

#### 4. CONCLUSÃO

A biomassa de *P. rhodozyma* após 168 h de cultivo estabilizou a umidade em 12 h (1,30%) em ambas as estufas. A estufa com circulação de ar foi mais eficiente na preservação de  $\beta$ -caroteno e astaxantina em menor tempo de secagem, enquanto a estufa a vácuo favoreceu sua degradação, possivelmente à baixa pressão ocasionada pelo equipamento. Assim, a circulação de ar mostrou-se uma alternativa eficaz para otimizar a secagem e preservar carotenoides, embora estudos em maior escala e outros métodos sejam necessários para aprimorar a retenção desses compostos.

#### 5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS. **Official methods of analysis of the Association of Analytical Chemists International** (17. ed.): AOAC, 2000.

CIPOLATTI, E.P.; BULSING, B.A.; SÁ, C.S.; BURKERT, C.A.V.; FURLONG, E.B.; BURKERT, J.F.M. Carotenoids from *Phaffia rhodozyma*: Antioxidant activity and stability of extracts. **African Journal of Biotechnology**, v. 4, p. 1982-1988, 2015.

COMITRE, A. A; VAZ, L.B; SILVA L.A; LARROSA, A. P. Q; PINTO L.A.A. Secagem a vácuo de spirulina sp. Leb 18: análise das características dos compostos bioativos do produto desidratado. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ENGENHARIA QUÍMICA EM INICIAÇÃO CIENTÍFICA, 6., 2015, Campinas. **Proceeding**. Rio Grande: Cobeqc, 2015.



DEMARCO, Mariana. **Produção e caracterização de pós de spirulina por diferentes métodos de secagem**. 2020. 80 f. Dissertação (Mestrado em Ciência dos Alimentos). Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2020.

FONSECA, R. A. S; RAFAEL, R.S; KALIL, S. J; BURKERT, C.A. V; BURKERT, J.F.M. Different cell disruption methods for astaxanthin recovery by *Phaffia rhodozyma*. **African Journal of Biotechnology**, v.10, p.1165-1171, 2011

GEANKOPLIS, C. **Transport and Unit Operations** (2. Ed). New Jersey: Prentice-Hall International Inc, 1983.

GUPTA, I; ADIN, S. N; PANDA, B.P; MUJEEB, M.  $\beta$ -Carotene—production methods, biosynthesis from *Phaffia rhodozyma*, factors affecting its production during fermentation, pharmacological properties: a review. **Biotechnology And Applied Biochemistry**, New Delhi-India, v. 69, n. 6, p. 2517-2529, 2022.

MENEZES, A. R. V; SILVA JÚNIOR, A; CRUZ, H.L.L; ARAUJO, D.D. Estudo comparativo do pó da acerola verde (*malphigia emarginata* d.c) obtido em estufa por circulação de ar e por liofilização **Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais**, v. 11, n. 1, p. 1-8, 2009.

MENEGAZZI, G. S; TEIXEIRA, E.C; PINTO, L.A.A; BURKERT, J.F.M. Spray-Drying Microencapsulation of Carotenoids Produced by *Phaffia rhodozyma*. **Industrial Biotechnology**, Rio Grande, v. 16, n. 5, p. 300-308, 2020.

MUSSAGY, C. U; WINTERBURN, J; EBINUMA, V.C.S; PEREIRA, J.F.B. Microbial astaxanthin: from bioprocessing to the market recognition. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 107, n. 13, p. 4199-4215, 2023.

NOGUEIRA, M. B; PRESTES, C.F; BURKERT, J.F.M. Microencapsulation by lyophilization of carotenoids produced by *Phaffia rhodozyma* with soy protein as the encapsulating agent. **Food Science and Technology**, Rio Grande, v. 37, p. 1-4, 2017.

RIOS, D.A.S; BORDA, T.M; KALIL, S.J; BURKERT, J.F.M. Rice parboiling wastewater in the maximization of carotenoids bioproduction by *Phaffia rhodozyma*. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 39, p. 401–410, 2015.

SILVA, P. G. P; MUSSAGY, C.U; LIMA, C.A; EBINUMA, V.C.S; BURKERT, J.F.M; SANTOS, L.O. Sustainable approach to recover  $\beta$ -carotene and astaxanthin from *Phaffia rhodozyma* grown in a stirred-tank bioreactor under the influence of magnetic fields. **Bioresource Technology**, Rio Grande, v. 390, p. 129906, 2023.

SIQUEIRA, P. F; KARP, S. G; CARVALHO, J. C; STURM, W; LEÓN, J.A.R; THOLOZAN, J.L; SINGHANIA, R. R; PANDEY, A.; SOCCOL, C.R. Production of bio-ethanol from soybean molasses by *Saccharomyces cerevisiae* at laboratory, pilot and industrial scales. **Bioresource Technology**, 99, n. 17, p. 8156-8163, 2008.

TRAVAGLINI, D. A. **Curso de alimentos desidratados**. Instituto de Tecnologia de Alimentos, Campinas: ITAL, 1981.