



PERFIL DE ÁCIDOS GRAXOS DE *Rhodotorula mucilaginosa* CCT 7688 EXTRAÍDOS COM SOLVENTES VERDES

T. C. Jesus¹, L. H. Han², L. A. A. Pinto³, A. C. Lemos⁴, J. F. M. Burkert⁵

1-Thallita Cordeiro de Jesus – Escola de Química e Alimentos – Universidade Federal do Rio Grande – CEP: 96203-900 – Rio Grande – RS – Brasil, Telefone: 55 (98) 8802-0156 – e-mail: (thallitacordeirodjes@furg.br)

2- Luiz Henrique Han – Escola de Química e 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)

3 – Luiz Antonio de Almeida Pinto – 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)

4 – Andressa Cunha Lemos– Escola de Química e Alimentos – Universidade Federal do Rio Grande – CEP: 96203-900 – Rio Grande – RS – Brasil, Telefone: 55 (53) 9213-5083– e-mail: (andressa.cunhalemos@gmail.com)

5 - Janaina Fernandes de Medeiros Burkert – Escola de Química e Alimentos – Universidade Federal do Rio Grande – CEP: 96203-900 – Rio Grande – RS – Brasil, Telefone: 55 (53) 8118-4292– e-mail: (jfmb@furg.br)

RESUMO – Os ácidos graxos desempenham um papel importante na saúde humana, e fontes alternativas para sua produção têm sido evidenciada. *Rhodotorula mucilaginosa* é considerada uma levedura oleaginosa com potencial para produzir bioprodutos ricos em ácidos graxos. No entanto, a extração desses bioprodutos deve ser segura e sustentável. Nesse contexto, este estudo teve como objetivo avaliar a influência do acetato de etila no perfil de ácidos graxos do óleo de *R. mucilaginosa* CCT 7688. Para isso, foram realizados dois métodos de extração lipídica, seguidos de análise por cromatografia gasosa. Os resultados indicaram que o acetato de etila foi eficaz na obtenção do perfil de ácidos graxos, equiparando-se aos métodos tradicionalmente utilizados. A composição de ácidos graxos foi predominantemente composta por ácidos graxos monoinsaturados (MUFAs) e poliinsaturados (PUFAs), sendo o ácido oleico o mais abundante, representando 51,8%.

PALAVRAS-CHAVE: acetato de etila; ácidos graxos; lipídios.

ABSTRACT – Fatty acids play an important role in human health, and alternative sources for their production have been increasingly explored. *Rhodotorula mucilaginosa* is considered an oleaginous yeast with the potential to produce bioproducts rich in fatty acids. However, the extraction of these bioproducts must be both safe and sustainable. In this context, this study aimed to evaluate the influence of ethyl acetate on the fatty acid profile of *R. mucilaginosa* CCT 7688 oil. For this purpose, two lipid extraction methods were performed, followed by gas chromatography analysis. The results indicated that ethyl acetate was effective in obtaining the fatty acid profile, performing similarly to traditionally used methods. The fatty acid composition was predominantly made up of monounsaturated fatty acids (MUFAs) and polyunsaturated fatty acids (PUFAs), with oleic acid being the most abundant, accounting for 51.8%.

KEYWORDS: ethyl acetate; fatty acids; lipids.

1. INTRODUÇÃO

Os ácidos graxos são componentes estruturais dos lipídios e desempenham um papel importante nos processos metabólicos do corpo humano (Altun et al., 2024). Ácidos graxos, como o



ácido oleico, contribuem para a saúde humana aumentando os níveis de colesterol de lipoproteína de alta densidade (HDL) (Mocciaro et al., 2023), reduzindo assim o risco de doenças cardiovasculares. Diante da importância nutricional dos ácidos graxos, estudos tem buscado fontes alternativas para obter esses compostos, incluindo produtos biotecnológicos como óleos obtidos a partir de cultivos microbianos.

Leveduras oleaginosas, como *Rhodotorula*, têm sido estudadas devido à sua capacidade de acumular mais de 20% do seu peso na forma de lipídios (Dar et al., 2024) que são armazenados no interior das suas células. O uso de coprodutos agroindustriais, como melão de cana-de-açúcar (Rodrigues et al., 2022), contribui para a otimização da produção de lipídios além de reduzir os custos do processo. Além disso, a substituição de solventes tóxicos por solventes verdes (Mussagy et al., 2021) são estudadas para melhorar a sustentabilidade dos processos de extração de lipídios. Neste contexto, o presente estudo teve como objetivo avaliar a influência do acetato de etila, um solvente verde, no perfil de ácidos graxos do óleo extraído da biomassa de *R. mucilaginosa* CTT 7688.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Obtenção da biomassa e extração dos lipídios

Os lipídios foram extraídos da biomassa obtida a partir do cultivo de *Rhodotorula mucilaginosa* CCT 7688 sob condições pré-definidas por Rodrigues et al., (2022). O cultivo foi realizado em frascos Erlenmeyer de 500 mL que continham 250 mL do meio agroindustrial (70 g L^{-1} de melão de cana-de-açúcar e $3,4 \text{ g L}^{-1}$ de água de maceração de milho) e 10% de inóculo ($v v^{-1}$). Os frascos foram levados ao agitador orbital tipo *shaker* onde permaneceram por 144h e 180 rpm a $25 \text{ }^\circ\text{C}$. Ao término do cultivo a biomassa era recuperada, seca a $35 \text{ }^\circ\text{C}$, moída em moinho de facas e sua granulometria padronizada a 115 mesh (Cipolatti et al., 2019).

Para a comparação dos perfis de ácidos graxos, dois métodos de extração foram realizados (Figura 1). O método analítico padrão para quantificação de lipídios foi realizado de acordo com Bligh & Dyer (1959) e usou os solventes metanol e clorofórmio. O método alternativo usando acetato de etila, etanol e ácido acético foi realizado segundo a metodologia de Wittenhofer et al. (2024) com adaptações.

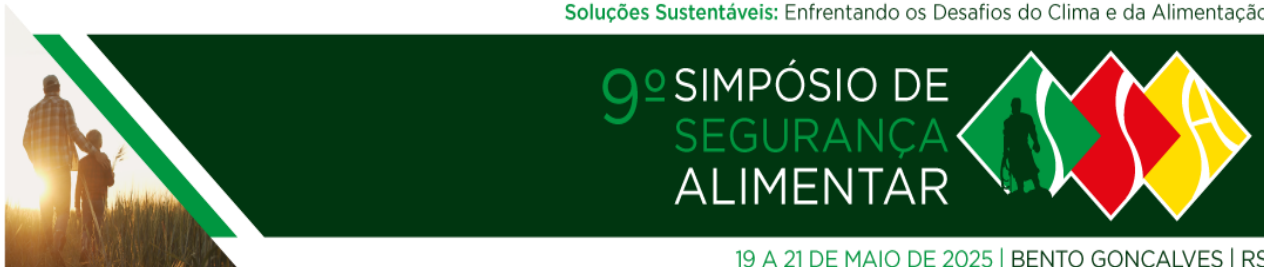
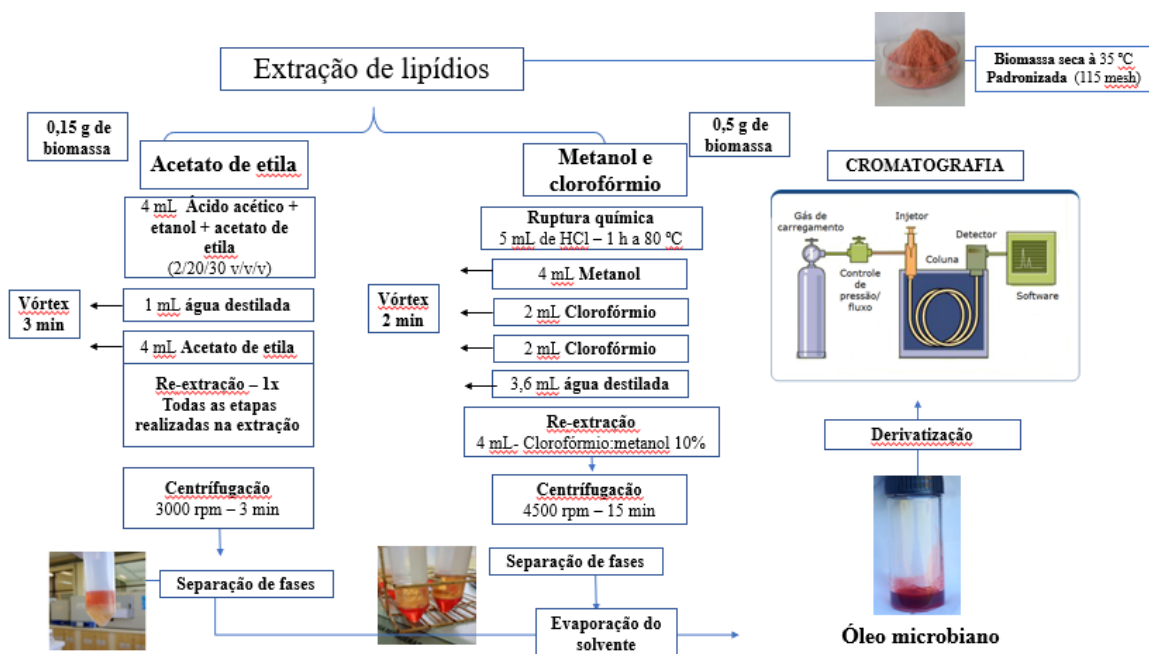


Figura 1- Processo de extração de lipídios da biomassa de *R. mucilaginosa*



2.2 Perfil de ácidos graxos

Para a obtenção dos ésteres metílicos de ácidos graxos, o conteúdo lipídico foi esterificado de acordo com o protocolo descrito por Metcalfe et al., 1966). O perfil de ácidos graxos foi determinado por um cromatógrafo a gás (Shimadzu, modelo – 2010 Plus), equipado com injetor split/splitless, coluna capilar Zebron ZB-FAME (20 m x 0,18 mm ID x 0,15 μm) e detector de ionização de chama (FID). A temperatura do injetor foi de 250 $^{\circ}\text{C}$ e do detector 260 $^{\circ}\text{C}$. O gás de arraste utilizado foi N_2 . As condições cromatográficas da coluna foram temperatura inicial de 80 $^{\circ}\text{C}$ por 1,5 min, sendo então elevada a 160 $^{\circ}\text{C}$ a uma taxa de aquecimento de 40 $^{\circ}\text{C min}^{-1}$, em seguida foi a 185 $^{\circ}\text{C}$ a uma taxa de 5 $^{\circ}\text{C min}^{-1}$ e finalizando até 260 $^{\circ}\text{C}$ a uma taxa de 30 $^{\circ}\text{C min}^{-1}$, totalizando 11 min de tempo total. A identificação dos picos foi feita por comparação dos tempos de retenção das amostras com os padrões de ésteres metílicos de ácidos graxos (Supelco 37 componentes FAME MIX – Sigma-Aldrich Products), e a quantificação foi obtida por meio das áreas dos picos.

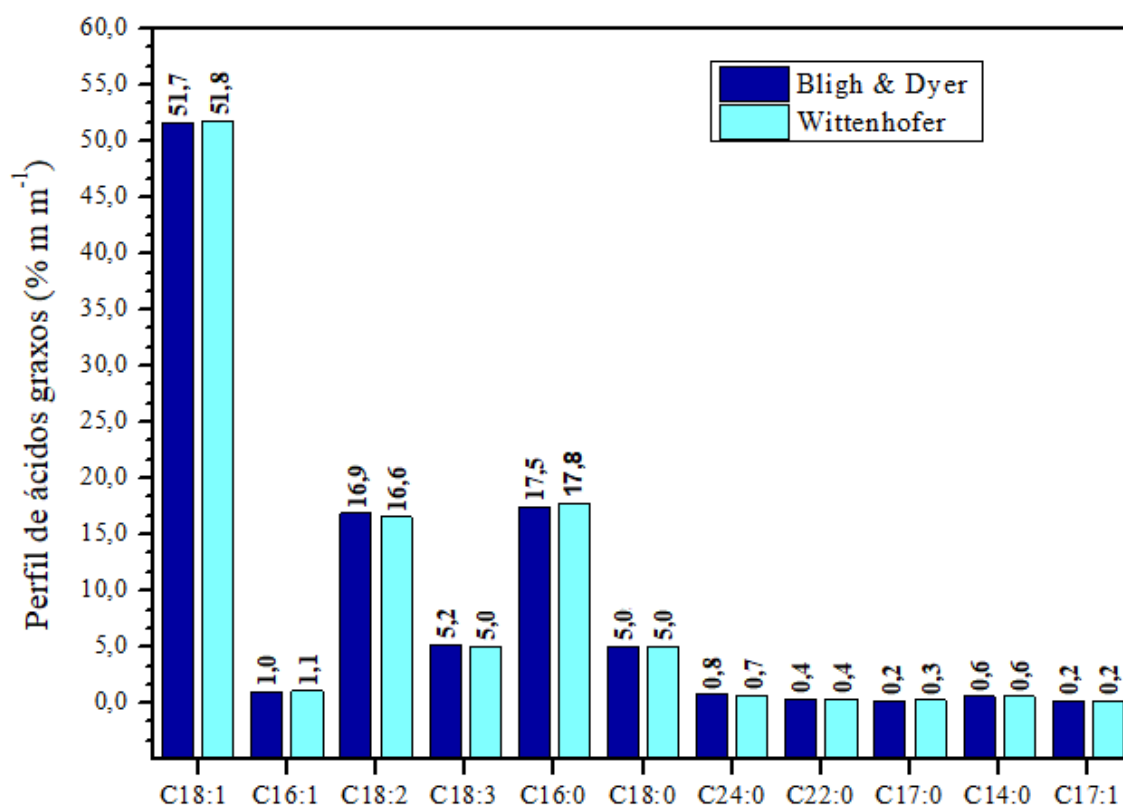
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

A Figura 2 apresenta o perfil de ácidos graxos (% m m⁻¹) do óleo extraído pelo método Bligh & Dyer (metanol/clorofórmio) e Wittenhofer et al. (2024) (acetato de etila/etanol/ácido acético). Em ambos, o ácido oleico (C18:1) foi predominante, representando 51,7 % e 51,8%



respectivamente. Esses resultados indicam que a substituição dos solventes tradicionais por alternativas menos tóxicas não alterou o perfil de ácidos graxos do óleo de *R. mucilaginosa* evidenciando que a metodologia de Wittenhofer et al. (2024) demonstrou ser tão eficiente quanto ao método tradicional (Bligh & Dyer) usado, contribuindo para uma abordagem mais segura e sustentável.

Figura 1 – Perfil de ácidos graxos (% m m⁻¹) extraídos por diferentes solventes



Dos ácidos graxos obtidos na extração usando acetato de etila, 75% correspondem as frações de ácidos monoinsaturados e poliinsaturados (MUFAs e PUFAs), dentre eles estão o ácido oleico (C 18:1), ácido palmítoleico (C 16:1), ácido linolênico (C 18:3) e ácido linoleico (C 18:2), que são ácidos graxos de grande importância para a indústria alimentícia, (Dar et al., 2024) bem como para indústria farmacêutica e cosmética (Kunik et al., 2022).

Os percentuais de ácido palmítico (C16:0) e linoleico pelo método de Wittenhofer et al. (2024) (17,8 e 16,6 % m m⁻¹) foram semelhantes ao encontrado por Arrieira et al., (2024) (17,8 e 16,06 % m m⁻¹) que usou o método tradicional de extração com metanol e clorofórmio. Os ácidos graxos C 24:0 (ácido lignocérico) C 22:0 (ácido behênico) e C 14:0 (ácido mirístico) totalizaram um percentual de ácidos graxos superior a 1,5 % m m⁻¹ para ambos os métodos, resultado semelhante



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

encontrado por Rodrigues, (2023) para a levedura *R. mucilaginosa* CTT 7688, nas mesmas condições de cultivo deste trabalho.

O método adaptado de Wittenhofer et al. (2024) também buscou avaliar se a redução da biomassa afetaria a composição lipídica. No estudo, o método Bligh & Dyer usou 0,5 g enquanto o de Wittenhofer et al. (2024) usou apenas 0,15 g. Contudo, como observado, o perfil de ácido graxos se manteve consistente, não sofrendo grandes alterações com a redução da biomassa, reforçando que o uso de solventes verdes como substitutos sustentáveis aos solventes tóxicos não somente viabilizam o processo como reduzem impactos ambientais. O resultado deste trabalho reforça a eficácia da extração ao usar os solventes ecologicamente amigáveis (Prat et al., 2016) como alternativa para a obtenção de ácidos graxos da levedura *R. mucilaginosa*.

4. CONCLUSÕES

Em suma, o uso de acetato de etila como solvente verde na extração de lipídios da biomassa de *R. mucilaginosa* CCT 7688 resultou em um perfil predominante de ácidos graxos insaturados, que são compostos de interesse para a indústria alimentícia principalmente devido aos seus benefícios à saúde. Além disso, o uso do acetato de etila, etanol e ácido acético demonstrou eficiência na obtenção desse bioproduto e contribuiu para sustentabilidade do processo. É válido ressaltar que a metodologia adaptada de Wittenhofer et al. (2024) apresentou perfil de ácidos graxos semelhante ao perfil encontrado pelo método tradicional Bligh & Dyer, reforçando que os solventes ecologicamente amigáveis representam uma alternativa viável e sustentável para a obtenção de ácidos graxos da levedura *R. mucilaginosa*, permitindo a substituição de solventes tóxicos como o metanol e clorofórmio.

5. AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem a CAPES, CNPq e a FAPERGS pelas bolsas de fomento. À FURG e ao Laboratório de Análise Sensorial e Controle de Qualidade (LASCQ), pelo espaço e recursos necessários para o desenvolvimento desta pesquisa.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALTUN, D.; LARSSON, P.; BERGSTRÖM, C. A. S.; HOSSAIN, S. Molecular dynamics simulations of lipid composition and its impact on structural and dynamic properties of skin membrane. **Chemistry and Physics of Lipids**, 265, 105448, 2024



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

ARRIEIRA, N. M.; DE ÁVILA, M. T.; FLORES, W. H.; MICHELON, M.; DUARTE, S. H.; BURKERT, J. F. DE M. Oleogels based on carotenoid-rich microbial oil produced by *R. mucilaginosa* in agro-industrial by-products. **Bioprocess and Biosystems Engineering**, 2024

BLIGH, E. G.; DYER, W. J. A rapid method of total lipid extraction and purification. **Canadian Journal of Biochemistry and Physiology**, 37(8), 911–917, 1959

CIPOLATTI, E. P.; REMEDI, R. D.; SÁ, C. DOS S.; RODRIGUES, A. B.; GONÇALVES RAMOS, J. M.; BURKERT, C. A. V.; FURLONG, E. B.; BURKERT, J. F. DE M. Use of agroindustrial byproducts as substrate for production of carotenoids with antioxidant potential by wild yeasts. **Biocatalysis and Agricultural Biotechnology**, 20, 101208. 2019

DAR, R. A.; TSUI, T.-H.; ZHANG, L.; TONG, Y. W.; SHARON, S.; SHOSEYOV, O.; LIU, R. Fermentation of organic wastes through oleaginous microorganisms for lipid production - Challenges and opportunities. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, 195, 114328. 2024

KUNIK, O.; SARIBEKOVA, D.; LAZZARA, G.; CAVALLARO, G. Emulsions based on fatty acid from vegetable oils for cosmetics. **Industrial Crops and Products**, 189, 115776. 2022

METCALFE, L. D.; SCHMITZ, A. A.; PELKA, J. R. Rapid Preparation of Fatty Acid Esters from Lipids for Gas Chromatographic Analysis. **Analytical Chemistry**, 38(3), 514–515. 1966

MOCCIARO, G.; ALLISON, M.; JENKINS, B.; AZZU, V.; HUANG-DORAN, I.; HERRERA-MARCOS, L. V.; HALL, Z.; MURGIA, A.; SUSAN, D.; FRONTINI, M.; VIDAL-PUIG, A.; KOULMAN, A.; GRIFFIN, J. L.; VACCA, M. Non-alcoholic fatty liver disease is characterised by reduced polyunsaturated fatty acid transport via free fatty acids and high-density lipoproteins (HDL). **Molecular Metabolism**, 73, 101728. 2023

MUSSAGY, C. U.; REMONATTO, D.; PAULA, A. V.; HERCULANO, R. D.; SANTOS-EBINUMA, V. C.; COUTINHO, J. A. P.; PEREIRA, J. F. B. Selective recovery and purification of carotenoids and fatty acids from *Rhodotorula glutinis* using mixtures of biosolvents. **Separation and Purification Technology**, 266, 118548. 2021

PRAT, D.; WELLS, A.; HAYLER, J.; SNEDDON, H.; MCELROY, C. R.; ABOU-SHEHADA, S.; DUNN, P. J. CHEM21 selection guide of classical- and less classical-solvents. **Green Chemistry**, 18(1), 288–296. 2016

RODRIGUES, T. V. D.; TEIXEIRA, E. C.; MACEDO, L. P.; DOS SANTOS, G. M.; BURKERT, C. A. V., .; BURKERT, J. F. DE M. Agroindustrial byproduct-based media in the production of microbial oil rich in oleic acid and carotenoids. **Bioprocess and Biosystems Engineering**, 45(4), 721–732, 2022

WITTENHOFER, P.; MONTERO, L.; SCHMITZ, O. J.; MECKELMANN, S. W. Automated green sample preparation for quantitative extraction of lipids in different sample matrices. **Green Analytical Chemistry**, 10, 100128, 2024