



UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA
CENTRO DE TECNOLOGIA
DEPARTAMENTO DE ENGENHARIA QUÍMICA

TALITA ARAÚJO DIAS

**PRODUÇÃO DE CAROTENOIDES POR *RHODOTORULA GLUTINIS* ATRAVÉS DE
CULTIVO SUBMERSO – UMA REVISÃO INTEGRATIVA**

JOÃO PESSOA/PB

2021

TALITA ARAÚJO DIAS

**PRODUÇÃO DE CAROTENOIDES POR *RHODOTORULA GLUTINIS* ATRAVÉS DE
CULTIVO SUBMERSO – UMA REVISÃO INTEGRATIVA**

Trabalho Final de Curso apresentado à
Coordenação do Curso de Engenharia Química
da Universidade Federal da Paraíba como
requisito parcial para obtenção do título de
Bacharel em Engenharia Química.

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Andrea Lopes de Oliveira Ferreira

JOÃO PESSOA/PB

2021

Catlogação na publicação
Seção de Catalogação e Classificação

D541p Dias, Talita Araujo.

PRODUÇÃO DE CAROTENOIDES POR RHODOTORULA GLUTINIS
ATRAVÉS DE CULTIVO SUBMERSO - UMA REVISÃO INTEGRATIVA /
Talita Araujo Dias. - João Pessoa, 2021.
31 f. : il.

Orientação: Andrea Lopes de Oliveira Ferreira.
TCC (Graduação) - UFPB/CT.

1. Revisão Integrativa, Carotenóides, Rhodotorula glu.
I. Ferreira, Andrea Lopes de Oliveira. II. Título.

UFPB/BSCT

CDU 66.01

TALITA ARAÚJO DIAS

**PRODUÇÃO DE CAROTENOIDES POR *RHODOTORULA GLUTINIS* ATRAVÉS DE
CULTIVO SUBMERSO – UMA REVISÃO INTEGRATIVA**

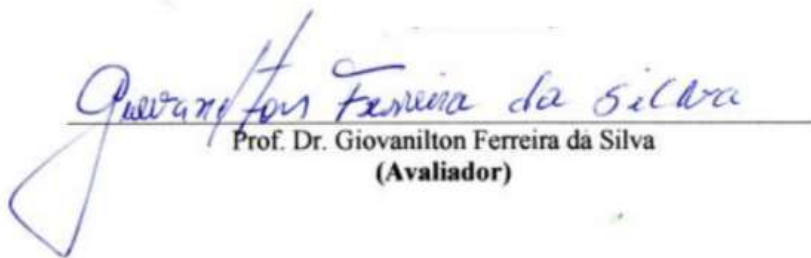
Trabalho Final de Curso apresentado à
Coordenação do Curso de Engenharia Química
da Universidade Federal da Paraíba como
requisito parcial para obtenção do título de
Bacharel em Engenharia Química.

Aprovado em: 01 de junho de 2021


BANCA EXAMINADORA



Prof.ª Dra. Andrea Lopes de Oliveira Ferreira
(Orientadora)



Prof. Dr. Giovanilton Ferreira da Silva
(Avaliador)



Jefferson Alex Verissimo da Silva
Engenheiro Químico
(Avaliador)

JOÃO PESSOA/PB

2021

In memoriam Verônica Nunes de Araújo

AGRADECIMENTOS

À minha família pelo apoio durante a graduação, por sempre me incentivarem. Aos amigos de curso por todo apoio nos momentos mais conturbados da graduação.

À Professora Andrea Lopes pela orientação e ensinamentos.

RESUMO

Os carotenoides constituem um grande grupo de pigmentos presentes na natureza identificados em organismos fotossintetizantes e não fotossintetizantes, normalmente são utilizados comercialmente como corantes alimentícios e em suplementos nutricionais sendo precursores da vitamina A, atuando como antioxidante e reguladores da resposta do sistema imune. A produção de carotenoides ocorre por diversos microrganismos entre eles: *Rhodotorula*, *Phaffia rhodozyma*, *Sporobolomyces*, *Blakeslea trispora*, *Dunaliella salina* e *Haematococcus pluvialis*, dentre esses produtores de carotenóides o gênero *Rhodotorula* se destaca por ser amplamente distribuído na natureza e por ter a capacidade de biossintetizar diferentes carotenóides e pela sua capacidade de utilizar substratos de baixo custo. Estas vantagens vêm chamando muita atenção das indústrias, já que o potencial de crescimento em substratos de baixo custo pode levar a utilização de resíduos agroindustriais, tornando-se uma alternativa viável ao reaproveitamento. Desta forma esse trabalho teve como objetivo fazer um levantamento na literatura do processo de produção de carotenóides pela levedura *Rhodotorula glutinis*. As seguintes palavras-chave para o processo de busca nos bancos de dados foram: Carotenóides; Cultivo Submerso; *Rhodotorula glutinis*; Levedura; Propriedades dos carotenoides. O banco de dados usado foi Web of Science além de artigos comerciais de busca na plataforma google. Os estudos demonstraram que independente do meio de cultura utilizado as condições ótimas obtidas para o cultivo foram: temperatura de 27°C, 250 rpm de agitação e pH 7. Além disso, mostraram que as variáveis sozinhas possuem menos influência de que quando observadas em conjunto.

Palavras-chave: Revisão Integrativa, Carotenóides, *Rhodotorula glutinis*.

ABSTRACT

The carotenoids are a large group of pigments present in nature, identified in photosynthesizing and non-photosynthesizing organisms. They are normally used commercially as food coloring and in nutritional supplements, being precursors of vitamin A, acting as antioxidants and regulators of the immune system response. The production of carotenoids occurs by several microorganisms including: *Rhodotorula*, *Phaffia rhodozyma*, *Sporobolomyces*, *Blakeslea trispora*, *Dunaliella salina* and *Haematococcus pluvialis*, among these carotenoid producers the genus *Rhodotorula* stands out for being widely distributed in nature and for having the ability to biosynthesize different carotenoids and for its ability to use low cost substrates. These advantages have been drawing much attention from industries, since the potential for growth in low-cost substrates can lead to the use of agroindustrial waste, becoming a viable alternative to reuse. Thus, this work aimed to survey the literature on the production process of carotenoids by the yeast *Rhodotorula glutinis*. The following keywords were used to search the databases: Carotenoids; Submerged Culture; *Rhodotorula glutinis*; Yeast; Carotenoid Properties. The database used was Web of Science in addition to commercial search articles on the Google platform. The studies showed that regardless of the culture medium used, the optimal conditions obtained for cultivation were: temperature 27°C, 250 rpm agitation and pH 7. Furthermore, they showed that the variables alone have less influence than when observed together.

Keywords: Integrative Review, Carotenoids, *Rhodotorula glutinis*.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Anel β -ionona trimetil ciclohexano (SILVA, 2004).....	14
Figura 2. Biossíntese dos carotenoides (SILVA, 2004).....	15
Figura 3. À esquerda exemplos de xantofilas e à direita de carotenos.....	15
Figura 4. Quebra do β - caroteno em duas moléculas de retinol (vitamina A).....	16
Figura 5. Conversão do β -caroteno em vitamina A.....	16
Figura 6. Resultados da busca através do termo carotenóides.....	20
Figura 7. Resultados da busca através do termo <i>Rhodotorula glutinis</i>	20
Figura 8. Valores de biomassa produzida quando comparada a agitação e a temperatura.....	23
Figura 9. Análise da produção de biomassa comparada a agitação e a temperatura.....	24
Figura 10. Valores de produção de biomassa em função da temperatura x pH e agitação x pH.....	25
Figura 11. Valores de produção de biomassa em função da temperatura x pH e agitação x pH.....	25

Sumário

1. INTRODUÇÃO	11
2. OBJETIVOS	12
2.1 Objetivo Geral	12
2.2 Objetivos Específicos	12
3. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA	13
3.1 Carotenóides	13
3.1.1 Estrutura dos carotenoides	13
3.2 Propriedade dos carotenoides	15
3.3 Aplicação dos carotenoides	17
3.4 Microrganismos produtores de carotenoides	17
3.5 Variáveis que alteram a produção de carotenoides.....	18
4. METODOLOGIA	19
5. RESULTADOS E DISCURSSÃO	21
5.1 Efeito da Temperatura na produção de carotenoides.....	22
5.2 Efeito da Velocidade de Agitação na produção de carotenoides.....	23
5.3 Efeito do pH na produção de carotenoides	24
6. CONCLUSÃO	26
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	27

1. INTRODUÇÃO

Os carotenoides são corantes naturais responsáveis pelas cores amarela, laranja e vermelho. Segundo NIIZU (2003), além de seu amplo uso como corantes, os carotenoides também são utilizados devido a sua atividade pró-vitamínica e as propriedades que resultam em possíveis funções biológicas benéficas à saúde.

Os corantes artificiais por serem mais resistentes ao processamento e ao poder de pigmentação foram e vem sendo utilizados pelas indústrias, mas o desenvolvimento de indícios prejudiciais à saúde como hiperatividade e alergias, além de desenvolvimento de alguns cânceres vem preocupando especialistas (PEREIRA et al., 2017). Desta forma segundo Shahid et al. (2013), os pigmentos naturais vêm sendo cada vez mais procurados já que além de proporcionar benefícios a saúde, esses produtos minimizam o efeito ambiental negativo que é associado aos corantes sintéticos.

Segundo Valduga *et all* (2009), a produção de carotenoides ocorre por diversos microrganismos entre eles: *Rhodotorula*, *Phaffia rhodozyma*, *Sporobolomyces*, *Blakeslea trispora*, *Dunaliella salina* e *Haematococcus pluvialis*, e os carotenóides naturais mais investigados são a astaxantina, β -caroteno, cantaxantina, toruleno e licopeno.

Dentre esses produtores de carotenoides, o gênero *Rhodotorula* se destaca por ser amplamente distribuído na natureza e por ter a capacidade de biossintetizar diferentes carotenoides como β -caroteno, toruleno e torularrodina em diferentes proporções. Além de ser amplamente distribuído esse microrganismo oferece outras vantagens que são significativas sobre os demais como: elevada taxa de crescimento e a capacidade de utilizar substratos de baixo custo. Esta vantagem vem chamando muita atenção das indústrias, já que o potencial de crescimento em substratos de baixo custo pode levar a utilização de resíduos agroindustriais, tornando-se uma alternativa viável ao reaproveitamento (BRANCO, 2010).

A partir do exposto, esse trabalho teve como objetivo fazer um levantamento na literatura do processo de produção de carotenoides pela levedura *Rhodotorula glutinis*.

2. OBJETIVOS

2.1 Objetivo Geral

Fazer um levantamento dos estudos sobre a produção de carotenoides pela levedura *roduthorula glutinis*.

2.2 Objetivos Específicos

- Realizar uma busca dos artigos nas bases de dados;
- Realizar a leitura integral dos artigos selecionados, bem como fazer a extração dos dados pertinentes a esse trabalho;
- Comparar as condições de cultivo utilizados nos diferentes estudos;
- Analisar os resultados obtidos nas pesquisas realizadas acerca da produção de carotenoides.

3. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

3.1 Carotenoides

Os carotenoides normalmente são utilizados comercialmente como corantes alimentícios e em suplementos nutricionais sendo precursores da vitamina A, atuando como antioxidante e reguladores da resposta do sistema imune. Constituem um grande grupo de pigmentos presentes na natureza identificados em organismos fotossintetizantes e não fotossintetizantes.

Os seres humanos e outros mamíferos, não têm a capacidade de sintetizar nenhum dos carotenoides, portanto todos os carotenoides encontrados nos tecidos dos mamíferos são provenientes de fontes dietéticas. Desta forma, o consumo de alimentos com alto teor de carotenoides vem ganhando atenção dos consumidores como forma de melhorar sua alimentação e conseqüentemente a manutenção da saúde.

De acordo com Krinsky (1994), essas substâncias no organismo humano são convertidas em vitamina A (retinol), que possui um papel nutricional importante além de diminuir riscos de doenças crônicas, prevenção da formação de catarata e redução da degeneração macular relacionada ao envelhecimento.

Por ser um dos mais importantes grupos de pigmentos naturais, como dito anteriormente, sendo responsáveis pelas cores laranja, amarela e vermelha das frutas e hortaliças (RIBEIRO & SERAVALLI, 2004), os carotenoides vêm sendo cada vez mais utilizados nas indústrias de alimentos como corantes naturais em substituição aos sintéticos, que possuem maior potencial alergênico e cancerígeno.

3.1.1 Estrutura dos carotenoides

Para desenvolver alguma atividade pró-vitáminica A, o carotenoide deve apresentar pelo menos um anel β -ionona (trimetil ciclohexano conjugado) (Figura 1) não substituído e uma cadeia lateral poliênica ligada (OSLON, 1997). No geral, os carotenoides são tetraterpenóides de 40 carbonos unidos, suas moléculas apresentam um sistema de ligações duplas que constitui o grupo cromóforo responsável pela cor.

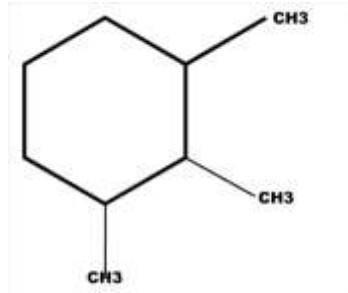


Figura 1. Anel β -ionona trimetil ciclohexano (SILVA, 2004).

Segundo Rao & Rao (2007) o arranjo de sua estrutura primária com adição de anéis em suas extremidades e de moléculas de oxigênio lhe confere atividade antioxidante.

Antioxidante é qualquer substância que mesmo em baixas concentrações atrasa ou inibe a oxidação de forma eficaz de um substrato oxidável. Desta forma atua na proteção celular (BIANCHI & ANTUNES, 1999).

A biossíntese dos carotenoides tem como precursor o ácido mevalônico que dá origem ao geranyl difosfato, ao farnesil difosfato e ao geranyl-geranyl difosfato. O geranyl-geranyl difosfato é convertido em fitoeno, este por sua vez é desnaturado formando o licopeno, que sofre ciclização dando origem ao betacaroteno e posteriormente as xantofilas (Figura 2) (SILVA, 2004).



Figura 2. Biossíntese dos carotenoides (SILVA, 2004).

Existem duas classes de carotenoides, a classe que é caracterizada pela presença de uma cadeia hidrocarbônica linear ou ciclizada (Figura 3), os carotenos e a outra classe são as xantofilas que são derivados oxigenados dos carotenos, possuindo desta forma os grupos: hidroxila, ceto, epóxido e aldeído (MESQUITA *et al*,2017).

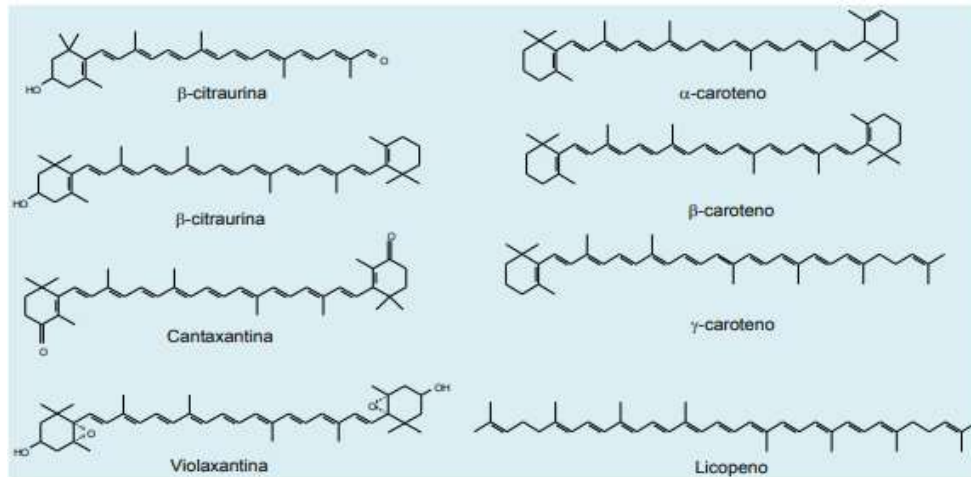


Figura 3. À esquerda exemplos de xantofilas e à direita de carotenos.
Fonte: MESQUITA, *et al* 2017.

3.2 Propriedade dos carotenoides

Esses pigmentos naturais possuem diversas funções que vão desde seu papel evolutivo na fotossíntese, como antioxidantes e como precursores da vitamina A.

A atividade pró-vitamina A é importante para o desenvolvimento embrionário, para a proteção do organismo contra o estresse oxidativo, para o funcionamento da visão, para o desenvolvimento de resposta imune entre outros. Mas nem todos os carotenoides apresentam atividade pró-vitamina A, para que essa função esteja presente a molécula deve conter pelo menos 11 carbonos e duplas ligações conjugadas (Figura 3). Quando ingeridos, os carotenoides com essa atividade são absorvidos pelo organismo e convertidos a retinal no intestino, por sua vez o retinal é convertida em retinol, o qual é transportado ao fígado e armazenado (MESQUITA *et al*,2017).

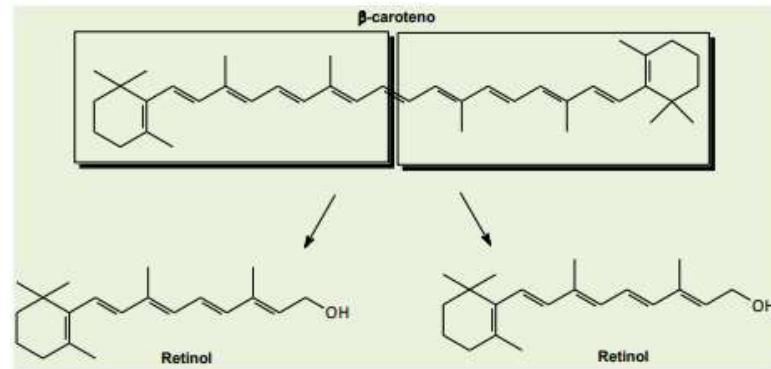


Figura 4. Quebra do β - caroteno em duas moléculas de retinol (vitamina A).
Fonte: MESQUITA, *et al.*, 2017.

Outra atividade muito estudada é a ação antioxidante dos carotenoides, segundo Pietta (2000) antioxidantes são substâncias que retardam a velocidade da oxidação, através de um ou mais mecanismos, tais como inibição de radicais livres e complexação de metais. Carotenoides, como o β -caroteno, podem reagir múltiplas vezes com radicais 6 peroxila para formar moléculas estáveis, demonstrando assim seu grande potencial antioxidante (Figura 5).

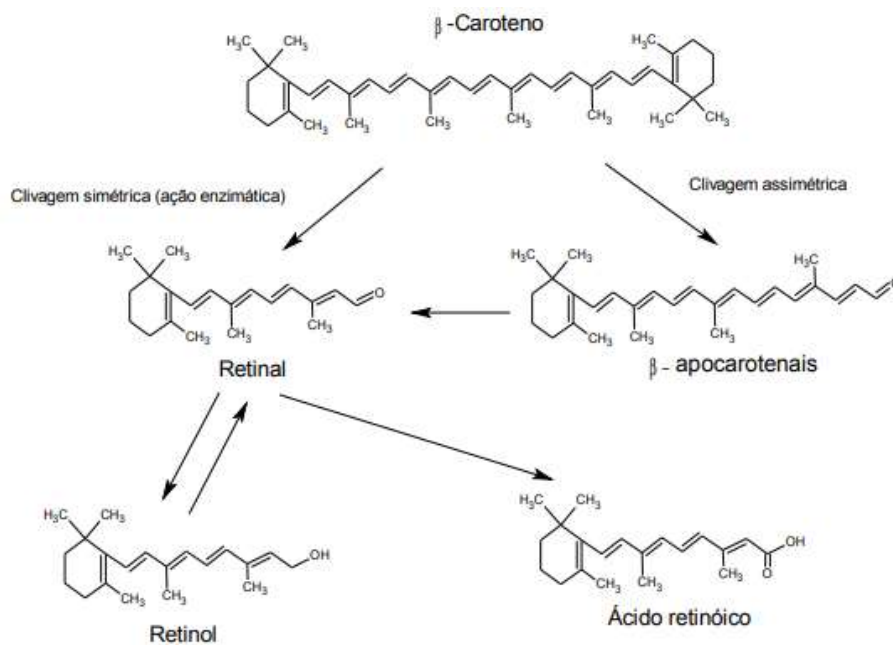


Figura 5. Conversão do β -caroteno em vitamina A.
Fonte: AMBRÓSIO *et al.*, (2006).

Como antioxidantes, os carotenoides, apresentam mecanismo de ação física ou química para neutralizar os efeitos de espécies reativas de oxigênio (ERO), que são produzidas em decorrência de atividades celulares e do metabolismo do oxigênio e causam danos as proteínas, lipídios, DNA e RNA (MESQUITA *et al.*,2017). Portanto algumas doenças que estão

relacionadas aos radicais livres como: arterosclerose, catarata, degeneração macular relacionada à idade, esclerose, anormalidades ósseas e cânceres, podem ser prevenidas pelos carotenoides.

3.3 Aplicação dos carotenoides

O crescente interesse pela síntese biotecnológica de carotenoides vem se destacando no mercado global, portanto o uso de carotenoides se intensificou nas indústrias de alimentos, suplementos entre outras.

No decorrer dos anos, a indústria de alimentos fez uso de corantes artificiais para intensificar a cor dos produtos processados, entretanto ficou provado que a ingestão dessas substâncias em grande quantidade está associada a efeitos nocivos à saúde. Por este motivo os consumidores vêm sendo impulsionados a escolher produtos à base de corantes naturais e é nesse contexto que os carotenoides ganham destaque, sendo usados para colorir produtos alimentícios. Os carotenoides também são usados como aditivos na alimentação de aves, com o objetivo de prover coloração às gemas dos ovos (MESQUITA *et al*,2017).

Já na indústria farmacêutica, os carotenoides são usados como intensificador e prolongador do bronzeado, devido ao seu acúmulo no tecido hipodérmico, como proteção contra a catarata e a degeneração macular relacionadas à idade e proteção da pele contra efeitos da radiação UVB (MESQUITA *et al*,2017).

3.4 Microrganismos produtores de carotenoides

Com o aumento no interesse de produção de carotenoides por via natural a busca por microrganismos que garantam uma produtividade vantajosa vem crescendo cada vez mais.

Os carotenoides podem ser sintetizados por diversos organismos tanto fotossintetizantes quanto os não fotossintetizantes. Dentro do primeiro grupo, as cianobactérias e as algas são exemplos de produtores, já entre os não fotossintetizantes podemos citar as bactérias, fungos filamentosos e leveduras (CARVALHO, 2004).

De acordo com Marova *et al* (2011) em termos de produção biotecnológica os fungos e leveduras tem uma série de vantagens como: facilidade de crescimento em fermentadores; sua biomassa poder ser incorporada diretamente à ração animal e à alimentação humana sem a necessidade de procedimentos de extração dos carotenoides presentes; tem capacidade de

utilizar substratos de baixo custo para o crescimento e existe a possibilidade de controlar as condições de cultivo para induzir a produção de um carotenoide específico.

Valduga *et al* (2009) através de seus estudos destacaram algumas leveduras vantajosas para a produção desses pigmentos tais como *Xanthophyllomyces dendrorhous*, *Rhodotorula glutinis*, *Rhodotorula mucilaginosa*, *Sporobolomyces* e *Phaffia rhodozyma*. Para Wang *et al* (2008), *Rhodotorula glutinis* se destaca por facilitar uma produção em grande escala no fermentador, devido à sua elevada taxa de crescimento e baixas necessidades nutricionais.

O gênero *Rhodotorula* vem sendo estudado pelo seu elevado potencial como fonte de lipídeos e proteínas. A *Rhodotorula glutinis* vem ganhando destaque pela grande produção de β -caroteno utilizando matérias primas baratas como fonte de carbono. Buzzini & Martini (1999) obteve rendimento máximo de carotenoides utilizando mosto de uva concentrado como substrato, Park *et al.* (2007), obtiveram 61,7% de torularrodina como carotenoide majoritário, tolureno e β -caroteno com o cultivo de *R. glutinis*. Aksu & Eren (2007), obtiveram um ótimo rendimento de carotenoides utilizando sacarose de melaço como substrato de baixo custo. Segundo Aksu & Eren 2007 outros autores também demonstram que a *R. glutinis* é um microrganismo promissor para utilização industrial.

É nesse contexto que o presente trabalho se encaixa, fazer um levantamento de trabalhos que utilizaram a *Rhodotorula glutinis* para a produção de carotenoides e estabelecer as melhores condições operacionais para aumentar a produção de carotenoides.

3.5 Variáveis que alteram a produção de carotenoides

As condições de cultivo influenciam diretamente na produção de carotenoides pelas leveduras. Sabe-se que variáveis como pH, temperatura, agitação entre outras alteram o comportamento desses microrganismos e conseqüentemente condicionam a produção dos carotenoides. Frengova *et al* (1994) em seus estudos observaram que o aumento no crescimento de leveduras gera mudanças no pH, eles verificaram que nas primeiras 72h do início do cultivo ocorre uma diminuição do pH, após essa fase a produção de carotenoide aumenta e o pH também, na fase final do cultivo o pH já não se altera o que indica o fim do processo fermentativo. Aksu & Eren (2007), realizou experimentos aumentando o pH de 3,0 até 7,0 e verificou que essa variação influenciou a bioprodução de carotenoides. A levedura *R. glutinis* alcançou sua maior produção tanto de carotenoide quanto de biomassa em pH 5,91, confirmando assim que essa levedura possui preferência por um pH ligeiramente ácido.

A temperatura é outro fator ambiental que influencia o crescimento e o desenvolvimento dos microrganismos, causando alterações em muitas vias biossintéticas. Sabe-se que a temperatura desempenha um controle na concentração de enzimas que estão envolvidas no processo de produção dos carotenoides e segundo Valduga (2009) essa mudança na concentração de enzimas definitivamente controla o nível de carotenoides nos microrganismos. Tinoi *et al.* (2000), demonstraram que a *R. glutinis* é sensível a variação da temperatura com relação ao crescimento celular. No experimento, observou-se que a concentração de carotenoides foi maior nas temperaturas 28°C e 30°C, temperaturas estas que ocorreu um maior crescimento celular.

Os microrganismos aeróbicos necessitam de definição das melhores condições de aeração e agitação para aumento de rendimento. AKSU & EREN (2007) estudaram a taxa de arejamento no crescimento e produção de carotenoides da levedura *R. glutinis*. Para a taxa de arejamento maior obtiveram maior concentração de biomassa e maior concentração de carotenoides comparativamente a um meio sem arejamento. Tinoi *et al.* (2005), em experimentos com velocidades de agitação entre 100 e 150 rpm demonstraram que o crescimento celular é prejudicado, devido a diminuição da disponibilidade dos nutrientes presentes no meio na superfície das células.

4. METODOLOGIA

A revisão integrativa é um método que tem como finalidade sintetizar resultados obtidos em pesquisas sobre um tema ou questão, de maneira sistemática, ordenada e abrangente. Portanto esse trabalho tratou-se de uma revisão integrativa da literatura, realizada mediante o cumprimento das seguintes etapas: definição do problema; busca da literatura; avaliação dos dados encontrados; análise dos dados e apresentação dos resultados.

Foi estabelecida a seguinte pergunta norteadora: “Qual o processo de produção e quais as melhores condições de cultivo de carotenoides?”.

Os critérios de inclusão adotados foram: a publicação ter como temática a Produção de Carotenoides por *Rhodotorula glutinis*, livros, teses, dissertações ou resumos de anais de eventos científicos, com data limite de publicação até fevereiro de 2020, divulgadas em língua inglesa, espanhola e portuguesa; publicações completas com resumos disponíveis e indexados nas bases de dados: WebofScience, SciELO e Biblioteca Digital de Teses e Dissertações.

A pesquisa nas bases de dados foi realizada entre os meses de setembro de 2020 a abril de 2021. Foram empregados os operadores booleanos “and” e “or”.

As figuras 6 e 7 mostram os resultados obtidos das buscas nos bancos de dados.

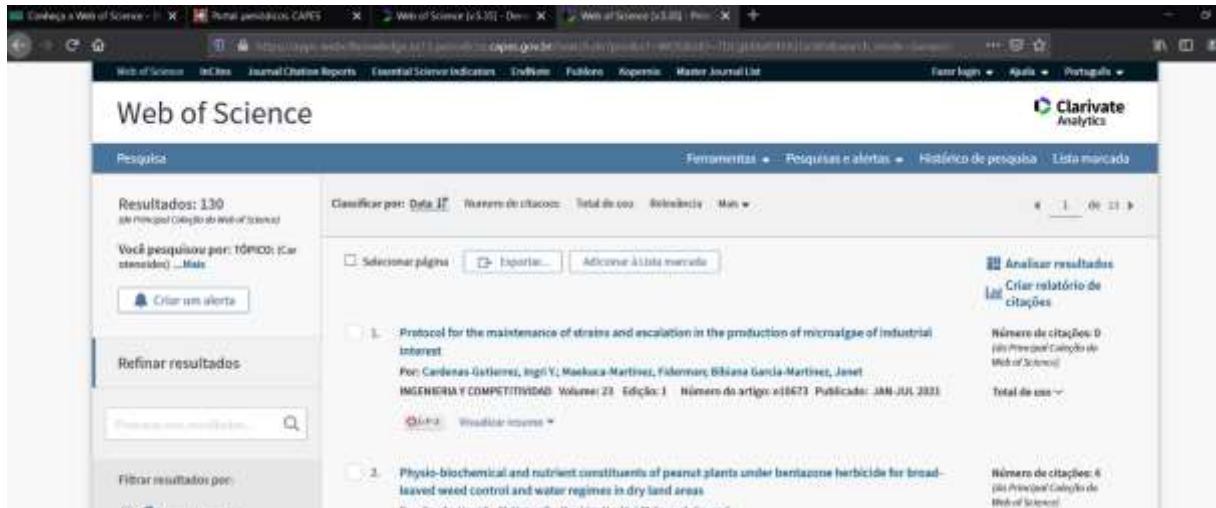


Figura 6. Resultados da busca através do termo carotenoides.

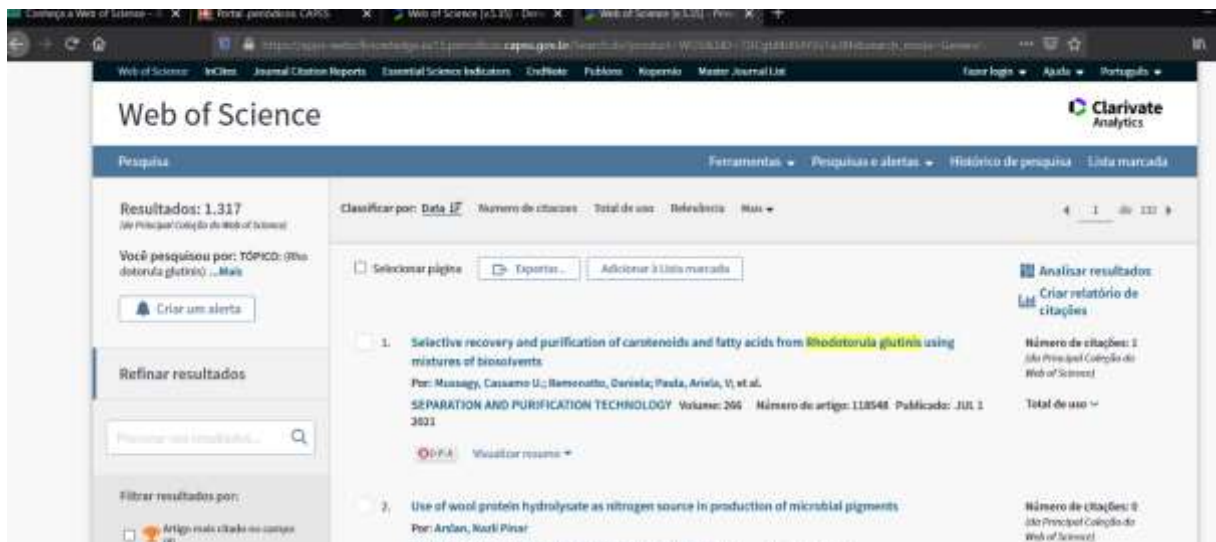


Figura 7. Resultados da busca através do termo *Rhodotorula glutinis*.

5. RESULTADOS E DISCURSSÃO

Os estudos selecionados estão dispostos na Tabela 1, a qual descreve os estudos de acordo com os autores, ano de publicação e tipo de estudo.

Tabela 1: Estudos sobre produção de carotenoides por *Rhodotorula glutinis* de acordo com os autores, ano de publicação e tipo de estudo.

AUTORES	ANO DE PUBLICAÇÃO	TIPO DE ESTUDO
NETO	2010	EXPERIMENTAL
SENTANIN	2011	EXPERIMENTAL
BRANCO	2015	EXPERIMENTAL
BENTO	2017	EXPERIMENTLA
BARBOSA	2017	EXPERIMENTAL
SANTANA	2017	EXPERIMENTAL

Fonte: Autora (2021)

Todos os trabalhos selecionados realizaram planejamento experimental fatorial com o objetivo de verificar quais as melhores condições operacionais para a produção de carotenoides. Desta forma os autores escolheram variáveis independentes que mais influenciavam a produção, os parâmetros avaliados foram: pH, temperatura e velocidade de agitação.

Neto (2010) realizou seus experimentos utilizando o suco de caju como meio de cultivo e estudou a influência da temperatura, do pH e da velocidade de agitação. De acordo com seu planejamento experimental foram escolhidos dois valores diferentes para cada variável. Portanto para a temperatura os valores escolhidos foram 30°C e 15°C, para pH foram 5 e 7, para a velocidade de agitação os valores escolhidos foram 100 e 150 rpm.

No experimento realizado por Sentanin (2011) foi utilizada a manípueira como fonte de carbono, no seu planejamento experimental os valores para cada parâmetro avaliado foram: Temperatura 25, 27, 30, 32, 35 °C; para pH 4, 5, 6, 7, 8; para velocidade de agitação 140,170,200,230 e 260.

O glicerol foi utilizado como fonte de carbono no estudo realizado por Branco (2015) e os valores para cada parâmetro foram: Temperatura 10, 15, 20, 25, 30 °C; pH 3, 4, 5, 6, 7 e velocidade de agitação 150 rpm.

Bento (2017) também utilizou o glicerol como fonte de carbono, entretanto foi utilizado como valores para os parâmetros: temperatura o valor 30°C, para pH foram 3 e 7, para a velocidade de agitação os valores escolhidos foram 150 e 250 rpm.

Barbosa (2017) utilizou a manupueira como fonte de carbono e para verificar as melhores condições operacionais escolheu de acordo com seu planejamento fatorial os seguintes valores para as variáveis analisadas, 25 e 37°C para temperatura, para pH valores 5 e 7 e para velocidade de agitação 100 e 150 rpm.

A fonte de carbono utilizada para o desenvolvimento do experimento de Santana (2017) foi a polpa de Umbu e de acordo com seu planejamento fatorial os valores de temperatura 25 e 37°C, para pH 5 e 7, para a velocidade de agitação os valores utilizados foram 100 e 150 rpm.

Para todos os experimentos foi realizado um cultivo da levedura em um meio contendo Dextrose 1% (m/v), Extrato de levedura 0,3% (m/v), Peptona 0,5% (m/v); Extrato de malte 0,3% (m/v), Agar 2% (m/v) e Água destilada. Após esse cultivo era retirado um volume de levedura que era inoculada em um meio contendo a fonte de carbono escolhida por cada autor e a partir daí eram realizados os estudos para cada valor dos parâmetros de acordo com o planejamento fatorial realizado pelos autores.

5.1 Efeito da Temperatura na produção de carotenoides

A temperatura é um fator ambiental que interfere diretamente no crescimento de microrganismos provocando dessa forma mudanças em diversas vias biosintéticas. Em seus experimentos, Neto (2010) testou a influência de duas temperaturas, 15 e 30 °C, e facilmente ele observou que o microrganismo teve uma melhor adaptação em temperatura mais elevada, o mesmo observou que a produção de biomassa foi de 3 à 5 vezes maior com essa variação de temperatura. Sentanin (2011) em seus experimentos observou que a melhor faixa de temperatura ficou entre 25 e 27° C, ele ainda observou que para temperaturas acima de 31°C houve nenhuma ou quase nenhuma produção de carotenoides, portanto temperaturas acima de 31°C tem efeito negativo para a produção.

Tanto Branco (2015) quanto Bento (2017) observaram que a produção de carotenoides foi melhor em temperaturas entre 27 e 30°C.

Em 2017 Santana verificou, em seus experimentos, que a temperatura de 28°C foi a que surtiu mais resultados para a produção de carotenoides, a mesma conclusão foi obtida por Barbosa (2017) que em seus resultados verificou que a melhor faixa de produção ocorreu em

temperaturas de 27 e 30°C e que em temperaturas acima de 30°C a produção diminuiu consideravelmente.

5.2 Efeito da Velocidade de Agitação na produção de carotenoides

Por ser um microrganismo aeróbio a *Rhodotorula glutinis* necessita de uma fonte de oxigênio, desta forma a velocidade de agitação é importante para o sucesso do cultivo já que tem a função de eliminar qualquer gradiente de temperatura e permitir que todas as células tenham acesso igual ao oxigênio e aos nutrientes dissolvidos no substrato.

Com relação a esse parâmetro estudado todos os autores verificaram que a agitação teve efeito positivo, ou seja, quanto maior a agitação maior a produção, entretanto Santana (2017) e Barbosa (2017) observaram que o aumento de velocidade de agitação quando a temperatura estava em seu nível mais alto (37°C) ocorreu uma diminuição na produção, esse comportamento deixa claro que esses efeitos possuem interações entre si (Figura 6 e 7).

Portanto, a partir dos resultados obtidos entre os experimentos pode-se observar que a faixa ótima de agitação é de 150 a 250 rpm.

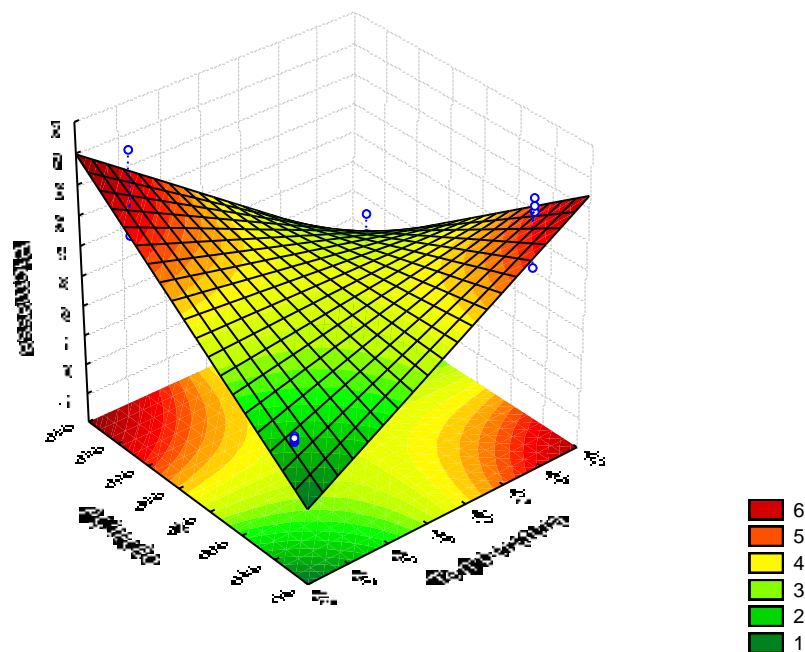


Figura 8. Valores de biomassa produzida quando comparada a agitação e a temperatura
Fonte: SANTANA 2017.

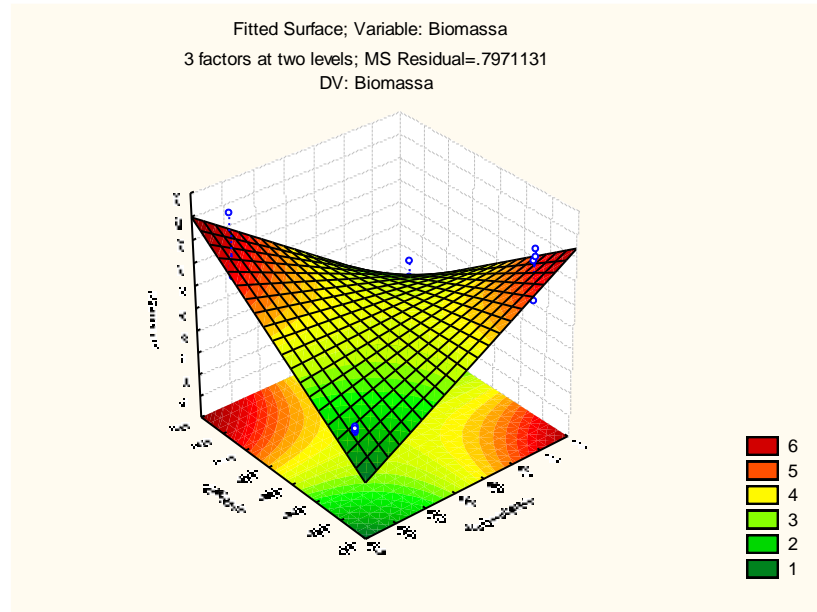


Figura 9. Análise da produção de biomassa comparada a agitação e a temperatura
 Fonte: BARBOSA 2017.

5.3 Efeito do pH na produção de carotenoides

Levando em consideração ao pH estudos divergem em relação a um ótimo valor para a *R. glutinis*, seja devido ao meio utilizado ou as condições de produção, mas todos os estudos analisados nesse trabalho e de acordo com a literatura têm mostrado que em pH extremo independente do meio de cultivo não ocorreu um desenvolvimento adequado.

Os experimentos mostrarem que o meio ácido não é favorável para a produção de carotenoides, analisando os trabalhos, pode-se ver que o intervalo de pH aceitável para o cultivo é de 6 até 8.

Santana (2017) analisou a produção de biomassa com relação a agitação e o pH, ele observou que para valores maiores de agitação e de pH ocorreu maior produção. Mas ao se fixar o valor da agitação, a variação do pH não influenciou na produção de carotenoide. Além disso, quando comparado o pH com a temperatura, o autor verificou que a produção de carotenoide aumentou com o aumento da temperatura e do pH. A mesma dinâmica foi observada no trabalho de Barbosa (2017) (Figura 8 e 9).

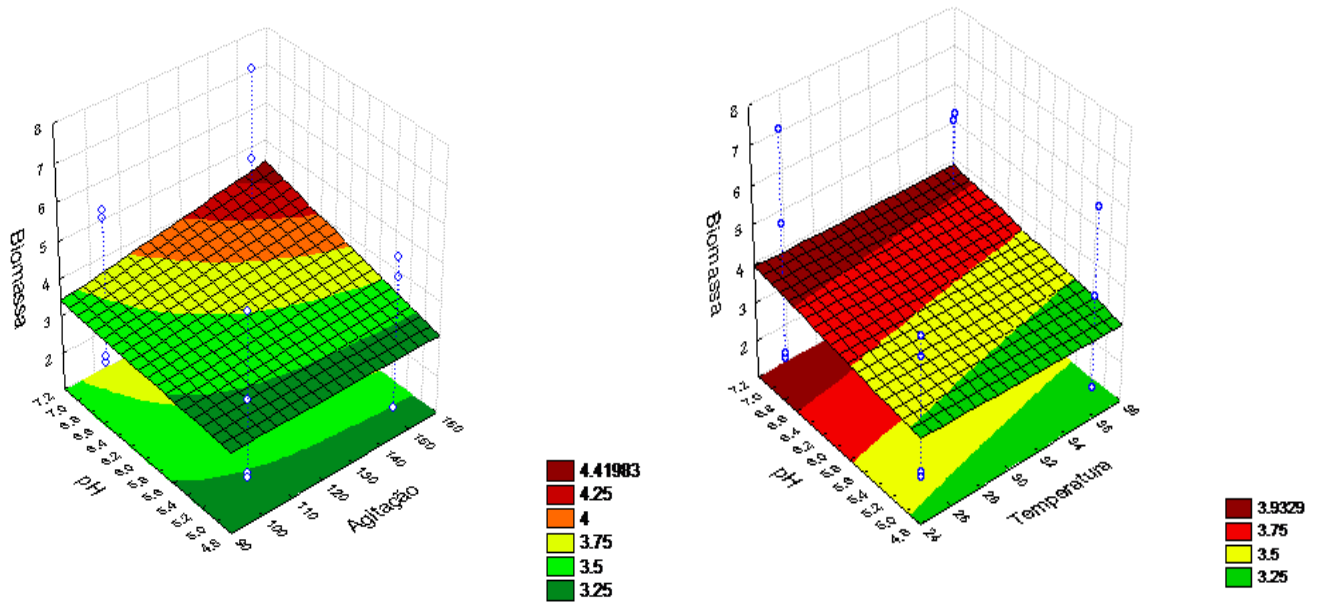


Figura 10. Valores de produção de biomassa em função da temperatura x pH e agitação x pH.
 Fonte: SANTANA 2017.

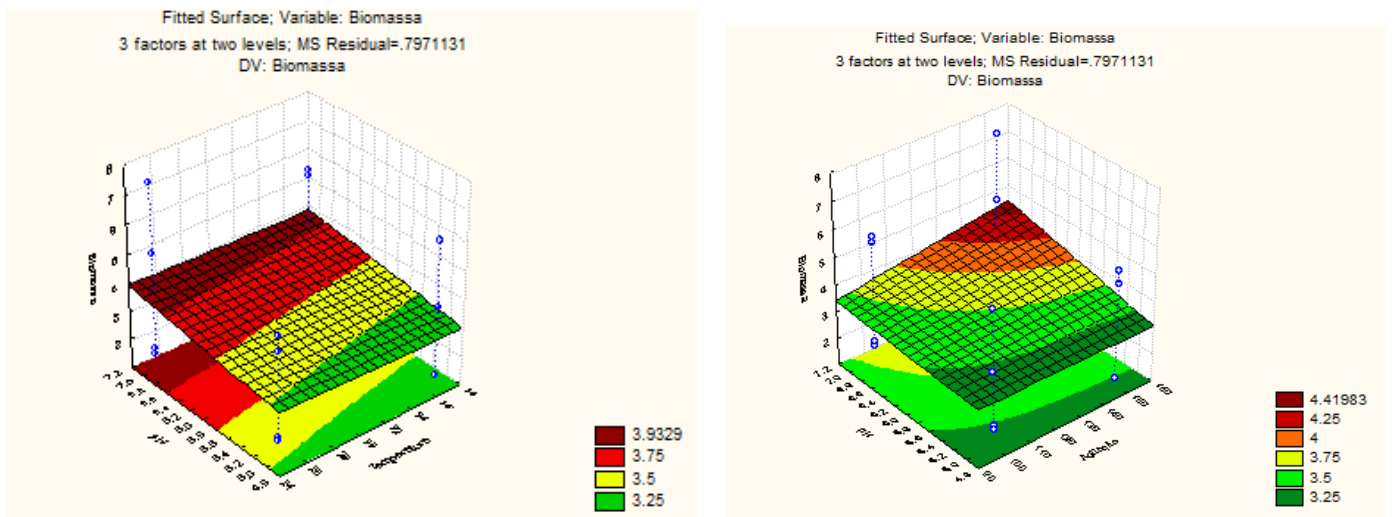


Figura 11. Valores de produção de biomassa em função da temperatura x pH e agitação x pH.
 Fonte: BARBOSA 2017.

6. CONCLUSÃO

A partir dos trabalhos selecionados para o estudo foi possível observar que a *Rhodotorula glutinis* tem a capacidade de utilizar substratos de baixo custo para seu desenvolvimento. Foram diferentes os meios, como fonte de carbono utilizados nos experimentos desde glicerol, manipueira, suco de caju e polpa de umbu. Reafirmando dessa forma uma das vantagens da utilização dessa levedura.

Independente do meio de cultura utilizado, todos os trabalhos chegaram a uma faixa ideal de cultivo para a obtenção máxima de carotenoides dentro de cada realidade e os resultados de cada ensaio realizado corroboram com que é encontrado na literatura.

Os estudos demonstraram que as condições ótimas obtidas para o cultivo foram: temperatura de 27°C, 250 rpm de agitação e pH 7. Além disso, mostraram que as variáveis sozinhas possuem menos influência de que quando observadas em conjunto.

O presente trabalho teve sua importância devido ao levantamento das melhores condições de cultivo e como perspectiva futura otimizar o processo para maximizar a produção de carotenoides.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ANDREWES, A. G.; PHAFF, H. J.; STARR, M. P. **Carotenoids of *Phaffia rhodozyma*, a red-pigmented fermenting yeast.** *Phytochemistry*, v. 15, 1003-1007, 1976.
- AKSU, Z.; EREN, A. T. **Production of carotenoids by the isolated yeast of *Rhodotorula glutinis*.** *Biochemical engineering journal*, v. 35, n. 2, p. 107-113, 2007.
- AR D-B.; PONCE-NOYOLA T.; TORRES-MUÑOZ J.A. **Astaxanthin production by *Phaffia rhodozyma* and *Haematococcus pluvialis*: a comparative study.** *Appl Microbiol Biotechnol*, v. 75. n.4. p.783-91, Mar. 2007.
- BARBOSA, Ana Flávia Souto. **Cultivo de *Rhodotorula glutinis* em manipueira para a produção de suplemento vitamínico e proteico.** 2017. Dissertação (Mestrado em Biociência) - Universidade Federal da Bahia, Vitória da Conquista, 2017.
- BENTO , Tatiane Fabrícia da Silva Rodrigues. **Produção de lipídeos microbianos por levedura empregando glicerol como principal fonte de carbono.** Orientador: Dr. João Paulo Alves Silva. 2017. 143 p. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química) - Universidade de São Paulo, Lorena -SP, 2017.
- BIANCHI, M.L.P.; ANTUNES, L.M.G. Radicais Livres e os Principais Antioxidantes da Dieta. *Rev. Nutr.*, Campinas, 12(2): 123-130, maio/ago., 1999.
- BRANCO, L. S. C. 2010. 75f. **Estudo da ampliação de escala na produção de biomassa de *Rhodotorula sp.* CNPAT02 em processo batelada para obtenção de carotenóides.** Dissertação (Mestrado em Engenharia Química) – Centro de Tecnologia, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza. 2010.
- BRANCO, Leise Soares Castelo. **Produção de Carotenoides por linhagens do gênero *Rhodotorula* utilizando glicerol como fonte de carbono.** Orientador: D.Sc. Gustavo Adolfo Saavedra Pinto. 2015. 107 p. Tese (Doutorado em Engenharia Química) - Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2015.
- BUZZINI, P.; MARTINI, A. **Production of carotenoids by strains of *Rhodotorula glutinis* cultured in raw materials of agro-industrial origin.** *Bioresource Technology*, v. 71, n. 1, p. 41-44, 1999.

CARDOSO, S.L. **Fotofísica de carotenóides e o papel antioxidante de b-caroteno.** Disponível em <https://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100-40421997000500014> Acesso em 04 de março de 2021.

CARVALHO, J.C. **Desenvolvimento de bioprocesso para a produção de pigmentos a partir de *Monascus* por fermentação em substrato sólido.** Tese Doutorado em Processos Biotecnológicos – Faculdade de Engenharia Química, Universidade Federal do Paraná, 2004.

FRENGOVA, G., Simova, E., Pavlova, K., Beshkova, D., & Grigorova, D. **Formation of carotenoids by *Rhodotorula glutinis* in whey ultrafiltrate.** *Biotechnology and bioengineering*, 44(8), 888-894.

GHIGGI, Vanessa. **Estudos do Crescimento e Indução da Produção do Pigmento Astaxantina por *Haematococcus pluvialis*.** 2007. 119 f. Dissertação (Mestrado em Processos Biotecnológicos)- UFPR, Curitiba, 2007.

HU, Z.; WANG, Z.; SHEN, Y. **pH control strategy in astaxanthin fermentation bioprocess by *Xanthophyllomyces dendrorhous*.** *Enzyme and Microbial Technology*, v. 39, p. 586-590, 2006.

JOHNSON, E. A.; LEWIS, M. J. **Astaxanthin formation by the yeast *Phaffia rhodozyma*.** *Journal of General Microbiology*, v. 115, p. 173-183, 1979.

JOHNSON, E. A.; AN, G. H. **Astaxanthin from microbial sources.** *Critical Reviews in Biotechnology*, v. 11, n. 4, p. 297-326, 1991.

KRINSKY, N. I. **The biological properties of carotenoids.** *Pure & Applied Chemistry (IUPC)*, Great Britain, vol. 66, n°5, p.1003-1010. 1994. Disponível em< www.iupac.org > Acesso em 12/01/2019.

LOPES, W.F. **Propagação assexuada de cajá (*Spondias mombin* L.) e cajá-umbu (*Spondias spp*) através de estacas.** Areia,1997. 47p. (Relatório final PIBIC - CNPq).

LORENZ, R. T.; CYSEWSKI, G. R. **Commercial potential for *Haematococcus microalgae* as a natural source of astaxanthin.** *TIBTECH*, v. 18, p. 160-167, April, 2000.

MAROVA, I.; CERTIK, M.; BREIEROVA, E. **Production of Enriched Biomass by Carotenogenic Yeasts - Application of Whole-Cell Yeast Biomass to Production of**

Pigments and Other Lipid Compounds. Biomass – Detection, Production and Usage Dr. Darko Matovic (Ed.) ISBN: 978-953-307-492-4, p. 345 – 383, 2011.

MESQUITA,S.S.; TEIXEIRA,C.M.L.L.; SERVULO,E.F.C. Carotenoides: Propriedades, Aplicações e Mercado. Rev. Virtual Quim.2017. Disponível em< <http://rvq.sbg.org.br>> Acesso em: 31 de março de 2021.

MEYER, P.S.; PREEZ, J.C.D. **Photo-regulated astaxanthin production by *Phaffia rhodozyma* mutants**. Systematic and Applied Microbiology, v. 17, p. 24-31, 1994.

MIAO, F.; LU, D.; LI, Y.; ZENG, M. **Characterization of astaxanthin esters in *Haematococcus pluvialis* by liquid chromatography–atmospheric pressure chemical ionization mass spectrometry**. Analytical Biochemistry, v. 352, p. 176–181, Mar. 2006.

MORIEL , D.G. **Otimização da produção de biomassa e astaxantina pela levedura *Phaffia rhodozyma*, utilizando processo descontínuo alimentado**. 2004. 126 p. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) - Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2004.

NETO, Humberto Cavalcante Gondim. **Produção microbiológica de betacaroteno usando suco de caju como fonte de carbono**. Orientador: Dra. Andrea Lopes de Oliveira Ferreira. 2010. 41 p. TFC (Bacharel em Engenharia Química) - Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2010.

OLSON, J. A. **The conversion of carotene to vitamin A** (Thomas Moore, 1930). 1997.

OZÓRIO, Renata Ávila. **Elaboração e Caracterização de Micropartículas de Astaxantina com Quitosana**. 2007. 101 f. Dissertação (Mestrado em Ciências dos Alimentos)- UFSC, Florianópolis, 2007.

PARK, J. S., Song, J. H., Yeon, K. H., & Moon, S. H. **Removal of hardness ions from tap water using electromembrane processes**. Desalination, v. 202, n. 1-3, p. 1-8, 2007.

PASHKOW, F.J.; WATUMULL, D.G.; CAMPBELL, C.L. Astaxanthin: a novel potential treatment for oxidative stress and inflammation in cardiovascular disease. Am. J. Cardiol., v. 101, p. 58D-68D, 2008.

PEREIRA, Wander Lopes et al. CORANTES: NATURAIS E ARTIFICIAIS. REVISTA DETRABALHOS ACADÊMICOS-UNIVERSO CAMPOS DOS GOYTACAZES, v. 2, n. 6, 2017.

PIETTA, P.G. Flavonoids as antioxidants. Journal of Natural Products. v. 63, n. 7, p. 1.035-1.042, 2000.

SHAHID, Mohammad et al. Recent advancements in natural dye applications: a review. Journal of Cleaner Production, v. 53, p. 310-331, 2013.

RAO, A. V.; RAO, L. G. **Carotenoids and human health. Pharmacological research**, v. 55, n. 3, p. 207-216, 2007.

RAMIREZ, J.; OBLEDO, N.; ARELLANO, M.; HERRERA, E. **Astaxanthin production by Phaffia rhodozyma in a fed-batch culture using a low cost medium feeding.** EGNosis, v. 4, p. 1-9, 2006.

RAMÍREZ, J.; GUTIERREZ, H.; GSCHAEDLER, A. **Optimization of astaxanthin production by Phaffia rhodozyma through factorial design and response surface methodology.** Journal of Biotechnology, v.88, 259–268, 2001.

RIBEIRO, E.P.; SERAVALLI, E.A.G. **Química de Alimentos.** Instituto Mauá de Tecnologia. Editora Edgard Blucher Ltda, 1ª ed. São Paulo, p. 155-157. 2004.

RIOS, D.A.S. *et al.* **Rice parboiling wastewater in the maximization of carotenoids bioproduction by *phaffia rhodozyma*.** Ciênc. Agrotec., Lavras, v. 39, n. 4, p. 401-410, jul./ago., 2015.

SANTANA, Carlos Augusto Da Silva. **Produção de carotenóides via cultivo submerso utilizando o fruto do umbuzeiro (*Spondias tuberosa* Arr. Cam.).** 2017. Dissertação (Mestrado em Biociência) - Universidade Federal da Bahia, Bahia, 2017.

SENTANIN, Michelle Andriati. **Obtenção e propriedades de toruleno da Levedura *Rhodotorula glutinis*.** Orientador: Dra. Delia Rodrigues Amaya. 2011. 156 p. Tese (Doutorado em Ciência de Alimentos) - Faculdade de Engenharia de Alimentos, Campinas, 2011.

SILVA, M. C. **Alterações na biossíntese de carotenóides em leveduras induzidas por agentes químicos.** 2004.

SILVA, D.A da. **Maximização da produção de astaxantina por *Phaffia rhodozyma* (*Xanthophyllomyces dendrohous*) utilizando água de parboilização do arroz.** 2009. 93 p. Dissertação (Mestrado em Engenharia e Ciência de Alimentos) - Universidade Federal do Rio Grande, Rio Grande, 2009.

SILVA, C.M.; BORBA, T. M.; KALIL, S.J.; BURKERT, J.F.M. **Raw glycerol and parboiled rice effluent for carotenoid production: effect of composition of culture medium and initial pH,** Food Technology and Biotechnology, v. 54, p. 489-496, 2016.

SUTHERLAND F. C. W.; KILIAN A. G.; MEYER P. S.; PREEZ, J. C. **Transport-limited sucrose utilization and neokestose production by *Phaffia rhodozyma*.** Biotechnology Letters, v.18, p. 975-980, 1996.

TINOI, J.; RAKARIYATHAM, N.; DEMING, R. L. **Simplex optimization of carotenoid production by *Rhodotorula glutinis* using hydrolyzed mung bean waste flour as substrate.** Process Biochemistry, v. 40, n. 7, p. 2551-2557, 2000.

URNAU, L. *et al.* Bioprodução de carotenoides por *xanthophyllomyces dendrorhous* y-10921 em frascos agitados variando composição do meio de cultura e condições operacionais. **Congresso Brasileiro de engenharia química,** Florianópolis, ano 2014, 19 set. 2014.

URNAU, L. **Utilização de resíduos agroindustriais na produção de carotenoides por *phaffia rhodozyma* y-17268 em biorreator batelada simples e alimentada.** 2018. 119 p. Dissertação (Doutorado em Engenharia de Alimentos) - UNIVERSIDADE REGIONAL INTEGRADA DO ALTO URUGUAI E DAS MISSÕES, Erechim-RS, 2018.

VALDUGA, E., TATSCH, P. O., TIGGEMANN, L., TREICHEL, H., TONIAZZO, G., ZENI, J., & FURIGO, A. J. (2009). **Produção de carotenóides: microrganismos como fonte de pigmentos naturais.** *Química Nova*, 32(9), 2429-2436.

VILLELA, Gilberto G. **Pigmentos animais: zocromos.** Academia Brasileira de Ciências, 1976.

WANG, S. L.; SUN, J. S.; HAN, B. Z.; WU, X. Z. **Enhanced β -carotene production by *Rhodotorula glutinis* using high hydrostatic pressure.** *Korean J. Chem. Eng.*, v. 25, n. 3, p. 513 – 516, 2008.

YUAN, J-P; CHEN, F.; LIU X.; LI X-Z. **Carotenoid composition in the green microalga *Chlorococcum*.** *Food Chemistry*, v. 76, p.319–325, 2002