



PRODUÇÃO SUSTENTÁVEL DE CAROTENOIDES: MELAÇO DE SOJA COMO MEIO DE CULTIVO PARA *Rhodotorula mucilaginosa* CCT 7688

G.M.A. Pacheco¹, S.D.C. Ponce², J.F.M. Burkert³, C.A.V. Burkert⁴

1- 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)

2- Escola de Química de Alimentos – Universidade Federal do Rio Grande – CEP: 96203-900 – Rio Grande – RS – Brasil, Telefone: +55 (53) 32336542 – e-mail: (ccoriponceshirleydenisse@gmail.com)

3- 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)

4- 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)

RESUMO – A demanda por produtos naturais e de menor impacto ambiental tem crescido, impulsionando estudos sobre pigmentos naturais de origem microbiana, como os carotenoides. Nessa produção, um substrato alternativo é o melaço de soja, um subproduto da produção de proteína de soja. Neste contexto, este estudo buscou avaliar a produção de carotenoides por *Rhodotorula mucilaginosa* CCT 7688, utilizando melaço de soja como meio de cultivo, comparando com o meio *Yeast Malt* (YM). Os resultados indicaram que a substituição do meio YM pelo melaço de soja não afetou significativamente ($p>0,05$) a produção de biomassa (6,21 g/L e 6,03 g/L, respectivamente) e carotenoides (680,59 $\mu\text{g/L}$ e 623,07 $\mu\text{g/L}$, respectivamente), evidenciando o potencial desse subproduto como meio de cultivo.

PALAVRAS-CHAVE: subproduto agroindustrial; leveduras carotenogênicas; pigmentos naturais

ABSTRACT – The demand for natural products with lower environmental impact has been growing, driving studies on natural pigments of microbial origin, such as carotenoids. In this production, an alternative substrate is soybean molasses, a byproduct from soy protein production. In this context, this study aimed to evaluate the production of carotenoids by *Rhodotorula mucilaginosa* CCT 7688, using soybean molasses as a culture medium, compared with *Yeast Malt* (YM) medium. The results indicated that the replacement of the YM medium by soybean molasses did not significantly affect ($p>0.05$) biomass (6.21 g/L and 6.03 g/L, respectively) and carotenoid (680.59 $\mu\text{g/L}$ and 623.07 $\mu\text{g/L}$, respectively), highlighting the potential of this byproduct as a cultivation medium.

KEYWORDS: agroindustrial byproducts; carotenogenic yeasts; natural pigments.

1. INTRODUÇÃO



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

Os carotenoides são pigmentos amplamente distribuídos na natureza que, além de conferirem coloração, apresentam propriedades como atividade pró-vitamina A, principalmente o β -caroteno (Aburai *et al.*, 2018), atividade antioxidante e ação antimicrobiana (Varghese *et al.*, 2023), o que possibilita sua aplicação em diversos setores industriais, despertando interesse comercial e aumentando a demanda por sua produção (González-Peña *et al.*, 2023).

A maioria dos carotenoides utilizados na indústria são produzidos por síntese química, dependente de solventes orgânicos. No entanto, podem ser obtidos por extração vegetal ou produção microbiana (Watcharawipas; Runguphan, 2023). Com a crescente demanda por produtos naturais, a produção de carotenoides naturais tem aumentado, refletindo a preocupação com aditivos químicos (Papapostolou *et al.*, 2023). Porém, a extração desse pigmento de vegetais enfrenta desafios, como dependência climática, baixo controle de rendimento e necessidade de grandes áreas de cultivo (Watcharawipas; Runguphan, 2023). Desta forma, a produção de carotenoides microbianos tem se mostrado uma alternativa promissora, devido à necessidade de pequenas áreas de cultivo, facilidade de manejo e uso de substratos alternativos, reduzindo os custos de produção (Siziya; Hwang; Seo, 2022). Entre os microrganismos produtores, as leveduras se destacam pela capacidade de sintetizar carotenoides como β -caroteno, astaxantina e luteína, utilizando subprodutos agroindustriais de baixo custo. Dentre elas, *Rhodotorula mucilaginosa* tem recebido atenção crescente (Cipolatti *et al.*, 2019).

Um subproduto agroindustrial que pode constituir um substrato alternativo para o cultivo microbiano é o melaço de soja, gerado durante a fabricação de proteína concentrada de soja, composto por proteínas, carboidratos, lipídios e outros nutrientes (Oliveira; Michelon; Burkert, 2020). Segundo a OECD/FAO (2023), Brasil e Estados Unidos representam cerca de 69% da produção global de soja, que atingiu 363 milhões de toneladas em 2022 e pode chegar a 415 milhões até 2032. Durante o processamento, cerca de 232 kg de melaço são gerados por tonelada de farelo, tornando-o um subproduto abundante e nutritivo (Rodrigues *et al.*, 2021). Entretanto, apesar desse potencial, há carência de estudos que explorem este substrato no cultivo de leveduras carotenogênicas. Nesse contexto, o objetivo deste trabalho foi avaliar a produção de carotenoides por *Rhodotorula mucilaginosa* CCT 7688 utilizando unicamente melaço de soja como meio de cultivo.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Material

Rhodotorula mucilaginosa CCT 7688 foi isolada e identificadas por Otero *et al.* (2019) a partir de amostras ambientais do ecossistema Escudo Sul-Riograndense (Rio Grande do Sul, Brasil).



O melaço de soja foi fornecido pela indústria CJ Selecta, localizada em Araguari, Minas Gerais, apresentando a seguinte composição: 65% carboidratos, 13% lipídios, 8% proteínas e 14% cinzas, conforme Oliveira, Michelin e Burkert (2020).

2.2 Cultivo

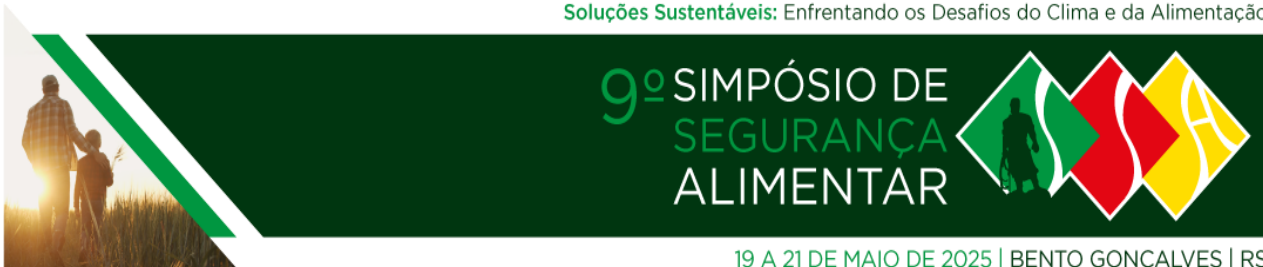
Para a reativação, o microrganismo foi transferido das culturas estoque para tubos contendo ágar *Yeast Malt* (YM) inclinado, sendo incubado a 25 °C por 48 h. A suspensão de células (pré-inóculo) foi preparada raspando a cultura com 1 mL de água peptonada (0,1% v/v), transferindo para 9 mL de caldo YM e incubando nas mesmas condições (Silva *et al.*, 2012). O inóculo foi preparado em frascos de 250 mL contendo 90 mL de caldo YM, aos quais foram adicionados 10 mL do pré-inóculo. Esses frascos foram incubados a 25 °C, 150 rpm, por 48 h, até atingir uma concentração mínima de 1×10^8 células/mL, determinada por contagem em câmara de Neubauer. Os cultivos foram realizados em frascos *Erlenmeyer* de 500 mL, contendo 225 mL de meio de cultivo e 10% de inóculo (1×10^7 células/mL), conduzidos em agitador orbital (*shaker*) a 25 °C, com pH inicial de 6,0 e 180 rpm, durante 240 h (Cipolatti *et al.*, 2019). Foram avaliados dois meios: caldo YM (3 g/L extrato de levedura, 3 g/L extrato de malte, 5 g/L peptona e 10 g/L glicose) e melaço de soja (34,32 g/L melaço de soja), ambos com a mesma concentração inicial de açúcares redutores totais.

2.3 Determinação da Concentração de Biomassa

A biomassa ao longo do cultivo foi determinada primeiramente centrifugando ($1745 \times g$, 10 min) a amostra coletada. O sobrenadante foi descartado, enquanto o sedimento foi lavado com água destilada e centrifugado novamente duas vezes. A concentração de biomassa foi determinada por absorbância a 620 nm, utilizando uma curva padrão previamente determinada (Choi; Park, 2003).

2.4 Determinação de Carotenoides Totais

A concentração total de carotenoides foi determinada ao longo do cultivo de acordo Cipolatti *et al.* (2015), determinando a absorbância em 448 nm (Machado; Burkert, 2015). A concentração específica de carotenoides ($\mu\text{g/g}$) foi calculada pela Equação 1, sendo expressa como β -caroteno (carotenoide majoritário) em éter de petróleo com absorvidade específica de 2592. Para calcular a concentração volumétrica de carotenoides ($\mu\text{g/L}$), foi utilizada a concentração específica de carotenoides multiplicada pela respectiva concentração de biomassa.



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

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

Onde: CT = Concentração específica de carotenoides totais ($\mu\text{g/g}$), A = absorvância, V = volume (mL), $m_{amostra}$ = biomassa seca (g); $A_{1CM}^{1\%}$ = absorvância específica.

2.5 Análise Estatística

Os experimentos foram conduzidos em triplicata e analisados por ANOVA, seguida do teste de Tukey ($p \leq 0,05$) para comparação entre os tempos de cultivo. Para comparações entre dois tratamentos (os dois meios distintos), foi aplicado o teste t ($p < 0,05$). A análise dos dados foi feita no software *Statistica 5.0* (Statsoft Inc., EUA).

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

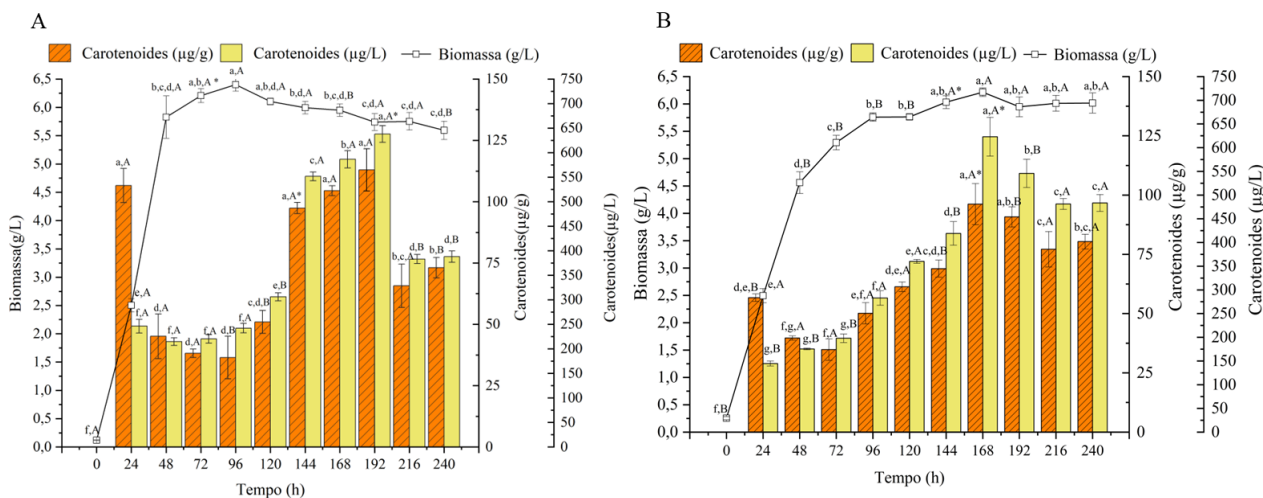
Na produção de biomassa (Figura 1), observa-se que no meio YM a levedura atingiu a produção máxima a partir de 72 h de cultivo, com um valor de 6,21 g/L, mantendo-se estável até 120 h. Porém, no meio contendo o melado de soja, o crescimento foi mais lento, atingindo a produção máxima (6,03 g/L) em 144 h, permanecendo estável até o fim do cultivo. Pode-se também afirmar que não houve diferença estatisticamente significativa ($p > 0,05$) entre os valores máximos de biomassa nos meios avaliados.

Na Figura 1, também é possível observar que houve uma tendência de maior acúmulo de carotenoides pelas células quando o microrganismo atinge a fase estacionária, em ambos os meios. Com o meio YM, a máxima concentração específica de carotenoides foi atingida em 144 h de cultivo ($97,41 \mu\text{g/g}$), mantendo-se estável até 192 h. Em relação à produção volumétrica de carotenoides, que está diretamente ligada à produção de biomassa, observa-se que o ponto de maior produção ocorreu em 192 h, com $680,59 \mu\text{g/L}$, diferindo dos demais tempos de cultivo ($p < 0,05$). Já no meio com melado de soja, os valores máximos tanto da produção específica quanto da produção volumétrica de carotenoides, foram atingidas em 168 h, com valores de $96,20 \mu\text{g/g}$ e $623,07 \mu\text{g/L}$, respectivamente. Ao comparar-se os valores máximos obtidos em cada meio, não houve diferença estatisticamente significativa ($p > 0,05$), indicando que *Rhodotorula mucilaginosa* CCT 7688 tem capacidade de produzir carotenoides em quantidades equivalentes tanto no meio convencional YM quanto no alternativo (melado de soja), evidenciando o potencial deste substrato no cultivo de leveduras carotenogênicas.



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

Figura 1 – Concentração de biomassa e carotenoides em meio YM (A) e melação de soja (B)



Letras minúsculas diferentes indicam diferenças significativas ($p < 0,05$) ao longo do cultivo para um mesmo meio; letras maiúsculas diferentes indicam diferenças significativas ($p < 0,05$) entre os meios para um mesmo tempo de cultivo; asteriscos indicam os valores máximos atingidos nos cultivos.

4. CONCLUSÃO

A substituição do meio convencional YM pelo melação de soja no cultivo de *Rhodotorula mucilaginosa* CCT 7688 não alterou significativamente ($p > 0,05$) a produção de biomassa e carotenoides. Dessa forma, o melação de soja se mostrou como uma alternativa potencial na produção microbiana de carotenoides, contribuindo para a redução de custos e o aproveitamento desse subproduto agroindustrial, podendo agregar valor à cadeia produtiva da soja com a produção de um carotenoide natural e sustentável.

5. AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - CAPES (código financeiro 001).

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABURAI, H., KAZAMA, A., TSURUOKA, M. GOTO, K. Development of a whole-cell-based screening method for a carotenoid assay using aerial microalgae. **Journal of Biotechnology**, v. 268, p. 6-11, 2018.

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.

CIPOLATTI, E.P., REMEDI, R.D., SÁ, C.S.; RODRIGUES, A.B., RAMOS, J.M.G., BURKERT, C.A.V.; BURKERT, J.F.M. Use of agroindustrial byproducts as substrate for production of



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

carotenoids with antioxidant potential by wild yeasts. **Biocatalysis and Agricultural Biotechnology**, v. 20, 101208, 2019.

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

GONZÁLEZ-PEÑA, M.A., ORTEGA, R.A.E.; ANAYA, P.C., LOZADA, R.J.D. Chemistry, occurrence, properties, applications, and encapsulation of carotenoids – a review. **Plants**, v. 12, n. 2, 313, 2023.

MACHADO, W.R.C., BURKERT, J.F.M. Optimization of agroindustrial medium for the production of carotenoids by wild yeast *Sporidiobolus pararoseus*. **African Journal of Microbiology Research**, v. 9, p. 209–219, 2015.

OECD/FAO (2023), OECD-FAO Agricultural Outlook 2023-2032, OECD Publishing, Paris, <https://doi.org/10.1787/08801ab7-en>.

OLIVEIRA, J.M., MICHELON, M., BURKERT, C.A.V. Biotechnological potential of soybean molasses for the production of extracellular polymers by diazotrophic bacteria. **Biocatalysis and Agricultural Biotechnology**, v. 25, 101609, 2020.

OTERO, D.M., BULSING, B.A., HUERTA, K.M.; ROSA, C.A., ZAMBIAZI, R.C.; BURKERT, C.A.V.; BURKERT, J.F.M. Carotenoid-producing yeasts in the Brazilian biodiversity: isolation, identification and cultivation in agroindustrial waste. **Brazilian Journal of Chemical Engineering**, v. 36, p. 117-129, 2019.

PAPAPOSTOLOU, H., KACHRIMANIDOU, V., ALEXANDRI, M., PLESSAS, S.; PAPADAKI, A.; KOPSAHELIS, N. Natural carotenoids: recent advances on separation from microbial biomass and methods of analysis. **Antioxidants**, v. 12, n. 5, 1030, 2023.

RODRIGUES, B. C. G., MELLO, B. S., DA COSTA ARAUJO, M. L. G., SILVA, G. H. R., SARTI, A. Soybean molasses as feedstock for sustainable generation of biomethane using high-rate anaerobic reactor. **Journal of Environmental Chemical Engineering**, v. 9, n. 4, p. 105226, 2021.

SILVA, C.M.; BORBA, T.M., BURKERT, C.A.V., BURKERT, J.F.M. Carotenoid production by *Phaffia rhodozyma* using raw glycerol as an additional carbon source. **International Journal of Food Engineering**, v. 8, n. 4, 2012.

SIZIYA, I.N., HWANG, C.Y., SEO, M.J. Antioxidant potential and capacity of microorganism-sourced C30 carotenoids—a review. **Antioxidants**, v. 11, n. 10, 1963, 2022.

VARGHESE, R., BURAGOHAIN, T., BANERJEE, I., MUKHERJEE, R., PENSHANWAR, S. N., AGASTI, S., RAMAMOORTHY, S. The apocarotenoid production in microbial biofactories: an overview. **Journal of Biotechnology**, v. 374, p. 5-16, 2023.

WATCHARAWIPAS, A., RUNGUPHAN, W. Red yeasts and their carotenogenic enzymes for microbial carotenoid production. **FEMS Yeast Research**, v. 23, p. 63, 2023.