



UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE
ESCOLA DE QUÍMICA E ALIMENTOS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA E CIÊNCIA DE ALIMENTOS

POTENCIAL DA BIOMASSA DE *Phaffia rhodozyma* NRRL Y-17268 PARA APLICAÇÃO
EM FORMULAÇÕES ALIMENTÍCIAS
SHIRLEY DENISSE CCORI PONCE

Prof.^a Dr.^a. JANAÍNA FERNANDES DE MEDEIROS BURKERT
Orientadora

Prof. Dr. CARLOS ANDRÉ VEIGA BURKERT
Co-orientador

RIO GRANDE, RS
2025



UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE
ESCOLA DE QUÍMICA E ALIMENTOS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA E CIÊNCIA DE ALIMENTOS

POTENCIAL DA BIOMASSA DE *Phaffia rhodozyma* NRRL Y-17268 PARA APLICAÇÃO
EM FORMULAÇÕES ALIMENTÍCIAS
SHIRLEY DENISSE CCORI PONCE

Dissertação apresentada como parte
dos requisitos para obtenção do título
de Mestre em Engenharia e Ciência de
Alimentos.

Prof.^a Dr.^a. JANAÍNA FERNANDES DE MEDEIROS BURKERT
Orientadora

Prof. Dr. CARLOS ANDRÉ VEIGA BURKERT
Co-orientador

RIO GRANDE, RS

2025

P792p

Ponce, Shirley Denisse Ccori

Potencial da biomassa de *phaffia rhodozyma nrri y-17268* para aplicação em formulações alimentícias / Shirley Denisse Ccori Ponce. -- 2026.
151f.

Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal do Rio Grande – Programa de Pós-Graduação em Engenharia e Ciências de Alimentos, 2026.

Orientadora: Dra: Janaína Fernandes de Medeiros Burkert
Co-orientador: Dr: Carlos André Veiga Burkert

1. Engenharia e Ciências de Alimentos. 2. Pigmentos bioativos. 3. Termossensíveis. 4. Leveduras carotenogênicas. 5. Corante natural. 6. Óleo microbiano. I. Burkert, Janaína Fernandes de Medeiros. II. Burkert, Carlos André Veiga. III. Título.

CDU 664

APROVAÇÃO

Dissertação defendida por Shirley Denisse Ccori Ponce, com orientação da Profa. Dra. Janaína Fernandes De Medeiros Burkert e coorientação do Prof. Dr. Carlos André Veiga Burkert, aprovada em 29 de outubro de 2025, pela Comissão Examinadora constituída pelos membros:

Documento assinado digitalmente
 JANAINA FERNANDES DE MEDEIROS BURKERT
Data: 29/10/2025 16:08:54-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Profa. Dra. Janaína Fernandes De Medeiros Burkert – FURG

Documento assinado digitalmente
 CAROLINE COSTA MORAES
Data: 30/10/2025 16:04:49-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Profa. Dra. Caroline Costa Moraes – UNIPAMPA

Documento assinado digitalmente
 ELIANA BADIALE FURLONG
Data: 31/10/2025 13:22:50-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Profa. Dra. Eliana Badiale Furlong. – FURG

Documento assinado digitalmente
 LUIZ ANTONIO DE ALMEIDA PINTO
Data: 02/11/2025 19:42:47-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Prof. Dr. Luiz Antônio De Almeida Pinto – FURG

Dedico minha dissertação aos meus pais, Dennis e Lucila, e à minha irmã, Anabel, que sempre estiveram ao meu lado, segurando minha mão. Este trabalho representa não apenas um objetivo alcançado, mas também o reflexo do carinho, do apoio e da força de pessoas que acreditaram em mim durante toda a trajetória.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente agradeço a Deus por me brindar a capacidade física e mental para superar todo desafio pela frente, e por ter colocado boas pessoas na minha trajetória até este presente momento, que são o meu pilar de sustentação.

A minha família que sempre acreditaram em mim, especialmente meu pai Dennis, exemplo de respeito e proteção, minha mãe Lucila, símbolo de colo e aconchego, minha irmãzinha Anabel, minha pequena versão e sobretudo minha melhor amiga, vocês são e serão meu suporte e minha motivação, a distância nos mostrou quão forte pode ser nosso vínculo familiar e que ninguém solta a mão de ninguém. Los amo mucho.

Ao meu companheiro e meu amor Natan, que segurou minha mão e me deu apoio nos momentos que eu achava que não conseguia mais, você foi essencial e importante para conseguir esta conquista, obrigada por cuidar de mim, me fazer rir, me animar e me deixar segura com as minhas decisões e sobretudo obrigada por estar sempre por perto quando mais preciso, te amo.

A minha amiga e colega de quarto Camila Alejandra, que se comportou como uma irmã para mim nestes anos de mestrado, a amizade que construímos levaremos para uma vida inteira dentro do Brasil assim como fora obrigada por me escutar e me acolher.

A minha orientadora Prof. Dra Janaína Burkert que foi mais que uma orientadora foi uma amiga, você é uma pessoa e profissional que admiro muito, obrigada por me deixar voar nas ideias e me dar liberdade de pensamento, foi graças a isso que eu estou adorando o que estou fazendo, além da paciência e todo o apoio emocional que você me brinda. Ao meu coorientador Prof. Dr, Carlos Andre Burkert que manteve a calma para duas pessoas agitadas, obrigada pelas dúvidas sanadas, e por compartilhar seu conhecimento de forma didática.

Aos membros da banca de defesa da dissertação, Profa. Dra. Eliana Badiale Furlong e Profa Dra. Caroline Costa Moraes por aceitarem o convite para compor a banca.

Ao professor Luiz Antônio de Almeida Pinto que contribuiu com a presente pesquisa, dando maior parceria entre os laboratórios, gerando maiores resultados.

Aos meus amigos Rui Ferreira, Ana Cristina e Geiza Michele, obrigada por ser esses amigos que deixaram o trabalho não ser trabalho e sim diversão, sou grata pelas longas conversas, desabafos, conselhos e sobretudo obrigada por me ajudar a entrar no grupo de pesquisa com mais confiança, sei que parte de tudo isto foi resultado de trocas de ideias e conversas, sou grata demais por ter colegas que se tornaram amigos de vida.

Ao meu amigo de tempos Luiz Han que desde a graduação sempre me auxiliou e me ofereceu toda ajuda possível, você foi um dos motivos pelos que comecei o mestrado e um dos motivos pelos quais eu gosto da pesquisa, tua ajuda foi indispensável para mim desde a graduação até hoje, obrigada de verdade por toda a ajuda que tu me ofereces e pela parceria dentro e fora da faculdade.

A Thallita Cordeiro, Auana Marcelly, Natalia Madruga, Andressa Cunha, Yuri Mastroiano, Fernando Xavier, obrigada por tornar o ambiente de trabalho tão agradável e principalmente pela parceria no laboratório, vocês deixam o LASCQ e ENGE BIO com mais brilho e felicidade.

Aos meus amigos que construí dentro e fora do programa Tiago, Thalllita Guilherme, Adriano, Rafael, Danilo, Nayguel, Karoline, Leandro, Anderson, vocês alegram o programa e tem uma energia acolhedora, obrigada pelas saídas, conversas, comidas palavras novas e em especial pelas risadas.

A minha amiga Marybeth que desde que cheguei me acolheu com todo o carinho sou muito grata por ser tua amiga. Aos meus amigos Marco, Ronald, Cecília e Josué. Obrigada pelos momentos que tivemos e compartilamos nossa cultura peruana, estar perto de vocês me faz sentir que estou perto de casa.

À CAPES, pela concessão da bolsa de estudos.

Aos funcionários da Escola de Química e Alimentos. especialmente a Marli e Amanda, pelo apoio e a companhia até longas horas da noite, vocês são importantes no desenvolvimento deste projeto.

Ao PPGECA, por brindarem todo suporte de informação, e sobretudo pelos profissionais que o conformam, que sempre estão dispostos a conversas e trocas de ideias.

À FURG, que me brindou todo o apoio econômico e social como moradia e alimentação para poder concluir o mestrado.

Assim como aos meus amigos de distância, vocês mesmo longe sempre estão presentes aonde for se preocupando comigo e me dando todos os suportes que preciso

Aos amigos e colegas que fiz na casa do estudante, no meio do caos e das perdas dolorosas vocês foram o suporte emocional de muitas pessoas que passam por momentos difíceis.

Agradeço de coração a todos que, com palavras, gestos e presença, estiveram ao meu lado e contribuíram para que este trabalho se tornasse realidade.

LISTA DE TABELAS

CAPÍTULO II

REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

Tabela 1: Produção de carotenoides por leveduras.....	16
Tabela 2: Carotenoides produzidos por <i>P. rhodozyma</i>	18
Tabela 3: Cultivo de <i>P. rhodozyma</i> em biorreator de bancada.....	20

CAPÍTULO III

DESENVOLVIMENTO DO TRABALHO

ARTIGO 1 - Leito de jorro como método de secagem de biomassa de *Phaffia rhodozyma* cultivada em melaço de soja: Preservação, caracterização e estabilidade.

Tabela 1: Composição proximal do Melaço de Soja.....	42
Tabela 2: Composição centesimal da biomassa de <i>P. rhodozyma</i> cultivada em bioreator de bancada de 5L com 100g.L ⁻¹ de melaço de soja, a 300 rpm, 1vvm, 25°C e pH inicial 6 e seca por leito de jorro e liofilizador.....	52

ARTIGO 2 - Produção e caracterização de óleo microbiano por *Phaffia rhodozyma* cultivada em melaço de soja

Tabela 1: Composição centesimal de melaço de soja.....	76
Tabela 2 : Produtividade do cultivo de <i>P. rhodozyma</i> cultivada em biorreator de bancada de 5L com 100g.L ⁻¹ de melaço de soja a 300 rpm, 1vvm, 25°C e pH inicial 6.....	78
Tabela 3: Composição Centesimal de <i>P. rhodozyma</i> cultivada em 100g.L ⁻¹ melaço de soja no biorreator de bancada de 5L	80
Tabela 4 : Perfil de ácidos graxos de óleo da biomassa de <i>P. rhodozyma</i> cultivada em biorreator de 5 L, com 100g.L ⁻¹ de melaço de soja, a 300 rpm, 1vvm, 25°C e pH inicial 6.....	82
Tabela 5: Índice de Acidez e Peróxido do óleo de <i>P. rhodozyma</i> cultivada em biorreator de bancada de 5 L com 100g.L ⁻¹ de melaço de soja.....	85

ARTIGO 3 - Biomassa de *Phaffia rhodozyma* cultivada em meio agroindustrial: Potencial como corante alimentício em bala de goma

Tabela 1: Formulações base da bala de goma – testes iniciais.....	98
Tabela 2: Formulação de bala de goma controle, com biomassa de <i>P. rhodozyma</i> integral (FB1), biomassa de <i>P. rhodozyma</i> extraída com etanol (FB2), β- caroteno comercial (FB3).....	100
Tabela 3: Composição Centesimal de Biomassa seca de <i>P. rhodozyma</i> cultivada em 100g.L ⁻¹ melaço de soja no biorreator de bancada de 5L a 25°C, 300 rpm e 1 vvm.....	105
Tabela 4: Perfil de Textura (TPA) para as formulações A, B e bala comercial.....	107
Tabela 5: Formulação de bala de goma controle, com biomassa de <i>P. rhodozyma</i> integral, biomassa de <i>P. rhodozyma</i> extraída com etanol, β- caroteno comercial.....	108
Tabela 6: Perfil de textura (TPA) das balas goma com biomassa seca de <i>P. rhodozyma</i> (FB1), Biomassa seca de <i>P. rhodozyma</i> extraída com etanol (FB2), com adição de β-caroteno comercial (FB3), Bala controle e Bala comercial com corante químico.....	110
Tabela 7: Composição centesimal das balas de gomas com biomassa seca de <i>P. rhodozyma</i> , Biomassa seca de <i>P. rhodozyma</i> extraída com etanol e com adição de β-caroteno comercial...	119
Tabela 8: Parâmetros físico-químicos das balas de goma com biomassa seca de <i>P. rhodozyma</i> , Biomassa seca de <i>P. rhodozyma</i> extraída com etanol e com adição de β-caroteno comercial.....	120

LISTA DE FIGURAS

CAPÍTULO III

DESENVOLVIMENTO DO TRABALHO

ARTIGO 1 - Leito de jorro como método de secagem de biomassa de *Phaffia rhodozyma* cultivada em melaço de soja: Preservação, caracterização e estabilidade

Figura 1: Cinética de cultivo de *P. rhodozyma* em biorreator de bancada de 5L, com 100 g·L⁻¹ de melaço de soja, a 300 rpm, 1vvm, 25°C e pH inicial 6 44

Figura 2: Teor de umidade da biomassa seca de *P. rhodozyma* cultivada em biorreator de bancada de 5 L, com 100 g·L⁻¹ de melaço de soja, a 300 rpm, 1vvm, 25°C e pH inicial 6..... 46

Figura 3: Concentração de carotenoides recuperados da biomassa úmida, seca por leito de jorro, liofilizador e estufa circulação de ar de *P. rhodozyma* cultivada em biorreator de bancada de 5 L, com 100 g·L⁻¹ de melaço de soja, a 300 rpm, 1vvm, 25°C e pH inicial 6..... 48

Figura 4: Parâmetro de cor L*, a*, b* da biomassa úmida, seca por leito de jorro e liofilizador de *P. rhodozyma* cultivada em biorreator de bancada de 5L, com 100 g·L⁻¹ de melaço de soja, a 300 rpm, 1vvm, 25°C e pH inicial 6 49

Figura 5: Parâmetros de cor: Croma, Ângulo Hue e ΔE biomassa úmida, seca por leito de jorro e liofilizador de *P. rhodozyma* cultivada em biorreator de bancada de 5L, com 100 g·L⁻¹ de melaço de soja, a 300 rpm, 1vvm, 25°C e pH inicial 6 51

Figura 6: Espectros de FTIR da Biomassa de *P. rhodozyma* seca por leito de jorro e liofilizador cultivada em biorreator de bancada de 5L, com 100 g·L⁻¹ de melaço de soja, a 300 rpm, 1vvm, 25°C e pH inicial 6 54

Figura 7: Estabilidade da biomassa de *P. rhodozyma* cultivada em biorreator de bancada bancada de 5L, com 100 g·L⁻¹ de melaço de soja, a 300 rpm, 1vvm, 25°C e pH inicial 6, seca em leito de jorro, quanto a concentração de carotenoides em diferentes temperaturas de armazenamento 56

Figura 8: Parâmetros de cor L*, a*, b* de Estabilidade da biomassa de *P. rhodozyma* seca em leito de jorro cultivada em biorreator de bancada de 5L, com 100 g·L⁻¹ de melaço de soja, a 300 rpm, 1vvm, 25°C e pH inicial 6, quanto a concentração de carotenoides em diferentes temperaturas de armazenamento 58

Figura 9: Parâmetros de cor croma, Ângulo Hue e ΔE de Estabilidade da biomassa de *P. rhodozyma* seca em leito de jorro cultivada em biorreator de bancada de 5L, com 100 g·L⁻¹ de melaço de soja, a 300 rpm, 1vvm, 25°C e pH inicial 6, quanto a concentração de carotenoides em diferentes temperaturas de armazenamento 60

Figura 10: Biomassa de *P. rhodozyma* seca em leito de jorro cultivada em biorreator de bancada de 5L, com 100 g·L⁻¹ de melaço de soja, a 300 rpm, 1vvm, 25°C e pH inicial 6, no primeiro dia de armazenamento 61

Figura 11: Biomassa de *P. rhodozyma* seca em leito de jorro cultivada em biorreator de bancada de 5L, com 100 g·L⁻¹ de melaço de soja, a 300 rpm, 1vvm, 25°C e pH inicial 6 após 90 dias de armazenamento 61

ARTIGO 2 - Produção e caracterização de óleo microbiano por *Phaffia rhodozyma* cultivada em melaço de soja.

Figura 1: Cinética de cultivo de *P. rhodozyma* em biorreator de bancada de 5 L com 100 g·L⁻¹ de melaço de soja, a 300 rpm, 1vvm, 25°C e pH inicial 6 77

Figura 2: Recuperação de lipídeos pelo método de Bligh e Dryer com e sem hidrólise ácida de *P. rhodozyma* em biorreator de bancada de 5L com 100g·L⁻¹ de melaço de soja a 300 rpm, 1vvm, 25°C e pH inicial 6 81

Figura 3: Ressonância Magnética Nuclear do óleo de <i>P. rhodozyma</i> cultivada em biorreator de bancada de 5L com 100g.L ⁻¹ de melaço de soja	84
---	----

ARTIGO 3 - Biomassa de *Phaffia rhodozyma* cultivada em meio agroindustrial: Potencial como corante alimentício em bala de goma

Figura 1: Fluxograma de produção da bala de goma sem adição de <i>P. rhodozyma</i>	99
Figura 2: Cinética de crescimento de <i>P. rhodozyma</i> e produção de carotenoides em meio agroindustrial com 100 g·L ⁻¹ de melaço de soja em biorreator de bancada de 5L a 300 rpm, 1vvm, 25°C	104
Figura 3: Parâmetro de cor L*, a*, b* das formulações de bala de goma com biomassa seca de <i>P. rhodozyma</i> , Biomassa seca de <i>P. rhodozyma</i> extraída com etanol, com adição de β-caroteno comercial, Bala controle e Bala comercial com corante químico e corante naturais	112
Figura 4: Parâmetros de cor: Croma, Ângulo Hue as formulações de bala de goma com biomassa seca de <i>P. rhodozyma</i> , Biomassa seca de <i>P. rhodozyma</i> extraída com etanol, com adição de β-caroteno comercial, Bala controle e Bala comercial com corante químico e corante naturais	114
Figura 5: Parâmetros de cor ΔE das balas de goma com biomassa seca de <i>P. rhodozyma</i> (FB1), Biomassa seca de <i>P. rhodozyma</i> extraída com etanol (FB2), com adição de β-caroteno comercial (FB3), Bala controle (CONTROLE) e Bala comercial com corante químico laranja (CQ), bala comercial com corante natural amarelos (CNA), bala comercial com corante natural amarelos (CNV)	115
Figura 6: Bala de goma controle (a), bala de goma com adição de β-caroteno comercial (b), bala de goma com adição de biomassa seca de <i>P. rhodozyma</i> extraída com etanol (c) e bala de goma com biomassa seca integral de <i>P. rhodozyma</i> (d)	116
Figura 7: Concentração específica de carotenoides totais nas balas de goma com biomassa seca integral de <i>P. rhodozyma</i> (FB1), Biomassa seca de <i>P. rhodozyma</i> extraída com etanol (FB2), com adição de β-caroteno comercial (FB3).....	117

SUMÁRIO

CAPÍTULO I	7
RESUMO.....	8
ABSTRACT	9
1 INTRODUÇÃO	10
2 OBJETIVOS	12
2.1 OBJETIVO GERAL.....	12
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	12
 CAPÍTULO II.....	 13
3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	14
3.1 CORANTES ALIMENTÍCIOS E SUA RELEVÂNCIA NA INDÚSTRIA ALIMENTÍCIA	14
3.2 CAROTENOIDES: ESTRUTURA, PROPRIEDADES E APLICAÇÕES.....	14
3.3 PRODUÇÃO DE CAROTENOIDES POR LEVEDURAS.....	15
3.3.1 Produção de carotenoides por <i>Phaffia rhodozyma</i>	17
3.3.2 Cultivos em biorreator com <i>P. rhodozyma</i>	19
3.3.3 Melaço de soja	21
3.4 SECAGEM DE ALIMENTOS.....	22
3.4.1 Secagem por Leito de jorro	23
3.5 COMPOSIÇÃO PROXIMAL DE BIOMASSAS MICROBIANAS.....	24
3.6 OBTENÇÃO DE BIOPRODUTOS.....	25
3.6.1 Óleo microbiano	25
3.6.2 Produtos com adição de biomassa de <i>P. rhodozyma</i>	26
3.6.3 Produtos alimentícios com adição de biomassa microbiana	27
3.7 BALAS DE GELATINA.....	28
 CAPÍTULO III	 30
4 DESENVOLVIMENTO DO TRABALHO	31
ARTIGO 1	32
RESUMO.....	33
1 INTRODUÇÃO	33
2 MATERIAL E MÉTODOS	35
2.1 MICRORGANISMO, PREPARO DE INÓCULO E CONDIÇÕES DE CULTIVO	35
2.2 CARACTERIZAÇÃO DO MEIO DE CULTIVO AGROINDUSTRIAL.....	36
2.3 DETERMINAÇÃO DA CONCENTRAÇÃO DE BIOMASSA E pH DURANTE O CULTIVO	36
2.4 DETERMINAÇÃO DO COEFICIENTE VOLUMÉTRICO DE TRANSFERÊNCIA DE OXIGÊNIO NA FASE LÍQUIDA (K_{LA}).....	36
2.5 PRODUTIVIDADE DO CULTIVO	37
2.6 RECUPERAÇÃO DA BIOMASSA PÓS-CULTIVO.....	37
2.6.1 Secagem por leito de jorro.....	38
2.6.2 Secagem por liofilização	38
2.7 EXTRAÇÃO E DETERMINAÇÃO DA CONCENTRAÇÃO DE CAROTENOIDES	38
2.8 DETERMINAÇÃO DE UMIDADE	39
2.9 ANÁLISE DE COR.....	40

2.10 COMPOSIÇÃO CENTESIMAL.....	40
2.11 CARACTERIZAÇÃO FUNCIONAL E MONITORAMENTO DA ESTABILIDADE DA BIOMASSA SECA.....	40
2.11.1 Espectroscopia de infravermelho por transformada de Fourier (FTIR)	41
2.11.2 Análise de estabilidade	41
2.12 ANÁLISE ESTATÍSTICA	41
3 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	41
3.1 COMPOSIÇÃO PROXIMAL E ELEMENTAR DO MELAÇO DE SOJA.....	41
3.2 CULTIVO COM MELAÇO DE SOJA EM BIORREATOR DE BANCADA	43
3.3 COMPARAÇÃO DOS MÉTODOS DE SECAGEM.....	45
3.3.1 Determinação do teor de umidade.....	45
3.3.2 Influência da secagem na recuperação de carotenoides	46
3.3.3 Caracterização da cor das amostras.....	48
3.3.4 Composição proximal e análise comparativa dos dois métodos de secagem	51
3.4 AVALIAÇÃO DA BIOMASSA SECA POR LEITO DE JORRO.....	53
3.4.1 Determinação de grupos funcionais por FTIR.....	53
3.4.2 Avaliação da estabilidade de carotenoides de <i>P. rhodozyma</i> utilizando secagem em leito de jorro	55
3.4.3 Avaliação da aparência e a estabilidade de cor de <i>P. rhodozyma</i> seca em leito de jorro.....	57
4 CONCLUSÃO	61
5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	62
 ARTIGO 2	 67
RESUMO.....	68
1 INTRODUÇÃO	68
2 MATERIAL E MÉTODOS	70
2.1 MICRORGANISMO, PREPARO DE INÓCULO	70
2.2 CONDIÇÕES DE CULTIVO.....	70
2.3 CARACTERIZAÇÃO DO MEIO DE CULTIVO AGROINDUSTRIAL.....	70
2.4 DETERMINAÇÃO DO COEFICIENTE VOLUMÉTRICO DE TRANSFERÊNCIA DE OXIGÊNIO NA FASE LÍQUIDA (K_La).....	71
2.5 DETERMINAÇÃO DA CONCENTRAÇÃO DE BIOMASSA E pH DURANTE O CULTIVO	71
2.6 PRODUTIVIDADE NO CULTIVO	71
2.7 SECAGEM DA BIOMASSA.....	72
2.8 EXTRAÇÃO E DETERMINAÇÃO DA CONCENTRAÇÃO DE CAROTENOIDES	72
2.9 DETERMINAÇÃO DE LIPÍDEOS POR BLIGH & DYER.....	73
2.10 COMPOSIÇÃO CENTESIMAL DA BIOMASSA.....	73
2.11 CARACTERIZAÇÃO DO ÓLEO MICROBIANO.....	74
2.11.1 Perfil de ácidos graxos.....	74
2.11.2 Ressonância Magnética Nuclear (RMN).....	74
2.11.3 Índice de acidez e peróxido por titulometria.....	74
2.12 ANÁLISE ESTATÍSTICA	75
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO	75
3.1 CARACTERIZAÇÃO DO SUBSTRATO PARA O MEIO DE PRODUÇÃO.....	75
3.2 CULTIVO MICROBIANO.....	76
3.3 COMPOSIÇÃO DA BIOMASSA.....	79

3.4 INFLUÊNCIA DA EXTRAÇÃO BLIGH E DRYER COM HIDRÓLISE ÁCIDA E SEM HIDRÓLISE ÁCIDA	80
3.5 CARACTERIZAÇÃO DO ÓLEO EXTRAÍDO DE <i>P. rhodozyma</i>	82
3.5.1 Perfil de ácidos graxos	82
3.5.2 Ressonância Magnética Nuclear -RMN	83
3.5.3 Acidez e peróxido	84
4 CONCLUSÃO	86
5 REFERÊNCIAS	87

ARTIGO 3	92
RESUMO.....	93
1 INTRODUÇÃO	93
2 MATERIAL E MÉTODOS	95
2.1 MICRORGANISMO, PRÉ-INÓCULO, INÓCULO E CONDIÇÕES DE CULTIVO	95
2.3 EXTRAÇÃO E DETERMINAÇÃO DA CONCENTRAÇÃO DE CAROTENOIDES	95
2.4 SECAGEM DA BIOMASSA.....	97
2.5 COMPOSIÇÃO CENTESIMAL DA BIOMASSA.....	97
2.6 SELEÇÃO DA FORMULAÇÃO DA BALA DE GELATINA E BALAS COMERCIAIS	97
2.7 AMOSTRAS E FORMULAÇÃO DA BALA DE GELATINA.....	98
2.8 FORMULAÇÕES DE BALA DE GOMA ADICIONADAS DE CAROTENOIDES DE <i>P. rhodozyma</i>	99
2.9 CARACTERIZAÇÃO DE BALAS DE GELATINA	100
2.9.1 Perfil de textura.....	100
2.9.2 Análise de cor	100
2.9.3 Quantificação de carotenoides na bala de goma	101
2.9.4 Composição centesimal da bala	102
2.9.5 pH	102
2.9.6 Acidez titulável	102
2.9.7 Sólidos totais	102
2.10ANÁLISE ESTATÍSTICA	103
3 RESULTADOS E DISCUSSÃO	103
3.1 CINÉTICA DO CULTIVO DE <i>P. rhodozyma</i>	103
3.2 COMPOSIÇÃO CENTESIMAL DA BIOMASSA DE <i>P. rhodozyma</i> SECA EM LEITO DE JORRO	105
3.3 DEFINIÇÃO DE BALA DE GOMA CONTROLE	106
3.4 ADIÇÃO DE BIOCOMPOSTOS DE INTERESSE NAS BALAS DE GOMA	108
3.5 PERFIL DE TEXTURA DAS BALAS FORMULADA.....	109
3.6 AVALIAÇÃO DA COR DAS BALAS DE GOMA.....	111
3.7 RECUPERAÇÃO DE CAROTENOIDES PRESENTES NA DIFERENTES FORMULAÇÕES DAS BALAS DE GOMA	116
3.8 COMPOSIÇÃO CENTESIMAL DAS FORMULAÇÕES DA BALA DE GOMA	118
3.9 DETERMINAÇÃO DE ACIDEZ TITULAVEL, pH E SÓLIDOS TOTAIS	120
4 CONCLUSÃO	121
5 REFERÊNCIAS	122

CAPÍTULO IV.....	127
5 CONCLUSÃO GERAL	128
6 RESÍDUOS GERADOS E DESTINO	130
7 SUGESTÃO PARA TRABALHOS FUTUROS	130
CAPÍTULO VI.....	131
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	132
APÊNDICE	143

CAPÍTULO I

RESUMO

Leveduras carotenogênicas despertam interesse industrial na substituição de corantes sintéticos especialmente no ramo confeitiro como bala de goma, devido a corantes químicos que são considerados genotóxicos e ocasionam problemas à saúde. Entre essas alternativas se encontra *Phaffia rhodozyma*, levedura reconhecida como GRAS (Generally Recognized as Safe), que se destaca pela produção de carotenoides intracelulares, como astaxantina, β -caroteno, e outros bioprodutos. Contudo, a aplicação dos seus metabólitos ainda é pouco explorada, devido às lacunas técnicas, tais como: A conservação da biomassa de forma sustentável e eficiente, o pouco conhecimento sobre a composição da parede celular da levedura e a disponibilidade de meios de cultivo de baixo custo. Assim, o objetivo do presente trabalho foi avaliar a biomassa de *P. rhodozyma* como potencial substituto de corantes alimentares sintéticos, bem como avaliar sua composição. Para isso a levedura foi cultivada em biorreator de bancada de 5L com $100 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ de melaço de soja, coproduto agroindustrial, logo após a biomassa foi seca em leito de jorro com uma temperatura de entrada de ar de 95°C e saída de 65°C , e taxa de alimentação de $0,2 \text{ kg} \cdot \text{h}^{-1}$. A biomassa foi caracterizada quanto sua composição centesimal, FTIR, estabilidade da cor e recuperação de carotenoides com o tempo de armazenagem. A extração do óleo por Bligh e Dyer, sua caracterização quanto ao perfil de ácidos graxos e parâmetros físico-químicos foi realizada. Para aplicação em balas de goma foram feitas 3 formulações: com biomassa seca integral, com extrato etanólico a partir da biomassa seca e com adição de β -caroteno comercial, as quais foram avaliadas quanto a cor, recuperação de carotenoides e composição centesimal. Assim, em 144h de cultivo foi obtido $12,59 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ de biomassa, com $1941,97 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ de astaxantina e $1081,67 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ de β -caroteno. A secagem por leito de jorro foi a mais eficiente para conservação e recuperação de carotenoides atingindo umidade de 3,9% e perda de cor inferior a 12% após 90 dias de armazenamento sob refrigeração (4°C). A biomassa seca apresentou lipídeos (34,9%), proteínas (23,3%) e carboidratos (37,0%) O óleo microbiano extraído apresentou perfil graxo majoritariamente com 67,0 % de ácido oleico. Na aplicação da bala de goma a biomassa integral resultou em coloração intensa e estável com $0,61 \mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$ de astaxantina e $0,41 \mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$ de β -caroteno, a textura foi adequada similar com balas de goma comerciais e a composição centesimal apresentou grande potencial como suplemento alimentar. Com isso a biomassa de *P. rhodozyma* possui grande potencial nutricional, técnico e sustentável na aplicação de bala de goma a base de gelatina como corante alimentício, podendo torná-la funcional.

Palavras-chaves: Pigmentos bioativos, Termossensíveis, Leveduras carotenogênicas, Corante natural, Óleo microbiano

ABSTRACT

BIOMASS POTENTIAL OF *Phaffia rhodozyma* NRRL Y-17268 FOR USE IN FOOD FORMULATIONS

Carotenogenic yeasts have attracted industrial interest as substitutes for synthetic colorants, particularly in the confectionery industry, such as in gumdrops, due to concerns that chemical colorants may be genotoxic and pose health risks. Among these alternatives is *Phaffia rhodozyma*, a yeast recognized as GRAS (Generally Recognized as Safe), which is notable for producing intracellular carotenoids such as astaxanthin, β -carotene, and other bioproducts. However, the application of its metabolites remains underexplored due to technical limitations, including the sustainable and efficient preservation of biomass, insufficient knowledge regarding yeast cell-wall composition, and the availability of low-cost culture media. Therefore, the objective of this study was to evaluate *P. rhodozyma* biomass as a potential substitute for synthetic food dyes, as well as to assess its composition. For this purpose, the yeast was cultivated in a 5L bench bioreactor with 100 g·L⁻¹ of soybean molasses, an agro-industrial co-product, and the biomass was subsequently dried using a spray dryer with an inlet air temperature of 95°C, an outlet temperature of 65°C, and a feed rate of 0.2 kg·h⁻¹. The biomass was characterized in terms of proximate composition, FTIR, color stability, and carotenoid retention over storage. Oil extraction via the Bligh and Dyer method was performed, followed by characterization of its fatty acid profile and physicochemical parameters. For application in gumdrops, three formulations were developed: one with whole dried biomass, one with ethanolic extract from dried biomass, and one with added commercial β -carotene. These formulations were evaluated for color, carotenoid retention, and proximate composition. After 144 hours of cultivation, 12.59 g·L⁻¹ of biomass was obtained, containing 1941.97 μ g·L⁻¹ of astaxanthin and 1081.67 μ g·L⁻¹ of β -carotene. Spray drying proved to be the most efficient method for carotenoid preservation and recovery, resulting in a moisture content of 3.9% and less than 12% color loss after 90 days of refrigerated storage (4°C). The dried biomass consisted of lipids (34.9%), proteins (23.3%), and carbohydrates (37.0%). The extracted microbial oil exhibited a fatty acid profile composed predominantly of 67.0% oleic acid. When applied to gumdrops, the whole biomass produced an intense and stable coloration, with 0.61 μ g·g⁻¹ of astaxanthin and 0.41 μ g·g⁻¹ of β -carotene. The texture was similar to that of commercial gumdrops, and the proximate composition indicated strong potential as a nutritional supplement. Thus, *P. rhodozyma* biomass demonstrates significant nutritional, technical, and sustainable potential for use in gelatin-based gumdrops as a natural food colorant, potentially imparting functional properties.

Keywords: Bioactive pigments; Thermosensitive; Carotenogenic yeasts; Natural colorant; Microbial oil.

1 INTRODUÇÃO

Os corantes alimentícios inicialmente foram incorporados às formulações contribuindo na aceitação sensorial e na percepção de qualidade por parte dos consumidores (Cobbold, 2020). De acordo com a legislação vigente, são permitidas três categorias principais de corantes em alimentos: os naturais, caramelos e artificiais, tendo limite de uso para os artificiais (Guimarães *et al.*, 2023a). Isso devido ao consumo contínuo de corantes artificiais que podem ocasionar alterações no material genético, como riscos toxicológicos, uma vez que são considerados aditivos altamente genotóxicos (Guimarães *et al.*, 2023a). Por esse motivo existe a tendência em grandes empresas do setor alimentício de disponibilizar linhas de produtos isentos de corantes artificiais. Entretanto, o uso de aditivos sintéticos ainda se mantém em diversas formulações, por razões tecnológicas e econômicas (Cobbold, 2020). Por outro lado, os corantes naturais surgem como alternativa mais segura à saúde com características tecnológicas e sensoriais atrativas, além de proporcionar benefícios à saúde (Rossi *et al.*, 2021), possuindo maior flexibilidade na concentração a ser adicionada nos produtos (Brasil, 2023).

Entre os corantes naturais tem-se os carotenoides, pigmentos tetraterpênicos que variam da cor amarela, laranja, vermelha e roxa, estando presentes em diversos organismos, desde bactérias fotossintéticas, fungos, plantas e animais (Maoka, 2020). O principal foco da aplicação dos carotenoides na indústria deve-se aos benefícios à saúde, justificando sua utilização nos setores farmacêutico, nutracêutico e alimentício. O mercado é segmentado em astaxantina, β -caroteno, luteína, entre outros, dando destaque na astaxantina. Estes compostos apresentam maior valor agregado quando são obtidos a partir de resíduos, subprodutos ou coprodutos, assim como também, através da síntese biotecnológica, uma vez que a produção microbiana apresenta vantagens em termos de produtividade, necessidade de pequena área de produção e controle de condições de cultivo (Viana; Adorno; Santos, 2022a). Além disso, o mercado global de carotenoides alcançou US\$ 2,1 bilhões em 2024, com taxa de crescimento anual de 6,7%, estimando-se que atinja US\$ 2,9 bilhões até 2029 (BCC RESEARCH, 2025).

A levedura *Phaffia rhodozyma*, classificada como GRAS (*Generally Recognized as safe*), possui eficiência na síntese de carotenoides principalmente astaxantina (Cottera *et al.*, 2021; Mussagy *et al.*, 2023), este composto contribui no tratamento de doenças neurodegenerativas (Silva *et al.*, 2022) e na diminuição do risco cardiometabólico em mulheres na peri e pós-menopausa (Luiz *et al.*, 2021). Com isso é necessário novas abordagens para melhorar a produção destes compostos (Li *et al.*, 2023), sendo o melaço de soja, subproduto agroindustrial oriundo do processamento da proteína da soja, potencial no aumento da produção

de biomassa e a concentração de carotenoides da levedura estudada quando comparado ao meio de cultivo comumente utilizado (meio extrato de malte e levedura) (Pacheco *et al.*, 2025).

A aplicação de leveduras em alimentos é limitada pois maior parte de estudos são focados nos extratos carotenogênicos, desvalorizando possíveis conteúdos de ácidos graxos, proteínas, cinzas e açúcares disponibilizados (Feng *et al.*, 2025a). As leveduras são aplicadas em suplementos alimentares na forma autolisadas, polissacarídeos da parede celular e nucleotídeos (Zanello, 2023). No entanto, há uma lacuna significativa na literatura em relação à aplicação de leveduras carotenogênicas em produtos alimentícios.

Para ser possível a aplicação, o processo de secagem será importante, com isso considerando as limitações na literatura, o leito de jorro foi selecionado como alternativa, já que apresenta uma possível ruptura ou permeabilização da célula em paralelo com a secagem para facilitar a posterior recuperação dos carotenoides, além de possuir potencial de aplicação em grande escala. Ressalta-se ainda que o presente trabalho se caracteriza como pioneiro na aplicação do leito de jorro para leveduras carotenogênicas, ampliando as perspectivas de utilização dessa técnica e possibilitando a minimização de custos do processo (Marreto, 2006).

Esse potencial torna-se relevante dentre os produtos alimentares que faz uso de corantes alimentícios, como a indústria confeitaria, dando destaque aos fabricantes de balas de gelatina, onde encontram-se corantes como amarelo crepúsculo, tartrazina, vermelho 40 e azul brilhante, criando assim problemáticas de consumo, uma vez que estes corantes estão relacionados diretamente com cirrose biliar primária, alergias, problemas estomacais e hiperatividade em crianças (Teixeira; Safi; Holanda, 2024). Contudo, a bala de goma é um produto ótimo aliado para aceitação sensorial no mercado alimentar, em especial para crianças e pessoas com disfagia, sendo sistemas eficazes de administração de compostos bioativos e suplementação (Rashmi; Mona, 2023).

Diante desse contexto, questiona-se o potencial da biomassa seca de *P. rhodozyma* e seus bioprodutos aplicados como corante de balas de gelatina, avaliando o comportamento e composição da levedura integral e do extrato carotenogênico na matriz alimentar. Além da ampliação de escala em biorreatores de bancada para maior produtividade, estudos de processos de secagem para melhor conservação da biomassa e melhoramento na extração de carotenoides, gerando assim desafios operacionais e de formulação. Com isso o presente trabalho tem como objetivo avaliar o potencial da biomassa de *P. rhodozyma* seca, cultivada com melão de soja, como corante em balas de gelatina, considerando a sustentabilidade no processo e redução de custos, para obtenção de balas de gelatina com corantes naturais e outros compostos bioativos, tornando-a um produto com maior valor agregado no mercado e funcionalidade.

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

A proposta visa cultivar a levedura *P. rhodozyma* NRRL Y-17268 em melaço de soja como única fonte de nutriente e avaliar a aplicabilidade da biomassa, do extrato carotenogênicos livre para elaboração de balas de gelatina comparativamente ao corante comercial β -caroteno

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Avaliar o potencial do melaço de soja como fonte de C, N, H para a produção de biomassa de *P. rhodozyma* NRRL Y-17268 em reator de bancada
- Determinar o efeito das técnicas de secagem na composição proximal, funcional e no perfil de ácidos graxos da biomassa de *P. rhodozyma*.
- Determinar o efeito das técnicas de secagem, na composição proximal, funcional e no perfil de ácidos graxos da biomassa de *P. rhodozyma*
- Avaliar a produção de óleo por *P. rhodozyma* cultivada em biorreator de bancada com melaço de soja como substrato no cultivo e caracterizar parcialmente o óleo produzido
- Formular balas de gelatinas utilizando biomassa seca integral, extrato carotenogênico obtido da biomassa seca ou β - caroteno comercial, caracterizando-as quanto a composição proximal e análises físico-químicas;
- Avaliar o efeito da substituição de corantes artificiais por corantes naturais no perfil de textura e cor de balas comerciais e formuladas

CAPÍTULO II

3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1 CORANTES ALIMENTÍCIOS E SUA RELEVÂNCIA NA INDÚSTRIA ALIMENTÍCIA

Segundo ANVISA (Agência Nacional de Vigilância Sanitária) corante é a substância ou a mistura de substâncias que possuem a propriedade de conferir ou intensificar a coloração de alimentos e bebidas, entre eles estão os corantes orgânicos naturais, corantes orgânicos sintéticos (corante artificial, corante orgânico sintético idêntico ao natural), corantes inorgânicos, caramelo, e caramelo por processo amônia (Brasil, 1977).

Os corantes alimentícios sintéticos foram desenvolvidos por volta do século XIX, inicialmente destinados a indústria têxtil, mas rapidamente sendo aplicado na indústria alimentícia, gerando alarmes para químicos que tinham alertado cerca dos riscos do consumo, e implicou desafios nos métodos de detecção e de avaliação da toxicidade. O problema agravou, pois, a mistura de corantes com componentes da matriz dos alimentos produzia novos compostos químicos de forma constante, dificultando seu uso e controle (Cobbald, 2020).

Entre os impactos do risco de consumo destes corantes destaca-se o consumo deles por crianças, nas quais podem ocasionar alergias, Transtorno do Déficit de Atenção e Hiperatividade, retardo do crescimento, asma, genotoxicidade e câncer. Fatos que tem demandado uma nova abordagem de mercado para o uso de corantes naturais (Campanholi; Souza, 2024).

Corantes naturais surgem como alternativa de substituição aos corantes sintéticos com destaque para seus recursos tecnológicos e funções bioativas, que estão incluídos em produtos sólidos e líquidos, aumentando o valor organoléptico e a cor dos produtos, sendo uma opção saudável (Rossi *et al.*, 2021).

3.2 CAROTENOIDES: ESTRUTURA, PROPRIEDADES E APLICAÇÕES

Carotenoides são pigmentos lipofílicos naturais que conferem colorações amarelas, laranjas e vermelhas a frutas, flores, microalgas e fungos. Em animais, que os obtêm pela dieta, esses pigmentos se acumulam no tecido adiposo (Zia-Ul-Haq; Dewanjee; Riaz, 2021). Sua estrutura básica é formada por tetraterpenos com oito unidades de isoprenoides conectadas por ligações covalentes em arranjos "cabeça-cauda" ou "cauda-cauda" (Damodaran; Park; Fennema, 2010; Nelson; Cox, 2014). A molécula é linear, simétrica, e apresenta uma inversão

no centro da estrutura, além de uma longa cadeia de polieno com três a quinze ligações duplas, que define o espectro de absorção e, consequentemente, a cor da molécula (Bemfeito, 2020; Gayeski, 2022; González-Peña *et al.*, 2023; Maldonade, 2003). Eles se dividem em carotenos, formados apenas por carbono, e xantofilas, que contêm oxigênio (Damodaran; Park; Fennema, 2010). Até 2017, foram identificados e descritos cerca de 1117 carotenoides naturais (Mussagy *et al.*, 2018; Mussagy *et al.*, 2021; Spagnuolo *et al.*, 2023).

Carotenoides possuem propriedades antioxidantes e anti-inflamatórias, essenciais na prevenção de doenças crônicas, além de atuarem como provitamina A, desempenhando funções cruciais no organismo (Vianna, 2022), como proteger macromoléculas biológicas contra danos oxidativos e por atuar na comunicação intercelular, modulando vias de sinalização, absorvendo luz visível e influenciando propriedades da membrana, funções que podem ocorrer de forma integrada (Meléndez-Martínez *et al.*, 2022). Alguns carotenoides como astaxantina conseguem atravessar a barreira hematoencefálica, desativando o oxigênio e neutralizando radicais peroxil, reduzindo a oxidação do DNA e dos lipídeos, sendo relacionado ao tratamento de doenças neurodegenerativas (Silva *et al.*, 2022). Luiz *et al.* (2021) demonstraram que, em mulheres na peri e pós-menopausa, esses compostos reduzem a dislipidemia aterogênica e melhoram marcadores de inflamação e estresse oxidativo, diminuindo o risco cardiometabólico.

Na indústria alimentícia, carotenoides como astaxantina, cantaxantina, β -caroteno, bixina, norbixina e licopeno proporcionam tonalidades amarelas, alaranjadas e avermelhadas a vários produtos, incluindo refrigerantes, sucos, manteiga, conservas, queijos, doces, cereais matinais, sorvetes, sobremesas, lanches, molhos e rações para peixes e aves (Peña *et al.*, 2023). A maior parte atualmente são obtidos a partir de vegetais e microalgas, contudo essas fontes enfrentam desafios, desde instabilidade até requisitos complexos de produção e processamento, portanto, processos biotecnológicos surgem como alternativa (Rodríguez-Amaya *et al.*, 2023a).

3.3 PRODUÇÃO DE CAROTENOIDES POR LEVEDURAS

A aplicação de técnicas evolutivas na engenharia de bioprocessos para produção de alimentos aumenta a aceitação pública, sendo vista como mais natural. Com a crescente demanda por carotenoides nos setores alimentício, nutracêutico, de ração animal e farmacêutico, intensificaram-se as pesquisas para produzir carotenoides conhecidos e novas moléculas, utilizando o cultivo de leveduras em substratos específicos, oferecendo alternativas sustentáveis e inovadoras (Teodoro *et al.*, 2021). Assim tem-se a produção de carotenoides por algumas leveduras apresentadas na Tabela 1.

Tabela 1: Produção de carotenoides por leveduras

Microrganismo	Substratos do meio de cultivo	Resultados	Concentração (mg.L⁻¹)	Referências
<i>Rhodotorula minuta</i> URM6693	Glicerina residual e sulfato de amônio	β-caroteno	1,021	(da Silva <i>et al.</i> , 2020)
<i>Escherichia coli</i> CAR026	Glicerol com meio de Luria-Bertani (LB): Triptona, Extrato de levedura, Cloreto de sódio, Ágar (quando sólido).	Astaxantina	26 Batelada alimentada: 1180	(Gong <i>et al.</i> , 2020)
<i>Chlamydomonas reinhardtii</i>	Meio TAP (Tris–Acetato–Fósforo)	Zeaxantina	6,84	(Song <i>et al.</i> , 2020)
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	Meio YPD (extrato de levedura, peptona, D-glicose)	Luteína	19,92	(Bian <i>et al.</i> , 2023)
<i>Rhodospiridium toruloides</i> G17	Melaço de cana de açúcar, ureia, Sulfato de magnésio heptahidratado	Astaxantina	1,26	(Tran <i>et al.</i> , 2023)
<i>Rhodotorula sp.</i> CP72-2	Meio YM em água deionizada: glicose, peptona (bacteriológica), extrato de malte, extrato de levedura	Astaxantina	1,73	(Kingkaew <i>et al.</i> , 2023)
<i>Rhodospiridium toruloides</i> G17	Açúcar total do hidrolisado de batata, ureia, sulfato de magnésio	Astaxantina	2,18	(Duan <i>et al.</i> , 2024)
<i>Rhodotorula toruloides</i> L/24-26-1	Melaço de cana-de-açúcar pré- tratado	β-caroteno	13,31	(Ochoa-Viñals <i>et al.</i> , 2024)

3.3.1 Produção de carotenoides por *Phaffia rhodozyma*

Dentre as leveduras carotenogênicas tem-se *P. rhodozyma*, levedura do grupo dos basidiomicetos descoberta nos exsudatos de arvores do Alasca e Japão no ano 1960, este microrganismo é a forma telemórfica de *Xanthophyllomyces dendrorhous*, e não requer luz para acumular metabólitos quando comparado a outros microrganismos (Gupta *et al.*, 2022). Essa levedura é de grande interesse biotecnológico por sua capacidade de sintetizar astaxantina e β -caroteno, carotenoides de alto valor econômico, sendo que mais de 80% da produção é astaxantina em condições aeróbicas (Stoklosa *et al.*, 2019). Para a síntese e acúmulo de astaxantina é necessário um meio de cultivo que apresente mais de 20% de oxigênio (Flores-Cotera *et al.*, 2021), já que a produção de carotenoides, no metabolismo secundário, está relacionada à taxa de transferência de oxigênio e pode ser estimulada por maior atividade respiratória (Liu; Wu; Ho, 2006; Menegazzi *et al.*, 2020). Os carotenoides intracelulares, funcionam como antioxidantes e auxiliam no crescimento e sobrevivência em ambientes oxidativos, sendo que menores temperaturas mantem o poder antioxidantes e efeito contrário observado em altas temperaturas (Silva; Burkert; Santos, 2024a).

Os interesses da indústria na levedura são maiores devido ao status *GRAS* concedido pela FDA em 2000 (Cipolatti *et al.*, 2015; Urnau *et al.*, 2019; Silva *et al.*, 2022). Alguns autores como Mussagy *et al.* (2024) destacam a facilidade de cultivo, falta de limitações sazonais, versatilidade metabólica e baixos requisitos nutricionais no crescimento da levedura. Entretanto, argumentam que desafios de processamento e custo elevados para cultivo restringem sua aplicação em larga escala na indústria, sendo necessário novas abordagens para superar estes desafios. A Tabela 2 apresenta a produção de carotenoides por diferentes cepas de *P. rhodozyma* em diferentes condições de processo.

Tabela 2: Carotenoides produzidos por *P. rhodozyma*

Microrganismo	Substratos do meio de Cultivo	Condições de cultivo	Resultados	Referências
<i>P. rhodozyma</i> NRRL-Y 17268	Meio YM (glicose, malte, peptona e extrato de levedura)	Agitador tipo <i>shaker</i> 168 h, 25°C, 180 rpm, pH inicial 6,0	Biomassa: 4,4 g.L ⁻¹ , Carotenoides totais expressos como Astaxantina: 272 µg.g ⁻¹ β-caroteno: 213,8 µg.g ⁻¹	(Cipolatti <i>et al.</i> , 2015)
<i>P. rhodozyma</i>	Meio 1 (M1): YM (glicose, malte, peptona e extrato de levedura), Meio 2 (M2): Água de coco, extrato de broto de feijão verde e melaço. Meio 3 (M3): Água de coco e sacarose.	Agitador tipo <i>shaker</i> 168 h, 22°C, 150 rpm	Biomassa- M1: 3 g.L ⁻¹ ; M2: 5,80 g.L ⁻¹ ; M3: 10,75 g.L ⁻¹ Astaxantina- M1: 459,08 µg.g ⁻¹ ; M2: 3,44 µg.g ⁻¹ ; M3: 2,38 µg.g ⁻¹ β-caroteno: M1: 22,85 µg.g ⁻¹ ; M2: 47,86 µg.g ⁻¹ ; M3: 18,40 µg.g ⁻¹	(Nurkanto <i>et al.</i> , 2021)
<i>P. rhodozyma</i> AS2 1557	Meio YPD (extrato de levedura, peptona, D-glicose) com ácido salicílico	Agitador tipo <i>shaker</i> : 96 h, 22°C, 300 rpm	Biomassa: 6,6 g.L ⁻¹ Astaxantina: 2,3 mg.L ⁻¹	(Jia <i>et al.</i> , 2023)
<i>P. rhodozyma</i> NRRL Y17268	Meio YM (glicose, malte, peptona e extrato de levedura) com campos magnéticos	Agitador tipo <i>shaker</i> 168 h, 25°C, 180 rpm, pH inicial 6,0, 30 mT	Biomassa: 6,56 g.L ⁻¹ Astaxantina: 1,59 mg.L ⁻¹	(Silva; Burkert; Santos, 2024b)

3.3.2 Cultivos em biorreator com *P. rhodozyma*

Para resolver problemas de ampliação de escala os biorreatores são equipamentos aonde se realizam reações sob condições controladas para o crescimento celular. Parâmetros como temperatura, pH e oxigênio dissolvido, além de garantir a homogeneização do meio de cultura são controlados nesses equipamentos. O tanque agitado é o modelo mais utilizado em laboratórios e indústrias, com um design cilíndrico e impelidores fixados a um eixo central, cuja rotação é controlada por um motor posicionado acima ou abaixo do tanque (Schmidell *et al.*, 2021). Estes sistemas são fundamentais para controlar o estresse oxidativo e possibilitar a produção em larga escala, otimizando cultivos microbianos.

Quando estes sistemas são associados a ferramentas como a Metodologia de Superfície de Resposta (RSM), eleva-se de forma significativa o rendimento de culturas microbianas e soluciona limitações de escalabilidade, viabilizando a produção industrial (Mahamad *et al.*, 2025). A utilização de resíduos, subprodutos ou coprodutos agroindustriais como substratos para meios de cultivo tem se mostrado uma alternativa econômica e sustentável, aproveitando nutrientes alternativos, reduzindo custos e impactos ambientais (França; Silva, 2021). O Brasil, com sua ampla diversidade de coprodutos agroindustriais, oferece grande potencial para transformá-los em produtos de alto valor agregado (Machado; Burkert, 2015; Borro *et al.*, 2023). Esses substratos podem ser aproveitados em reatores para aprimorar bioprocessos, fornecendo nutrientes fundamentais para o crescimento de microrganismos como *P. rhodozyma*, impulsionando a produção de produtos de alto valor agregado, como carotenoides. A Tabela 3 apresenta algumas cepas de *P. rhodozyma* cultivadas em biorreatores em diferentes condições.

Tabela 3: Cultivo de *P. rhodozyma* em biorreator de bancada

Microrganismo	Substratos do meio de cultivo	Condições de cultivo	Tipo de biorreator	Resultados	Referências
<i>P. rhodozyma</i> NRRL Y-17268	Água de maceração de milho, água parboilizada de arroz, glicerol bruto e extrato de levedura	25°C, 250 rpm e 1,5 vvm, 96 h	Biorreator de bancada do tipo tanque agitado	Biomassa: 2,75 g.L ⁻¹ Carotenoides totais: 2380µg.L ⁻¹	(Urnau <i>et al.</i> , 2019)
<i>P. rhodozyma</i> CBS 6938	Meio YM (glicose, malte, peptona e extrato de levedura)	20°C, 250 rpm e batelada alimentada	Biorreator de bancada do tipo tanque agitado	Carotenoide totais: 1 g.L ⁻¹ Biomassa: 100 g.L ⁻¹	(Luna-Flores <i>et al.</i> , 2022)
<i>P. rhodozyma</i> NRRL Y-17268	YM com campos magnéticos	22°C, 1 vvm, 300 rpm, 96 h, 140 mT	Biorreator de bancada do tipo tanque agitado	Biomassa: 8,1 g.L ⁻¹ , β- caroteno:4,67 mg.L ⁻¹ astaxantina: 4,51 mg.L ⁻¹	(Silva <i>et al.</i> , 2023a)
<i>P. rhodozyma</i> SFAS-TZ08	suco de batata doce	20°C, 120h, 400 rpm, 1,17 vvm	Biorreator de bancada do tipo tanque agitado	Biomassa: 45,2 g.L ⁻¹ , Carotenoides: 19,50 mg.L ⁻¹	(Zhang <i>et al.</i> , 2023a)
<i>P. rhodozyma</i> NRRL Y-17268	Meio YMP	22°C, 1 vvm, 300 rpm, 168 h, 50 W, feixe de luz de 75 lm. W ⁻¹ , temperatura de cor de 6500 K	Biorreator de bancada do tipo tanque agitado	Astaxantina :17, 75 µg.g ⁻¹ β-caroteno 67,90 e 65,01 µg.g ⁻¹	(Mussagy <i>et al.</i> , 2024b)

3.3.3 Melaço de soja

O melaço de soja é um coproduto espesso e rico em carboidratos, tem aspecto líquido e marrom, gerado durante a produção de extrato proteico da soja por meio da extração de açúcares da soja desengordurada com água e etanol (Tschope *et al.*, 2024). Para cada tonelada de farelo de soja obtêm-se cerca de 232 kg de melaço de soja, este coproduto tem cerca de 70% de proteína, e uma alta concentração de açúcares, sendo seus principais sacarose, estaquiose e rafinose e quantidades menores de monossacarídeos, como glicose, frutose e galactose, além disso possui fitoquímicos, lipídeos, minerais e ácidos fenólicos na composição (Fernandes *et al.*, 2024). Esse coproduto tem potencial para diversas aplicações, atuando como um concentrado energético eficiente e como uma alternativa promissora ao milho na nutrição animal (Tschope *et al.*, 2024). No processo biotecnológico o uso como substrato para cultivo tem se tornado promissor, devido ao seu baixo custo e a sua composição favorável ao desenvolvimento microbiano (Ferreira Filho; Burkert; Burkert, 2025).

Este substrato vem sendo utilizado pelo grupo de pesquisa, no cultivo de bactérias diazotróficas. Natividade *et al.* (2025) estudaram diferentes cepas das bactérias *Bradyrhizobium* e *Rhizobium* para produzir biomassa bacteriana com potencial de inoculante agrícola na cultura de feijão, sendo a *Bradyrhizobium yuanmingense* SEMIA 6462 selecionada e cultivada com 100 g.L⁻¹ de melaço de soja, 0,8 g.L⁻¹ de extrato de levedura, 0,45 g.L⁻¹ de cloreto de sódio e 0,3 g.L⁻¹ de cloreto de cálcio dihidratado e condições otimizadas aumentaram a produção em 604,93% de biomassa quando comparada ao cultivo inicial, além de reduzir custos em 70% na sua produção. Quanto a produção de EPS (Exopolissacarídeos) autores como Oliveira *et al.* (2020), visaram substituir o manitol pelo melaço de soja no cultivo de bactérias diazotróficas. Utilizando uma concentração de 10 g.L⁻¹, pH 7,0, temperatura de 30°C e agitação de 200 rpm, observando um rendimento superior de EPS em comparação ao cultivo com manitol nas mesmas condições. Além disso, Ferreira Filho, Burkert e Burkert (2025) também utilizaram esse substrato com o objetivo de ampliar a produção de EPS em biorreator de bancada operado em batelada alimentada. Nesse estudo, foram determinadas as condições ideais de agitação e aeração, 200 rpm e 1,25 vvm, que resultaram em um aumento de 67% na produção em comparação à batelada simples. Observou-se ainda que não foi necessária a adição de extrato de levedura como fonte de nitrogênio, uma vez que o melaço de soja, rico nesse nutriente (9,37%), já atendia à demanda, contribuindo para a redução do custo do substrato. Por outro lado, verificou-se a necessidade de suplementação com sais minerais. Além disso, embora

o aumento da concentração de melaço de soja de $30 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ para $50 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ tenha favorecido o crescimento celular, esse incremento acabou por inibir a produção de EPS.

A produção com leveduras no grupo de pesquisa tem-se a Brandão *et al.* (2023) que demonstrou o potencial do melaço de soja para a produção de carotenoides por *R. mucilaginosa* em frascos agitados avaliando 50, 100 e $150 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ de melaço de soja sob condições de 25°C , pH inicial 6,0 e agitação a 180 rpm. Os autores observaram um incremento da produção de biomassa e carotenoides com o aumento da concentração de melaço de soja conseguindo a concentração de biomassa de $14,39 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ para $150 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$, com a concentração de $1262,16 \text{ }\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ de carotenoides totais expressos em β -caroteno, mostrando assim a viabilidade de melaço de soja para cultivo da levedura.

Outras pesquisas como a de Pacheco *et al.* (2025) estudou o desempenho do melaço de soja em 4 leveduras, *P. rhodozyma*, *R. mucilaginosa*, *Picchia fermentus*, *Sporodiobolus pararoseus*. O cultivo foi realizado em agitador tipo *shaker* nas condições de 25°C , 180 rpm, pH inicial de 6. Com isso se teve a maior produção biomassa e carotenoides com meio melaço de soja quando comparado ao meio YM (extrato de levedura, malte, glicose e peptona), além disso quando se aumentou a concentração de melaço de soja para $150 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ obteve-se, $15,73 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ de biomassa após 96h e carotenoides de $252,55 \text{ }\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ e $159,97 \text{ }\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ após 192h expressos como astaxantina e β -caroteno, respectivamente. Assim, demonstrando que o melaço de soja usado como substrato único é um potencial promissor para o cultivo de *P. rhodozyma*.

3.4 SECAGEM DE ALIMENTOS

A secagem é um processo que envolve a transferência conjunta de calor e massa, resultando na redução da umidade presente no alimento (Geankoplis, 1993). Embora diversas técnicas de secagem tenham sido exploradas, ainda não há consenso sobre a técnica mais eficaz devido à variedade de matérias-primas alimentares. A escolha do método e dos equipamentos depende do nível de produção e da qualidade desejada do produto (Gomes *et al.*, 2022; Silva *et al.*, 2020). A secagem conserva alimentos, reduz custos, preserva compostos aromáticos, impede degradação enzimática e dispensa refrigeração (Martins *et al.*, 2020).

A maior parte de pesquisa sobre secagem para microrganismos para a preservação se baseia na liofilização, este método garante a viabilidade de agentes biológicos por longos períodos através do congelamento e da sublimação das células (Has *et al.*, 2020). Com tudo esta técnica possui várias limitações, que vão desde altos custos até impossibilidade de aplicações em grande escala industrial (Kang *et al.*, 2025).

Assim muitos autores tem ampliado pesquisas sobre secagem de leveduras como alternativa da liofilização. Entre estes estudos tem-se Muenaram *et al.* (2024) que secaram *Lactobacillus acidophilus* TISTR 1338 em estufa a vácuo nas seguintes condições 40°C e 100 mbar resultando em um teor de umidade de 9,89%. Este método de secagem refletiu positivamente na estabilidade da viabilidade das células a 4°C em 10^6 CFU.g⁻¹ por até quatro meses e quando armazenadas a 30°C ocorreu um declínio em sete dias, concluindo que a secagem a vácuo preservou efetivamente este microrganismo.

Outros estudos de secagem em leveduras como a de Kang *et al.* (2025) avaliou o leito fluidizado na secagem de *Sacharomyces cerevisiae* ReY4-7 (KFCC11964P) a uma temperatura de 50°C por 41,45 minutos, alcançando um teor de umidade de 6,65% e uma viabilidade de células de 10,28 log CFU.g⁻¹, mostrando-se eficiente para a produção de fermento seco, apropriado para múltiplas aplicações nas indústrias alimentícia e de fermentação, em grande escala.

No caso das leveduras carotenogênicas, ainda existem poucos estudos disponíveis, entre os quais se destaca o de Pinheiro *et al.* (2020) que usaram uma estufa de circulação de ar com uma espuma estabilizante aplicada na biomassa da levedura *Rhodotorula glutinis*. Essa técnica contribui para a secagem de produtos sensíveis, configurando-se como uma alternativa à secagem por *spray drying* e à liofilização. Para isso as condições de secagem foram otimizadas, sendo verificado que a melhor condição ocorreu a 70°C por 100 minutos, com 20% de espumante e 4 minutos de agitação, resultando em rendimento teórico do pó da biomassa da levedura *R. glutinis* de 35,0% e atividade de água de 0,455. Entretanto, quando se empregaram 6 minutos de agitação e 130 minutos de secagem, obteve-se maior estabilidade, com atividade de água de 0,207, embora nessa condição o rendimento tenha sido inferior. Sendo assim este estudo mostrou-se viável para a secagem da biomassa de *R. glutinis*, permitindo obter um pó estável, solúvel, com preservação de nutrientes e potencial aplicação como suplemento proteico, vitamínico e fonte de carotenoides.

3.4.1 Secagem em Leito de jorro

O secador de leito de jorro é eficiente e de baixo custo, adequado para secagem de materiais termossensíveis e pastas, com altas taxas de transferência de calor e massa (Paiva *et al.*, 2021). Variáveis como a taxa de circulação dos sólidos, velocidade do ar e vazão de alimentação são essenciais para o sucesso do processo, impactando a eficiência e qualidade do produto final (Lopes *et al.*, 2006; Passos; Mujumdar, 2000).

Segundo Freire (1992) e Oliveira (2006), o controle preciso das condições operacionais e a interação entre variáveis fluidodinâmicas e as características do material são fundamentais para garantir uma transferência eficiente de calor e massa. Esses fatores impactam diretamente no desempenho do secador e nas propriedades do produto final, sendo essenciais para otimizar o processo de secagem e assegurar que o produto atenda às especificações desejadas.

Esta técnica de secagem apresenta menor custo operacional, elevada capacidade de processamento e potencial para aplicação em larga escala, sendo particularmente eficiente no tratamento de materiais pastosos e na obtenção de produtos em pó de alta qualidade. O secador de leito de jorro destaca-se por sua eficiência energética, que pode ser mais que o dobro da observada no secador por pulverização. Além disso, constitui uma alternativa intermediária entre a liofilização e métodos como o *spray drying*, conciliando eficiência, preservação de compostos e viabilidade econômica (Marreto, 2006)

Estudos com pigmentos foram realizados por autores tais como: Oliveira *et al.* (2008) que avaliaram a secagem de *Spirulina platensis* e monitoraram a ficocianina da microalga. A secagem foi conduzida com pasta da microalga a 5% de concentração, taxa de alimentação de 4 kg/h.kg de inerte, circulação de ar de 1,8 e temperaturas de 110°C e 98°C, resultando em saída em torno de 70°C. A solubilidade proteica em água manteve-se estável em cerca de 37% após secagem no leito de jorro, o processo alcançou a recuperação de 28% e acúmulo de 65% em 110°C e para 98°C alcançou 10% e 84% respectivamente, sendo que a ficocianina foi mais bem preservada em 110°C. O processo também garantiu a redução da umidade a níveis comerciais, preservando pigmentos e proteínas de forma eficaz.

A secagem de leveduras foi estudada por Rocha *et al.* (2008), com *S. cerevisiae* a 70% de umidade inicial e 50% de proteína bruta, usando ar a 43°C, 65% de umidade relativa, por 1h40 em cinco alimentações intermitentes. A concentração de levedura variou entre 1,2% e 6,8% da massa inerte e a velocidade do ar foi de 1,1 a 1,3 vezes a mínima de jorro (0,1676 m/s). Tendo eficiências que variaram de 40% a 90%, estabilizando-se após a terceira alimentação, exceto em concentrações muito altas ou baixa velocidade do ar. A taxa de produção aumentou com velocidades maiores e levedura em proporção moderada, sendo ideais cerca de 6% de levedura e 0,220 m/s, alcançando mais de 0,2 g/min. O produto final apresentou 50–53% de proteína e 11–31% de umidade, confirmando que o secador de leito de jorro permite a obtenção de levedura seca de qualidade para suplementação proteica com boa perspectiva industrial.

3.5 COMPOSIÇÃO PROXIMAL DE BIOMASSAS MICROBIANAS

A segurança alimentar diz respeito a qualidade nutricional, a proteção da saúde pública e os aspectos sociais, econômicos e ambientais relacionados à produção e ao consumo de alimentos. Essa abordagem integral é fundamental para assegurar o direito humano a uma alimentação adequada e saudável (Lisbôa; Fonseca, 2020). Sendo sustentada por práticas que garantem que os alimentos sejam mantidos sem riscos de contaminação microbiológica, química ou física (Pandolfi *et al.*, 2020). Dentre essas tem-se a análise da composição proximal que é fundamental para caracterizar alimentos, otimizar processos, criar tabelas nutricionais e assegurar a qualidade, verificando componentes como umidade, proteínas e lipídeos e garantindo conformidade com padrões nutricionais e legais (Soligo *et al.*, 2022), uma vez que são fatores cruciais que influenciam sua adequação e segurança como ingrediente alimentar (Graziani *et al.*, 2012). Essas informações são complementares para garantir a segurança alimentar.

3.6 OBTENÇÃO DE BIOPRODUTOS

Bioprodutos são produtos derivados de biomassa, que vem de materiais orgânicos como plantas, algas e resíduos, utilizando fermentação ou processos enzimáticos obtidos por meio de vários processos de conversão, incluindo conversão bioquímica (digestão anaeróbica, fermentação) e conversão termoquímica (pirólise, gaseificação, liquefação hidrotérmica). Esses métodos transformam a biomassa em diferentes formas de energia e produtos valiosos (El-Araby, 2024).

Os compostos químicos obtidos por esses métodos representam um mercado de US\$ 15 bilhões, com destaque para biopolímeros e químicos convencionais produzidos de forma biológica, com um crescimento anual estimado de 8%. Para expandir a produção de biocombustíveis e bioprodutos, é necessário que tecnologias-chave que superem o estágio piloto (Coutinho; Bomtempo, 2011; Moraes, 2018).

Os bioprodutos que se podem obter de leveduras vão desde proteínas recombinantes, enzimas, ácidos orgânicos, lipídeos, polióis, pigmentos e compostos bioativos (como terpenoides, fenilpropanoides e alcaloides), com aplicações nas áreas alimentar, farmacêutica, energética e industrial (Shrivastava; Pal; Sharma, 2023).

3.6.1 Óleo microbiano

Óleos unicelulares ou lipídeos microbianos são produtos de biomassa de microrganismos oleaginosos, que incluem bactérias, leveduras, fungos filamentosos e microalgas. Estes microrganismos têm a capacidade de acumular lipídeos intracelularmente em concentrações superiores a 20% do seu peso seco, podendo chegar a até 80% em condições específicas. Esses lipídeos, apresentam grande potencial como alternativa sustentável para a produção de biocombustíveis de hidrocarbonetos intermediários. Além disso, os microrganismos oleaginosos podem coproduzir outros compostos de interesse biotecnológico, tornando-os candidatos ideais para processos integrados de biorrefinaria, que visam otimizar a produção de múltiplos produtos a partir de uma única fonte microbiana (Gallego-García *et al.*, 2023). Entre os microrganismos produtores de lipídeos tem-se as leveduras carotenogênicas que além de produzir lipídeos de alto valor, produzem também carotenoides.

Estudos com lipídeos foram pesquisados por Rodrigues *et al.* (2025) com *Rhodotorula mucilaginosa* CCT 7688 cultivada em melaço de cana de açúcar e água de maceração de milho, alcançando o teor de lipídeos intracelulares de 46,7% e 6,4 g.L⁻¹ de biomassa em 120h de cultivo, dos quais o ácido oleico (média de 60 a 78%), seguido pelo ácido palmítico (média de 14 a 24%) foram encontrados majoritariamente. Outros estudos com a mesma levedura foram realizados por Arrieira *et al.* (2025) que produziram óleo microbiano para elaboração de oleogéis obtendo no lipídeo extraído apresentou 41,1 µg.g⁻¹ de carotenoides totais e teor de lipídeos de 23,8%, com perfil graxo similar a Rodrigues *et al.* (2025) sendo o ácido oleico com 54,67% o majoritário. Outro estudo com *Lipomyces starkeyi* cultivadas em ramas de batata doce hidrolisadas obtiveram 15,88% de lipídeo e 20,91 g.L⁻¹ de biomassa celular (Feitosa da Silva *et al.*, 2025). Demonstrando, portanto, que é viável produzir lipídeos por meio de rotas biotecnológicas e aplicá-los na indústria, seja na forma de óleos microbianos ou biocombustíveis.

3.6.2 Produtos com adição de biomassa de *P. rhodozyma*

Outro produto das leveduras é o uso de biomassa composta por proteínas, carboidratos, minerais, RNA e lipídeos totais (Caballero-Córdoba; Pacheco; Sgarbieri, 1997) .

Entre os artigos que aplicaram a biomassa de *P. rhodozyma* encontra-se Mussagy *et al.* (2023a) que utilizaram a biomassa após a extração de carotenoides na produção de biogás como metano obtendo o potencial de geração de 86,88 kWh.ano⁻¹, 225.774,95 kcal.ano⁻¹ e 10287,53 kg/ano de eletricidade, sugerindo que a biomassa é benéfica para a produção de biogás.

Mai *et al.* (2024) cultivaram a *P. rhodozyma* em tabaco para melhorar as qualidades sensoriais, tendo os componentes aromáticos importantes, como álcoois, cetonas e ésteres, aumentados em 37,39%, 265,39% e 266,27%, respectivamente. A avaliação sensorial revelou melhora de 0,5 ponto em aroma e sabor, 1 ponto em sabor e 1,5 pontos na avaliação global, resultando em 83,0 pontos, com características desejáveis como doçura torrada, fumaça elegante e aroma frutado. Mostrando que a fermentação com *P. rhodozyma* poderia melhorar efetivamente a avaliação sensorial e qualidade do tabaco. Estudos em alimentos com adição de biomassa de *P. rhodozyma* ainda precisam ser explorados para o aproveitamento integral deste bioproduto.

3.6.3 Produtos alimentícios com adição de biomassa microbiana

A aplicação de biomassa microbiana em alimentos tem focado em microalgas como *Chlorella vulgaris*, *Spirulina platensis*, *Tetraselmis suecica*, *Scenedesmus almeriensis* e *Nannochloropsis gaditana* (Carnevali, 2018). Um exemplo é o estudo de Paternina *et al.* (2022), que desenvolveu balas de goma enriquecidas com *Spirulina* e açaí, testando concentrações de 5%, 3% e 1% de biomassa da microalga, utilizando gelatina, ácido cítrico, polpa de açaí liofilizada, maltitol, eritritol e isomalte em pó. A preparação envolveu a mistura e o aquecimento dos políois a 130°C, a dissolução da gelatina em banho-maria a 60°C por 20 min. a homogeneização manual da mistura por 2 min e o resfriamento a 40°C antes da adição de biomassa de *Spirulina*, polpa de açaí e ácido cítrico, seguido de resfriamento a 7°C.

De acordo com Almeida *et al.* (2018) os principais derivados de leveduras incluem alimentos instantâneos e funcionais, usados em massas, biscoitos e bebidas como suplementos nutricionais ou corantes naturais. No Brasil, o investimento em leveduras nutricionais é limitado, refletido no baixo número de patentes em comparação a países como China e Reino Unido, destacando uma oportunidade de mercado. A ausência de patentes pode ser atribuída à preferência por manter tecnologias como segredos industriais (Evangelista *et al.*, 2022). A biomassa de levedura pode ser utilizada de forma integral (ativa ou inativa) ou por seus componentes, como produtos da parede e conteúdo celular. Embora não se fixem ao trato intestinal nem se multipliquem rapidamente, as células de levedura atuam como probióticos, ajudando no combate a microrganismos patogênicos. Derivados, como levedura autolisada e polissacarídeos da parede celular, são amplamente empregados como suplementos alimentares (Costa, 2004; Zanello, 2023).

A aplicação de carotenoides de leveduras em alimentos ainda é limitada na literatura, com a maioria das pesquisas abordando em processos de extração e estabilidade dos carotenoides. Embora a astaxantina, um carotenoide importante, seja majoritariamente produzida pela microalga *Haematococcus pluvialis*, reconhecida como a principal fonte natural e amplamente utilizada em alimentos, rações e nutracêuticos (Chen *et al.*, 2024), a produção de carotenoides em leveduras oferece vantagens significativas.

Devido à sua estrutura unicelular, crescimento rápido e uso de matérias-primas econômicas, as leveduras podem proporcionar custos de produção mais baixos e rendimentos superiores em comparação com fontes vegetais e algas, já que o cultivo de microalgas dura em torno de 20 dias, em contrapartida as leveduras possuem um cultivo em torno de 7 dias (Sinha *et al.*, 2023). Esse cenário revela uma oportunidade promissora para o desenvolvimento de produtos alimentícios enriquecidos com astaxantina, explorando seus benefícios nutricionais e funcionais.

Entre os estudos relevantes com carotenoides Diprat *et al.* (2019) adicionaram *Chlorella sorokiniana* em pão sem glúten nas concentrações de 2,5% e 5% (baseadas em amido de milho e farinha de arroz). A fermentação ocorreu por 50 min a 32°C, seguida de forneamento por 12 min. a 220°C (2,5%) e 15 min a 180°C (5%). A adição de biomassa de microalga ao pão aumentou a concentração de carotenoides, alcançando 57,5 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ de luteína na formulação com 5% e a degradação da luteína foi menor com assados a altas temperaturas por curto período.

Outro estudo como o de Stoll *et al.* (2019) investigaram a incorporação de carotenoides (β - caroteno, licopeno, bixina) em filmes de PLA (poli ácido láctico). Carotenoides extraídos de cenouras, tomates e urucum foram misturados a soluções de PLA (5% em clorofórmio) até 100 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$. Após evaporação do solvente por 24 h no escuro e secagem a 40°C por 6 h, os filmes com licopeno e β -caroteno exibiram boas propriedades de barreira e liberação antioxidante, enquanto os com bixina se destacaram como embalagem ativa para proteger óleo de girassol.

3.7 BALAS DE GELATINA

As balas de goma constituem uma ampla classe de confeitos de baixa cocção e elevado teor de umidade, geralmente superior a 20%, cuja textura é determinada pelo agente gelificante empregado, podendo incluir goma arábica, ágar, gelatina, pectina e amidos especiais. No Brasil, entretanto, a fabricação de balas gelificadas ocorre predominantemente com amidos, enquanto os produtos à base de gelatina ainda representam uma pequena parcela das vendas de balas e confeitos, embora apresentem potencial de crescimento (Garcia; Penteado, 2005).

As balas de goma são confeitos populares devido à sua textura macia, facilidade de mastigação e sabores agradáveis, sendo especialmente consumidas por crianças e adolescentes. Entretanto, as versões tradicionais costumam ter baixo valor nutricional e elevado teor de açúcar, o que está relacionado a problemas de saúde, como obesidade, cáries e diabetes. Com isso tem se procurado formulações mais saudáveis e com baixo teor de açúcar (Pizzoni *et al.*, 2015).

As balas de gelatina apresentam grandes vantagens no uso para suplementação uma vez que possuem grande interesse por parte dos consumidores, podendo, portanto, ser consideradas uma alternativa para substituir os doces tradicionais, oferecendo a contribuição nutricional das frutas, sem conservantes artificiais e sem adição de açúcares (Rivero *et al.*, 2023). Tornando-se assim um grande aliado para adição de bioprodutos e substituição de corantes sintéticos por naturais com propriedades de saúde.

CAPÍTULO III

4 DESENVOLVIMENTO DO TRABALHO

Este estudo foi estruturado em três artigos, sendo que no primeiro artigo foi abordado a secagem da biomassa de *P. rhodozyma* por leito de jorro visando encontrar métodos de conservação da biomassa microbiana para futuras aplicações. O segundo artigo foi focado no óleo microbiano obtido da biomassa de *P. rhodozyma*, avaliando o potencial do melaço de soja para produzir este bioproduto, assim como avaliar a qualidade nutricional através do seu perfil de ácidos graxos e parâmetros físico-químicos. O artigo 3 vem apresentando a aplicabilidade da biomassa microbiana em balas de goma avaliando seu potencial como corante alimentício.

Artigo 1: Leito de jorro como método de secagem da biomassa de *Phaffia rhodozyma* cultivada em melaço de soja: Preservação, caracterização e estabilidade.

PONCE, S. D. C.; HAN, L. H.; PINTO, L. A. A.; BURKERT, C. A. V.; BURKERT, J.F.M

Artigo 2: Melaço de Soja: Sustentabilidade na produção de óleo microbiano por *Phaffia rhodozyma*

PONCE, S. D. C.; HAN, L. H.; PINTO, L. A. A.; BURKERT, C. A. V.; BURKERT, J.F.M

Artigo 3: Biomassa de *Phaffia rhodozyma* cultivada em meio agroindustrial: Potencial como corante alimentício em bala de goma

PONCE, S. D. C.; BURKERT, C. A. V.; BURKERT, J.F.M

ARTIGO 1

“LEITO DE JORRO COMO MÉTODO DE SECAGEM DA BIOMASSA DE
Phaffia rhodozyma CULTIVADA EM MELAÇO DE SOJA: PRESERVAÇÃO,
CARACTERIZAÇÃO E ESTABILIDADE”

PONCE, S. D. C.; HAN, L. H.; PINTO, L. A. A.; BURKERT, C. A. V.; BURKERT, J.F.M

LEITO DE JORRO COMO MÉTODO DE SECAGEM DA BIOMASSA DE
Phaffia rhodozyma CULTIVADA EM MELAÇO DE SOJA: PRESERVAÇÃO,
CARACTERIZAÇÃO E ESTABILIDADE

PONCE, S. D. C.; HAN, L. H.; PINTO, L. A. A.; BURKERT, C. A. V.; BURKERT, J.F.M

RESUMO

Carotenoides são pigmentos de interesse industrial devido aos benefícios a saúde. *Phaffia rhodozyma* é uma levedura vermelha, produz astaxantina e β -caroteno, sendo considerada GRAS e cresce com facilidade em melaço de soja um coproduto agroindustrial. A aplicação desta levedura requer produção em escala e métodos eficientes de conservação. Este estudo avaliou o leito de jorro para secar biomassa de *P. rhodozyma*, comparando-o com a liofilização quanto a recuperação de carotenoides, composição proximal, estabilidade e cor. O cultivo microbiano ocorreu em biorreator de 5L com 100 g.L⁻¹ de melaço de soja a 25°C, 300 rpm, 1vvm e pH inicial de 6,0. A biomassa foi recuperada por centrifugação e seca em leito de jorro com temperatura de entrada 95°C, temperatura de saída 65°C e taxa de alimentação de 0,2 kg. h⁻¹. O processo de liofilização da biomassa ocorreu a -55°C, 50 µg por 48h. Os carotenoides foram quantificados por espectrofotometria, a cor por CIELAB, a caracterização foi realizada por FTIR e análise centesimal, e a estabilidade foi avaliada por 90 dias. A concentração de biomassa durante o cultivo microbiano alcançou em 144h 12,59 g.L⁻¹ e após a secagem no leito de jorro foi obtido de β -caroteno: 179,9 µg. g⁻¹ e astaxantina: 292,0 µg. g⁻¹ sendo estes valores superiores a liofilização. Além de 23,3% de proteína, 37,0 %, carboidrato, lipídeo 34,9%, cinza de 4,8% e um teor de umidade de 3,9%. O FTIR contribuiu para a caracterização das macromoléculas na biomassa, além da mesma apresentar tons vermelho-amarelado. Durante a conservação da biomassa por 90 dias na temperatura ambiente ocorreram perdas de 65,6% em β -caroteno e 66,3 % de astaxantina, porém, o processo de refrigeração minimizou essas perdas em 7,4% e 24,0%, respectivamente. Dessa forma, o leito de jorro mostra-se eficiente como técnica para secar biomassa de *P. rhodozyma*, sendo a refrigeração no armazenamento a responsável pela estabilidade de sua cor.

Palavras-chaves: Umidade, Carotenoides, Conservação de pigmento, Termosensíveis, FTIR.

1 INTRODUÇÃO

Os carotenoides são compostos de pigmentação vermelha, laranja e amarela derivados de plantas, microrganismos e algas. Seu uso como corantes alimentares é reconhecido pela coloração que oferecem e destacam-se por benefícios à saúde (Rodriguez-Amaya *et al.*, 2023b). Esses pigmentos lideram o mercado e as pesquisas demonstrando sua forte presença no mercado alimentar. Na indústria alimentícia, o uso ocorre como tendência estratégica em alimentos

processados. Porém, devido à demanda dos consumidores por produtos naturais e às preocupações com os efeitos do consumo de corantes artificiais na saúde, os carotenoides microbianos surgem como alternativa. (Durazzo *et al.*, 2022).

A produção deste pigmento pelas rotas biotecnológicas tem sido de maior destaque devido as vantagens do cultivo em comparação a outras fontes (Viana; Adorno; Santos, 2022b). Alguns dos microrganismos produtores de carotenoides são microalgas, bactérias e leveduras. Com destaque para *Phaffia rhodozyma*, levedura de metabolismo heterotrófico, taxa de crescimento rápida, alta adaptabilidade, ótimo desenvolvimento em diferentes fontes de carbono e reconhecida como GRAS (*Generally Recognized as safe*) (Silva *et al.*, 2020). Estudos sobre esta levedura tem explorado meios agroindustriais para maior produção de pigmentos carotenogênicos de forma mais sustentável. Entre eles destaca-se o melaço de soja, coproduto agroindustrial do processamento da proteína da soja, que se mostrou mais eficiente na produção de biomassa e carotenoides em comparação a outras leveduras carotenogênicas, destacando-se como única fonte de substrato no meio de cultivo reduzindo em cerca de 90% o custo com o meio de produção quando comparado a meio extrato de malte e levedura (Pacheco *et al.*, 2025). Apesar disso muitos estudos têm-se limitado a escala de frascos agitados e algumas abordagens utilizam biorreatores de bancada, visando controlar melhor as condições de processo de produção e a viabilidade de implementação para futuras aplicações industriais no escalonamento da produção de carotenoides microbianos (Silva *et al.*, 2023b).

A recuperação de carotenoides de *P. rhodozyma* precisa de estratégias de secagem, como pré-tratamento para melhor extração destes compostos (Silva *et al.*, 2023a) contudo a produção em biorreatores demanda maior volume de biomassa, desafiando o processo de secagem. Além disso, para aproveitar melhor os bioprodutos obtidos desta levedura e considerar a aplicação em alimentos é necessário encontrar formas de conservação sustentáveis, eficazes e escalonáveis da biomassa, permitindo usá-la conforme necessário para futuras aplicações.

A secagem é um processo de transferência de massa e calor que remove líquidos voláteis por evaporação de uma substância ou matéria, sendo este processo essencial na preservação de compostos nutricionais e de alimentos, além de inibir o crescimento microbiano e desativar enzimas que causam escurecimento, aumentando o uso da matéria seca (Pereira *et al.*, 2020). Entre as técnicas de secagem a liofilização tem sido o método mais usado para preservar e secar bactérias, leveduras e fungos, uma vez que usa o congelamento e sublimação como princípio de secagem (Wang *et al.*, 2023), também é valorizada para secar compostos sensíveis ao calor. Contudo esta técnica ainda possui desafios com respeito aos custos elevados nos equipamentos

e no consumo energético para seu funcionamento, além da necessidade de precisar maior tempo de secagem (Negi; Infant; Moses, 2025).

Com isso outras técnicas de secagem têm sido pesquisadas, entre elas ressalta-se a secagem por leito de jorro, técnica que favorece a transferência de calor e massa entre o material sólido e o ar quente através da agitação das partículas (Dehghan-Manshadi *et al.*, 2020). Dentre as vantagens que este processo oferece destaca-se a secagem de matérias sensíveis ao calor considerando-o como método promissor para este fim (Hamedi *et al.*, 2021). Além de ser também uma técnica de menor custo e alta qualidade de processo, outra vantagem que oferece é redução de consumo de energia, pois é eficiente em temperatura baixas e possui menor tempo de secagem (Carozzo; Arato; Moliner, 2024).

Em vista aos desafios identificados na secagem e das lacunas presentes para leveduras carotenogênicas torna-se necessário encontrar técnicas de secagem que melhor preservem os carotenoides e conserve a biomassa. Assim, o presente estudo tem como objetivo avaliar a secagem da levedura *P. rhodozyma* cepa NRRL Y-17268 em leito de jorro comparando-a ao método de secagem de liofilização buscando a melhor forma de preservação da biomassa microbiana, maximizando a recuperação de carotenoides e a manutenção de características e composições físico-químicas da biomassa seca, além de avaliar a estabilidade do material seco por este processo para futuras aplicações industriais na área alimentar.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 MICRORGANISMO, PREPARO DE INÓCULO E CONDIÇÕES DE CULTIVO

A levedura *Phaffia rhodozyma*, cepa NRRL Y-17268, oriunda do Laboratório de Pesquisa Regional do Norte (Peoria, IL, EUA) e reconhecida como GRAS (*Generally Recognized as Safe*), foi mantida em ágar inclinado contendo ágar (20 g.L⁻¹) em meio YM (glicose 10 g.L⁻¹, peptona 5 g.L⁻¹, extrato de levedura 3 g.L⁻¹ e extrato de malte 3 g.L⁻¹), sendo armazenada a 4°C (Nogueira; Prestes; Burkert, 2017). A ressuspensão celular (pré- inóculo) foi preparada com 1 mL de água peptonada a 0,1% (v/v), obtida por raspagem das células do ágar, e transferida para 9 mL de caldo YM, sendo incubada a 25°C por 48 h. Em seguida, o inóculo foi preparado com 90 mL de meio YM e 10 mL do pré-inóculo, incubado a 150 rpm, 25°C, pH inicial 6, até atingir densidade celular mínima de 1×10⁸ células.mL⁻¹, determinada em câmara de Neubauer (Silva; Burkert; Santos, 2024c).

O cultivo em batelada foi realizado em biorreator de bancada de 5L, com volume útil de 4L, sendo adicionados 3,6L de meio agroindustrial, contendo melaço de soja (100 g.L⁻¹)

como único substrato (Pacheco *et al.*, 2025) e 10% de inóculo, iniciando o cultivo com aproximadamente 1×10^7 células·mL⁻¹, as condições de cultivo foram definidas em 300 rpm, 1vvm, 25°C e pH inicial ajustado para 6 (Silva *et al.*, 2023c).

2.2 CARACTERIZAÇÃO DO MEIO DE CULTIVO AGROINDUSTRIAL

O melaço de soja, utilizado como único substrato no cultivo, foi fornecido pela empresa CJ Selecta localizada em Araguari, Brasil e mantida sob refrigeração a 8°C. A caracterização físico-química seguiu a metodologia de Oliveira; Michelon; Burkert, (2020), onde inclui teor de proteínas determinado pelo método de Kjeldahl, método 955,04C da AOAC (2000); lipídeos, por extração em Soxhlet (AOAC, 1995), cinzas por incineração em mufla método 925,10 da AOAC (2000); e carboidratos por diferença. A análise elementar de carbono, hidrogênio e nitrogênio (CHN) necessárias para estabelecer balanços de massa e avaliar a eficiência de conversão de nutrientes em biomassa e metabólitos foi conduzida em analisador elementar (Perkins Elmer 2400 Series II, EUA), por combustão em oxigênio puro, com detecção e quantificação dos gases por condutividade térmica (TCD) (Ferreira Filho; Burkert; Burkert, 2025).

2.3 DETERMINAÇÃO DA CONCENTRAÇÃO DE BIOMASSA E pH DURANTE O CULTIVO

Ao longo do cultivo, amostras de 2 mL foram coletadas para análise de biomassa e pH. As amostras foram centrifugadas a 1745×g por 10 min numa centrífuga Cientec CT-5000 R, Brasil, e o sobrenadante foi reservado para medir o pH de acordo com as normas da AOAC (2000) usando um pHmetro digital (Marte MB-10, Brasil). O sedimento foi lavado com água destilada e centrifugado novamente em duas etapas adicionais. A biomassa foi quantificada por leitura de absorbância a 620nm, e foi relacionada com a curva padrão construída para a levedura (Silva *et al.*, 2023).

2.4 DETERMINAÇÃO DO COEFICIENTE VOLUMÉTRICO DE TRANSFERÊNCIA DE OXIGÊNIO NA FASE LÍQUIDA (K_{LA})

Para determinação do coeficiente volumétrico de transferência de oxigênio (k_{LA}) na fase líquida, o oxigênio dissolvido foi inicialmente removido do meio de cultivo não inoculado por

borbulhamento de nitrogênio no biorreator. Em seguida, a aeração 1vvm e a agitação 300 rpm foram ativadas, e a concentração de oxigênio dissolvido foi monitorada em tempo real através de um eletrodo, permitindo calcular o k_La com base na taxa de reoxigenação do meio (Ferreira Filho; Burkert; Burkert, 2025). O coeficiente k_La foi calculado utilizando a Equação (1) abaixo apresentada.

$$-k_La \cdot t = \left(\frac{C^* - OD}{C^*} \right) \quad \text{Equação 1}$$

Onde OD representa a concentração de oxigênio dissolvido no meio (em %), C^* corresponde à concentração de oxigênio saturado em equilíbrio com o ar (equivalente a 100% OD) e t é o tempo em horas.

2.5 PRODUTIVIDADE DO CULTIVO

A avaliação da produtividade da biomassa e da concentração volumétrica de carotenoides cultivo foram calculadas através da Equação (2) e Equação (3) respectivamente abaixo (Rodrigues *et al.*, 2019).

$$P(x) = \frac{X_{max} - X_0}{\Delta t} \quad \text{Equação 2}$$

$$P(CV) = \frac{CV_{max} - CV_0}{\Delta t} \quad \text{Equação 3}$$

Onde X_{max} = concentração de biomassa máxima ($g.L^{-1}$) no ponto; X_0 = concentração de biomassa inicial ($g.L^{-1}$); CV_{max} = concentração volumétrica máxima de carotenoides ($\mu g.L^{-1}$) no ponto; CV_0 = concentração volumétrica inicial de carotenoides ($\mu g.L^{-1}$); Δt = intervalo de tempo de fermentação (h).

2.6 RECUPERAÇÃO DA BIOMASSA PÓS-CULTIVO

A biomassa foi recuperada em 3 ciclos de lavagem com água destilada a 3500 rpm utilizando 20 min, 15 min e 10 min em cada ciclo, respectivamente. Uma parte dessa biomassa foi submetida à secagem para remoção da água presente em sua estrutura, permitindo a determinação de carotenoides, caracterização centesimal e análise de cor. Além disso, a biomassa úmida foi avaliada e comparada com a biomassa seca quanto a cor e carotenoides, visando uma melhor caracterização do material.

2.6.1 Secagem por leito de jorro

A secagem em leito de jorro foi adaptada da metodologia de Larrosa et al. 2018 usando o leito de jorro com coluna cilíndrica de aço inox com base cônica de vidro (ângulo de 60°, altura de 0,15 m e diâmetro de 0,175 m), apresentando relação de 1:6 entre o diâmetro da coluna e o orifício de entrada de ar. O ar de secagem foi fornecido por um soprador radial de 6 kW, aquecido por resistências elétricas. A biomassa da *P. rhodozyma* foi diluída até atingir umidade abaixo de 95% antes de ser introduzida no sistema de secagem por meio de atomização semi-contínua com taxa de alimentação de 0,2 kg.h⁻¹ por kg de inerte. A temperatura de entrada foi ajustada em 95°C, enquanto a de saída se manteve em torno de 65°C, resultando em um ΔT de 30°C, condição estabelecida de modo a garantir evaporação eficiente da água sem degradação térmica dos carotenoides. O processo ocorreu em regime de jorro estável onde a taxa de circulação do ar foi ajustada acima da velocidade mínima de jorro (v_{jm}), determinada pela estabilidade do leito, a suspensão foi atomizada no leito através de uma bomba peristáltica e ar comprimido a 101 kPa.

A secagem envolveu contato fluido-partícula e atrito entre as partículas inertes, promovendo desidratação uniforme. O material seco, em forma de pó, foi coletado por um ciclone tipo *Lapple*, sendo retirado no final da secagem. Os primeiros 30 min foram dedicados à estabilização do equipamento e se completou um tempo de secagem de 3h e 30 min.

2.6.2 Secagem por liofilização

Após a recuperação da biomassa se congelou em Ultra freezer (*Indrel Scientific*, modelo IULT335/180D, Brasil) amostras da mesma em placas de petri de aço inox de 80x20 mm cobertas por papel filme com furos na superfície para troca gasosa na temperatura de -80°C por 48h, após foi submetido à liofilização no liofilizador (Liotop- Liobras modelo L101, Brasil) por 48h a -55°C e 50 μ Hg de vácuo (Silva Iahnke *et al.*, 2025).

2.7 EXTRAÇÃO E DETERMINAÇÃO DA CONCENTRAÇÃO DE CAROTENOIDES

Para extração de carotenoides a biomassa seca em jorro e liofilizada foi moída até chegar na granulometria de 115 *mesh* (Cipolatti *et al.*, 2015). Além disso se comparou com a secagem de pré-tratamento (padrão) dada por Fonseca *et al.* (2011) que usou a secagem com circulação de ar a 35°C por 48h, este método é comumente usado apenas como pré-tratamento da biomassa

antes da extração e recuperação de carotenoides, o restante da extração e recuperação seguiu a metodologia de Cipolatti, *et al.* (2015); Fonseca *et al.* (2011); Silva *et al.* (2023a), onde usou-se 0,05 g de amostra seca e 2 mL de dimetilsulfóxido aquecido a 55°C para ruptura da parede celular, seguida de homogeneização em vórtex por 1 min a cada 15 min. durante 1h.

Após, a extração adicionou-se 6 mL de acetona homogeneizou-se em vórtex por 1 min, a mistura foi centrifugada (Cientec CT-5000 R, Brasil) a $1745 \times g$ por 10 min. Esse procedimento foi repetido até o branqueamento da célula. O extrato obtido foi recuperado com 10 mL de NaCl 20% (m.v⁻¹) e 10 mL de éter de petróleo, se adicionou sulfato de sódio para remoção de excesso de água e deixado em repouso para separação de fases e recuperando o sobrenadante que contém os carotenoides.

O extrato obtido foi medido em absorbância em espectrofotômetro (Biospectro SP-22, China) na faixa de 448 nm para β - caroteno em éter de petróleo com absortividade específica de 2592 e 474 nm para astaxantina em éter de petróleo com absortividade específica de 2100 (Pacheco *et al.*, 2025) sendo calculado pela Equação 4, conforme descrito por Davies (1976) para a concentração de carotenoides específicos.

$$CT = \frac{A \cdot V \cdot 10^6}{A_{cm}^{1\%} \cdot 100 \cdot m_{amostra}} \quad \text{Equação 4}$$

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

2.8 DETERMINAÇÃO DE UMIDADE

A umidade seguiu a metodologia da AOAC (2000) método 925.10. Secagem por gravimetria na temperatura de 105°C em estufa, para isso usou-se capsulas de inox previamente secas e taradas, o tempo inicial de secagem foi de 4h ininterruptas, após isso colocou-se as amostras em dessecador com sílica gel até o resfriamento a temperatura ambiente para ser pesado, logo depois secou-se (30 minutos), resfriou-se (30 minutos) e pesou-se continuamente até atingir peso constante. A umidade (%) foi calculado conforme a Equação 5.

$$Umidade(\%) = \frac{m_{úmida} - m_{seca}}{m_{úmida}} * 100 \quad \text{Equação 5}$$

Onde: $m_{úmido}$ é a massa da amostra úmida e m_{seca} é a massa da amostra seca.

2.9 ANÁLISE DE COR

As análises de cor das biomassas foram analisadas quanto ao ângulo Hue (H_{ab}), à saturação de cor (Croma) (c^*), a diferença total de cor (ΔE) utilizando as Equações 6, 7 e 8, respectivamente (Martins *et al.*, 2025). As medições foram realizadas com um colorímetro (Minolta CR-400, EUA), considerando os parâmetros de cor L^* , a^* , e b^* , conforme o sistema proposto pela CIE (Comissão Internacional de Iluminação) (1978).

$$H_{ab} = \tan^{-1} \left(\frac{b^*}{a^*} \right) \quad \text{Equação 6}$$

$$c^* = \sqrt{(a^*)^2 + (b^*)^2} \quad \text{Equação 7}$$

$$\Delta E = \sqrt{(L_0^* - L^*)^2 + (a_0^* - a^*)^2 + (b_0^* - b^*)^2} \quad \text{Equação 8}$$

Onde L^* , a^* , b^* = valores da cor de referência, sendo L^* representa a luminosidade, a^* representa coordenada vermelho-verde, b^* coordenada amarelo-azul.

2.10 COMPOSIÇÃO CENTESIMAL

A Biomassa seca em leito de jorro e a biomassa liofilizada foram avaliadas quanto à sua composição centesimal seguindo-se as metodologias da AOAC (2000) para determinação de proteínas, método Kjeldahl e de cinzas, incineração de mufla. Para determinação de lipídeos usou-se a metodologia da AOCS (2009), que descreve o método de Bligh dyer (1959) adaptado por (Manirakiza; Covaci; Schepens, 2001) adicionando-se hidrólise ácida com HCl 2M para ruptura celular descrita por Rodrigues *et al.* (2025). Os carboidratos foram determinados por diferença.

2.11 CARACTERIZAÇÃO FUNCIONAL E MONITORAMENTO DA ESTABILIDADE DA BIOMASSA SECA

Para a caracterização de grupos funcionais presentes na biomassa seca e avaliação de estabilidade foi escolhida a biomassa que teve maior conservação de cor e melhor recuperação de carotenoides para avaliar a manutenção de grupos funcionais após o processo de secagem além de ver a viabilidade de conservação do método de secagem escolhido.

2.11.1 Espectroscopia de infravermelho por transformada de Fourier (FTIR)

Para determinar os grupos funcionais da biomassa seca após o processo de secagem foi realizado o FTIR no espectrofotômetro de infravermelho com refletância total atenuada (Shimadzu, Prestige 21, Nakagyo-ku, Japão) nas seguintes condições: 20°C, no intervalo de número de onda de 500 a 4000 cm^{-1} com resolução de 4 cm^{-1} (Ferreira Filho; Burkert; Burkert, 2025).

2.11.2 Análise de estabilidade

A análise de estabilidade foi realizada por 90 dias na qual foi medida a concentração de carotenoides e realizou-se a análise de cor conforme descrito anteriormente. A biomassa foi armazenada em embalagens cobertas com papel alumínio para impedir a entrada de luz, sendo comparadas duas condições de armazenamento, uma resfriada a 4°C e outra em temperatura ambiente que oscilou no período da análise entre 25,5°C e 28 °C, a fim de determinar qual melhor forma de armazenamento.

2.12 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os dados obtidos foram processados no software Statística 7.0 (StatSoft Inc., Tulsa, OK, EUA). Os experimentos foram representados com suas médias e desvio padrão, quando aplicável. As análises estatísticas incluíram a aplicação de análise de variância (ANOVA) para identificar diferenças significativas, com posterior teste de Tukey a um nível de confiança de 95% ($p \leq 0,05$). Para comparação entre dois tratamentos foi utilizado o teste t com um nível de significância definido em $p < 0,05$.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 COMPOSIÇÃO PROXIMAL E ELEMENTAR DO MELAÇO DE SOJA

O melaço de soja tem Extrato seco total $66,1 \pm 0,3$ sendo a caracterização das macromoléculas do substrato escolhido como fonte de crescimento da levedura. O melaço de soja apresenta em destaque o teor de carboidratos com cerca de 82,5%. Segundo Gambarato *et al.* (2025) estes carboidratos são compostos por oligossacarídeos, tais como a rafinose e

estaquiouse, vantajoso para cultivo microbiano, sendo uma fonte rápida e disponível de energia. Das outras macromoléculas encontradas nota-se que os lipídeos estão presentes em menor quantidade 2,6%. Valores similares foram encontrados por Oliveira; Michelin; Burkert (2020) que caracterizaram outro lote de melaço de soja oriundo da mesma empresa para cultivo de bactérias *dyazotroficas* na produção de exopolissacarídeos encontrando $3,4 \pm 0,1\%$ de lipídeos, $7,5 \pm 0,2\%$ de proteína, $14,5 \pm 0,2\%$ de cinzas e 64,6% de carboidratos, totalizando um extrato seco de $69,6 \pm 0,3\%$. Outros autores como Rakicka-Pustułka *et al.* (2022) que caracterizaram o melaço de soja para cultivo da levedura *Yarrowia lipolytica* como suplemento ao meio de glicerol bruto visando o aumento de produção de ácido quirônico tiveram uma variação na composição alcançando 6,1% de lipídeos, 6,8% de proteínas, 5,5% de cinzas e 33,0% de carboidratos, totalizando um extrato seco de $69,6 \pm 0,3\%$. Portanto, verifica-se variações na composição centesimal quando produzidos em lotes diferentes e de distintas origens.

O uso deste substrato em *P. rhodozyma* é relatado por Pacheco *et al.* (2025) que afirmou seu potencial na produção de carotenoides, sendo que o lote de melaço de soja usado no cultivo da levedura foi o mesmo de Oliveira; Michelin; Burkert, (2020) ressaltando assim o seu potencial como substrato agroindustrial no cultivo desta levedura.

Tabela 1- Composição Proximal do Melaço de Soja

Componente	Composição do componente (% m.m ⁻¹)
Lipídeos ^a	$2,6 \pm 0,3$
Proteínas ^a	$7,3 \pm 0,0$
Cinzas ^a	$7,7 \pm 0,0$
Carboidratos ^a	82,5

^a Base seca

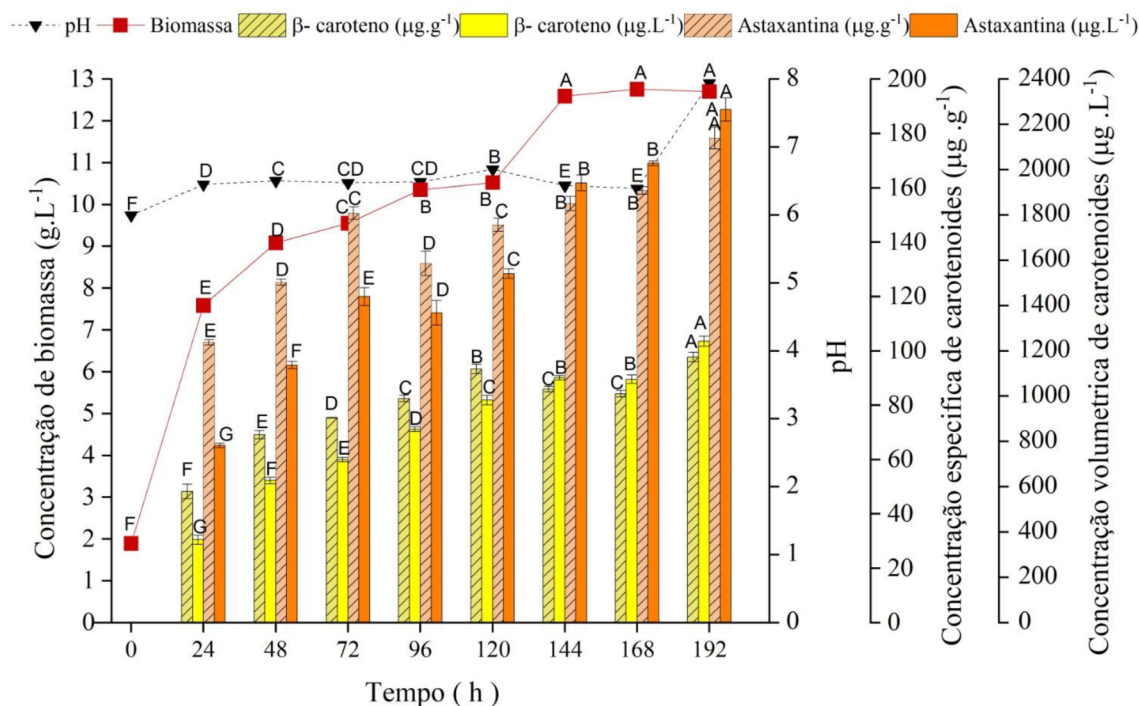
Quanto a composição elementar encontrada neste estudo apresentou um teor de carbono de $30,6 \pm 0,1\%$, nitrogênio de $0,7 \pm 0,1\%$ e hidrogênio de $5,5 \pm 0,1\%$, observando um baixo teor de nitrogênio. A caracterização de Ferreira Filho; Burkert; Burkert, (2025) apresentaram valores semelhantes ao presente estudo possuindo um teor de 36,4% de carbono, 7,4% de hidrogênio e 0,7% de nitrogênio. Neste estudo o meio de produção apresentou uma alta relação Carbono/Nitrogênio de 44,39 indicando que poderia aumentar a produção de astaxantina (Yamane *et al.*, 1997).

3.2 CULTIVO COM MELAÇO DE SOJA EM BIORREATOR DE BANCADA

A cinética do cultivo de *P. rhodozyma* no biorreator de bancada usando melaço de soja como único substrato está apresentado na Figura 1. A maior produção de biomassa ocorreu em 144h de cultivo alcançando um valor de $12,59 \pm 0,048 \text{ g.L}^{-1}$, com uma concentração de carotenoides expresso em β -caroteno de $1081,67 \pm 9,741 \mu\text{g.L}^{-1}$ ($85,91 \pm 1,01 \mu\text{g.g}^{-1}$) e em astaxantina de $1941,97 \pm 34,810 \mu\text{g.L}^{-1}$ ($154,23 \pm 2,606 \mu\text{g.g}^{-1}$). A partir das 144h de cultivo não foi observada diferença significativa na produção de biomassa, no entanto a concentração de carotenoides se manteve estável ($p < 0,05$) entre 144h até 168h, aumentando em 172h. A concentração específica e volumétrica de β -caroteno aumentou em 12,1% e 12,9%, respectivamente, e astaxantina, 13,5% e 14,3%, respectivamente. Autores como Silva *et al.*, (2023d) usaram biorreator de bancada, com meio YM e campos magnéticos aplicados ao cultivo, nas mesmas condições de processo deste estudo, alcançando $8,74 \text{ g.L}^{-1}$ de biomassa em 48h de cultivo com produção de β -caroteno ($4,67 \text{ mg.L}^{-1}$) e astaxantina ($4,51 \text{ mg.L}^{-1}$) máxima em 96h. Portanto, o cultivo com melaço de soja possibilitou 44% de incremento na produção de biomassa, no entanto, a produção de carotenoides foi cerca de 70% inferior ao deste trabalho. Provavelmente, o *stress* externo com os campos magnéticos incrementou a produção de carotenoides.

P. rhodozyma SFAS-TZ0 foi cultivada em suco de batata doce como substrato, a 400 rpm, 1,4 vvm, com volume útil de 3L e 20°C (Zhang *et al.*, 2023b), alcançando $15,46 \text{ g.L}^{-1}$ de biomassa e $6,045 \text{ mg.L}^{-1}$ de astaxantina. Estes valores foram superiores a produção de biomassa e carotenoides do presente estudo, alcançando uma diferença de 27,7% e 32,1%, respectivamente, provavelmente associado a cepa da levedura e a suplementação do meio de produção com extrato de levedura, que oferece maior teor de nitrogênio para síntese de seus compostos. Ao contrário do meio de melaço de soja que é usado como substrato único uma vez que tem a quantidade necessária de elementos para produzir biomassa. Destaca-se assim o potencial do meio como substrato único para o cultivo desta levedura.

Figura 1- Cinética de cultivo de *P. rhodozyma* em biorreator de bancada de 5 L, com 100 g·L⁻¹ de melaço de soja, a 300 rpm, 1vvm, 25 °C e pH inicial 6



Os resultados são expressos como valores médios $\pm$ desvios-padrão (N = 3); Letras maiúsculas diferentes indicam diferenças significativas ($p < 0,05$) ao longo de todo o cultivo segundo o teste Tukey.

O pH do cultivo oscilou entre $6,00 \pm 0,01$ a $6,77 \pm 0,06$ até as 168 h, alcançando o valor máximo no último ponto do cultivo de $7,94 \pm 0,04$. Esse fator deve-se que na fase estacionária e morte celular ocorre a desaminação de aminoácidos, que neutraliza ácidos orgânicos acumulados durante as fases de crescimento, assim como a falta de nitrogênio no final do cultivo e a variação da relação C/N que favorece a produção de amônia (Pessina *et al.*, 2025), corroborando com o comportamento do estudo.

A produtividade da concentração da biomassa em 144h foi $0,07 \pm 0,00$ g·L⁻¹·h⁻¹, produtividade na concentração volumétrica de carotenoides expressos em β-caroteno de $0,59 \pm 0,01$ μg·L⁻¹·h⁻¹ e expressos em astaxantina de $1,07 \pm 0,02$ μg·L⁻¹·h⁻¹. Estes valores quando comparados a Silva *et al.*, (2023d) foram inferiores para produtividade em biomassa ($0,80$ g·L⁻¹·h⁻¹), β-caroteno ($46,96$ μg·L⁻¹·h⁻¹) e astaxantina ($45,28$ μg·L⁻¹·h⁻¹). Provavelmente, esta diferença se justifica com a implementação de meios complexos (extrato de malte e levedura) os e estímulos físicos externos, como os campos magnéticos aplicados.

Por outro lado, uma produtividade similar foi alcançada por Urnau *et al.* (2020) em 96h de 0,05 g.L⁻¹.h⁻¹ para biomassa, avaliando o potencial do meio de produção com resíduos agroindustriais (licor de milho, água de arroz e glicerol bruto). Assim, o cultivo com melaço de soja apresentou produtividade inferior em 144h para carotenoides, porém grande potencialidade para produzir biomassa, e após otimização das condições de produção possíveis incrementos na produtividade podem ser alcançados.

Outro parâmetro de eficiência de processo em cultivos em biorreatores de bancadas é o coeficiente volumétrico de transferência de oxigênio, que mede a eficiência em que oxigênio do ar passa ao meio de cultivo para ficar disponível para as células. No meio agroindustrial escolhido e nas condições de operação obteve-se um k_{La} de 21,7 h⁻¹, valor necessário para a produção de biomassa microbiana em escala laboratorial (Vanags; Suleiko, 2022).

Portanto, *P. rhodozyma* desempenhou de maneira eficiente no cultivo com 100 g.L⁻¹ de melaço de soja no biorreator de bancada, destacando o potencial deste coproduto agroindustrial devido a sua composição atrativa para microrganismos. Com isso decidiu-se que 144h de cultivo foram necessárias para obter a maior concentração de biomassa, sendo está a condição estabelecida para o cultivo, uma vez que a partir desse ponto não houve a diferença significativa para obtenção de biomassa.

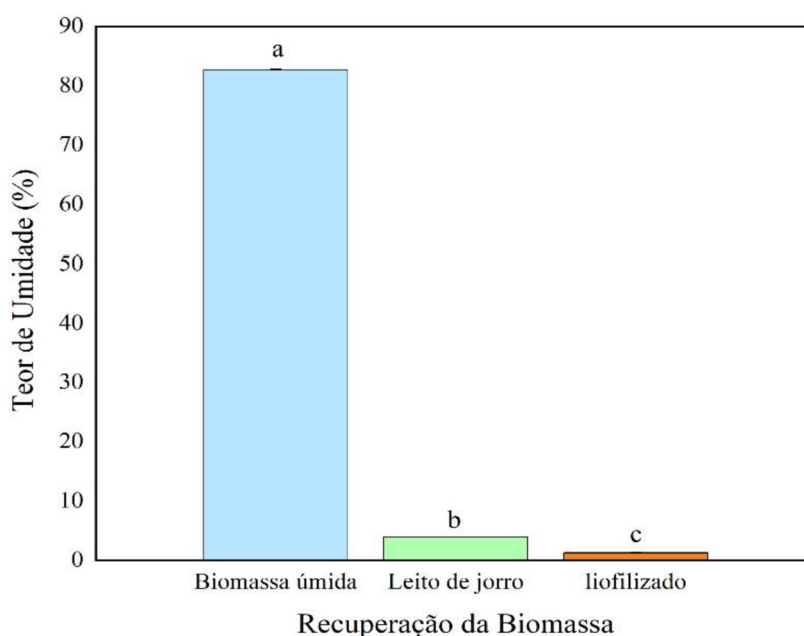
3.3 COMPARAÇÃO DOS MÉTODOS DE SECAGEM

3.3.1 Determinação do teor de umidade

A diferença da biomassa úmida (padrão) com teor de umidade de 82,7±0,1% comparada aos dois métodos de secagem, leito de jorro e liofilização que atingiram 3,9±0,1% e 1,2±0,1%, respectivamente, pode ser visualizada na Figura 2, este fenômeno pode ser dado devido a possível compactação da bicamada lipídica durante a remoção da água que causa transições de fase dependentes do teor de água e estabilidade estrutural conferida pela parede celular (Santivarangkna, Kulozik, Foerst, 2008). Como representado o leito de jorro conseguiu secar 96,1% da biomassa úmida, enquanto que o liofilizado conseguiu 98,8%. Isso se explica porque na secagem por sublimação a água da matriz do estado sólido para o gasoso, sem passar pela fase líquida (Nowak; Jakubczyk, 2020). A secagem por leito de jorro faz com que as partículas sólidas sejam suspensas por um fluxo de ar para evaporação de água podendo causar a remoção incompleta da umidade residual (Sivakumar *et al.*, 2016). Outro fator para esse efeito é a umidade do ar acima do ideal para secar materiais (80,0% de umidade) e temperatura que ocorreram no dia do processo da secagem no leito de jorro. Alguns autores encontraram

comportamentos semelhante ao deste trabalho. Manju *et al.* (2021) compararam liofilização e leito fluidizado em folhas, flores e sementes de *Moringa oleífera*, evidenciando que o teor de umidade na secagem por liofilização (2,9; 3,7 e 4,5%) foi menor que a secagem por calor do leito fluidizado (3,5; 3,7 e 4,2%). Faustino *et al.* (2023) avaliaram a secagem da levedura *Saccharomyces Cereviase* por dois métodos visando a extração de mananas, obtendo 3,6% de umidade no liofilizador e 11,9% no *Spray drying*.

Figura 2- Teor de umidade da biomassa seca de *P. rhodozyma* cultivada em biorreator de bancada de 5 L, com 100 g. L⁻¹ de melaço de soja, a 300 rpm, 1vvm, 25 °C e pH inicial 6



Valores médios $\pm$ desvios-padrão (N = 3). Letras minúsculas diferentes apresentam diferenças significativas ($p < 0,05$) em diferentes tipos de secagem segundo o teste Tukey.

Por outro lado, autores que secaram *Spirulina platensis* em leito de jorro a uma temperatura de entrada a 110°C e uma umidade inicial da microalga de 76,7% obtiveram teor de umidade final de 6,6% (Oliveira *et al.*, 2008). Assim, mesmo em temperaturas superiores estes autores alcançaram um teor de umidade superior ao presente estudo, mostrando assim, que a técnica de leito de jorro apresenta potencial para secar biomassa de *P. rhodozyma*.

3.3.2 Influência da secagem na recuperação de carotenoides

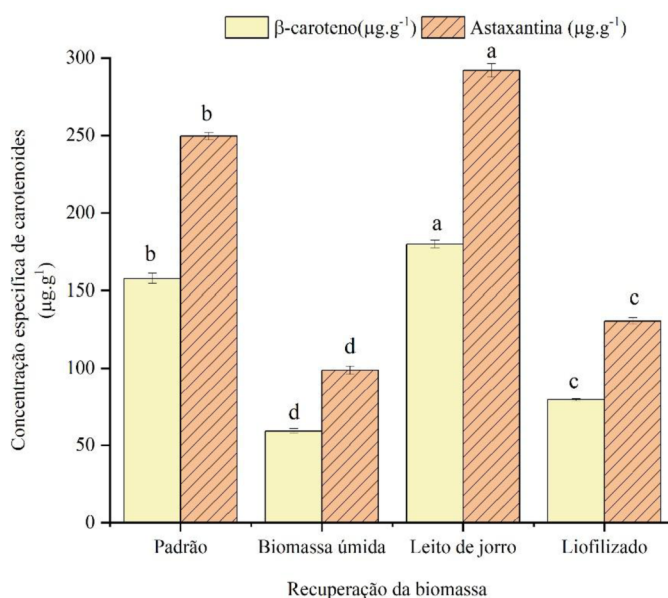
A maior recuperação de carotenoides da biomassa é o foco deste estudo, com isso percebeu-se que pré-tratamentos de secagem são necessários para melhor eficiência deste

processo, como ilustrado na Figura 3. A grande diferença na recuperação de carotenoides em biomassas úmidas com concentração de carotenoides expressos em β -caroteno de $59,14 \pm 1,61 \mu\text{g.g}^{-1}$ e astaxantina de $98,78 \pm 2,78 \mu\text{g.g}^{-1}$ podem ser observadas quando comparada as secas. Isso se deve porque a presença de água livre na biomassa de leveduras impede a ruptura celular para a recuperação de carotenoides (Fonseca *et al.*, 2011).

Silva *et al.* (2023a) alcançaram uma concentração específica expressa em astaxantina de $196,49 \mu\text{g.g}^{-1}$ através da metodologia de secagem em estufa de circulação a 35°C por 48h (método padrão). No presente estudo através do método padrão (Figura 3) foi possível obter uma concentração de carotenoides expressos em β -caroteno $157,71 \pm 3,28 \mu\text{g.g}^{-1}$ e astaxantina $249,54 \pm 2,49 \mu\text{g.g}^{-1}$ mostrando-se superior em 78,7% na concentração de astaxantina em relação ao encontrado por Silva *et al.* (2023a). Pacheco *et al.* (2025) recuperou β -caroteno e astaxantina de $159,97 \mu\text{g.g}^{-1}$ e $252,55 \mu\text{g.g}^{-1}$, respectivamente, por este método padrão (secagem em estufa), sendo este valor ligeiramente superior a este estudo, porém, ressalta-se que essa diferença é provavelmente devido a maior concentração de substrato no cultivo (150 g.L^{-1}).

Ao comparar outros métodos de secagem (Figura 3) foi possível obter a melhor recuperação de carotenoides na biomassa seca em leito de jorro com uma concentração de carotenoides expressos em β -caroteno $179,91 \pm 2,43 \mu\text{g.g}^{-1}$ e astaxantina $291,97 \pm 4,45 \mu\text{g.g}^{-1}$. Um aumento de 67,0% de recuperação em relação a recuperação de carotenoide da biomassa úmida. Este é um dos únicos estudos de secagem em leito de jorro para leveduras carotenogênicas sendo possível verificar que esta técnica contribui para manutenção e quantificação dos carotenoides de acordo com os teores obtidos. Compostos termossensíveis como a bixina de sementes do fruto de urucum foram secos em leito de jorro, obtendo pó de semente de urucum de 134,95 g com 47,52 g de bixina, sendo considerado um método eficiente para este fim (Taham; Silva; Barrozo, 2016). Da Silva *et al.* (2018) estudaram a secagem por leito de jorro em resíduos de camarão rosa para recuperação de astaxantina alcançando $29,81 \mu\text{g.g}^{-1}$, com uma temperatura de entrada de 90°C e um ΔT de 70°C obtendo um rendimento de 50,4% em relação ao teor total presente no resíduo úmido outro lado, o método de liofilização se mostrou menos eficaz quando comparado ao jorro, alcançando uma concentração de carotenoides expressos em β -caroteno de $79,38 \pm 0,65 \mu\text{g.g}^{-1}$ e astaxantina $130,57 \pm 2,15 \mu\text{g.g}^{-1}$. Silva *et al.*, (2023a) encontrou ao liofizar a biomassa desta levedura $199 \mu\text{g.g}^{-1}$ de astaxantina. Relaciona-se o efeito de dificuldade de recuperação no presente estudo devido à demora no processo primário de secagem a frio e as variações de temperatura e pressão podem ter ocasionado a degradação destes compostos (Coşkun *et al.*, 2024).

Figura 3: Concentração de carotenoides recuperados da biomassa úmida, seca por leito de jorro, liofilizador e estufa circulação de ar de *P. rhodozyma* cultivada em biorreator de bancada de 5 L, com 100 g·L⁻¹ de melaço de soja, a 300 rpm, 1vvm, 25 °C e pH inicial 6



Valores médios ± desvios-padrão (N = 3). Letras minúsculas diferentes apresentam diferenças significativas ($p < 0,05$) em diferentes tipos de secagem após análise de variância e teste Tukey.

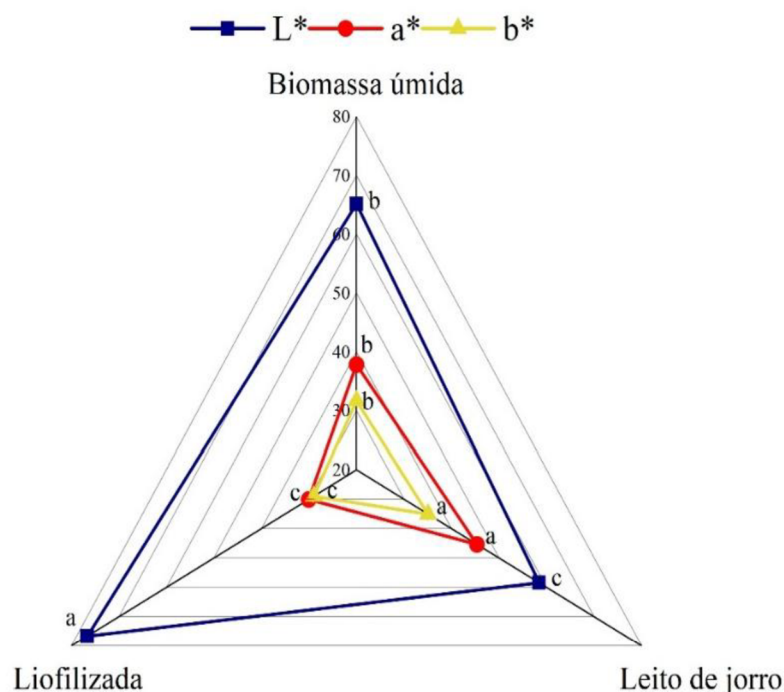
Portanto, o estudo da secagem da biomassa de *P. rhodozyma* por leito de jorro foi mais eficiente e vantajoso, em relação as outras técnicas como liofilização e estufa de circulação de ar, devido a cinética de partículas sólidas que ajudam na quebra da parede celular da levedura, e devido ao menor tempo de secagem proporcionado.

3.3.3 Caracterização da cor das amostras

A comparação de cor das amostras nos parâmetros L* a*, b* estão representadas na Figura 4. Estes dados foram obtidos com os parâmetros de cor da CIELAB, onde L* representa a luminosidade, a* é a variação de verde (-) a vermelho (+) e b* a variação do azul (-) a amarelo (+). Tomou-se como padrão a biomassa úmida, tendo um valor de 65,16±0,07 de luminosidade, já a variação da amostra seca no jorro teve um valor de 58,43±0,01, inferior ao padrão (10,32% inferior), em contrapartida o liofilizado apresentou uma luminosidade de 76,59±0,03 (17,54% superior) indicando um maior branqueamento quando comparada ao padrão. As amostras secas (leito de jorro e liofilizadas) apresentaram uma diferença de 31,08% entre elas neste parâmetro, sendo todos eles diferentes estatisticamente ($p < 0,05$).

Com respeito aos parâmetros a^* e b^* o valor da amostra padrão (úmida) apresentou $37,83 \pm 0,02$ e $31,63 \pm 0,03$ respectivamente; para as amostras de leite de jorro e liofilizado o parâmetro a^* apresentou valores de $45,33 \pm 0,01$ e $30,07 \pm 0,02$, respectivamente. Assim a amostra de leite de jorro é 19,8% mais vermelha que a amostra padrão, e a liofilizada é 20,5% menos vermelha, o liofilizado possui menor intensidade vermelha quando comparado ao leite de jorro em 33,7%. Já o parâmetro b^* nas amostras secas em leite de jorro e liofilizador obteve valor de $35,06 \pm 0,05$ e $28,96 \pm 0,04$ respectivamente; observando que a amostra do leite de jorro tem a variação amarela maior que a amostra padrão em 10,8% e a liofilizada em 8,4% a menos que a biomassa úmida. Estes parâmetros são de suma importância pois a coloração de carotenoides possui essas cores, podendo ser um indicador de presença ou não deste composto, sendo coerente com a recuperação de carotenoides onde o leite de jorro proporcionou uma recuperação de 2,23 vezes a mais astaxantina que o liofilizado e 2,26 vezes de β -caroteno, podendo justificar a coloração no parâmetro a e b superior no jorro em relação ao liofilizado.

Figura 4-Parâmetro de cor L^* , a^* , b^* da biomassa úmida, seca por leite de jorro e liofilizador de *P. rhodozyma* cultivada em biorreator de bancada de 5 L, com $100\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ de melão de soja, a 300 rpm, 1vvm, 25 °C e pH inicial 6

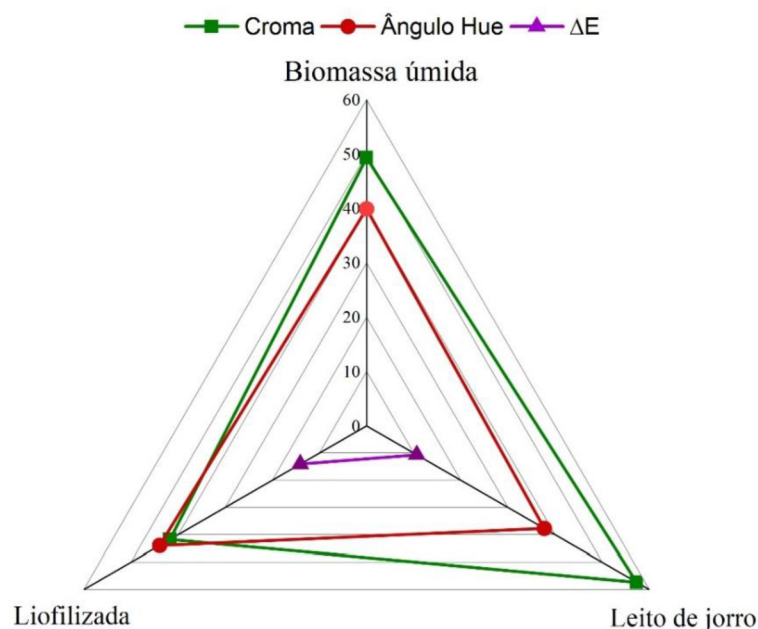


Os resultados são expressos como valores médios $\pm$ desvios-padrão ($N = 3$). Letras minúsculas diferentes apresentam diferenças significativas ($p < 0,05$) em diferentes tipos de secagem após análise de variância seguido do teste Tukey,

Outros parâmetros para avaliar a saturação da cor, tonalidade predominante e a diferença perceptível entre as cores são o Croma, Ângulo Hue e ΔE (Figura 5). O croma da amostra úmida, seca em leite de jorro e liofilizada obtiveram valores de 49,31, 57,30 e 41,75, sendo que a biomassa seca em leite de jorro indicou cor mais intensa tornando-a de aparência mais atrativa, sendo observado o efeito contrário na biomassa liofilizada. No Ângulo Hue todas as amostras estiveram entre valores de 0 a 90°C indicando que as amostras estão nas tonalidades avermelhadas-amareladas, comportamento esperado pois as biomassas possuem carotenoides como metabolismo secundário. O valor de ΔE (Diferença total de cor) das amostras é maior para liofilizador (14,07) e para leite de jorro foi menor (10,65) quando comparados a amostra padrão indicando assim que as amostras liofilizadas perceptivelmente são mais diferentes que do leite de jorro em 32,1%.

Lyu *et al.* (2021) secaram amostras de cenoura por método de secagem a calor e por frio (liofilizado). Um comportamento similar a este estudo foi observado, já que o produto liofilizado apresentou menores valores para croma a^* e b^* , um aumento de L^* e Ângulo Hue, tornando a amostra mais clara e amarela. Este fator é explicado pelos autores devido que quando amostras são liofilizadas as microestruturas mudam assim como também modifica a interação com a luz, desenvolvendo amostras com cor mais clara e com menor intensidade. Outros autores como Fujita *et al.* (2013), compararam a secagem de leite de jorro com e sem maltodextrina com a liofilização em frutos do camu-camu. A amostra liofilizada foi 26,04 mais clara e saturada, já o camu camu seco em pó em leite de jorro sem maltodextrina teve aparência menos intensa e mais escura variando no croma entre 21,79 e 24,55, diferente foi a secagem em leite de jorro com presença de maltodextrina (6,0%) que apresentou um croma de 26,92 a 31,97, indicando semelhança com a secagem da liofilização do camu camu, sendo visto como melhor aliado a secagem de leite de jorro para melhor preservação de cor. Assim, ao comparar o valor de diferença de cor (ΔE) pode-se e dizer que no presente estudo a melhor aparência foi da biomassa seca em leite de jorro, já que teve menos diferença de cor quando comparada a biomassa úmida, mostrando potencial como corante vermelho-amarelado.

Figura 5-Parâmetros de cor: Croma, Ângulo Hue e ΔE biomassa úmida, seca por leito de jorro e liofilizador de *P. rhodozyma* cultivada em biorreator de bancada de 5 L, com $100 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ de melaço de soja, a 300 rpm, 1vvm, 25 °C e pH inicial 6



Os resultados são expressos como valores médios $\pm$ desvios-padrão ($N = 3$). Letras minúsculas diferentes apresentam diferenças significativas ($p < 0,05$) em diferentes tipos de secagem após análise de variância seguido do teste Tukey,

3.3.4 Composição proximal e análise comparativa dos dois métodos de secagem

A biomassa seca em leito de jorro e liofilizador tem extrato seco total de $96,1 \pm 0,1$ e $98,8 \pm 0,1$, dos quais observa-se na Tabela 2 que o teor de lipídeos da biomassa liofilizada foi superior em 11,6% a biomassa seca em leito de jorro, devido a temperaturas elevadas ocorrer oxidação lipídica (Xu *et al.*, 2024). Quanto ao teor de proteínas foi mais preservado na secagem em leito de jorro sendo 17,5% superior a biomassa liofilizada, provavelmente devido a formação de cristais de gelo que podem danificar as estruturas celulares e a exposição prolongada a condições de vácuo e temperatura (Coşkun *et al.*, 2024). Enquanto que a diferença do leito de jorro mesmo a temperaturas elevadas ocorrer a desnaturação de proteínas, o tempo de secagem colaborou na preservação destas macromoléculas.

O teor de cinzas na biomassa seca foi superior em 18,3% comparando o leito de jorro a liofilização, provavelmente associado que na liofilização o material intracelular se mantém

intacto, e no leito de jorro em contrapartida a cinética de partículas ajuda na quebra da parede celular. O teor de carboidrato e extrato seco apresentou valores com pequenas diferenças, sendo que o liofilizador proporcionou 2,0% e 2,8% a mais carboidratos e extrato seco total.

Tabela 2- Composição Centesimal da Biomassa de *P. rhodozyma* cultivada em biorreator de bancada de 5 L, com 100 g·L⁻¹ de melaço de soja, a 300 rpm, 1vvm, 25°C e pH inicial 6, e seca por leito de jorro e liofilizador

Componente	Composição do componente (% m.m ⁻¹)	
	Biomassa seca em jorro	Biomassa liofilizada
Lípidos ^a	34,9 ± 0,3 ^B	39,0±0,2 ^A
Proteínas ^a	23,3 ± 0,4 ^A	19,2±0,5 ^B
Cinzas ^a	4,8 ± 0,1 ^A	4,1±0,2 ^B
Carboidratos ^a	37,0	37,7

^a Base seca. Os resultados são expressos como valores médios ± desvios-padrão (N = 3). Letras maiúsculas diferentes na linha apresentam diferenças significativas (p<0,05) em diferentes tipos de secagem segundo o teste t

Autores como Lai *et al.* (2022), caracterizaram a biomassa liofilizada de *P. rhodozyma* Y119 cultivada em resíduos alimentícios obtendo valores de sólidos totais de 96,0 %, amido 31,6 %, lipídeos 9,1% e proteínas 20,7%. Valores que diferem do estudo devido a cepa da levedura e da relação C/N que este meio pode oferecer. Outros autores que caracterizaram a biomassa para produzir mais proteína através da seleção induzida por herbicida foram Raita *et al.* (2025) obtendo 31% de proteína na *P. rhodozyma* DSM 5626, destacando que esta levedura possui maior opção no mercado de proteínas.

Com isso nota-se que as leveduras caracterizadas nos estudos anteriores corroboraram com maior produção de proteína, deixando assim nossos resultados satisfatórios pois mostra que a cepa da levedura selecionada neste estudo e cultivada em melaço de soja produz uma biomassa de alto valor biológico.

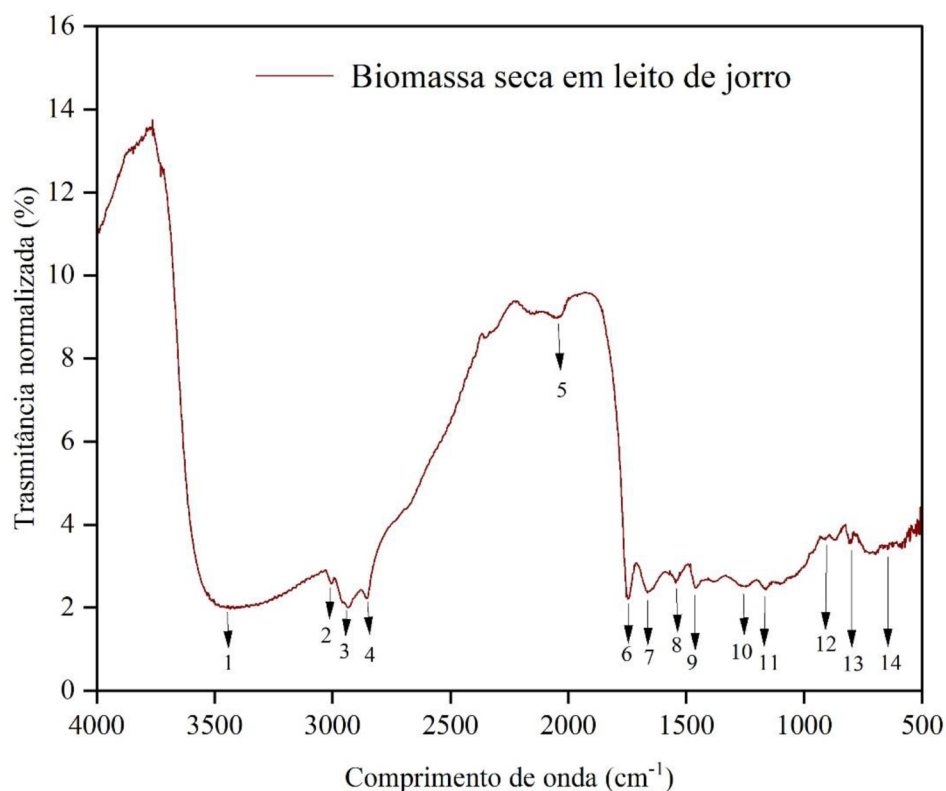
A partir dos resultados obtidos na caracterização e contribuindo as análises de cor e recuperação de carotenoides definiu-se que a biomassa de *P. rhodozyma* seca em leito de jorro teve melhor desempenho, assim se escolheu este método a fim de concentrar o estudo, para avaliara a influência da secagem por este método em seus grupos funcionais e na estabilidade, que é um dos objetivos do estudo.

3.4 AVALIAÇÃO DA BIOMASSA SECA POR LEITO DE JORRO

3.4.1 Determinação de grupos funcionais por FTIR

O espectro de absorção para determinação dos grupos funcionais da biomassa seca em leite de jorro estão representados na Figura 6. As primeiras bandas de absorção ocorrem na faixa de 3600 a 3200 cm^{-1} (Pico 1) sendo esta banda mais longa e ampla, indicando grupos O-H devido a absorção da umidade e estiramento de polissacarídeos, também indica grupos -NH, podendo indicar proteínas presentes. O pico 2 da faixa de 3100–3000 cm^{-1} representa C-H (aromáticos ou insaturados) com pequenas vibrações alifática (Ferreira Filho; Burkert; Burkert, 2025). Picos em torno de 2920 e 2850 cm^{-1} (picos 3 e 4) representam estiramentos de C-H de grupos metileno e metila relacionados com cadeias lipídicas ou grupos metila-metileno de ácidos graxos (Borges; De Sousa Costa; Druzian, 2014). A banda de absorção (pico 5) dentro da faixa de 2300 a 2000 cm^{-1} indicam presença de ligações C=C ou C $\equiv$ N (ligações triplas) (Ferreira Filho; Burkert; Burkert, 2025) na banda de absorção de 1750-1700 cm^{-1} (pico 6) encontra-se estiramento em esterés e aldeídos C=O, carbonilas de triglicerídeos ou acetato e piruvato, representando lipídeos na amostra (do Nascimento; de Oliveira; Leite, 2019; Ferreira Filho; Burkert; Burkert, 2025). A faixa de absorção na banda de 1716-1643 cm^{-1} (Pico 7) representam agrupamento amida I e C=C conjugado, podendo estar relacionado ao teor de proteína ou de carotenoides que a amostra apresenta. A banda de 1600 a 1500 cm^{-1} (Pico 8) traz agrupamentos amida II (C-N e C-H) indicando teores de proteína (do Nascimento *et al.*, 2019). Entre a banda de 1500 e 1300 cm^{-1} (Pico 9) encontram-se deformações de cadeias alifáticas (C-H) podendo representar lipídeos ou aminoácidos hidrofóbicos (Ferreira Filho; Burkert; Burkert, 2025). O Pico 10 encontrado na faixa de absorção de 1300 a 1200 cm^{-1} representa C-O-C de acetal ou ligações glicosídicas como mananas e glucanas (do Nascimento *et al.*, 2019). Já na banda de absorção de 1200 a 800 cm^{-1} (Picos 11, 12 e 13) encontram-se C-O, C-C em polissacarídeos e ligações β - glicosídicas também associadas a polissacarídeos (Ferreira Filho; Burkert; Burkert, 2025), abaixo da banda de absorção de <800 cm^{-1} (pico 14) podem indicar deformações específicas de C-H em anéis ou insaturações (*fingerprint*) (do Nascimento *et al.*, 2019).

Figura 6-Espectros de FT-IR da Biomassa de *P. rhodozyma* seca por leito de jorro e liofilizador cultivada em biorreator de bancada de 5 L, com $100 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ de melaço de soja, a 300 rpm, 1vvm, 25 °C e pH inicial 6



A caracterização de grupos funcionais por FTIR em biomassa de *P. rhodozyma* é escassa na literatura, entre os poucos autores cita-se Chwastowski; Staroń, (2023) que aplicou este método para identificar alterações na *P. rhodozyma* NCYC 874 causadas pela sorção de cobre. Assim, percebe-se que grupos funcionais como O-H, -NH, C-H e C=O estão presentes em ambos os ensaios (na presença e ausência de sorção de cobre) indicando a presença de polissacarídeos, proteínas e lipídeos. Contudo no espectro de sorção nota-se a variação de outras bandas causadas pela sorção de cobre e que no estudo presente as outras variações de bandas são características químicas intrínsecas da levedura.

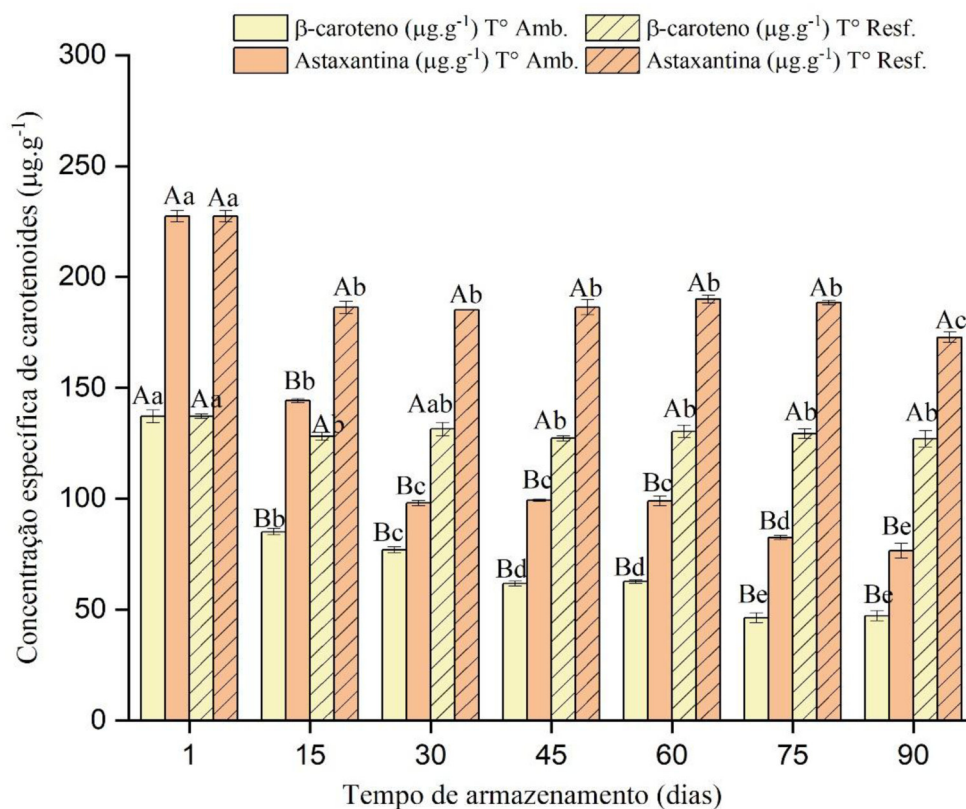
Considerando assim a escassez de informação sobre a caracterização de *P. rhodozyma* a partir dos grupos funcionais, este presente trabalho contribui o entendimento da composição química e a identificação de grupos funcionais presentes na levedura.

3.4.2 Avaliação da estabilidade de carotenoides de *P. rhodozyma* utilizando secagem em leito de jorro

A avaliação da concentração de carotenoides da biomassa seca em leito de jorro (Figura 7) e o comportamento da cor (Figura 8 e 9) foram realizados ao longo de 90 dias de armazenamento. A concentração específica de β -caroteno e astaxantina inicialmente foram de $137,10 \pm 0,93 \mu\text{g.g}^{-1}$ e $227,41 \pm 2,51 \mu\text{g.g}^{-1}$, respectivamente. Para avaliar a melhor forma de conservação da biomassa se usaram dois parâmetros a temperatura ambiente (entre 25,5 a 28°C) e refrigeração (4°C).

Quando armazenados em temperatura ambiente tem-se uma diminuição ao final de 90 dias de armazenamento de β -caroteno de 65,6% e astaxantina de 66,3%, atingindo valores finais de $47,19 \pm 2,16 \mu\text{g.g}^{-1}$ e $76,56 \pm 3,36 \mu\text{g.g}^{-1}$, respectivamente. Essas perdas em temperatura ambiente para β -caroteno foram significativas nos primeiros 30 dias atingindo 37,9%, em 15 dias com $85,08 \pm 1,47 \mu\text{g.g}^{-1}$ e 43,8% em 30 dias de armazenamento $76,97 \pm 1,33 \mu\text{g.g}^{-1}$. Já nos dias 45 e 60 não houve diferença estatística estabilizando entre 54 e 55% comparado ao primeiro dia. De maneira semelhante ocorreram nos dias 75 e 90 dias sendo as perdas majoritárias de β -caroteno. Para astaxantina na biomassa armazenada a temperatura ambiente mostrou-se uma redução significativa nos primeiros 15 dias, chegando a perder cerca de 36,6% alcançando $144,25 \pm 0,81 \mu\text{g.g}^{-1}$. Já para os dias 30, 45 e 60 as perdas não foram estatisticamente significativas mantendo-se entre 56,3 a 56,8 % atingindo $99,27 \pm 0,58 \mu\text{g.g}^{-1}$. Nos dias subsequentes, 60 e 90 dias, observa-se perdas adicionais (63,7% -66,3%) mas não diferentes estatisticamente.

Figura 7- Estabilidade da biomassa de *P. rhodozyma* cultivada em biorreator de bancada de 5 L, com 100 g·L⁻¹ de melaço de soja, a 300 rpm, 1vvm, 25 °C e pH inicial 6, seca em leito de jorro, quanto a concentração de carotenoides em diferentes temperaturas de armazenamento



Os resultados são expressos como valores médios $\pm$ desvios-padrão (N = 3). Letras minúsculas diferentes representam diferenças significativas ($p < 0,05$) ao longo de de todo o armazenamento segundo o teste Tukey, após análise de variância (Anova) a 5% de significância. Letras maiúsculas diferentes apresentam diferenças significativas ($p < 0,05$) no mesmo dia e armazenamento, mas em diferentes temperaturas, temperatura ambiente (25,5 a 28°C) e refrigerada 4°C, segundo o teste t.

Na amostra armazenada sob refrigeração observou-se um comportamento diferente em 90 dias de armazenamento, a perda de β-caroteno foi de 7,4% e astaxantina de 24%, atingindo valores finais de $127,03 \pm 3,70 \mu\text{g.g}^{-1}$ e $172,77 \pm 2,26 \mu\text{g.g}^{-1}$, respectivamente. Dos valores de β-caroteno da biomassa do dia 1 ao dia 30 não apresentou diferenças significativas, já uma pequena diminuição ocorreu no dia 15 de 6,6%, atingindo $128,05 \pm 1,74 \mu\text{g.g}^{-1}$. A partir desse valor a perda estabilizou-se variando entre 4,1 e 7,4%, não apresentando diferenças significativas a partir desse tempo até o fim do armazenamento. A maior perda avaliada deste composto foi no dia 90. Para astaxantina se teve uma perda maior quando comparada ao β-caroteno tendo uma redução significativa do dia 1 ao dia 15 em 18,1% atingindo valores de

$186,27 \pm 2,69 \mu\text{g.g}^{-1}$, a partir desse dia até o dia 75 de armazenamento não houve diferença significativa variando em 16,5% a 18,6%, já para o último dia de armazenamento (dia 90) observou-se uma leve redução significativa na concentração deste carotenoide (24%).

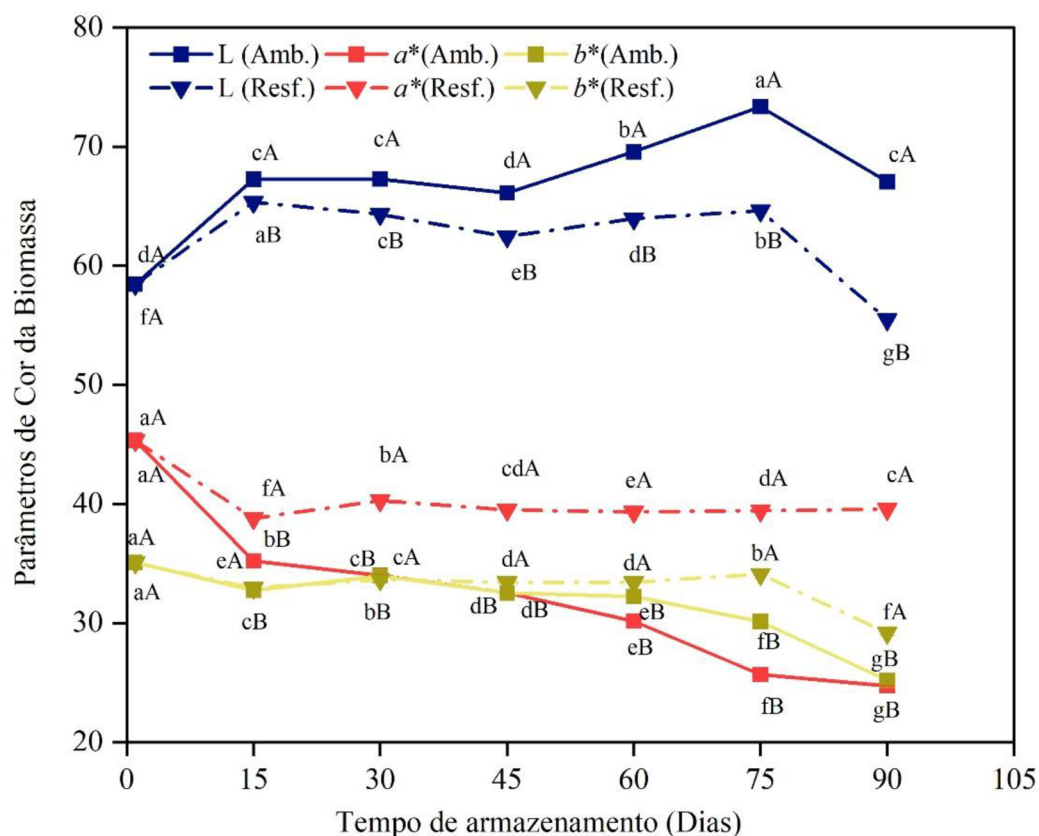
Com respeito a estabilidade de carotenoides a literatura faz maior referência a microcápsula e extratos, não havendo dados sobre a estabilidade da biomassa. Entre os pesquisadores que trabalharam com esta levedura Silva; Burkert; Santos, (2024c) avaliaram o extrato carotenogênico etanólico (extrato verde) de *P. rhodozyma*, observando que o armazenamento a 4°C conservou melhor quando comparado a altas temperaturas (45°C e 65°C), resultando como tempo de vida médio 8,6 dias. Assim reforça-se que a refrigeração preserva melhor os bioativos carotenogênicos.

3.4.3 Avaliação da aparência e a estabilidade de cor de *P. rhodozyma* seca em leite de jorro

Para avaliação da cor foi utilizado a variação de parâmetros de L*(luminosidade), a*(transição de cor azul a vermelha), b*(transição de cor verde-amarela) (Figura 8), croma (Intensidade da cor), Ângulo Hue (tonalidade) e ΔE (diferença total da cor em relação a amostra padrão do dia 1) (Figura 9). A biomassa seca em leite de jorro do dia 1 apresentou como valor L*: $58,46 \pm 0,08$, a*: $45,33 \pm 0,01$ e b*: $35,07 \pm 0,02$. A partir desses valores o dia 1 tem de parâmetro croma e ângulo hue: 57,32 e 37,73 respectivamente.

Para o armazenamento em temperatura ambiente o parâmetro L* foi maior no dia 75 com $73,36 \pm 0,25$, representando um clareamento da amostra de 25,45%, o segundo maior clareamento ocorreu no tempo 60 dias com $69,58 \pm 0,01$ representando 19,06%. Esse clareamento pode-se observar nos primeiros dias de armazenamento com clareamento de 16,06% não tendo diferença significativa com os dias 30 e 90. Já o menor clareamento ocorreu no dia 45 atingindo um valor de $62,47 \pm 0,12$. Em comparação ao resfriado observa-se que o maior valor de L* foram nos primeiros 15 dias obtendo um clareamento de 11,78% com $65,35 \pm 0,11$, após esse período o valor de L* mesmo com diferenças significativas foram bem próximos oscilando entre $62,47 \pm 0,12$ e $64,62 \pm 0,02$, diminuindo apenas no tempo 90 dias com $55,49 \pm 0,06$. Indicando um escurecimento na biomassa dada pela refrigeração.

Figura 8- Parâmetros de cor L*, a*, b* de Estabilidade da biomassa de *P. rhodozyma* seca em leite de jorro cultivada em biorreator de bancada de 5 L, com 100 g·L⁻¹ de melaço de soja, a 300 rpm, 1vvm, 25 °C e pH inicial 6, quanto a concentração de carotenoides em diferentes temperaturas de armazenamento



Os resultados são expressos como valores médios $\pm$ desvios-padrão (N = 3). Letras minúsculas diferentes representam diferenças significativas ($p < 0,05$) ao longo de todo o armazenamento segundo o teste Tukey, após análise de variância (Anova) a 5% de significância. Letras maiúsculas diferentes apresentam diferenças significativas ($p < 0,05$) no mesmo dia e armazenamento, mas em diferentes temperaturas, temperatura ambiente (25,5 a 28°C) e refrigerada 4°C, segundo o teste t.

Quanto ao parâmetro a* observa-se que na biomassa armazenada em temperatura ambiente teve a maior perda (14,72%) de cor vermelha no tempo 90 dias de armazenamento atingindo $24,74 \pm 0,04$, sendo que estas perdas se tiveram nos dias restantes de armazenamento estes valores oscilaram entre ($35,23 \pm 0,03$ e $25,69 \pm 0,07$). Quanto o parâmetro b* nessa condição de armazenamento teve que a maior perda de amarelo (28,16%) se teve também no dia 90 atingindo o valor de $25,19 \pm 0,08$, a diferença das mudanças do parâmetro a*, o tom amarelado não se perdeu com maior força a partir do dia 15 até o dia 75 sendo que esta perda oscilo entre 2,70% e 4,02% sendo apenas a maior queda nos primeiro 15 dias ($32,93 \pm 0,05$) e nos 90 dias.

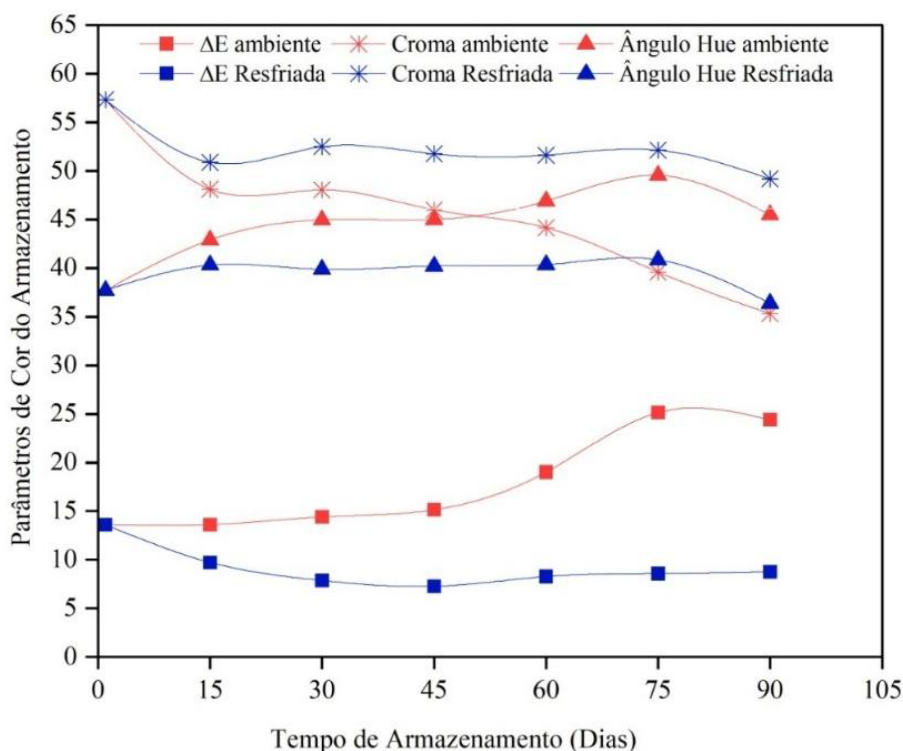
A amostra resfriada teve menor perda no parâmetro a^* aos 90 dias comparando a amostra em temperatura ambiente, indicando a presença majoritária de vermelho com $39,58 \pm 0,06$. A maior perda neste parâmetro foi nos primeiros 15 dias de armazenamento chegando ao valor de $35,23 \pm 0,03$, já os restantes de dias se mantiveram estável, mesmo diferentes estatisticamente, oscilam entre uma perda de cor vermelha de 11,13% a 13,21%. No parâmetro b^* que representa coloração amarela os valores de amarelo foram perto aos valores encontrado no outro armazenamento até o dia 30 variando entre $32,76 \pm 0,04$ e $33,97 \pm 0,04$, a partir do dia 45 ($33,42 \pm 0,04$) a variação começa a aumentar sendo que a amostra manteve a coloração amarela estável sem diferenças significativas até o dia 60, no dia 75 não teve variações bruscas chegando a um valor de $34,12 \pm 0,04$. a maior perda nesse parâmetro se teve no dia 90 atingindo uma perda de 16,77% ($29,18 \pm 0,22$).

A Figura 9 apresenta outros parâmetros de cor como croma, Ângulo hue e ΔE . Na biomassa do dia 1 mostrou um valor de croma de 57,32 e de Ângulo Hue de 37,72 sendo o último parâmetro zero, já que se trata da amostra padrão. Nesse sentido observa-se que quanto a vivacidade da cor (croma) a amostra a temperatura ambiente teve maior perda (38,41 %) chegando ao valor de 35,31 aos 90 dias de armazenamento já a amostra resfriada teve uma perda de vivacidade de 14,20% chegando ao valor de 49,17, a diferença dessa amostra nesse parâmetro é a estabilidade da vivacidade de cor no refrigerado a partir do dia 15 ao 75, mesmo havendo diferença significativa os valores oscilaram apenas entre 50,89 e 52,49, ao contrário da biomassa a temperatura ambiente que nesse mesmo período a oscilação foi maior estando valores em torno de 39,60 e 48,11. No parâmetro de ângulo hue que representa a tonalidade percebesse que na amostra em condições ambiente ocorreu deslocamentos da coloração vermelha para tonalidade mais amarelada chegando aos 90 dias a 45,51, já a amostra refrigerada a tonalidade da cor foi mais estável preservando mais a cor avermelhada ficando com valor de 40,86 aos 75 dia e 36,39 aos 90 dias, valores próximos ao padrão. A queda no dia 90 pode-se relacionar alguma reação química que altere a tonalidade do pigmento nas duas amostras.

Arrieira *et al.* (2025) monitoraram a cor de óleo de *Rhodotorula mucilaginosa* extraídos por Bligh e Dyer ou por Hara e Radin durante 8 dias, sendo as amostras protegidas contra a luz e armazenadas em dessecador. Após 8 dias os óleos extraídos por Bligh Dyer mantiveram a cor contudo, as amostras obtidas por Hara e Radim diminuíram o parâmetro a^* ou seja acarretou em perda de cor vermelha, sugerindo que ocorreu perda ou isomerização dos carotenoides presentes no óleo. Comportamento semelhante foi observado no presente estudo pois a

biomassa armazenada em temperatura ambiente diminuiu também no parâmetro a^* (cor vermelha).

Figura 9- Parâmetros de cor croma, Ângulo Hue e ΔE de Estabilidade da biomassa de *P. rhodozyma* seca em leito de jorro cultivada em biorreator de bancada de 5 L, com $100 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ de melaço de soja, a 300 rpm, 1vvm, 25°C e pH inicial 6, quanto a concentração de carotenoides em diferentes temperaturas de armazenamento



Sendo que a temperatura ambiente é $25,5$ a 28°C e refrigerada 4°C

O valor de ΔE representa a diferença visível das amostras sendo que valores maiores possuem maiores diferenças visíveis. Nas amostras apresentadas tem-se que o maior valor se encontra nas amostras a temperatura ambiente chegando a uma diferença de 24,41 em 90 dias e 25,14 em 75 dias, já na amostra refrigerada a diferença é menor representando maior estabilidade da cor em 90 dias teve-se uma diferença de apenas 8,75. Como os valores são maiores que 3 pode-se afirmar que as diferenças são visíveis assim as Figuras 10 e 11 representam essa diferença. A Figura 10 representa a biomassa no dia 1 e a Figura 11a representa a biomassa conservada em temperatura ambiente ($25,5$ a 28°C) e a 11b representa a biomassa conservada por refrigeração (4°C) as duas no tempo 90 dias.

Figura 10- Biomassa de *P. rhodozyma* seca em leite de jorro cultivada em biorreator de bancada de 5 L, com $100 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ de melaço de soja, a 300 rpm, 1vvm, 25°C e pH inicial 6, no primeiro dia de armazenamento



Figura 11- Biomassa de *P. rhodozyma* seca em leite de jorro cultivada em biorreator de bancada de 5 L, com $100 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ de melaço de soja, a 300 rpm, 1vvm, 25°C e pH inicial 6 após 90 dias de armazenamento

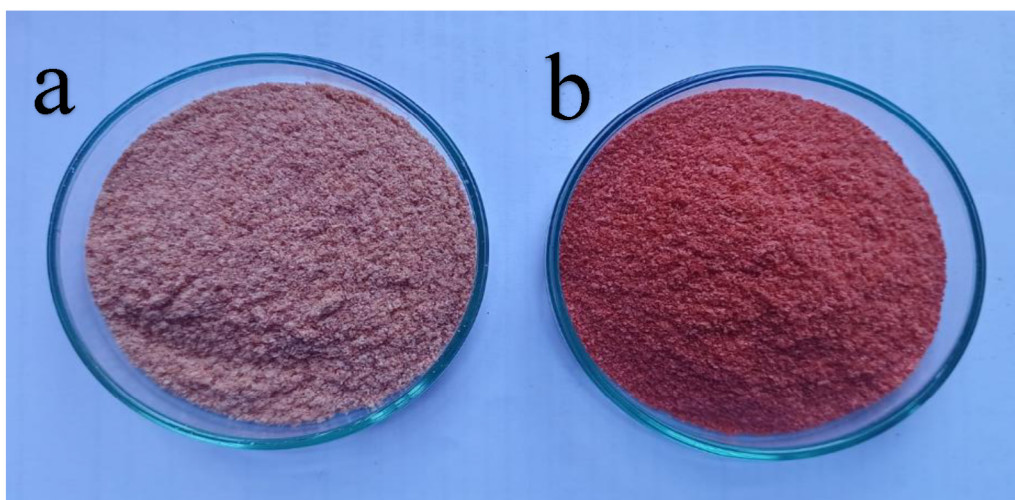


Figura 11a representa a biomassa conservada em temperatura ambiente ($25,5$ a 28°C). Figura 11b representa biomassa armazenada em refrigeração (4°C)

4 CONCLUSÃO

O estudo avaliou o comportamento da secagem da biomassa de *P. rhodozyma* cultivada em melaço de soja no biorreator de bancada por leite de jorro visando minimizar a degradação de seus compostos termossensíveis, e não afetar as características sensoriais de cor. Com isso o cultivo em biorreator de 5L e com melaço de soja como substrato produziu $12,59 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ de biomassa em 144h nas condições de 300rpm, 1vvm, 25°C pH inicial de 6. A secagem por leite

de jorro recuperou 157,71 $\mu\text{g. g}^{-1}$ de β -caroteno e 249,54 $\mu\text{g. g}^{-1}$ de astaxantina. Ao comparar com a biomassa liofilizada o leite de jorro aumentou a recuperação em 55,9% em β -caroteno e 55,3% em astaxantina. Em relação a secagem por circulação de ar o leite de jorro foi superior em 12,3% de β -caroteno e 14,8% de astaxantina. A avaliação da cor da biomassa seca em leite de jorro foi muito mais preservada que a liofilizada, atingindo maior intensidade de vermelho e amarelo, assim como menor diferença perceptível em relação à biomassa úmida. Quanto a composição centesimal e preservação dos grupos funcionais a manutenção dos macronutrientes no leite de jorro foi eficiente para proteínas e cinzas, sendo inferior ao liofilizado com perdas de cerca de 10% em lipídeos e menos de 1% em carboidratos. É necessário destacar que o armazenamento da biomassa sob refrigeração diminui a degradação de carotenoides e preservou a cor, sendo o efeito contrário em temperaturas ambiente. Assim pode-se dizer que usar o leite de jorro como método de secagem é uma opção viável de preservação de biocompostos para futuras aplicações.

5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AOAC. **Official Methods of Analysis**. 15ª edição. Washington, DC: Association of Official Analytical Chemists, 1995. 1094 páginas. Disponível em: <https://www.scirp.org/reference/referencespapers?referenceid=1425477>. Acesso em: 5 agosto 2025.

AOAC. **Official Methods of Analysis**. 17ª edição. Gaithersburg, MD, USA: The Association of Official Analytical Chemists, 2000. Métodos 925.10, 65.17, 974.24, 992.16. Disponível em: <https://www.scirp.org/reference/ReferencesPapers?ReferenceID=1687699>. Acesso em: 5 agosto 2025.

ARRIEIRA, N. M.; ÁVILA, M. T. de; FLORES, W. H.; MICHELON, M.; DUARTE, S. H.; BURKERT, J. F. de M. Oleogels based on carotenoid-rich microbial oil produced by *R. mucilaginosus* in agro-industrial by-products. **Bioprocess and Biosystems Engineering**, v. 48, n. 2, p. 275–286, 1 fevereiro 2025.

BORGES, J. G.; SOUSA COSTA, L. A. de; DRUZIAN, J. I. Produção e caracterização de biomassa extracelular obtida por fermentação submersa usando *Lasidiopodia theobromae* isolado do cacau. **Polímeros**, v. 24, n. 1, p. 52–57, 2014.

CAROZZO, V.; ARATO, E.; MOLINER, C. Review of Experimental Activities and Recent Developments of Spouted Bed Reactors at Different Operational Scales. **Energies**, v. 17, n. 5, p. 1046, 22 fevereiro 2024.

CHWASTOWSKI, J.; STAROŃ, P. Immobilization of *Phaffia rhodozyma* cells in biopolymer for enhanced Cr(VI) bioremediation. **Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects**, v. 672, p. 131698, 5 setembro 2023.

CIPOLATTI, E. P.; BULSING, B. A.; SÁ, C. dos S.; BURKERT, C. A. V.; FURLONG, E. B.; BURKERT, J. F. de M. Carotenoids from *Phaffia rhodozyma*: Antioxidant activity and stability of extracts. **African Journal of Biotechnology**, v. 14, n. 23, p. 1982–1988, 10 junho 2015.

COŞKUN, N.; SARITAŞ, S.; JAOUHARI, Y.; BORDIGA, M.; KARAV, S. The Impact of Freeze Drying on Bioactivity and Physical Properties of Food Products. **Applied Sciences**, v. 14, n. 20, p. 9183, 10 outubro 2024.

DEHGHAN-MANSHADI, A.; PEIGHAMBARDOUST, S. H.; AZADMARD-DAMIRCHI, S.; NIAKOUSARI, M. Effect of infrared-assisted spouted bed drying of flaxseed on the quality characteristics of its oil extracted by different methods. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 100, n. 1, p. 74–80, 15 janeiro 2020.

DURAZZO, A.; CAROCHO, M.; HELENO, S.; BARROS, L.; SOUTO, E. B.; SANTINI, A.; LUCARINI, M. Food dyes and health: Literature quantitative research analysis. **Measurement: Food**, v. 7, p. 100050, 1 setembro 2022.

FAUSTINO, M.; PEREIRA, C. F.; DURÃO, J.; OLIVEIRA, A. S.; PEREIRA, J. O.; FERREIRA, C.; PINTADO, M. E.; CARVALHO, A. P. Effect of drying technology in *Saccharomyces cerevisiae* mannans: Structural, physicochemical, and functional properties. **Food Chemistry**, v. 412, p. 135545, 30 junho 2023.

FERREIRA FILHO, R. dos S.; BURKERT, J. F. de M.; BURKERT, C. A. V. From shake flasks to a bench-scale bioreactor: scaling up exopolysaccharide production in fed-batch cultivation of *Ensifer meliloti* SEMIA 135. **Journal of Chemical Technology and Biotechnology**, 2025.

FONSECA, R. A. dos S. da; RAFAEL, R. da Silva; KALILL, S. J.; BURKERT, C. A. V.; BURKERT, J. F. de M. Different cell disruption methods for astaxanthin recovery by *Phaffia rhodozyma*. **African Journal of Biotechnology**, v. 10, n. 7, p. 1165–1171, 2011.

FUJITA, A.; BORGES, K.; CORREIA, R.; FRANCO, B. D. G. de M.; GENOVESE, M. I. Impact of spouted bed drying on bioactive compounds, antimicrobial and antioxidant activities of commercial frozen pulp of camu-camu (*Myrciaria dubia* Mc. Vaugh). **Food Research International**, v. 54, n. 1, p. 495–500, 1 novembro 2013.

GAMBARATO, B. C.; CARVALHO, A. K. F.; OLIVEIRA, F. de; SILVA, S. S. da; SILVA, M. L. da; BENTO, H. B. S. Soy Molasses: A Sustainable Resource for Industrial Biotechnology. **Sustainability**, v. 17, n. 12, p. 5667, 19 junho 2025.

HAMEDI, S.; AFSABI, M. M.; RIAHI-MADVAR, A.; MOHEBBI, A. Modeling and optimization of radish root extract drying as peroxidase source using spouted bed dryer. **Scientific Reports**, v. 11, n. 1, p. 1–11, 1 dezembro 2021.

LAI, J. X.; CHEN, X.; BU, J.; HU, B. Bin; ZHU, M. J. Direct production of astaxanthin from food waste by *Phaffia rhodozyma*. **Process Biochemistry**, v. 113, p. 224–233, 1 fevereiro 2022.

LARROSA, A. P. Q.; CAMARA, Á. S.; POHNDORF, R. S.; ROCHA, S. F. da; PINTO, L. A. de A. Physicochemical, biochemical, and thermal properties of *Arthrospira* (*Spirulina*) biomass dried in spouted bed at different conditions. **Journal of Applied Phycology**, v. 30, n. 2, p. 1019–1029, 1 abril 2018.

LYU, Y.; BI, J.; CHEN, Q.; LI, X.; WU, X.; HOU, H.; ZHANG, X. Discoloration investigations of freeze-dried carrot cylinders from physical structure and color-related chemical compositions. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 101, n. 12, p. 5172–5181, 1 setembro 2021.

MANIRAKIZA, P.; COVACI, A.; SCHEPENS, P. Comparative Study on Total Lipid Determination using Soxhlet, Roese-Gottlieb, Bligh & Dyer, and Modified Bligh & Dyer Extraction Methods. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 14, n. 1, p. 93–100, 1 fevereiro 2001.

MANJU, K. M.; REKHA; PRIYANKA; KUMAR, N. Effect of fluidized-bed and freeze-drying techniques on physicochemical, nutritional, thermal, and structural properties of *Moringa oleifera* flowers, leaves, and seeds. **Journal of Food Processing and Preservation**, v. 45, n. 9, p. e15719, 1 setembro 2021.

MARTINS, V. F. R.; ALVES, A. J.; POÇAS, F.; PINTADO, M.; MORAIS, R. M. S. C.; MORAIS, A. M. M. B. Biological and Physico-Chemical Properties of *Lobosphaera sp.* Packed in Metallized Polyethylene Terephthalate/Polyethylene (PETmet/PE). **Phycology**, v. 5, n. 3, p. 35, 6 agosto 2025

NASCIMENTO, J. M. do; OLIVEIRA, J. D. de; LEITE, S. G. F. Chemical characterization of biomass flour of the babassu coconut mesocarp (*Orbignya speciosa*) during biosorption process of copper ions. **Environmental Technology & Innovation**, v. 16, p. 100440, novembro 2019.

NASCIMENTO, J. M. do; OLIVEIRA, J. D. de; RIZZO, A. C. L.; LEITE, S. G. F. Biosorption Cu (II) by the yeast *Saccharomyces cerevisiae*. **Biotechnology Reports**, v. 21, p. e00315, março 2019.

NEGI, A.; INFANT, V.; MOSES, J. A. Effect of drying techniques, conditions and feed types on the quality of dried curry leaf powder. **Food Chemistry**, v. 463, p. 141268, 15 janeiro 2025.

NOWAK, D.; JAKUBCZYK, E. The Freeze-Drying of Foods — The Characteristic of the Process Course and the Effect of Its Parameters on the Physical Properties of Food Materials. **Foods**, v. 9, n. 10, p. 1488, 18 outubro 2020.

OLIVEIRA, E. G.; ROSA, G. S.; MORAES, M. A.; PINTO, L. A. A. Phycocyanin content of *Spirulina platensis* dried in spouted bed and thin layer. **Journal of Food Process Engineering**, v. 31, n. 1, p. 34–50, fevereiro 2008.

OLIVEIRA, J. M. de; 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, p. 101609, 1 maio 2020.

PACHECO, G. M. A.; PONCE, S. D. C.; MEDEIROS BURKERT, J. F. de; BURKERT, C. A. V. Potential of soybean molasses as the sole nutrient source in the cultivation of carotenogenic yeasts. **Bioprocess and Biosystems Engineering**, p. 1–16, 6 agosto 2025.

PEREIRA MARTINS, F.; CANELLAS, J.; NETO, B.; JÚNIOR, A.; SILVA, O.; MARCOS, A.; SIQUEIRA, O. Secagem: uma revisão. **The Journal of Engineering and Exact Sciences**, v. 6, n. 4, p. 0600–0607i, 20 outubro 2020.

PESSINA, A.; GIANCONTIERI, A.; SASSI, T.; BUSTI, S.; VANONI, M.; BRAMBILLA, L. Adaptive Laboratory Evolution and Carbon/Nitrogen Imbalance Promote High-Yield Ammonia Release in *Saccharomyces cerevisiae*. **Microorganisms**, v. 13, n. 2, 1 fevereiro 2025.

RAITA, S.; KUZMIKA, I.; MIKA, T.; GEIBA, Z.; SPALVINS, K. Enhanced amino acid biosynthesis in *Phaffia rhodozyma* via herbicide-induced selection. **Journal of Industrial Microbiology & Biotechnology**, v. 52, p. 11, 2025.

RAKICKA-PUSTUŁKA, M.; ZIUZIA, P.; PIERWOŁA, J.; SZYMAŃSKI, K.; WRÓBEL-KWIATKOWSKA, M.; LAZAR, Z. The microbial production of kynurenic acid using *Yarrowia lipolytica* yeast growing on crude glycerol and soybean molasses. **Frontiers in Bioengineering and Biotechnology**, v. 10, p. 936137, 17 agosto 2022.

RODRIGUES, T. V. D.; AMORE, T. D.; TEIXEIRA, E. C.; BURKERT, J. F. de M. Carotenoid production by *Rhodotorula mucilaginosa* in Batch and Fed-Batch fermentation using agroindustrial by-products. **Food Technology and Biotechnology**, v. 57, n. 3, p. 388–398, 2019.

RODRIGUES, T. V. D.; CERQUEIRA, M. B. R.; CONTESSA, C. R.; FURLONG, E. B.; BURKERT, C. A. V.; BURKERT, J. F. de M. *Rhodotorula mucilaginosa*: kinetics and production of lipids and fatty acids in agroindustrial by-products. **Brazilian Journal of Chemical Engineering**, p. 1–14, 10 abril 2025.

RODRIGUEZ-AMAYA, D. B.; ESQUIVEL, P.; MELÉNDEZ-MARTÍNEZ, A. J.; CILLA, A.; CASSANO, A.; BARREIRA, J. C. M.; KUMAR, S. R. Comprehensive Update on Carotenoid Colorants from Plants and Microalgae: Challenges and Advances from Research Laboratories to Industry. **Foods**, v. 12, n. 22, p. 4080, 10 novembro 2023.

SANTIVARANGKNA, C., KULOZIK, U., FOERST, P., Inactivation mechanisms of lactic acid starter cultures preserved by drying processes, **Journal of Applied Microbiology**, Volume 105, Issue 1, Pages 1–13, July 2008.

SILVA IAHNKE, A. O.; MONTE, M. L.; SANT'ANNA CADAVAL, T. R.; ALMEIDA PINTO, L. A. Electrospinning of gelatin fine fibers loaded with hop waste extract: Development, characterization, and application as antioxidant chitosan bilayer films. **Journal of Molecular Liquids**, v. 426, p. 127364, 15 maio 2025.

SILVA, A. K. N. da; RODRIGUES, B. D.; SILVA, L. H. M. da; RODRIGUES, A. M. da C. Drying and extraction of astaxanthin from pink shrimp waste (*Farfantepenaeus subtilis*): the applicability of spouted beds. **Food Science and Technology**, v. 38, n. 3, p. 454–461, 1 julho 2018.

SILVA, P. G. P. da; PRESCENDO JÚNIOR, D.; SALA, L.; BURKERT, J. F. de M.; SANTOS, L. O. Magnetic field as a trigger of carotenoid production by *Phaffia rhodozyma*. **Process Biochemistry**, v. 98, p. 131–138, 1 novembro 2020.

SILVA, P. G. P.; BURKERT, J. F. de M.; SANTOS, L. O. Magnetic field and a bio-based solvent as greener alternatives in *Phaffia rhodozyma* cultivation: insights into astaxanthin and antioxidant activity thermal degradation. **Process Biochemistry**, v. 141, p. 144–154, 1 junho 2024.

SILVA, P. G. P.; MUSSAGY, C. U.; LIMA, C. de A.; SANTOS-EBINUMA, V. C.; BURKERT, J. F. de M.; SANTOS, L. O. Sustainable approach to recover β -carotene and astaxanthin from *Phaffia rhodozyma* grown in a stirred-tank bioreactor under the influence of magnetic fields. **Bioresource Technology**, v. 390, p. 129906, 1 dezembro 2023a.

SILVA, P. G. P.; PRESCENDO JÚNIOR, D.; MEDEIROS BURKERT, J. F. de; SANTOS, L. O. Carotenoid extraction from *Phaffia rhodozyma* biomass: downstream strategies and economic evaluation of energy. **Brazilian Journal of Chemical Engineering**, v. 40, n. 1, p. 93–102, 1 março 2023.

SIVAKUMAR, R.; SARAVANAN, R.; ELAYA PERUMAL, A.; INIYAN, S. Fluidized bed drying of some agro products – A review. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 61, p. 280–301, 1 agosto 2016.

TAHAM, T.; SILVA, D. O.; BARROZO, M. A. S. Improvement of bixin extraction from annatto seeds using a screen-topped spouted bed. **Separation and Purification Technology**, v. 158, p. 313–321, 28 janeiro 2016.

URNAU, L.; COLET, R.; GAYESKI, L.; REATO, P. T.; FERNANDES DE MEDEIROS BURKERT, J.; KLEIN, T.; RODRIGUES, E.; JACQUES, R. A.; STEFFENS, C.; VALDUGA, E. Fed-batch carotenoid production by *Phaffia rhodozyma* Y-17268 using agroindustrial substrates. **Biointerface Research in Applied Chemistry**, v. 10, n. 3, p. 5348–5354, 2020.

VANAGS, J.; SULEIKO, A. Oxygen mass transfer coefficient application in characterisation of bioreactors and fermentation processes. **Latvian Journal of Physics and Technical Sciences**, v. 59, n. 5, p. 21–32, 1 outubro 2022.

VIANA, B. T. O.; ADORNO, D. A.; SANTOS, J. S. Os benefícios dos carotenóides para a saúde. *Research, Society and Development*, v. 11, n. 16, p. 1–8, 14 dezembro 2022.

WANG, D.; ZHANG, M.; JU, R.; MUJUMDAR, A. S.; YU, D. Novel drying techniques for controlling microbial contamination in fresh food: A review. **Drying Technology**, v. 41, n. 2, p. 172–189, 2023.

XU, M.; LIU, Q.; NI, X.; CHEN, C.; DENG, X.; FANG, Y.; WANG, X.; SHEN, Q.; YU, R. Lipidomics reveals the effect of hot-air drying on the quality characteristics and lipid oxidation of Tai Lake whitebait (*Neosalanx taihuensis* Chen). **LWT**, v. 197, p. 115942, 1 abril 2024.

YAMANE, Y. I.; HIGASHIDA, K.; NAKASHIMADA, Y.; KAKIZONO, T.; NISHIO, N. Influence of oxygen and glucose on primary metabolism and astaxanthin production by *Phaffia rhodozyma* in batch and fed-batch cultures: kinetic and stoichiometric analysis. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 63, n. 11, p. 4471–4478, 1997.

ZHANG, C.; ZHAO, X.; YAO, M.; ZHANG, J.; LIU, L.; LI, Q.; XU, H.; LI, R.; TIAN, Y. High-density cultivation of *Phaffia rhodozyma* SFAS-TZ08 in sweet potato juice for astaxanthin production. **Electronic Journal of Biotechnology**, v. 61, p. 1–8, 1 janeiro 2023.

ARTIGO 2

“MELAÇO DE SOJA: SUSTENTABILIDADE NA PRODUÇÃO DE ÓLEO MICROBIANO
POR *Phaffia rhodozyma*”

PONCE, S. D. C.; HAN, L. H.; PINTO, L. A. A.; BURKERT, C. A. V.; BURKERT, J.F.M

MELAÇO DE SOJA: SUSTENTABILIDADE NA PRODUÇÃO DE ÓLEO MICROBIANO POR *Phaffia rhodozyma*

RESUMO

A busca de meios sustentáveis para produzir óleos ricos em ácidos graxos insaturados tem sido um desafio, com isso óleos microbianos têm-se tornado uma alternativa. *Phaffia rhodozyma* é uma levedura oleaginosa e GRAS, pouco explorada para a produção de lipídeos, sendo sua produção dependente da composição do meio de cultivo e condições de processo. O melaço de soja, coproduto agroindustrial, tem-se tornado uma opção promissora para esse desafio. Para isso, cultivou-se a levedura com 100g.L⁻¹ de melaço de soja em biorreator de bancada de 5L nas condições de 300 rpm, 1vvm a 25°C por 144h. Os lipídeos foram recuperados pelo método Bligh e Dyer com e sem hidrólise ácida, e seus perfis determinados por cromatografia gasosa, índices de iodo e saponificação por RMN os índices de iodo e saponificação. Os índices de acidez e peróxido foram determinados por titulometria. Nessas condições foram alcançados 12,59 ± 0,048 g.L⁻¹ de biomassa durante o cultivo, e concentração volumétrica expressa em astaxantina e β-caroteno de 1941,97 ± 34,810 µg.L⁻¹ (154,23 ± 2,606 µg.g⁻¹) e 1081,67 ± 9,741 µg.L⁻¹ (85,91 ± 1,01 µg.g⁻¹), respectivamente. A produção de 4,2 g.L⁻¹ lipídeos (±35% m.m⁻¹) foi obtida, resultado que foi potencializado pela razão C/N de 44,39 empregada no meio de produção. O óleo apresentou relação de ácidos graxos saturado/insaturado de 0,24, índice de iodo 74 g.I₂ 100 g⁻¹; saponificação 161 mg KOH g⁻¹, acidez de 5,02 mg KOH g⁻¹ e peróxido 3,19 mEq O₂. kg⁻¹. Portanto, os resultados indicam alto grau de instauração, baixa oxidação e alto teor de ácidos graxos livres, demonstrando que o óleo microbiano produzido tem grande potencial nutricional e aspectos de sustentabilidade para futuras aplicações alimentícias.

Palavras-chaves: Ácidos graxos insaturados, Leveduras oleaginosas, Substrato agroindustrial.

1. INTRODUÇÃO

O consumo de gorduras insaturadas que não estejam na forma trans tem sido recomendado, devido às propriedades nutricionais e tecnológicas que oferecem à saúde como diminuição do LDL (lipoproteína de baixa densidade) e propriedades antiinflamatórias. Atualmente a maior fonte de produção destas gorduras são de origem vegetal (Rosqvist; Niinistö, 2024). Contudo estas apresentam desafios na qualidade e na diversificação (Wen *et al.*, 2023), uma vez que a demanda mundial de consumo aumentará em 46% até 2050; e a produção de monoculturas como soja, dendê ou outras culturas oleaginosas levam a efeitos na degradação de terras, mudanças climáticas, problemáticas nas biodiversidades e consequentemente na segurança alimentar (Meijaard *et al.*, 2020).

Com isso processos biotecnológicos com leveduras são alternativas para enfrentar estes desafios, que tem sido encontrado 160 leveduras produtoras de óleos com produção igual ou acima de 20% de lipídeos. Mas, que não foram aplicadas devido ao alto custo de produção e a

resistência do consumidor, pois algumas delas pertencem as OGM (Organismos geneticamente modificados) ou tem sido declaradas como patogênicas (Abeln; Chuck, 2021). As leveduras oleaginosas que produzem carotenoides (leveduras vermelhas) têm chamado atenção da indústria devido ao poder antioxidante e aos papéis importantes na saúde que estes pigmentos proporcionam, além da coloração chamativa que possuem (Li *et al.*, 2022).

Dentre estas leveduras *Phaffia rhodozyma* tem sido destaque para várias pesquisas devido ao seu status GRAS (*Generally Recognized as Safe*), alta adaptabilidade em diferentes meios de cultivos e principalmente pela sua produção majoritária de astaxantina e β -caroteno (Silva *et al.*, 2023a). Contudo o potencial lipídico tem sido pouco explorado na literatura, isso porque o principal foco é a produção de astaxantina que tem efeitos competitivos no metabolismo com a produção de etanol, proteína e ácidos graxos (Xiao *et al.*, 2015). Não obstante, o acúmulo de lipídeos por esta levedura tem sido benéfico, pois em estudos com biorrefinaria mostrou-se que o seu perfil lipídico apresenta ácidos graxos insaturados de alto valor comercial, além de ser rico em carotenoides e que possuem grande potencial para futuras aplicações (Mussagy *et al.*, 2022).

Assim, meios de cultivo alternativos têm sido procurados para esta levedura. Dentre estes o melaço de soja, coproduto agroindustrial da proteína de soja tem-se tornado uma alternativa promissora, pois possui potencial sustentável e de baixo custo para cultivos microbianos, devido ao seu alto teor de carbono (da Natividade *et al.*, 2025). Estudos com este coproduto tem demonstrado o seu potencial no aumento de produção de biomassa e carotenoides de *P. rhodozyma*, reduzindo custos, com o meio de produção, em até 90% em comparação ao cultivo em extrato de malte e levedura (YM) (Pacheco *et al.*, 2025).

É possível observar que a produção de biomassa e a composição dela esta levedura depende de fatores específicos de sua espécie, condições de processo e meios de cultivo que favorecem a produção de lipídeos ou outros metabólitos. Assim, é necessário avaliar o potencial do melaço de soja como substrato de meio de cultivo na produção de lipídeos para esta levedura, podendo ser objeto de estudo de futuras aplicações em cultivos para outras leveduras oleaginosas. Portanto, é possível vislumbrar o potencial de *P. rhodozyma* na síntese de óleos microbianos de alto valor agregado.

Nesse contexto o objetivo do estudo foi avaliar a produção de óleo por *P. rhodozyma* cultivada em biorreator de bancada com melaço de soja como substrato no cultivo e caracterizar parcialmente o óleo produzido.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1. MICRORGANISMO, PREPARO DE INÓCULO

A levedura *Phaffia rhodozyma* NRRL Y-17268 (GRAS) foi obtida do Laboratório de Pesquisa Regional do Norte (Peoria, IL, EUA), e mantida a 4°C em ágar inclinado, 20 g.L⁻¹ de ágar em meio YM (glicose 10 g.L⁻¹, peptona 5 g.L⁻¹, extrato de levedura 3 g.L⁻¹ e extrato de malte 3 g.L⁻¹) (Silva *et al.*, 2020). A reativação do microrganismo foi feita através da raspagem celular em tubos YM ágar. O pré-inóculo do microrganismo foi feita em tubos contendo 9 mL de caldo YM e a raspagem de células com 1 mL de água peptonada a 0,1% (v/v) incubados a 25°C por 48 h. Para inóculo usou-se Erlenmeyer de 250 ml contendo 90 mL de meio YM e 10 mL do pré- inóculo nas seguintes condições: 150 rpm, 25°C, pH inicial 6, o tempo de incubação foi até atingir 1.10⁸ células. mL⁻¹ determinada em câmara de Neubauer (Pacheco *et al.*, 2025).

2.2 CONDIÇÕES DE CULTIVO

A concentração do meio cultivo foi de 100 g.L⁻¹ de melaço de soja definido por estudos preliminares. O cultivo foi feito em batelada no biorreator de bancada de 5 L, com 4 L úteis contendo 10% de inóculo, iniciando o cultivo com 1.10⁷ células. mL⁻¹, nas seguintes condições: 25°C, pH inicial ajustado para 6, 300 rpm e 1vvm (Silva *et al.*, 2023b).

2.3 CARACTERIZAÇÃO DO MEIO DE CULTIVO AGROINDUSTRIAL

O melaço de soja, foi concedido pela empresa CJ Selecta (Araguari, Brasil) e mantido sob refrigeração a 8°C. A caracterização quanto carbono, hidrogênio e nitrogênio (CHN) foi realizada por analisador elementar (Perkins Elmer 2400 Series II, EUA) onde as amostras foram submetidas a combustão em oxigênio puro com detecção e quantificação dos gases por condutividade térmica (TCD) (Ferreira Filho; Burkert; Burkert, 2025). A caracterização físico-química seguiu a metodologia de Oliveira; Michelin; Burkert, (2020), determinando-se lipídeos por extração em Soxhlet método 920,39 da AOAC (1995), teor de proteínas por Kjeldahl método 955,04C da AOAC (2000), cinzas por incineração em mufla método 942,05 da AOAC (2000); e carboidratos por diferença.

2.4. DETERMINAÇÃO DO COEFICIENTE VOLUMÉTRICO DE TRANSFERÊNCIA DE OXIGÊNIO NA FASE LÍQUIDA (K_La)

O coeficiente volumétrico de transferência de oxigênio (k_{La}) na fase líquida foi feito após o oxigênio dissolvido do meio de cultivo não inoculado for removido por borbulhamento de nitrogênio no biorreator, para depois ser ativado os parâmetros: aeração 1vvm e agitação 300 rpm. O monitoramento da concentração de oxigênio dissolvido foi realizado em tempo real através de um eletrodo. A curva de reoxigenação do meio foi a base para calcular a k_{La} (Ferreira Filho; Burkert; Burkert, 2025) e utiliza a Equação (1) abaixo apresentada.

$$-k_L a \cdot t = \ln\left(\frac{C^* - OD}{C^*}\right) \quad \text{Equação 1}$$

Onde t = tempo em horas, C^* = concentração de oxigênio saturado em equilíbrio com o ar (equivalente a 100% OD). OD= concentração de oxigênio dissolvido no meio (em %).

2.5 DETERMINAÇÃO DA CONCENTRAÇÃO DE BIOMASSA E pH DURANTE O CULTIVO

Amostras de 2 mL foram coletadas no decorrer do cultivo para análise de biomassa e pH. A amostra foi centrifugada a $1745 \times g$ por 10 min numa centrífuga Cientec CT-5000 R, Brasil. O sedimento foi lavado com água destilada duas vezes e centrifugado novamente, logo após a biomassa foi quantificada por espectrofotometria a 620nm, e foi relacionada com a curva padrão construída previamente. O sobrenadante foi usado para medir o pH usando um pHmetro digital (Marte MB-10, Brasil). de acordo com as normas da AOAC (2000) (Silva *et al.*, 2023c).

2.6 PRODUTIVIDADE NO CULTIVO

A produtividade da biomassa e da concentração volumétrica de carotenoides do cultivo foram calculadas através da Equação (2) e Equação (3) (Rodrigues *et al.*, 2019).

$$P(x) = \frac{B_{\max} - B_0}{\Delta t} \quad \text{Equação 2}$$

$$P(CV) = \frac{CV_{\max} - CV_0}{\Delta T} \quad \text{Equação 3}$$

Onde $B_{\max}$ = concentração de biomassa máxima (g.L^{-1}); B_0 = concentração de biomassa inicial (g.L^{-1}); $CV_{\max}$ = concentração volumétrica máxima de carotenoides ($\mu\text{g.L}^{-1}$); CV_0 = concentração volumétrica inicial de carotenoides ($\mu\text{g.L}^{-1}$); Δt = intervalo de tempo de fermentação (h).

2.7 SECAGEM DA BIOMASSA

A biomassa foi seca em leito de jorro conforme adaptação de Larrosa *et al.* (2018) usando leito com coluna cilíndrica de aço inox e base cônica de vidro (60° , 0,15 m de altura e 0,175 m de diâmetro), e operado em regime de jorro estável, com velocidade acima da mínima de jorro (v_{jm}) nas seguintes condições: biomassa diluída até umidade inferior de 95%, temperaturas de entrada 95°C , saída do ar de 65°C , $\Delta T = 30^\circ\text{C}$, ar comprimido de 101 kPa e atomização semi-contínua de $0,2 \text{ kg}\cdot\text{h}^{-1}\cdot\text{kg}^{-1}$ de inerte. Após seca foi moída até chegar na granulometria de 115 *mesh* (Cipolatti *et al.*, 2015).

2.8 EXTRAÇÃO E DETERMINAÇÃO DA CONCENTRAÇÃO DE CAROTENOIDES

Para extração de carotenoides foi utilizado 0,05 g da biomassa seca, 2 mL de dimetilsulfóxido aquecido a 55°C (ruptura da parede celular), seguida de homogeneização em vórtex por 1 min a cada 15 min. durante 1h. Após isso a extração sólida-líquido foi feita com 6 mL de acetona e homogeneização em vórtex por mais 1 min e centrifugou-se a $1745 \times g$ por 10 min (Cientec CT-5000 R, Brasil). Este processo foi repetido até o branqueamento da célula. Na partição líquido-líquido foi usado 10 mL de NaCl 20% (m.v^{-1}) e 10 mL de éter de petróleo, adicionando-se sulfato de sódio para remoção de excesso de água e foi deixado em repouso até a separação de fases para recuperação do sobrenadante (Cipolatti *et al.*, 2015; Fonseca *et al.*, 2011; Silva *et al.*, 2023a). Posteriormente foi quantificado usando espectrofotometria (Biospectro SP-22, China) na faixa de 448 nm para β - caroteno e 474 nm para astaxantina. A concentração específica usou a absorvidade específica em éter de petróleo para β - caroteno de 2592 e astaxantina de 2100 (Pacheco *et al.*, 2025) sendo calculado pela Equação 2 abaixo, de acordo Davies (1976).

$$CT = \frac{A \cdot V \cdot 10^6}{A_{CM}^{1\%} \cdot 100 \cdot m_{amostra}} \quad \text{Equação 2}$$

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

2.9 DETERMINAÇÃO DE LIPÍDEOS POR BLIGH & DYER

Para quantificação de lipídeos testou-se a metodologia de Bligh e Dyer (1959) adaptada por Manirakiza; Covaci; Schepens, (2001). Duas formas de extração foram realizadas: Com ruptura química da parede celular usando 5 mL de ácido clorídrico HCl 2 M a 80 °C por 1 h (Rodrigues *et al.*, 2025b) e sem hidrólise ácida. As amostras com hidrólise ácida antes da etapa de extração foram resfriadas e centrifugadas a 3560 x g por 15 minutos descartando-se o sobrenadante. A etapa de extração com o uso de metanol e clorofórmio na relação (4:4 v/v), sendo que o clorofórmio foi realizado em duas porções, adicionando-se 3,6 ml de água destilada, sendo que cada etapa de adição foi seguida por agitação no vórtex 2 min, após esse processo se centrifugou a 3560 x g por 15 minutos recuperando-se a fração oleosa em balão seco e previamente tarado. A reextração seguiu o mesmo processo da extração sendo adaptado apenas o uso do solvente e volume, utilizando-se apenas 4ml de solução metanol: clorofórmio na relação 1:9 (v/v). O extrato lipídico recuperado foi rotaevaporado a 40°C para eliminar todo tipo de solvente presente, o resultado foi expresso em (% m/m) e determinado conforme Equação 3 abaixo (AOCS, 2009).

$$\text{Conteúdo lipídico} = \frac{P_f}{m} \times 100 \quad \text{Equação 3}$$

Onde: P_f = massa dos lipídeos extraídos da amostra (g); m = peso da amostra

2.10 COMPOSIÇÃO CENTESIMAL DA BIOMASSA

A biomassa seca também foi caracterizada quanto à sua composição centesimal seguindo-se as metodologias da AOAC (2000) proteínas pelo método Kjeldahl e cinzas por incineração de mufla. Para a determinação de lipídeos foi usada a metodologia descrita acima pelo método de Bligh dyer (1959) adaptado por Manirakiza; Covaci; Schepens, (2001) com hidrólise ácida (HCl 2M) e os carboidratos foram determinados por diferença.

2.11 CARACTERIZAÇÃO DO ÓLEO MICROBIANO

2.11.1 Perfil de ácidos graxos

Para a obtenção dos ésteres metílicos dos lipídeos extraídos, seguiu-se o protocolo descrito por Metcalfe *et al.* (1966). O perfil de ácidos graxos foi determinado por um cromatógrafo a gás equipado com injetor split/splitless com coluna capilar Zebron ZB-FAME (20 m x 0,18 mm ID x 0,15 μ m) e 40 detectores de ionização de chama (FID) (Shimadzu, modelo – 2010 Plus). O N₂ foi o gás de arraste. A temperatura do injetor e detector foi mantida em 250°C e 260°C; respectivamente. O programa da temperatura foi a seguinte: A temperatura inicial foi de 80°C por 1,5 min; após 160°C a uma taxa de aquecimento de 40°C. min⁻¹, logo em seguida 185°C a uma taxa de 5°C min⁻¹ e finalizando até 260°C a uma taxa de 30°C. min⁻¹.

Sendo o total de corrida de 40 minutos aproximadamente. Para identificar os compostos obtidos 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 encontrados.

2.11.2 Ressonância Magnética Nuclear (RMN)

A espectrofotometria de ressonância magnética nuclear (RMN) foi utilizada para determinar os índices de Iodo e Saponificação que sintetizam propriedades globais não diretamente obtidas pelo perfil individual de ácidos graxos. (Bruker High Field, modelo 400 MHz Ascend, Rheinstetten, Alemanha) equipado com um ímã de 9,4 T, correspondente a 400 MHz para ¹H, e uma sonda de 5 mm de diâmetro. Para análise foi usado 20 mg dos lipídeos dissolvidos em 0,7 mL de CDCl₃ e transferidos ao espectrômetro. A sequência padrão ¹H-RMN usada consistindo em um pulso de 90°, com um tempo de aquisição de 9,109 s, 2.000 varreduras e janela espectral de 24,03 Hz. Os dados dos espectros integrados de RMN de H1 foram calculados pelo programa PROTEUS, método descrito por Reda *et al.* (2006).

2.11.3. Índice de acidez e peróxido por titulometria

A determinação de acidez e peróxido foi realizado com duas biomassas de lotes distintos de produção (lote 1: biomassa armazenada há 2 meses e lote 2: biomassa produzida há 1

semana). Para a determinação do índice de acidez (AOCS Official Method Cd, 1980- Método Ca 5a-40) foi realizada por titulometria com NaOH 0,1N até o aparecimento de coloração rosada persistente por no mínimo 30s. A equação 4 determina a acidez em ácido oleico ($\text{g. } 100\text{g}^{-1}$).

$$\text{Acidez em ácido oléico } \left(\frac{\text{g}}{100\text{g}} \right) = \frac{V_{\text{NaOH}} * 28,2 * N_{\text{NaOH}}}{P_a} \quad \text{Equação 4}$$

Onde V_{NaOH} = volume gasto na titulação, N_{NaOH} = normalidade da solução NaOH e P_a = peso da amostra em gramas

O índice de peróxido (AOCS Official Method Cd, 1980- Método Cd 8-53) foi determinado por titulometria com solução de ácido acético-clorofórmio e KI (iodeto de potássio), o resultante foi titulado com solução de tiossulfato de sódio 0,1N, adicionado de solução indicadora de amido 1% (m/v), e a titulação foi continua até o desaparecimento da cor azul. O índice de peróxido foi determinado pela equação 5 e expresso em mEq O_2/kg de óleo

$$\text{IP} = \frac{(V_a - V_b) * 1000}{P_a} \quad \text{Equação 5}$$

Onde V_a = volume de tiossulfato gasto na titulação da amostra, V_b = volume de tiossulfato gasto na titulação do branco, N = normalidade do tiossulfato de sódio, P_a = massa da amostra em gramas.

2.12 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os dados obtidos foram processados no software Statística 7.0 (StatSoft Inc., Tulsa, OK, EUA). Os experimentos foram representados com suas médias e desvio padrão, quando aplicável. As análises estatísticas incluíram a aplicação de análise de variância (ANOVA) para identificar diferenças significativas, com posterior teste de Tukey a um nível de confiança de 95% ($p \leq 0,05$). Para comparação entre dois tratamentos foi utilizado o teste t com um nível de significância definido em $p < 0,05$.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 CARACTERIZAÇÃO DO SUBSTRADO PARA O MEIO DE PRODUÇÃO

O melaço de soja utilizado no presente estudo possui concentração elementar de carbono de $30,63 \pm 0,1\%$ (m.m^{-1}), nitrogênio de $0,69 \pm 0,1\%$ (m.m^{-1}) e hidrogênio de $5,52 \pm 0,1\%$ (m.m^{-1}). Nota-se que o teor de nitrogênio é pequeno comparado aos outros elementos, mas que através de ensaios preliminares foi observado que não afetou o crescimento da *P. rhodozyma*. Esta diminuição neste elemento provoca aumento na razão de carbono e nitrogênio apresentando no meio com 100 g.L^{-1} de melaço de soja o valor de 44,4. Esta relação nos meios de cultivo é essencial para o aumento ou diminuição de alguns metabólitos (Kamzolova *et al.*, 2022). Quando ocorre o aumento do teor de carbono e pouco teor de nitrogênio como é a condição deste estudo, ocorre o favorecimento ao aumento de lipídeos (Wiebe *et al.*, 2012).

A composição centesimal do melaço de soja tem extrato seco total de $66,1 \pm 0,3\%$ e a tabela 1 mostra que o melaço de soja é rico em carboidratos, correlacionado assim ao grande teor de açúcar que o caracteriza, utilizado no cultivo de microrganismos (Gambarato *et al.*, 2025). Alguns autores como Oliveira; Michelon; Burkert (2020) destacam que o teor de lipídeos no melaço de soja pode ser muito variável, devido ao processamento da soja. Rakita *et al.* (2021) relatam teores de lipídeos de diferentes autores que caracterizaram o melaço de soja para nutrição animal os quais encontraram ao redor de 4 a 20 % de lipídeos, corroborando com a variabilidade lipídica.

Quanto a proteína e cinzas os valores obtidos são moderados para o substrato deixando em evidência o baixo teor de nitrogênio do meio e assim como a presença de diferentes minerais. É possível notar que o melaço de soja apresenta um ótimo potencial como substrato de cultivos microbianos. Pacheco *et al.* (2025) demonstra que o uso de melaço de soja como único substrato no cultivo de *P. rhodozyma* é uma alternativa promissora e sustentável.

Tabela 1-Composição centesimal do Melaço de Soja

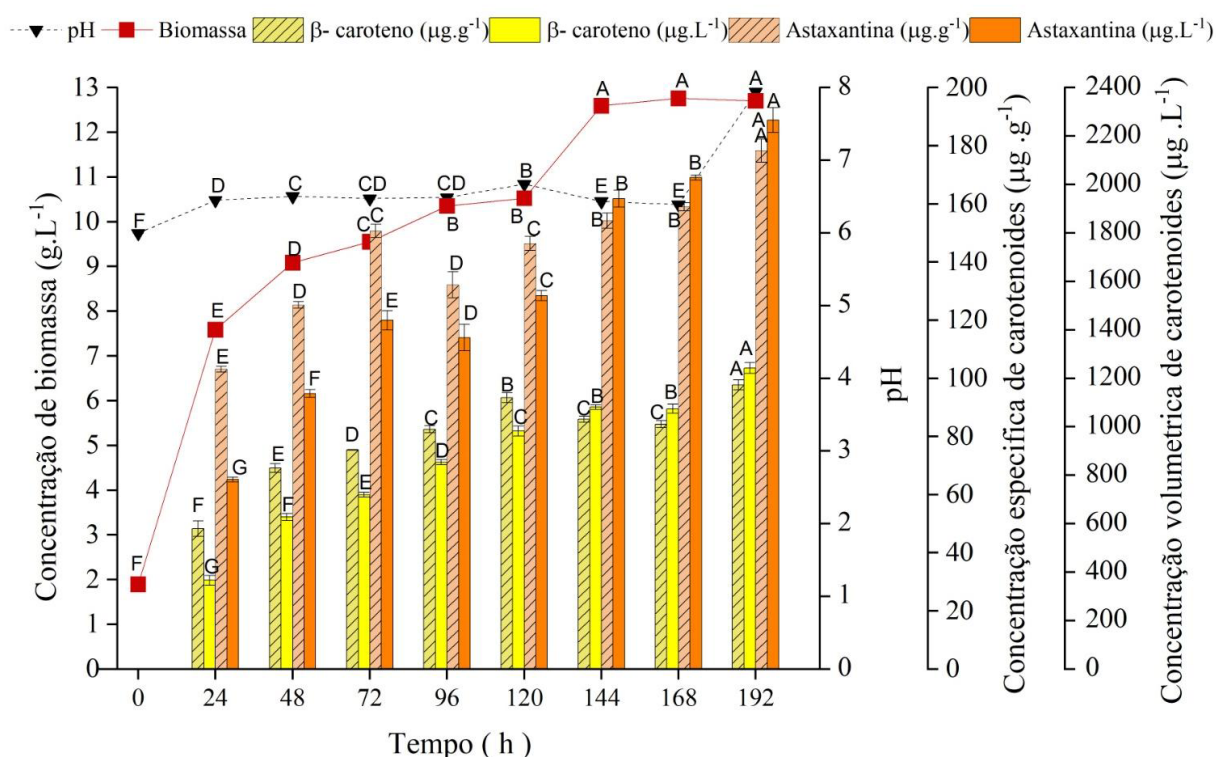
Componente	Composição do componente (% m.m^{-1})
Lipídeos ^a	$2,6 \pm 0,3$
Proteínas ^a	$7,3 \pm 0,0$
Cinzas ^a	$7,7 \pm 0,0$
Carboidratos ^a	82,5

^a Base seca

3.2 CULTIVO MICROBIANO

Os valores de biomassa, pH e concentrações de carotenoide de *P. rhodozyma* cultivada em biorreator de bancada com melaço de soja estão ilustradas na Figura 1. A maior produção de biomassa ocorreu em 144h sem diferença significativa nas horas seguintes. Neste tempo de processo foi alcançado $12,59 \pm 0,048 \text{ g.L}^{-1}$ de biomassa, com pH de cultivo de $6,43 \pm 0,006$, e concentração volumétrica expressa em astaxantina e β - caroteno de $1941,97 \pm 34,810 \text{ } \mu\text{g.L}^{-1}$ ($154,23 \pm 2,606 \text{ } \mu\text{g. g}^{-1}$) e $1081,67 \pm 9,741 \text{ } \mu\text{g.L}^{-1}$ ($85,91 \pm 1,01 \text{ } \mu\text{g. g}^{-1}$), respectivamente.

Figura 1-Cinética de cultivo de *P. rhodozyma* em biorreator de bancada de 5 L com com 100 g.L^{-1} de melaço de soja, a 300 rpm, 1vvm, 25 °C e pH inicial 6



Os resultados são expressos como valores médios $\pm$ desvios-padrão ($N = 3$); Letras maiúsculas diferentes indicam diferenças significativas ($p < 0,05$) ao longo de todo o cultivo, após análise de variância seguido por teste Tukey

As produtividades de biomassa e concentração volumétrica de carotenoides estão apresentados na Tabela 2. Observa-se que no crescimento da levedura a maior produção de biomassa foi nas primeiras 24h (fase log) com a produtividade de $0,24 \text{ g.L}^{-1}.\text{h}^{-1}$ chegando a uma concentração de $7,59 \pm 0,022 \text{ g.L}^{-1}$ que representa aumento de 75,1% em relação ao tempo inicial. Neste ponto também aumentou a produtividade da concentração volumétrica de carotenoides expressas em β -caroteno e astaxantina com $15,27$ e $32,61 \text{ } \mu\text{g.L}^{-1}.\text{h}^{-1}$; respectivamente. Após as 144h de cultivo, não houve diferença significativa na concentração de biomassa mantendo-se a produtividade de $0,07 \text{ g.L}^{-1}.\text{h}^{-1}$ até as 168h, decrescendo

posteriormente nas 192h a $0,06 \text{ g.L}^{-1}.\text{h}^{-1}$ atingindo $12,70 \pm 0,000 \text{ g.L}^{-1}$ de biomassa. Porém a concentração de carotenoides no ponto 192h aumentou devido ao acúmulo na fase estacionária chegando em $97,75 \pm 1,757 \text{ } \mu\text{g. g}^{-1}$ ($1241,808 \pm 22,324 \text{ } \mu\text{g.L}^{-1}$) para β -caroteno e $178,32 \pm 4,018 \text{ } \mu\text{g. g}^{-1}$ ($2265,370 \pm 51,042 \text{ } \mu\text{g.L}^{-1}$) para astaxantina. Estes valores podem ser explicados pois quando se relaciona com a concentração de biomassa estável após as 144h percebe-se a levedura diminui o crescimento celular e aumentou a síntese de carotenoides, isso devido à falta de nutrientes (teor de nitrogênio) nessa fase de cultivo, redirecionando a levedura para aumento na síntese de metabolitos secundários (Paul; Kumari; Siddiqui, 2023).

Pacheco *et al.*, (2025) estudando a mesma cepa da levedura percebeu o mesmo comportamento no cultivo em meio YM, onde o aumento de metabólitos secundários foi alcançado no final do cultivo com $288,20 \pm 6,01 \text{ } \mu\text{g. g}^{-1}$ para astaxantina e β -caroteno de $162,64 \pm 3,11 \text{ } \mu\text{g. g}^{-1}$.

Tabela 2-Produtividade do cultivo de *Phaffia rhodozyma* em biorreator de bancada de 5L com 100 g.L^{-1} de melaço de soja, a 300 rpm, 1vvm, 25°C e pH inicial 6

Produtividade do cultivo de <i>Phaffia rhodozyma</i> em biorreator de bancada			
Tempo (Horas)	Biomassa ($\text{g.L}^{-1}.\text{h}^{-1}$)	Concentração de carotenoides volumétricos ($\mu\text{g.L}^{-1}.\text{h}^{-1}$)	
		β-Caroteno	Astaxantina
24	0,24	15,27	32,61
48	0,15	13,08	23,69
72	0,11	10,00	17,37
96	0,09	8,89	14,25
120	0,07	8,19	11,40
144	0,07	7,51	13,49
168	0,07	6,39	12,08
192	0,06	6,47	11,79

Dessa forma define-se o tempo para o cultivo de produção de biomassa em 144h pois neste ponto ocorreu a concentração máxima de biomassa, com produtividade celular aceitável e concentração de carotenoides expresso em β -caroteno e astaxantina satisfatória quando comparado a outros tempos posteriores, sendo economicamente mais viável.

3.3 COMPOSIÇÃO DA BIOMASSA

A biomassa foi caracterizada de acordo com sua composição centesimal (Tabela 3) para determinar o direcionamento metabólico da levedura nessas condições de produção, e especialmente para avaliar seu potencial biotecnológico na produção de lipídeos. Na *P. rhodozyma* pouco tem se explorado a caracterização da biomassa, indicando a importância no estudo para avaliar o potencial deste microrganismo. Nos resultados apresentados a quantidade do extrato seco total foi de 96,1%, dos quais os lipídeos ($\pm 35\%$) foi o segundo maior composto encontrado na levedura indicando que este microrganismo possui grande potencial para produzir óleo microbiano, já que microrganismos produtores de mais de 20% de lipídeo na sua estrutura são considerados oleaginosos (Sineli *et al.*, 2022).

Autores como Rodrigues *et al.* (2025) e Arrieira *et al.* (2025) que estudaram *Rhodotorula muculaginata* cultivada em água de maceração de milho 3,4 g.L⁻¹ e melaço de cana-de-açúcar 70 g.L⁻¹ nas condições de 25 °C a 180 rpm e uma razão de C/N de 143 encontraram 46,5 % e 23,8%, respectivamente, de lipídeos. Já na *P. rhodozyma* poucos estudos são apresentados com respeito a composição centesimal. O estudo de Lai *et al.*, (2022) encontrou 9,1% de lipídeo na biomassa da *P. rhodozyma* Y119 cultivada em resíduos alimentares, valor abaixo ao encontrado no presente estudo.

Quanto ao teor de proteína encontrada a levedura ocupou o terceiro lugar dos componentes de *P. rhodozyma*, indicando que mesmo a rota de síntese de ácidos glicéricos tendo sido priorizada, a produção com essa relação de carbono/nitrogênio (44,4) obteve uma quantidade aceitável de proteína (23,31%), sendo similar ao estudo de Lai *et al.* (2022) que destaca a potencialidade desta levedura para produzir proteínas.

P. rhodozyma na literatura tem chamado a atenção para o seu teor proteína e autores como Raita *et al.* (2025) pela seleção indutiva por herbicida conseguiu aumentar o teor proteico de *P. rhodozyma* DSM 5626 alcançando 31,0% da sua massa, valor superior ao encontrado neste estudo. Assim, neste estudo a biomassa da *P. rhodozyma* produziu concentração de lipídeo superior a proteína, mas ainda assim pode ser considerado fonte aceitável desta macromolécula. Estes dois compostos presentes na biomassa da levedura evidenciam diretamente a influência do meio de cultivo. Nota-se que dos autores mencionados as técnicas usadas foram otimizadas para produzir um biocomposto específico, na levedura do presente estudo o meio de melaço de soja foi usado como substrato único e não foi realizada a otimização do meio de cultivo, podendo assim notar o potencial deste substrato para produção de lipídeos e proteínas.

Quanto ao teor de cinzas, que representa a fração mineral da biomassa temos 4,8% valor que indica compostos inorgânicos da levedura e/ou do substrato usado no meio de produção

(Tabela 1). Em estudos com *Yarrowia lipolytica* cepa ATCC 9773 e NRRL Y-50997 de Torres-Añorve; Sandoval (2025) encontrou-se 5,8 % e 6,9% respectivamente, superiores aos dados encontrados na composição de *P. rhodozyma*, este valor baixo no estudo pode indicar que existe baixas impurezas inorgânicas no microrganismo (Puri; Hu; Naterer, 2024a). O teor de carboidratos foi o maior composto encontrado na levedura, este representa os polissacarídeos presentes na parede celular assim como também alguns compostos de reserva (Dong *et al.*, 2024). Por fim o extrato seco total na biomassa foi de 96,1 %, representando a alta eficiência da secagem e da recuperação da fração de sólidos.

Assim, pode-se dizer que *P. rhodozyma* cultivada em melaço de soja possui um alto valor biológico devido as proporções dos biocompostos que oferece, destacando ainda mais o potencial do melaço de soja como substrato para esta levedura e para futuras aplicações em outras leveduras oleaginosas.

Tabela 3- composição centesimal de *P. rhodozyma* cultivada com 100 g.L⁻¹ de melaço de soja em biorreator de bancada de 5L

Componente	Composição do componente (% m.m ⁻¹)
	Biomassa seca
Lipídeos ^a	34,9 ± 0,3
Proteínas ^a	23,3 ± 0,4
Cinzas ^a	4,8 ± 0,1
Carboidratos ^a	37,0

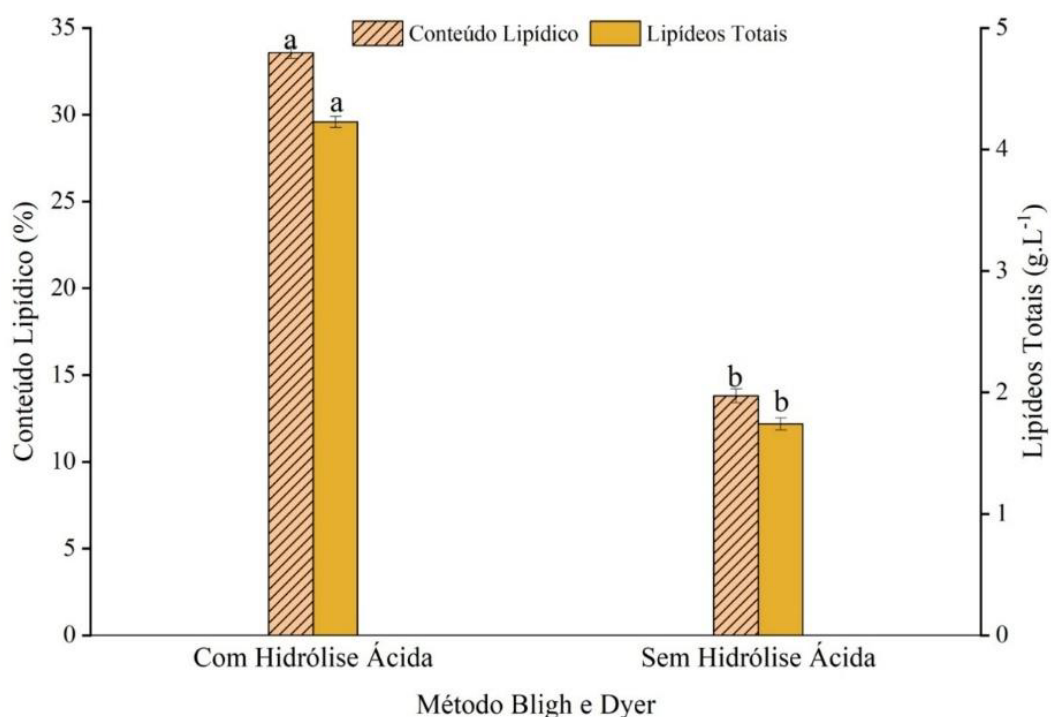
^aBase seca

3.4 INFLUÊNCIA DA EXTRAÇÃO BLIGH E DRYER COM HIDRÓLISE ÁCIDA E SEM HIDRÓLISE ÁCIDA

Na recuperação de lipídeos produzido por esta levedura, após secagem em leito de jorro, testou-se duas formas de extração: o método convencional de Bligh e Dryer (1959) sem hidrólise ácida e outro com a hidrólise antes da extração. Essa estratégia foi uma das utilizadas previamente, nesta cepa da *P. rhodozyma*, para recuperar os compostos intracelulares com métodos químicos e físicos que causam ruptura celular (Rodrigues *et al.*, 2025a). Neste estudo como a biomassa foi seca em leito de jorro que proporciona choques mecânicos constantes durante a secagem foi necessário avaliar a influência desta ação e verificar se ocorria a quebra da parede celular de evitando o uso de solventes químicos. Com isso os resultados representados na Figura 2 mostram que a recuperação lipídica com hidrólise ácida foi de 33,6±0,3% (4,2±0,05

g.L⁻¹) e a sem hidrólise ácida foi de 13,8±0,4% (1,74±0,05 g.L⁻¹), confirmando a eficiência da hidrólise na quebra de parede celular superior em 58,9%.

Figura 2-Recuperação de lipídeos pelo método de Bligh e Dryer com e sem hidrólise ácida de *P. rhodozyma* em biorreator de bancada de 5 L com 100g.L⁻¹ de melaço de soja a 300 rpm, 1vvm, 25 °C e pH inicial 6



Os resultados são expressos como valores médios ± desvios-padrão (N = 3); Letras minúsculas diferentes indicam diferenças significativas ($p < 0,05$) entre os dois métodos de extração por Bligh e Dryer segundo Teste t.

Alguns autores têm explorado outro tipo de lises mecânicas entre essas a sonicação convencional conseguindo recuperação de lipídeos de 99,8%, assim como tratamento hidrotérmico a 120° C por 60 min com 84,6% de recuperação lipídica para *Rhodotorula toruloides* Y-6987 (Banerjee; Dien; Singh, 2024).

Neste estudo a lise mecânica realizada pelo leito de jorro não foi suficiente para recuperação do teor de lipídico da biomassa, sendo que a hidrólise química consegue recuperar cerca de 40% do teor de lipídeo. Portanto, é necessário alternativas eficientes que minimizem o uso de reagentes químicos de alto grau de toxicidade na ruptura celular e extração necessários no processo de recuperação de óleos microbianos para futuras aplicações alimentícias.

3.5 CARACTERIZAÇÃO DO ÓLEO EXTRAÍDO DE *P. rhodozyma*

3.5.1 Perfil de ácidos graxos

A identificação de ácidos graxos no óleo microbiano (tabela 4) é essencial para conhecer suas propriedades tecnológicas e nutricionais. É possível observar que quantidade de ácidos graxos monoinsaturados são majoritários representando 68,3%, dentre os quais o ácido oleico tem maior quantidade com 67,0% do teor total de monoinsaturado. O ácido gadolêico estava presente em menor concentração (0,5%). Com respeito aos ácidos graxos saturados representando uma porcentagem de 19,4% do total do óleo, dentre estes o ácido palmítico foi o mais encontrado com 15,2% e o ácido mirístico com 0,4% encontrado em menor concentração. Dentre os ácidos graxos polinsaturados que totalizaram 12,3% do conteúdo total do óleo, destaca-se o ácido linoleico com 10,8%, sendo o ácido graxo linolênico com 1,4% presente em menor concentração. Assim a relação de saturados/insaturados apresenta valor de 0,24, indicando que o presente óleo microbiano em estudo é rico em ácidos graxos insaturados.

Tabela 4- Perfil de ácidos graxos de óleo da biomassa de *P. rhodozyma* cultivada em biorreator de 5 L, com 100g.L⁻¹ de melão de soja, a 300 rpm, 1vvm, 25°C e pH inicial 6

Perfil de ácidos graxos % (m. m ⁻¹)		
Ácidos graxos	Tipo	Composição percentual
Ácido mirístico (C14:0)	SFA	0,4±0,00
Ácido palmítico (C16:0)	SFA	15,2±0,10
Ácido palmitoleico (C16:1)	MUFA	0,9±0,01
Ácido esteárico (C18:0)	SFA	2,8±0,26
Ácido oleico (C18:1 C)	MUFA	67,0±0,46
Ácido linoleico (C18:2 C)	PUFA	10,8±0,27
Ácido linolênico (C18:3 C)	PUFA	1,4±0,09
Ácido gadolêico (C20:1)	MUFA	0,5±0,02
Ácido lignocérico (C24:0)	SFA	1,0±0,07

Sendo SFA (saturado), MUFA (monoinsaturado), PUFA (polinsaturado)

Autores como Feng *et al.* (2025) determinaram o perfil de ácidos graxos da levedura *P. rhodozyma* D3 e encontraram 12 ácidos graxos saturados, 5 ácidos graxos monoinsaturados e 7 ácidos graxos polinsaturados, dos quais o ácido oleico apresentou teor de 26,26 mg. g⁻¹ e

ácido linoleico 4,04 mg. g⁻¹, sendo estes valores inferiores aos encontrados na cepa em estudo. Entre os ácidos graxos saturados encontrados pelo autor destaca-se o ácido palmítico com teores de 5,36 mg. g⁻¹ e ácido esteárico com 0,952 mg. g⁻¹, que também estão abaixo do quantificado para esta cepa. Zhang *et al.* (2022) usaram TIO₂ como estresse na *P. rhodozyma* PR106 para aumentar a produção de astaxantina, relacionando-a após com a produção de ácidos graxos. Observando que o aumento de astaxantina diminui os teores de ácidos graxos saturados como palmítico e esteárico e aumenta a produção de ácidos graxos insaturados como oleato, linoleato e α -linolenato, sendo a relação maior com linoleato. Assim pode-se dizer que o óleo de *P. rhodozyma* tem um grande potencial para o mercado de óleos rico em insaturações, tornando-o atrativo para a indústria e para futuras aplicações.

3.5.2 Ressonância Magnética Nuclear -RMN

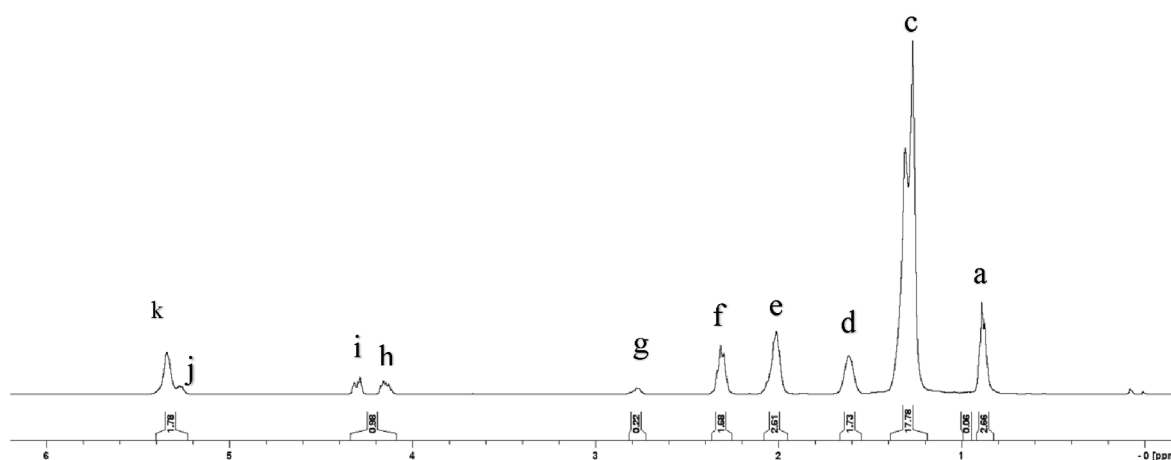
O RMN serve como ferramenta para identificar grupos funcionais de triglicerídeos, possibilitando encontrar parâmetros químicos como índice de acidez, razão ROA (razão oleico/ácido linoleico), iodo e saponificação que indicam medidas integrativas das propriedades físico-químicas do lipídio. O óleo microbiano de *P. rhodozyma* foi caracterizado por RMN (Figura 3). Nesses parâmetros se correlacionou os deslocamentos químicos e a integração dos picos com valores do perfil de ácidos graxos obtidos por cromatografia. A identificação dos sinais do espectro de RMN seguiu os critérios propostos por Reda *et al.* (2006) onde é possível perceber que o pico mais intenso (c) que está na faixa de 1,4 -1,15 ppm refere-se a prótons metilênicos dos ácidos graxos do triacilglicerol possuindo uma área relativa maior de 17,78. Esse sinal pode se relacionar a predominância de cadeias alifáticas longas, associadas principalmente à elevada proporção de ácido oleico (66,98%) no perfil de ácidos graxos, que foi o principal ácido graxo identificado no óleo. O pico d indica prótons β - carboxílicos na área de 1,50-1,70 ppm. Outro pico interessante é o f na faixa de 2,34 a 2,2 ppm, que é associado a prótons α - carboxílicos indicando a proximidade do grupo carboxílico. O pico g na faixa de 2,7 a 2,8 ppm indica prótons alílicos internos, que são típicos de polinsaturações como o ácido linolênico (1,4%) e linoleico (10,83%), O pico K representa prótons olefinicos e apresenta deslocamento químico entre 5,26 e 5,40 ppm, e indica a presença das duplas ligações nas cadeias acílicas dos ácidos graxos, pico j representa prótons H-2 metilênico do glicerol, é característico de hidrogênio do carbono central do glicerol de triacilglicerídeos, confirmando que o óleo em estudo apresenta o triacilglicerol intacto, a integração dos picos a+b (prótons metílicos) representam a parte saturada da molécula, que podem estar relacionados ao ácido

mirístico (0,43%), palmítico (15,21%) e lignocérico (0,97%). Assim pode-se mostrar que o RMN corroborou com as informações do perfil de ácidos graxos.

Os picos integrados com o perfil lipídico associado mostraram que o índice de acidez correspondeu a 5,02 mg KOH.g⁻¹ e 2,52% de ácidos graxos livres. Indicando a presença moderada de ácido graxo livres. Esse valor é superior ao comparado a legislação brasileira de acidez que permite o máximo de 4 mg KOH.g⁻¹, para óleos vegetais prensados a frio e não refinados (Brasil, 2021).

O índice de iodo foi calculado em 74,00 g.I₂.100g⁻¹ de óleo que é compatível com a presença de ácido graxo insaturado como o ácido oleico e linoleico, mostrando um grau de médio a alto de insaturações. Para o índice de saponificação calculado de 161 mg KOH. g⁻¹ confirma a estrutura triacilglicerídica do óleo, indicando também a presença de ácido graxos de cadeia C16 e C18. Arrieira *et al.* (2025) caracterizou o óleo microbiano com teor de iodo e saponificação de *R. mucilaginosa* pelo método de titulometria e teve um valor de 79,8 g.I₂.100g⁻¹ e 178,2 mg KOH. g⁻¹, respectivamente. Estes valores são inferiores aos encontrados ao estudo e isso pode ser devido a diferença da levedura oleaginosa e meio de cultivo. O valor de ROA avalia o grau de insaturação e estabilidade oxidativa do óleo, para o método com RMN foi de 2,30 indicando que há 2,3 vezes mais ácido oleico que linoleico. Portanto, indicando uma maior estabilidade oxidativa porque os monoinsaturados apresentam menor susceptibilidade a auto oxidação lipídica (Kim; Kim; Seo, 2023).

Figura 3- Ressonância Magnética Nuclear do óleo de *P. rhodozyma* cultivada em biorreator de bancada de 5 L com 100g.L⁻¹ de melado de soja



3.5.3 Acidez e peróxido

O índice de acidez e peróxido são parâmetros necessários para avaliar a qualidade para consumo (tabela 5). O teor de acidez foi refeito porque a análise por RMN pode sobrepor ou disfarçar os ácidos graxos livres, em especial se algum deles está ligado ao glicerol ou a outros compostos. O índice de peróxido foi de 3,19 meq O₂/Kg de óleo e 3,60 meq O₂/Kg de óleo para biomassas armazenadas por 2 dias e 2 meses, respectivamente. Portanto, o parâmetro de peróxido encontra-se dentro da legislação brasileira de 10 meq O₂/kg para óleos vegetais refinados (Brasil, 2021). Indicando assim, que o óleo do presente estudo possui baixa degradação oxidativa e que não há diferença significativa quando a biomassa é armazenada por mais tempo.

Bencresciuto *et al.* (2024) avaliou o peróxido de óleo de *Lipomyces starkeyi* fermentada por efluentes de laticínio a duas temperaturas (25 e 30°C) encontrando valores de peróxido 0,14 meq O₂. Kg⁻¹ a 30°C e ausência a 25°C. Estes valores de peróxido são baixos ao igual do encontrado no estudo, assim demonstra-se que óleos microbianos tem baixa oxidação lipídica e podem ser grandes opções para aplicações alimentícias.

Tabela 5- Índice de Acidez e Peróxido do óleo de *P. rhodozyma* cultivada em biorreator de bancada de 5 L com 100g.L⁻¹ de melaço de soja

Tempo de armazenagem da biomassa seca	Peróxido (mEq O₂. Kg⁻¹ de óleo)	Acidez em ácido oleico (g.100g⁻¹ ácido oleico)
2 dias	3,19±0,18 ^a	7,00±0,00 ^a
2 meses	3,60±0,40 ^a	14,00±0,01 ^b

Letras minúsculas diferentes indicam diferenças significativas (p < 0,05) entre as duas biomassas com diferente armazenamento pelo teste de t

Para os parâmetros de acidez nota-se que a biomassa armazenada por mais tempo aumentou em 50% o teor de acidez do óleo extraído, e percebe-se que mesmo sendo armazenada há 1 semana o valor encontrado (7,00±0,00 g.100g⁻¹ ácido oleico) foi superior ao RMN em 63,86% indicando uma alta quantidade de ácido graxos livres. Esse acréscimo entre o RMN e a análise em bancada se deve ao fato de que para análise precisa-se de uma quantidade grande de óleo envolvendo maior tempo de armazenagem do óleo em comparação com o RMN que exige menor quantidade de amostra reduzindo o tempo de espera da análise. Mesmo a acidez sendo baixa no RMN e alta na metodologia titulométrica, os limites de acidez foram superiores ao estabelecido pela legislação para óleos vegetais. As variações de acidez nas biomassas armazenadas podem ser explicadas devido ao fato de que as lipases presentes na biomassa

provavelmente ainda continuam ativas durante a secagem, assim quando a interface lipase/água/lipídeo foi diminuindo promoveu a ação das enzimas que em condições adequadas, quebram os triacilglicerídeos presentes na biomassa das leveduras carotenogênicas (Chandra *et al.*, 2020) causando um aumento nos ácidos graxos livres.

Mesmo o óleo sendo extraído rapidamente o teor de acidez é elevado no começo do processo assim pode-se assumir que o processo de extração com hidrólise química ou enzimática pode aumentar o teor de ácidos graxos livres (Sande *et al.*, 2017), pois este processo ao ocorrer a quebra da parede celular pode ocorrer também a quebra de triacilglicerídeos aumentando a acidez.

No Brasil ainda não existe uma legislação específica para o parâmetro acidez e peróxido de óleos microbianos (novo produto). Porém, é necessário que o óleo microbiano esteja dentro do limite de óleos vegetais para consumo (Brasil, 2021). Como o óleo apresentou altos teores de acidez é necessário buscar técnicas menos agressivas de extração para evitar este problema, assim como buscar formas de armazenagem que impeçam ação das lipases, outro fator que pode ajudar na redução da acidez é um processo de refinamento, contudo tem que ser priorizados processo que não alterem as propriedades sensoriais e nutricionais do óleo.

4. CONCLUSÃO

O presente estudo avaliou a produção de lipídeos de *P. rhodozyma* utilizando 100g.L⁻¹ de melão de soja que mostrou em 144h de cultivo no biorreator de bancada, nas condições de: 300 rpm, 1vvm a 25°C com uma produção de 12,59 g.L⁻¹ de biomassa, se teve a recuperação lipídica de 4,2g.L⁻¹ representando 33,8 % da biomassa da levedura, fator que foi favorecido pela relação C/N de 44,39 do meio de cultivo. Além disso, o óleo produzido pela levedura teve predominância na produção de ácidos graxos monoinsaturados (68,3%) sendo o majoritário o ácido oleico (67,0%) e 12,3% de polinsaturados que conferiram uma maior estabilidade oxidativa de 2,30, o índice de iodo deste óleo foi de 74 g I₂·100g⁻¹ indicando o alto grau de insaturação e o índice de saponificação foi de 161 mg KOH·g⁻¹ que nos mostra que possui uma cadeia de ácidos graxos longa. Quanto ao peróxido do óleo se teve um valor de 3,19 mEq O₂. Kg⁻¹ de óleo, valor bem, abaixo que a legislação exige, o que indica um óleo que não sofreu degradação significativa mesmo quando a biomassa de origem foi armazenada por 2 meses. Também se faz necessário ressaltar que a hidrólise ácida aumentou a recuperação lipídica em 58,9% quando comparado com ausência deste pré-tratamento. Contudo, está por

sua vez teve um provável efeito no aumento da acidez do óleo, sendo necessário condições ou processos de refino para diminuir este parâmetro.

Portanto, é possível concluir que o melaço de soja aliado a *P. rhodozyma* produz um óleo de alto valor nutricional e que tem perspectivas grandes de aplicação, contudo é necessário melhorar algumas lacunas como processos de conservação de biomassa e extração, visando a maior preservação e qualidade do óleo. Além de procurar otimizar condições de produção do lipídeo para escalonamento, explorando a *P. rhodozyma* como potencial fonte de óleo microbiano.

5 REFERÊNCIAS

ABELN, F.; CHUCK, C. J. The history, state of the art and future prospects for oleaginous yeast research. **Microbial Cell Factories**, v. 20, n. 1, p. 1–31, 2021. Disponível em: <https://microbialcellfactories.biomedcentral.com/articles/10.1186/s12934-021-01712-1>. Acesso em: 2 out. 2025.

ARRIEIRA, N. M.; ÁVILA, M. T. de; FLORES, W. H.; MICHELON, M.; DUARTE, S. H.; BURKERT, J. F. de M. Oleogels based on carotenoid-rich microbial oil produced by *Rhodotorula mucilaginosa* in agro-industrial by-products. **Bioprocess and Biosystems Engineering**, v. 48, n. 2, p. 275–286, 2025. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1007/s00449-024-03108-y>.

BANERJEE, S.; DIEN, B. S.; SINGH, V. Hydrothermal conditioning of oleaginous yeast cells to enable recovery of lipids as potential drop-in fuel precursors. **Biotechnology for Biofuels and Bioproducts**, v. 17, n. 1, p. 1–12, 2024. Disponível em: <https://biotechnologyforbiofuels.biomedcentral.com/articles/10.1186/s13068-024-02561-x>.

BENCRESCIUTO, G. F.; MANDALÀ, C.; MIGLIORI, C. A.; GIAN SANTE, L.; DI GIACINTO, L.; BARDI, L. Microbial biotechnologies to produce biodiesel and biolubricants from dairy effluents. **Fermentation**, v. 10, n. 6, p. 278, 2024. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/fermentation10060278>.

CARNEIRO, P. I. B.; REDA, S.; CARNEIRO, E. B. B. ¹H NMR characterization of seed oils from Rangpur lime (*Citrus limonia*)., 2005.

CHANDRA, P.; ENESPA; SINGH, R.; ARORA, P. K. Microbial lipases and their industrial applications: a comprehensive review. **Microbial Cell Factories**, v. 19, n. 1, p. 169, 2020. Disponível em: <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC7449042/>.

CIPOLATTI, E. P.; BRUNA, A. B.; SANTOS, S. S.; BURKERT, C. Carotenoids from *Phaffia rhodozyma*: antioxidant activity and stability of extracts. **African Journal of Biotechnology**, v. 14, n. 23, p. 1982–1988, 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.5897/AJB2015.14682>.

NATIVIDADE, A. C. S. da; FERREIRA FILHO, R. S.; BURKERT, J. F. de M.; BURKERT, C. A. V. Optimization of bacterial biomass production using soybean molasses-based medium as

a potential component for bean crop inoculant development. **Biocatalysis and Agricultural Biotechnology**, v. 67, p. 103668, 2025. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.bcab.2025.103668>

DONG, W.; LI, Y.; XUE, S.; WEN, F.; MENG, D.; ZHANG, Y.; YANG, R. Yeast polysaccharides: The environmentally friendly polysaccharides with broad application potentials. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, v. 23, n. 5, e70003, 2024. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/1541-4337.70003>.

FENG, J.; GAO, Y.; WANG, X.; JI, W.; ZHAO, Q.; ZHANG, J.; WANG, Y.; NAN, B.; LI, X.; WANG, Y. Fed-batch fermentation of *Phaffia rhodozyma* D3 for enhanced astaxanthin production and nutritional components analysis. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 106, n. 1, p. 205–215, 2026. Disponível em: <https://doi.org/10.1002/jsfa.70147>.

FERREIRA FILHO, R. dos S.; BURKERT, J. F. de M.; BURKERT, C. A. V. From shake flasks to a bench-scale bioreactor: scaling up exopolysaccharide production in fed-batch cultivation of *Ensifer meliloti* SEMIA 135. **Journal of Chemical Technology and Biotechnology**, 2025. Disponível em: <https://doi.org/10.1002/jctb.7916>.

FONSECA, R. A. S.; RAFAEL, R. da S.; BURKERT, J. Different cell disruption methods for astaxanthin recovery by *Phaffia rhodozyma*. **African Journal of Biotechnology**, 2011. Disponível em: <https://doi.org/10.5897/AJB10.1034>.

GAMBARATO, B. C.; CARVALHO, A. K. F.; OLIVEIRA, F.; SILVA, S. S. da; SILVA, M. L. da; BENTO, H. B. S. Soy molasses: A sustainable resource for industrial biotechnology. **Sustainability**, v. 17, n. 12, 5667, 2025. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/su17125667>

KAMZOLOVA, S. V.; LUNINA, J. N.; SAMOILENKO, V. A.; MORGUNOV, I. G. Effect of nitrogen concentration on the biosynthesis of citric acid, protein, and lipids in the yeast *Yarrowia lipolytica*. **Biomolecules**, v. 12, n. 10, 1421, 2022. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/biom12101421>.

KIM, K. H.; KIM, Y.; SEO, K. W. Efficacy of monounsaturated fatty acids in reducing risk of cardiovascular diseases, cancer, inflammation, and insulin resistance: a narrative review. **Annals of Clinical Nutrition and Metabolism**, v. 15, n. 1, p. 2–7, 2023. Disponível em: <https://www.e-acnm.org/journal/view.php?number=276>.

LAI, J.-X.; CHEN, X.; BU, J.; HU, B.-B.; ZHU, M.-J. Direct production of astaxanthin from food waste by *Phaffia rhodozyma*. **Process Biochemistry**, v. 113, p. 224–233, 2022. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.procbio.2022.01.003>

LARROSA, A. P. Q.; CAMARA, Á. S.; POHNDORF, R. S.; ROCHA, S. F.; PINTO, L. A. de A. Physicochemical, biochemical, and thermal properties of *Arthrospira* (Spirulina) biomass dried in spouted bed at different conditions. **Journal of Applied Phycology**, v. 30, p. 1019–1029, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s10811-017-1304-8>

LI, Z.; LI, C.; CHENG, P.; YU, G. *Rhodotorula mucilaginosa*—alternative sources of natural carotenoids, lipids, and enzymes for industrial use. **Heliyon**, v. 8, n. 11, e11505, 2022. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2022.e11505>.

MANIRAKIZA, P.; COVACI, A.; SCHEPENS, P. Comparative study on total lipid determination using Soxhlet, Roesse-Gottlieb, Bligh & Dyer, and modified Bligh & Dyer extraction methods. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 14, n. 1, p. 93–100, 2001. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0889157500909724>.

MEIJAARD, E.; BROOKS, T.; CARLSON, K. M.; SLADE, E. M. The environmental impacts of palm oil in context. **Nature Plants**, v. 6, p. 1418, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1038/s41477-020-00813-w>.

MUSSAGY, C. U.; REMONATTO, D.; PICHELI, F. P.; PAULA, A. V.; HERCULANO, R. D.; SANTOS-EBINUMA, V. C.; FARIAS, R. L.; ONISHI, B. S. D.; RIBEIRO, S. J. L.; PEREIRA, J. F. B.; PESSOA JR, A. A look into *Phaffia rhodozyma* biorefinery: From the recovery and fractionation of carotenoids, lipids and proteins to the sustainable manufacturing of biologically active bioplastics. **Bioresource Technology**, v. 362, 127785, 2022. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2022.127785>.

OLIVEIRA, J. M. de; 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, p. 101609, 2020. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1878818119310023?via%3Dihub>.

PACHECO, G. M. A.; CCORI PONCE, S. D.; BURKERT, J. F. de M.; BURKERT, C. A. V. Potential of soybean molasses as the sole nutrient source in the cultivation of carotenogenic yeasts. **Bioprocess and Biosystems Engineering**, v. 48, n. 11, p. 1845–1860, 2025. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s00449-025-03216-3>

PAUL, D.; KUMARI, P. K.; SIDDIQUI, N. Yeast carotenoids: cost-effective fermentation strategies for health care applications. **Fermentation**, v. 9, n. 2, p. 147, 2023. Disponível em: <https://www.mdpi.com/2311-5637/9/2/147/htm>.

RAITA, S.; KUZMIKA, I.; MIKA, T.; GEIBA, Z.; SPALVINS, K. Enhanced amino acid biosynthesis in *Phaffia rhodozyma* via herbicide-induced selection. **Journal of Industrial Microbiology & Biotechnology**, v. 52, kuaf011, 2024. Disponível em: <https://doi.org/10.1093/jimb/kuaf011>.

RAKITA, S.; BANJAC, V.; DJURAGIC, O.; CHELI, F. Soybean molasses in animal nutrition. **Animals**, v. 11, n. 2, p. 514, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/ani11020514>.

RODRIGUES, T. V. D.; AMORE, T. D.; TEIXEIRA, E. C.; BURKERT, J. F. de M. Carotenoid production by *Rhodotorula mucilaginosa* in batch and fed-batch fermentation using agroindustrial byproducts. **Food Technology and Biotechnology**, v. 57, n. 3, p. 388–398, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.17113/ftb.57.03.19.6068>.

RODRIGUES, T. V. D.; CERQUEIRA, M. B. R.; CONTESSA, C. R.; FURLONG, E. B.; BURKERT, C. A. V.; BURKERT, J. F. de M. *Rhodotorula mucilaginosa*: kinetics and production of lipids and fatty acids in agroindustrial byproducts. **Brazilian Journal of Chemical Engineering**, 2025. Disponível em: <https://www.scielo.br/journal/bjce>

ROSQVIST, F.; NIINISTÖ, S. Fats and oils: a scoping review for Nordic Nutrition Recommendations 2023. **Food & Nutrition Research**,. 68, p. 10487, 2024. Disponível em:

<https://foodandnutritionresearch.net/index.php/fnr/article/view/10487/16902>. Acesso em: 2 out. 2025.

SANDE, D.; COLEN, G.; SANTOS, G. F. dos; FERRAZ, V. P.; TAKAHASHI, J. A. Production of omega 3, 6, and 9 fatty acids from hydrolysis of vegetable oils and animal fat with *Colletotrichum gloeosporioides* lipase. **Food Science and Biotechnology**, v. 27, n. 2, p. 537–545, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s10068-017-0249-1>

SANTOS, R. C.; CHAGAS, E. A.; MELO FILHO, A. A.; TAKAHASHI, J. A.; MONTERO, I. F.; SANTOS, G. F.; CHAGAS, P. C.; MELO, A. C. G. R. Chemical characterization of oils and fats from Amazonian fruits by ¹H NMR. **Chemical Engineering Transactions**, v. 64, p. –, 2018. Disponível em: <https://www.aidic.it/cet>

SILVA, P. G. P.; BURKERT, J. F. de M.; SANTOS, L. O. Magnetic field and a bio-based solvent as greener alternatives in *Phaffia rhodozyma* cultivation: insights into astaxanthin and antioxidant activity thermal degradation. **Process Biochemistry**, v. 141, p. 144–154, 2024. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/J.PROCBIO.2024>

SILVA, P. G. P.; PRESCENDO JÚNIOR, D.; BURKERT, J. F. de M.; SANTOS, L. O. Carotenoid extraction from *Phaffia rhodozyma* biomass: downstream strategies and economic evaluation of energy. **Brazilian Journal of Chemical Engineering**, v. 40, n. 1, p. 93–102, 2023. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/S43153-022-00225-7>.

SILVA, P. G. P.; MUSSAGY, C. U.; LIMA, C. de A.; SANTOS-EBINUMA, V. C.; BURKERT, J. F. de M.; SANTOS, L. O. Sustainable approach to recover β-carotene and astaxanthin from *Phaffia rhodozyma* grown in a stirred-tank bioreactor under the influence of magnetic fields. **Bioresource Technology**, v. 390, p. 129906, 2023. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/J.BIORTECH.2023.129906>.

SINELI, P. E.; MAZA, D. D.; AYBAR, M. J.; FIGUEROA, L. I. C.; VIÑARTA, S. C. Bioconversion of sugarcane molasses and waste glycerol on single cell oils for biodiesel by the red yeast *Rhodotorula glutinis* R4 from Antarctica. **Energy Conversion and Management: X**, v. 16, p. 100331, 2022. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/J.ECMX.2022.100331>.

TORRES-AÑORVE, D.; SANDOVAL, G. Comparative analysis of the biomass production and nutritional profiles of two wild-type strains of *Yarrowia lipolytica*. **Applied Microbiology**, v. 5, n. 3, p. 77, 2025. Disponível em: <https://www.mdpi.com/2673-8007/5/3/77/htm>.

WEN, C.; SHEN, M.; LIU, G.; LIU, X.; LIANG, L.; LI, Y.; ZHANG, J.; XU, X. Edible vegetable oils from oil crops: Preparation, refining, authenticity identification and application. **Process Biochemistry**, v. 124, p. 168–179, 2023. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/J.PROCBIO.2022.11.017>.

WIEBE, M. G.; KOIVURANTA, K.; PENTTILÄ, M.; RUOHONEN, L. Lipid production in batch and fed-batch cultures of *Rhodospiridium toruloides* from 5 and 6 carbon carbohydrates. **BMC Biotechnology**, v. 12, 2012. Disponível em: <https://doi.org/10.1186/1472-6750-12-26>

XIAO, A.; JIANG, X.; NI, H.; YANG, Q.; CAI, H. Study on the relationship between intracellular metabolites and astaxanthin accumulation during *Phaffia rhodozyma* fermentation.

Electronic Journal of Biotechnology, v. 18, n. 3, p. 148–153, 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.ejbt.2015.02.002>.

ZHANG, J.; GUAN, X.; LU, Y.; LIU, J.; XU, N.; CAI, C.; LI, X.; NAN, B.; LIU, J.; WANG, Y. Titanium dioxide-mediated fatty acids promoted carotenoid synthesis in *Phaffia rhodozyma* PR106 analyzed whole genome. **Bioresource Technology**, v. 347, p. 126699, 2022. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0960852422011571>

ARTIGO 3

“BIOMASSA DE *Phaffia rhodozyma* CULTIVADA EM MELAÇO DE SOJA:
POTENCIAL COMO CORANTE ALIMENTÍCIO EM BALA DE GOMA”

PONCE, S. D. C.; BURKERT, C. A. V.; BURKERT, J.F.M

BIOMASSA DE *Phaffia rhodozyma* CULTIVADA EM MEIO AGROINDUSTRIAL: POTENCIAL COMO CORANTE ALIMENTÍCIO EM BALAS DE GOMA

RESUMO

Os corantes naturais por vias biotecnológicas tem sido uma grande alternativa de saudabilidade na substituição dos corantes sintéticos na indústria confeitaria especialmente balas de goma, sendo facilmente aceitas no consumo e serem apropriadas como um ótimo veículo de adição de bioativos. A levedura *Phaffia rhodozyma* possui certificação GRAS é produtora de carotenoides e tem alta adaptabilidade em meios agroindustriais como melaço de soja. O objetivo deste artigo foi avaliar o potencial da biomassa de *P. rhodozyma* integral, do extrato etanólico carotenogênico e do β -caroteno adicionado em bala de goma, verificando o efeito produzido nesta matriz. A produção de biomassa foi de $12,59 \text{ g.L}^{-1}$ com β -caroteno ($85,91 \text{ } \mu\text{g.g}^{-1}$) e astaxantina ($154,23 \text{ } \mu\text{g.g}^{-1}$) obtidas do cultivo em biorreator de bancada de 5L nas condições de 300rpm, 1vvm, a 25°C , pH inicial de 6 por 144h. A biomassa foi recuperada e seca em leito de jorro com ΔT de 30°C e taxa de alimentação de $0,2 \text{ kg.h}^{-1}$, sendo analisada a composição centesimal. A adição de 4g de biomassa seca integral, extrato carotenogênico obtido a partir de 4g de biomassa seca integral extraída com etanol e β -caroteno comercial, foram comparados com o controle e balas de goma comercial, quanto a composição centesimal, acidez, pH, sólidos solúveis totais e a recuperação de carotenoides. A biomassa seca em leito de jorro apresentou 34,94% de lipídeos, 23,31% de proteínas e 36,96% de carboidratos. A formulação com a biomassa seca integral se destacou por apresentar dureza e elasticidade similar a balas de goma comerciais, assim como a coloração vermelha. Esta formulação também ofereceu aumento no teor de proteína e lipídeo. Conclui-se que a *P. rhodozyma* apresenta potencial como corante alimentício de alta sustentabilidade.

Palavras-chaves: Carotenoides, Bioproduto, Subproduto agroindustrial, Levedura

1 INTRODUÇÃO

A aparência em produtos alimentícios é critério essencial na escolha do consumidor, interferindo na sua tomada de decisão e impactando nas vendas, por isso a indústria investe em aditivos que beneficiem estes aspectos. Entre os principais encontram-se os corantes, substâncias que intensificam, conferem ou recuperam a cor dos alimentos, sendo os mais usados atualmente, os corantes químicos que são considerados genotóxicos, gerando assim problemáticas no uso (Guimarães *et al.*, 2023b). Assim, os corantes naturais surgem como alternativa na substituição dos sintéticos, possibilitando benefícios na saúde e contribuindo com aspectos tecnológicos e sensoriais na rede alimentar. Os corantes naturais têm sido estudados para melhorar as propriedades de modo similar aos químicos. Dos presentes no mercado de

corantes naturais para as cores amarelo, vermelho e laranja tem sido usados os carotenoides, pigmentos de alto poder antioxidante e diferentes benefícios à saúde (Rossi *et al.*, 2021).

Com isso alternativas como a produção por microrganismos tem sido uma grande opção, já que estão altamente disponíveis, são de fácil manuseio e podem fornecer quantidades grandes de pigmentos com baixo impacto ambiental (Chavan *et al.*, 2025). Dentre este grupo *Phaffia rhodozyma* é uma levedura considerada GRAS (*Generally Recognized as safe*), possui alta capacidade de adaptação a diferentes meios de cultivo (Silva *et al.*, 2023c), com alta produção de carotenoides, sendo na sua maioria astaxantina e β -caroteno.

Entre os cultivos que *P. rhodozyma* se desenvolve, alguns com resíduos e/ou coprodutos agroindustriais tem-se destacado, como é o caso do melaço de soja, coproduto agroindustrial do processamento da proteína da soja, que reduziu o custo do meio de produção desta levedura em cerca de 90% quando se compara ao meio YM (levedura-malte), tornando-a sustentável e viável economicamente (Pacheco *et al.*, 2025). Contudo a aplicação desta levedura e de seus metabolitos em alimentos tem grandes lacunas pois existe pouco conhecimento da sua composição, de seu comportamento em matrizes alimentares e métodos de processamento mais compatíveis ao setor alimentício.

Na indústria de alimentos um dos setores que se destaca no uso de corantes é a confeitaria (Novais *et al.*, 2022). As balas de goma apresentaram um mercado avaliado em US\$ 21,4 bilhões em 2022, abrangendo o público de diferentes faixas etária por possuírem a característica *soft*, sendo sua composição com agentes gelificantes, sacarose e inúmeros aditivos químicos como conservantes e saborizantes (Tarahi *et al.*, 2023). Contudo, esta matriz alimentar é aliada na adição de compostos funcionais na sua composição devido a versatilidade de cores e formas da sua produção (Pekdogan Goztok *et al.*, 2024a). Além da sua grande facilidade de venda para os consumidores servindo inclusive como forma de transporte de probióticos (Miranda *et al.*, 2020).

Entretando quando se adiciona corante oriundo de fonte microbiana existe uma barreira de aceitação do consumidor (Chavan *et al.*, 2025) assim, é necessário avaliar os pigmentos de tal forma que se assemelhem aos que se encontram no mercado. Com isso, questiona-se a respeito da biomassa de *P. rhodozyma* se irá apresentar características tecnológicas semelhantes aos corantes sintéticos e naturais presentes em balas de goma comerciais.

Assim, o objetivo do presente trabalho foi avaliar a biomassa seca de *P. rhodozyma* cultivada em melaço de soja de forma integral, o extrato carotenogênico obtido com solvente verde e o β -caroteno comercial adicionados em balas de gomas e compará-las com balas de

goma comerciais contendo corantes sintéticos e naturais, além de avaliar seu efeito de adição na composição desta matriz.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 MICRORGANISMO, PRÉ-INÓCULO, INÓCULO E CONDIÇÕES DE CULTIVO

Neste estudo foi usada a *Phaffia rhodozyma* cepa NRRL Y-17268, vinda do Laboratório de Pesquisa Regional do Norte na Peoria, IL, EUA. A qual foi mantida sobre refrigeração a 4°C em tubos inclinados com ágar 20g.L⁻¹, e meio YM composto por 10 g.L⁻¹ de glicose, peptona 10 g.L⁻¹, 3 g.L⁻¹ de extrato de levedura e de extrato de malte (Silva *et al.*, 2020). Foi reativada em tubos contendo o mesmo meio e incubados a 25°C por 48 h. O pré-inóculo foi realizado em tubos com 9 mL de meio YM adicionando 1 ml de água peptona (0,1 % v.v⁻¹) com a raspagem celular, sendo incubado a 25°C por 48h. Para o inóculo foi usado 90 mL de caldo YM e 10 mL de pré inóculo em Erlenmeyer de 250 mL que foram incubados em agitador orbital (Tecnal TE-4200, Brasil) a 150 rpm por 4°C a 25°C, até alcançar 1× 10⁸ células. mL⁻¹, contados na câmara de Neubauer (Michelon *et al.*, 2012).

O cultivo da levedura foi realizado em biorreator de bancada de 5 L (Biostat B, B. Braun Biotech International, Alemanha), com volume útil de 4 L, nas condições de 25°C, pH inicial de 6, agitação de 300rpm, e aeração de 1vvm (Silva *et al.*, 2023). O meio agroindustrial com 100 g.L⁻¹ de melaço de soja (Pacheco *et al.*, 2025) foi utilizado, totalizando 3,6 L adicionado de 10% de inóculo, iniciando o cultivo com 1×10⁷ células mL.

2.2 DETERMINAÇÃO DA CONCENTRAÇÃO DE BIOMASSA E pH DURANTE O CULTIVO

A concentração de biomassa e o pH foi realizada através de coletas de 2 mL ao longo do cultivo cada 24 horas, sendo centrifugadas (Cientec CT-5000 R, Brasil) a 1745× g por 10 min e lavada com água destilada 2 vezes até a biomassa (*pellet*) ficar sem resíduos do meio do cultivo. A massa sedimentada limpa foi ressuspensa com água destilada e diluída para leitura da absorbância em espectrofotômetro (Biospectro SP-22, China) a 620 nm relacionando-a com a curva-padrão da levedura encontrada em anexo (Silva *et al.*, 2024). O pH foi medido no sobrenadante inicial recuperado da centrifugação num pHmetro digital (Marte MB-10, Brasil).

2.3 EXTRAÇÃO E DETERMINAÇÃO DA CONCENTRAÇÃO DE CAROTENOIDES

Para determinação de carotenoides no cultivo, a biomassa passou por pré-tratamento onde 0,05 g de biomassa seca em estufa de circulação de ar a 35°C por 48h foi macerada até chegar na granulometria de 115 *mesh*, após isso foi congelada a -18°C por 48 h (Cipolatti *et al.*, 2015). Após o pré tratamento prosseguiu-se com a ruptura da parede celular com 2 mL de dimetilsulfóxido aquecido previamente a 55°C sendo homogeneizados em vórtex por 1 minutos cada 15 minutos completando uma hora, na extração sólida-líquido usou-se acetona 6 mL com agitação de 1 minuto em vórtex para depois ser centrifugado a $1745 \times g$ por 10 min (Cientec CT-5000 R, Brasil) e ser recuperado o sobrenadante que contém os extratos carotenogênicos. Estes dois processos foram repetidos até o branqueamento da célula, logo após se teve a extração líquido-líquido que foi realizada com 10 mL de NaCl a 20% (p.v⁻¹) e 10 mL de éter de petróleo, para remover a água presente foi adicionada sulfato de sódio (Na₂SO₄) e se deixou em repouso até a separação de fases (Fonseca *et al.*, 2011).

Após esse processo prosseguiu-se com a recuperação da porção apolar carotenogênica e que foi lida por espectrofotometria (Biospectro SP-22, China) a 448nm para β -caroteno e 474nm para astaxantina, sendo que a concentração específica foi calculada pela Equação 1 conforme Davies (1976), usando 2592 de absortividade de β -caroteno em éter de petróleo e 2100 de absortividade para astaxantina em éter de petróleo. Já para a concentração volumétrica de carotenoides em $\mu\text{g.L}^{-1}$ a concentração da biomassa foi multiplicada pelo valor da concentração específica de cada carotenoide (Pacheco *et al.*, 2025).

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

Onde: CT = concentração específica de carotenoides totais, A = absorbância, V = volume (mL), m_{amostra} = massa celular seca (g); $A_{\text{cm}}^{1\%}$ = absortividade específica

O extrato carotenogênico usado na formulação (FB2) seguiu o protocolo de extração verde segundo Silva; Burkert, Santos (2024), método aplicado devido a sua biocompatibilidade em alimentos. Nesta extração a recuperação dos carotenoides ocorreu com etanol. Para isso foi adotado uma relação sólida-líquido de 0,2g.mL⁻¹, onde a biomassa seca (4g) foi macerada em grau e pistilo em 3 fases de 2 minutos, 5mL de etanol foi usado em cada fase de maceração, após completar a última fase, recuperou-se o extrato colorido, centrifugando-o (Cientec CT-

5000 R, Brasil) a $1745\times$ g por 10min. para melhor separação de fases, logo em seguida o extrato limpo foi completado em proveta até chegar na razão sólida-líquido estabelecida. Este processo foi realizado 4 vezes para garantir o branqueamento máximo da célula. A quantificação da concentração específica de carotenoides totais expressas em β -caroteno foi realizada por espectrofotômetro (Bioespectro SP-22, China) na faixa de 450 nm usando a absorvidade de 2620 para β -caroteno diluído em etanol (Rodriguez-Amaya, D.B; 2001) e calculado através da Equação 1. O extrato final obtido foi embalado com papel alumínio para evitar contato com a luz e evaporado em estufa a vácuo com resistência elétrica de 443 W na temperatura de 35°C e uma pressão de 4 kPa, temperatura ideal para evitar perdas de carotenoides.

2.4 SECAGEM DA BIOMASSA

Após o cultivo a biomassa foi recuperada por centrifugação a 3500 rpm em três etapas com tempos distintos (20, 15 e 10 min.) lavando com água destilada em cada tempo. A secagem da biomassa pós cultivo e para aplicação na bala de goma foi realizada em leito de jorro (coluna cilíndrica de aço inox, base cônica de vidro com 0,175m de diâmetro, 0,15m de altura e 60°) com velocidade acima da mínima de jorro (v_{jm}), com temperatura de entrada 95°C, e de saída de 65°C, mantendo um ΔT de 30°C para evitar a degradação de carotenoides. O ar comprimido foi de 101 kPa e atomização semi contínua com taxa de alimentação de 0,22 kg.h⁻¹.kg⁻¹ de inerte. Este processo foi realizado em jorro estável e seguiu a metodologia adaptada de Larrosa *et al.* (2018). Após este processo a biomassa seca obtida foi moída em moinho de facas até atingir 115 *mesh* (Cipolatti *et al.*, 2015).

2.5 COMPOSIÇÃO CENTESIMAL DA BIOMASSA

A caracterização da biomassa seca seguiu as metodologias da AOAC (2000), na qual foi caracterizada por Kjeldahl o teor de proteínas, cinzas por incineração de mufla. Para determinação de lipídeos foi realizado Bligh e dyer (1959) adaptado por Manirakiza; Covacic Schepens (2001) e os carboidratos calculados diferença.

2.6 AMOSTRAGEM DAS BALAS COMERCIAIS

A balas de goma a base de gelatinas comerciais usadas neste estudo foram adquiridas no comércio local de Rio Grande, Rio Grande do Sul, Brasil. sendo selecionadas as balas de goma lisas e de formatos regulares que possuíam cores vermelhas, laranjas e amarelas. Em sua composição no rótulo apresentavam: Xarope de Glicose, Açúcar, Água, Gelatina, Triglicerídeos de cadeia média, Ácido Cítrico, Ácido Láctico, Cera de Carnaúba, Cera de Abelha, Aromatizantes, Antioxidante: Lactato de Sódio, Corantes: Tartrazina, Vermelho 40, Amarelo Crepúsculo FCF e Azul Brilhante FCF.

As balas comerciais com corante natural foram gentilmente cedidas em lajeado, Rio Grande do Sul, Brasil. As balas apresentaram superfície lisa e foram escolhidas para a comparação apenas de cor, selecionando as balas de gelatina amarelas e vermelhas que continham sua composição descrita no rótulo: Xarope de glicose, Açúcar, Água, Gelatina, Óleo vegetal, acidulante ácido cítrico, Aromatizantes naturais, Corantes naturais (curcumina, antocianina, cenoura e hibisco).

2.7 AMOSTRAS E FORMULAÇÃO DA BALA DE GELATINA

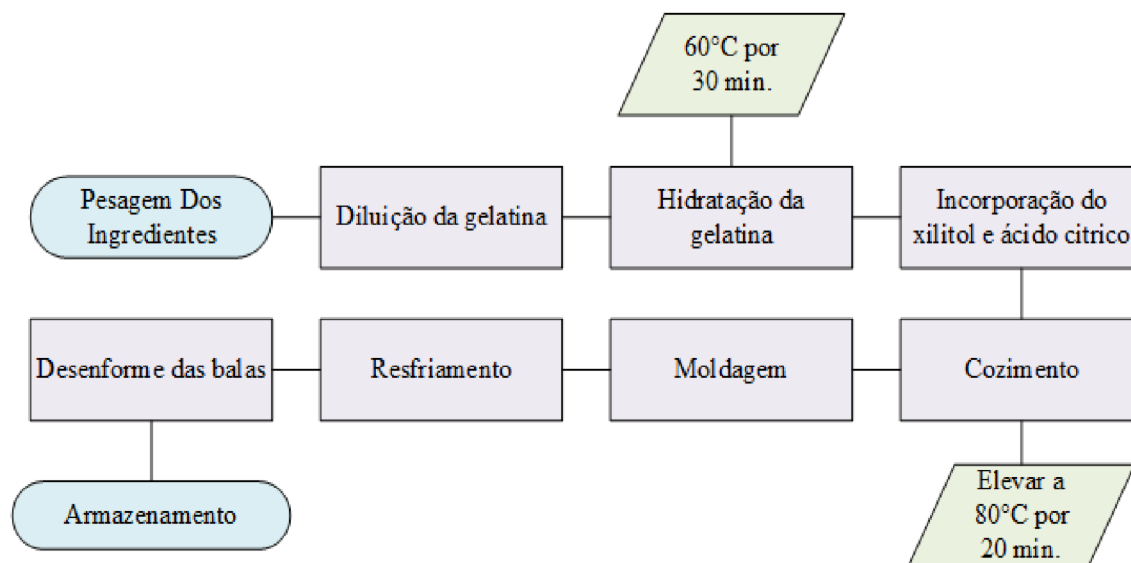
Os ingredientes e materiais usados na formulação da bala de goma foram adquiridos no comércio local de Rio Grande, Rio Grande do Sul, Brasil. Sendo todos de grau alimentício, devidamente identificados e acompanhados com seus rótulos.

A formulação referenciada por Meira *et al.* (2024) correspondente a formulação B foi comparada a formulação A (Tabela 1) com quantidade de xilitol reduzida. A formulação teste da bala de goma que apresentou maior semelhança no perfil de textura, especialmente dureza com a bala de goma comercial foi selecionada. O fluxograma de produção das duas formulações está representado na Figura 1 (Meira *et al.*, 2024).

Tabela 1- Formulações base da bala de goma- testes iniciais

Componente	Formulação A	Formulação B
Água(mL)	100	100
Xilitol (g)	40	50
Gelatina (g)	20	20
Ácido cítrico (g)	2	2
Essência (mL)	0,15	0,15

Figura 1- Fluxograma de produção da bala de goma sem adição de *P. rhodozyma*



2.8 FORMULAÇÕES DE BALA DE GOMA ADICIONADAS DE CAROTENOIDES DE *P. rhodozyma*

A partir da formulação teste escolhida foi adaptada a metodologia de Meira *et al.* (2024) para produção da bala de goma (Figura 1) adicionando-se a biomassa de *P. rhodozyma* após a fase de cozimento. Para esta operação foi necessário que a temperatura da mistura estivesse a 35°C antes da adição, evitando assim a degradação dos compostos adicionados. O armazenamento das balas ocorreu ao abrigo da luz, cobertas por papel alumínio e sob refrigeração (4°C) até as análises de caracterização. Foram formulados 3 tipos de balas de gomas (Tabela 2), sendo a FB1 (bala de goma com biomassa integral seca), FB2 (bala de goma adicionada de extrato carotenogênico obtido da biomassa seca integral extraída com etanol) e FB3 (bala de goma com adição de β -caroteno comercial).

A biomassa seca integral foi diluída em 10% de água total usada na formulação, foi sonicada por 5min. para facilitar a diluição, logo após foi reservada até sua adição na formulação. O extrato contendo os carotenoides extraídos por etanol foi obtido pelo método de Silva; Burkert; Santos (2024b), usado devido a sua compatibilidade em alimentos. Nesta extração se recuperou os carotenoides com etanol, para isso foi adotado uma relação sólido-liquido de 0,2g.mL⁻¹ para depois ser evaporado em estufa a vácuo a 35°C com resistência elétrica de 443 W e pressão de 4 kPa. A mistura de gelatina, ácido cítrico e xilitol (Base da bala

de goma) quando alcançou 35°C foi vertida no recipiente que continha o extrato carotenogênico ou o β -caroteno comercial, para melhor aproveitamento.

Tabela 2- Formulação de balas de goma controle, com biomassa de *P. rhodozyma* integral (FB1), biomassa de *P. rhodozyma* extraída com etanol (FB2) e β -caroteno comercial (FB3)

Ingredientes	Controle	FB1	FB2	FB3
Biomassa seca integral (g)	-	4	-	-
Biomassa seca extraída com etanol(g)	-	-	4	-
β-caroteno comercial (μg)	-	-	-	26
Gelatina (g)	20	20	20	20
Ácido cítrico (g)	2	2	2	2
Xilitol (g)	50	50	50	50
Água (mL)	100	100	100	100
Essência de pêssego(mL)	0,15	0,15	0,15	0,15

2.9 CARACTERIZAÇÃO DE BALAS DE GELATINA

2.9.1 Perfil de textura

O perfil de textura das amostras foi determinado em texturômetro (TA-Xtplus Texture Analyzer, Stable Micro Systems, Reino Unido). Com sonda cilíndrica de 12,7 mm de diâmetro (1/2”) (Delrin, BATCH N° 14631), usada para penetrar 40% da amostra. A velocidade de teste foi de 2 mm. s⁻¹ e a distância da amostra foi de 8 mm. Esta análise foi determinada para avaliar a dureza, adesividade, elasticidade, coesão, mastigabilidade e resiliência. As medições mecânicas foram repetidas 6 vezes para cada formulação (adaptado de Paternina *et al.*, 2024).

2.9.2 Análise de cor

As análises de cor das balas foram realizadas em colorímetro (Minolta CR-400, EUA), as medições consideraram parâmetro de cor L*, a*, b*, propostas pelo CIE (Comissão Internacional de Iluminação) (1978). A partir destes valores foram calculados os parâmetros de cor: ângulo Hue, saturação de cor (Croma), e diferença total de cor (ΔE) representadas na Equações 2, 3 e 4 respectivamente (Martins *et al.*, 2025). As medições foram realizadas em cinco repetições (n = 5) para cada amostra.

$$H_{ab} = \tan^{-1} \left(\frac{b^*}{a^*} \right) \quad \text{Equação 2}$$

$$c^* = \sqrt{(a^*)^2 + (b^*)^2} \quad \text{Equação 3}$$

$$\Delta E = \sqrt{(L_0^* - L^*)^2 + (a_0^* - a^*)^2 + (b_0^* - b^*)^2} \quad \text{Equação 4}$$

Onde L^* , a^* , b^* são os valores da cor de referência, L^* representa a luminosidade, a^* representa coordenada vermelho-verde, b^* coordenada amarelo-azul.

2.9.3 Quantificação de carotenoides na bala de goma

Para extração e quantificação de carotenoides presentes na bala foi adaptada a metodologia de Rodrigues-Amaya (1999), adicionando um pré-tratamento na amostra, pois as balas de goma possuem uma matriz complexa, que retém solventes, água e podem reter carotenoides. Para isso 1g amostra de bala de goma triturada foi colocado em um tubo de centrífuga de 15 mL contendo 10 mL de água. A amostra foi sonicada por ultrassom a $55 \pm 5^\circ\text{C}$ por 30 minutos para melhorar a diluição. Adicionou-se 0,5 mL de solução saturada de sulfato de amônio e foi agitado em vórtex por 10 segundos, deixando em repouso à temperatura ambiente por 10 min. para precipitar e ser centrifugada a 9000 rpm por 10 min. para depois ser recuperada e extraída (Yang; Zhang; Shao, 2014).

Após o pré-tratamento da amostra continuou-se com a extração que usou acetona gelada na relação $0,25 \text{ g.mL}^{-1}$ para depois ser agitado por 10 min. com bastão de vidro e filtrado por funil de buchner forrado de papel filtro para funil de separação. Após isso foi acrescentado éter de petróleo na relação $0,16 \text{ g.mL}^{-1}$ e lavado com água destilada aproximadamente 10 mL para remover acetona restante, quando ocorreu a separação de fases, foi descartada a fase inferior para logo após repetir o processo de lavagem com água destilada por mais 2 ciclos, recuperando-se o pigmento carotenogênico em frasco âmbar e colocou-se sulfato de sódio anidrido para retirar água residual, deixou em repouso para depois ser medido o volume e ser lido em espectrofotômetro (Biospectro SP-22, China) na faixa de 450nm para β -caroteno e 468nm para astaxantina, usando a absorvidade em éter de petróleo de 2592 e 2100 respectivamente dado por Rodriguez-Amaya (2001) com isso se relacionou com a Equação 5

$$CT = \frac{A \cdot V \cdot 10^6}{A_{cm}^{1\%} \cdot 100 \cdot m_{amostra}} \quad \text{Equação 5}$$

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

2.9.4 Composição centesimal da bala

A bala de goma de goma foi caracterizada quanto à sua composição centesimal, pela AOAC (2000), para determinação de lipídeos, método de Bligh e dyer (1959) (método 983.23) adaptado por Manirakiza; Covaci e Schepens (2001) com hidrólise ácida (HCl 2M) (Rodrigues *et al.*, 2019), devido a necessidade de quantificação de lipídeos polares e apolares tanto da bala quanto da biomassa presente, a determinação de proteínas, pelo método Kjeldahl (método 920.87), cinzas por incineração de mufla (método 923.03), umidade por gravimetria com ajuda de pérolas de vidro (método 925.10) e carboidratos foi realizado por diferença.

2.9.5 pH

Para medir o pH foi usado um pHmetro digital (Marte MB-10, Brasil) em que foi diluído 4g de bala de goma em 2mL de água desmineralizada, e aquecido a 50°C até a dissolução completa, sendo determinado após 10 minutos de repouso (Vojvodić *et al.*, 2024a).

2.9.6 Acidez titulável

O teor de acidez foi determinado de acordo com o método descrito pelo Instituto Adolfo Lutz (2008). Onde diluiu-se 2,5g de amostra em 25 mL de água, para logo após ser determinado por titulação com NaOH 0,1 N padronizada, e a concentração estimada através da Equação 6 (Meira *et al.*, 2024)

$$\% \text{ Acido citrico} = \frac{V \cdot F \cdot M \cdot PM}{10 \cdot m_{\text{amostra}} \cdot n} \quad \text{Equação 6}$$

Onde: V é o volume de solução de NaOH gasto na titulação (mL), F é fator de correção de NaOH, M é a molaridade da solução de hidróxido, PM é o peso molecular do ácido cítrico em g (192g), m_{amostra} é a massa de amostra (g) e n é o número de hidrogênio ionizável do ácido cítrico (3)

2.9.7 Sólidos totais

A determinação de sólidos totais foi feita em °Brix de acordo com o Instituto Adolfo Lutz (2008). Onde usou-se o refratômetro manual portátil, sendo a amostra avaliada antes da etapa de moldagem das balas (estado líquido).

2.10 ANÁLISE ESTATÍSTICA

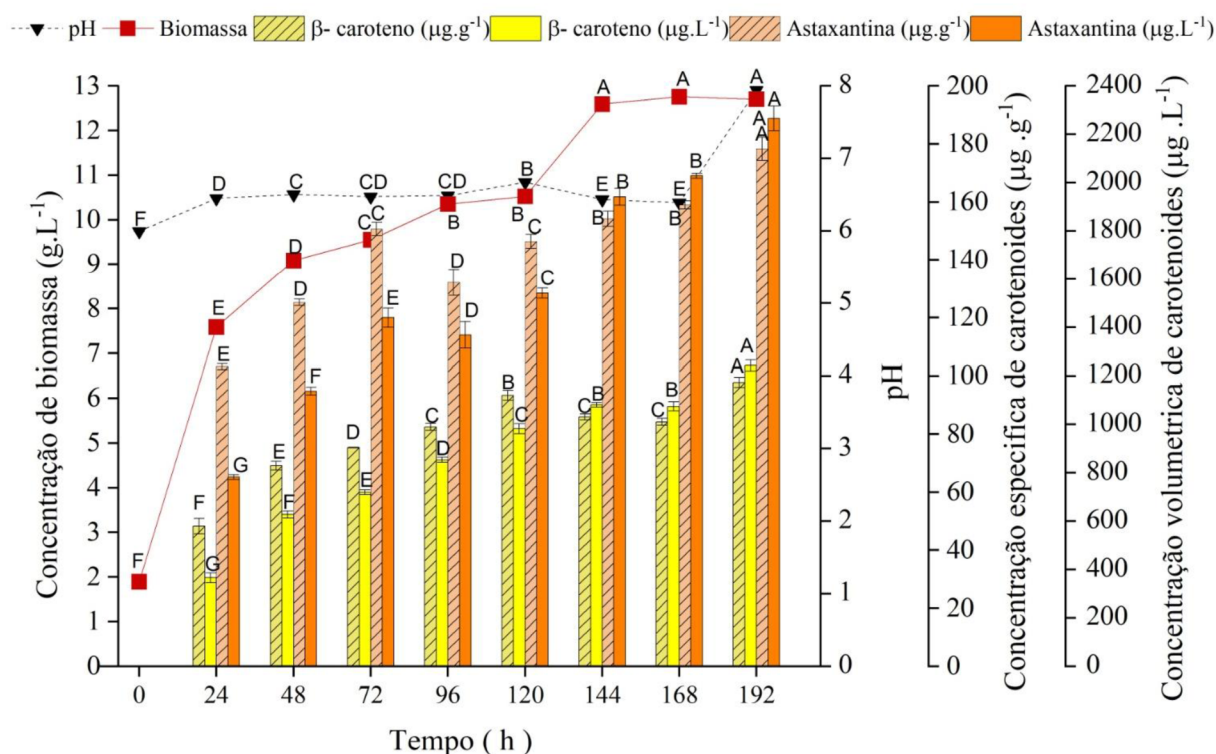
As análises foram tratadas no software Statística 7.0 (StatSoft Inc., Tulsa, OK, EUA) e foram representados com suas médias e desvio padrão, quando aplicável. As análises estatísticas incluíram a aplicação de análise de variância (ANOVA) para identificar diferenças significativas, com posterior teste de Tukey a um nível de confiança de 95% ($p \leq 0,05$).

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 CINÉTICA DO CULTIVO DE *P. rhodozyma*

A figura 2 apresenta a cinética de cultivo com acompanhamento da biomassa, concentração específica e volumétrica de carotenoides e pH. No ponto 144h foi alcançada a maior concentração de biomassa ($12,59 \pm 0,048 \text{ g.L}^{-1}$), sem diferenças significativas após esse tempo de processo. Além disso, nesse tempo foi determinado a concentração volumétrica e específica de carotenoides, como β -caroteno $1081,67 \pm 9,741 \mu\text{g.L}^{-1}$ ($85,91 \pm 1,01 \mu\text{g.g}^{-1}$) e astaxantina $1941,97 \pm 34,81 \mu\text{g.L}^{-1}$ ($154,23 \pm 2,61 \mu\text{g.g}^{-1}$), respectivamente. Apesar de um pequeno incremento significativo de cerca de 10% na concentração de carotenoides em 192h foi definido o tempo de cultivo em 144h em função da concentração máxima de biomassa.

Figura 2- Cinética de crescimento de *P. rhodozyma* e produção de carotenoides, em meio agroindustrial com 100g.L⁻¹ de melão de soja, em biorreator de bancada de 5L, a 300rpm, 1vvm, 25°C



Os resultados são expressos como valores médios $\pm$ desvios-padrão (N = 3); Letras maiúsculas diferentes indicam diferenças significativas ($p < 0,05$) ao longo de todo o cultivo segundo o teste Tukey, após análise de variância (Anova) a 5% de significância

Autores como Mussagy *et al.* (2023) cultivaram *P. rhodozyma* em biorreator de bancada com meio contendo 20g.L⁻¹ de glicose, 3 g.L⁻¹ extrato de malte, 10 g.L⁻¹ xilose, 3 g.L⁻¹ extrato de levedura e 5 g.L⁻¹ de peptona, nas condições de 22°C, 300rpm e 1vvm. Definiram que o tempo de cultivo foi 144h, similar ao estabelecido por este estudo para adição da biomassa na bala de goma. Os autores avaliaram a extração de carotenoides por diferentes solventes para aplicação em sabões tendo o máximo recuperado de 35,19 μg.g⁻¹ de astaxantina e 108,9 μg.g⁻¹ de β-caroteno com etanol e ácido hexadecanóico (ácido palmítico) na razão de 2:1, sendo inferior ao comparado ao presente estudo que utilizou acetona e DMSO para a extração. Silva *et al.* (2023) reduziram o tempo de cultivo *P. rhodozyma* em meio YM no biorreator de bancada a 96h com o uso de campos magnéticos nas condições de 300 rpm, 22°C, 1vvm obtendo uma concentração de biomassa de 8,1 g.L⁻¹ neste tempo, com uma concentração de astaxantina de 4,51 mg.L⁻¹ e β-caroteno de 4,67 mg.L⁻¹. Estes autores realizaram seu estudo com a aplicação

de campos magnéticos provocando um incremento na produção de carotenoides, superior ao encontrado no presente estudo. Porém, o melaço de soja usado como único substrato pode promover a redução de cerca de 90% do custo com o meio de produção (Pacheco *et al.*, 2025). Assim, como o foco foi aplicar a biomassa integral nas balas de goma, a produção de biomassa no presente estudo foi padronizada no tempo de 144h, avaliando seu perfil de macromoléculas.

3.2 COMPOSIÇÃO CENTESIMAL DA BIOMASSA DE *P. rhodozyma* SECA EM LEITO DE JORRO

O conhecimento das macromoléculas presentes na biomassa a ser adicionada em formulações de alimentos é de suma importância visando sua caracterização e potencialidade da aplicação. A biomassa possui 96,1 % de extrato seco total onde cada macromolécula presente nesse conteúdo está presente na tabela 3 sendo observado que a levedura tem majoritariamente carboidrato, que está associado a polissacarídeos da parede celular microbiana (Dong *et al.*, 2024). O segundo e o terceiro componente da biomassa são o teor de lipídeos e de proteína, respectivamente. Estes valores são influenciados pela razão carbono e nitrogênio do meio de produção usado no cultivo da levedura (Cai *et al.*, 2022). Contudo, estudos como de Lai *et al.* (2022) e Raita *et al.* (2025) destacam que a *P. rhodozyma* apresentou maior produção de proteína ao invés de carboidrato, efeito contrário ao observado para esta cepa, que na condição estudada favoreceu o acúmulo de lipídeo na biomassa.

Tabela 3- Composição Centesimal de Biomassa seca de *P. rhodozyma* cultivada em 100g.L⁻¹ melaço de soja no biorreator de bancada de 5L a 25°C, 300 rpm e 1 vvm

Componente	Composição do componente (% m.m ⁻¹)
	Biomassa seca
Lipídeos ^a	34,9 ± 0,3
Proteínas ^a	23,3 ± 0,4
Cinzas ^a	4,8 ± 0,1
Carboidratos ^a	37,0

^aBase seca

O teor de cinzas indica presença de matéria inorgânica como minerais (Puri; Hu e Naterer, 2024). Neste estudo foram encontrados teores bem abaixo quando comparado a outras leveduras carotenogênicas como a *Rhodotorula paludigena* CM33 com 9,5% de cinzas em

cultivo de batelada alimentada, com meio de alimentação de glicose e 11,0% em cultivo com batelada alimentada usando meio a base de sacarose.

Ainda pouco se conhece da composição de macromoléculas da *P. rhodozyma* NRRL Y-17268 sendo este estudo relevante para posteriores investigações, pois para aplicação em alimentos é necessário conhecer o produto bioativo para enriquecer alimentos específicos.

3.3 DEFINIÇÃO DE BALA DE GOMA CONTROLE

Dentre a confeitaria as balas de goma oferecem estrutura *soft*, elástica e mastigável devido aos agentes gelificantes e açúcares que formam redes coloidais influenciando na textura. Assim, diferentes critérios sobre análise de textura têm sido implementados na indústria confeitaria, variando os ingredientes para aumentar ou diminuir alguns parâmetros (Paternina *et al.*, 2024). Dentre as técnicas, a análise de perfil de textura tem sido usada para avaliar diferentes parâmetros como dureza, coesão, elasticidade, mastigabilidade, resiliência e adesividade (Ghorai; Dora; Chowdhury, 2021). Este método ao contrário da análise sensorial tradicional, tem como vantagem a rapidez para identificar os parâmetros anteriores mencionados (Liu; Cao; Liu, 2019). Com isso as formulações A e B foram comparadas com a bala comercial de corante artificial e os parâmetros apresentados estão na tabela 4.

Quanto o parâmetro dureza a formulação B não apresentou diferença significativa com a bala comercial nem com a formulação A, sendo a dureza da formulação A significativamente inferior ao padrão comercial. Este parâmetro representa a primeira mordida, sendo proporcional a força aplicada para romper o alimento (Calil *et al.*, 2023), e está relacionado principalmente ao teor de água na formulação (Brandão *et al.*, 2020). Assim é possível dizer que a formulação B possui uma dureza similar ao padrão comercial. A fraturabilidade indica a força para trincar um alimento, que está relacionada ao efeito da dureza e mastigabilidade ao iniciar uma fragmentação no alimento (Kim *et al.*, 2012). As balas de goma da formulação A, B e comercial não apresentaram fraturabilidade, devido a gelatina usada na formulação proporcionar uma rede de géis mais estáveis e firmes (Nguyen *et al.*, 2025).

As três formulações avaliadas não apresentaram diferença significativa na adesividade e elasticidade. Portanto, estas formulações apresentaram comportamento similar ao padrão comercial. Esse fator é importante pois a adesividade indica que o material tem capacidade de aderir na boca e as formulações apresentaram adesividade negativa, não tendo essa capacidade. Já a elasticidade é uma característica essencial nas balas de goma, uma vez que este parâmetro representa a volta de seu estado físico após a mordida, e o estudo indica que as duas formulações

estão de acordo com o que está presente na formulação comercial. Os produtos açucarados como é o caso do alimento escolhido apresentam uma elasticidade maior, assim como suavidade (Calil *et al.*, 2023).

Tabela 4-Perfil de Textura (TPA) para as formulações A, B e bala comercial

Parâmetros de textura	Formulação A	Formulação B	Bala comercial
Dureza (N)	35,14 ± 2,90 ^b	42,17 ± 3,12 ^{ab}	45,95±6,45 ^a
Fraturabilidade	-	-	-
Adesividade (N.s)	-0,0045 ± 0,00 ^a	-0,0090 ± 0,01 ^a	-0,0136±0,0162 ^a
Coesividade	0,85 ± 0,02 ^a	0,87 ± 0,02 ^a	0,7940±0,0293 ^b
Resiliência	0,36 ± 0,01 ^a	0,38 ± 0,01 ^a	0,2976±0,0096 ^b
Elasticidade (mm)	1,47 ± 0,12 ^a	1,59 ± 0,07 ^a	1,418±0,565 ^a
Mastigabilidade (N)	43,87 ± 3,20 ^b	54,15 ± 3,71 ^a	35,25±4,81 ^c

Os resultados são expressos como valores médios ± desvios-padrão (n= 6); Letras minúsculas diferentes indicam diferenças significativas ($p < 0,05$) entre as formulações após análise de variância e teste Tukey.

Para coesividade e resiliência as amostras da formulação A e B ficaram similares contudo, apresentaram diferenças com a comercial. Assim as formulações avaliadas mostram maior resistência interna que as balas comerciais (coesividade). Isso está relacionado com a gelatina adicionada, pois, aumenta a coesão das amostras (Roudbari *et al.*, 2024). A resiliência por outro lado mostra a recuperação elástica da rede de goma (Paternina *et al.*, 2024). Nas formulações A e B, a resiliência foi superior a comercial indicando que são menos propensas a deformação.

A mastigabilidade está relacionada ao gasto energético da mastigação para engolir o alimento, indicando que maior mastigabilidade significa mais dificuldade deglutição (Brandão *et al.*, 2020). As formulações avaliadas apresentaram diferença significativa decrescente na mastigabilidade onde a formulação B, sequenciada pela formulação A e a bala comercial precisam de maior energia para mastigar, respectivamente. Contudo este parâmetro é relacionado com a dureza, coesividade e elasticidade, e usualmente quanto mais duro a bala, maior energia de mastigabilidade será necessária (Maringka; Putra; Lo, 2024). Na bala comercial o efeito contrário provavelmente foi devido a lista de ingredientes apresentar maior quantidade de aditivos que possam ter impactado nos outros dois parâmetros de textura, como o uso de óleos que pode diminuir a coesividade de doces (Ranalli *et al.*2020).

As formulações A e B se assemelham em alguns parâmetros com a bala comercial, contudo é importante ressaltar que a bala comercial possui maior quantidade de aditivos que melhoram a palatabilidade do produto.

Portanto, o teor mais crítico é o parâmetro umidade que foi possível observar de forma indireta na avaliação da dureza, pois valores baixos deste parâmetro indicam alto teor de água na amostra. Em produtos como a bala de gelatina que tem como ingredientes açúcares vítreos (mais higroscópicos) que captam a umidade do ar, e podem diminuir a vida útil (Ergun; Lietha; Hartel, 2010) e implicar em reações de oxidação para o biocomposto adicionado. Assim a formulação B foi selecionada pois sua dureza foi similar a bala comercial, contornando esses prováveis defeitos.

3.4 ADIÇÃO DE BIOCOMPOSTOS DE INTERESSE NAS BALAS DE GOMA

A tabela 5 apresenta as formulações das balas de goma e a quantificação dos carotenoides na biomassa e extrato carotenogênico antes das formulações.

Tabela 5- Formulação de bala de goma controle, com biomassa de *P. rhodozyma* integral, biomassa de *P. rhodozyma* extraída com etanol e β -caroteno comercial

Ingredientes	Controle	FB1	FB2	FB3	Concentração de carotenoides
Biomassa seca integral (g)	-	4	-	-	β - caroteno: 107,7 $\pm$ 0,648 $\mu\text{g.g}^{-1}$ astaxantina: 200,91 $\pm$ 1,3 $\mu\text{g.g}^{-1}$
Biomassa seca extraída com etanol (g)	-	-	4	-	β - caroteno 62,56 $\pm$ 0,357 $\mu\text{g.g}^{-1}$
β-caroteno comercial (μg)	-	-	-	26	26 μg
Gelatina (g)	20	20	20	20	-
Ácido cítrico (g)	2	2	2	2	-
Xilitol (g)	50	50	50	50	-
Água (mL)	100	100	100	100	-
Essência (mL)	0,15	0,15	0,15	0,15	-

Nas 4g de biomassa seca de *P. rhodozyma* adicionada na FB1 foram determinados 107,7 $\pm$ 0,648 $\mu\text{g.g}^{-1}$ de carotenoides totais expresso em β -caroteno e 200,91 $\pm$ 1,35 $\mu\text{g.g}^{-1}$ e em astaxantina. No extrato etanólico oriundo de 4g de biomassa seca de *P. rhodozyma* adicionado na FB2 foi quantificando os carotenoides totais expressos em β -caroteno de 62,56 $\pm$ 0,357 $\mu\text{g.g}^{-1}$. Na bala de goma com β -caroteno comercial foi adicionado 26 μg na FB3.

3.5 PERFIL DE TEXTURA DAS BALAS FORMULADAS

O perfil de textura das balas formuladas e as comerciais estão descritas na tabela 6. No parâmetro dureza a formulação FB1 não teve diferença significativa com a bala comercial, já quando se compara com bala controle está apresentou 12,7% a mais de dureza. A FB2 e a FB3 foram semelhantes a amostra controle sendo diferente da amostra comercial por 35,7%. Observando os valores percebe-se que a biomassa seca integral aumentou a dureza da bala controle. Esse comportamento foi obtido também por Paternina *et al.* (2024) que adicionou *spirulina* na formulação de bala de goma e aumentou em aproximadamente 38% de dureza. Esse fator foi atribuído ao aumento de matéria seca na formulação diminuindo o teor de água, contudo foi benéfico pois se teve uma dureza parecida a bala comercial.

A adesividade em todas as amostras foi similar, assim pode-se dizer que as balas não precisam de energia para desgrudar após a primeira mordida, esse fator é esperado neste tipo de bala. Qi *et al.* (2023) encontrou no estudo de balas de goma de romã armazenadas por 15 dias comportamento similar com adesividade em torno de -0 N.S^{-1} a $-0,83 \text{ N.S}^{-1}$ de 0 ao dia 15 de armazenamento, respectivamente.

Todas as amostras apresentaram coesividade semelhante evidenciando a composição mais estruturada. Paternina *et al.* (2024) na avaliação das balas com *spirulina* encontrou valores similares ao presente estudo, comprovando assim que as balas de goma têm capacidade de manter a estrutura após compreensão. Vojvodić *et al.* (2024b) também encontraram valores de 0,62 a 0,78 de coesividade similares ao presente estudo, quando avaliaram balas de goma enriquecidas com extrato de Mountain Germander e prebióticos, relatando que a coesividade está correlacionada com resiliência e elasticidade de acordo com a estrutura estável da bala de goma. Com isso no presente estudo a resiliência das amostras FB2 e FB3 não foram diferentes estatisticamente e as duas possuíram resiliência superior que as outras, mas foram diferentes quando comparadas as amostras FB1, controle e comercial. A FB1 apresentou diferença da bala comercial contudo ela foi igual a bala controle. Apesar das diferenças nos valores de resiliência estes foram muito próximos oscilando de 0,3 a 0,5, o que indica que todas as formulações têm estrutura firme e elástica, além de que os valores oscilaram em torno do encontrado na amostra comercial. Autores como Pekdogan *et al.* (2024b) encontraram resiliência de 0,12 a 0,51 em balas de goma com substituição do açúcar por suco de frutas, que em algumas amostras contribuiu para diminuir a resiliência, corroborando com este estudo.

Tabela 6- Perfil de textura (TPA) das balas goma com biomassa seca de *P. rhodozyma* (FB1), Biomassa seca de *P. rhodozyma* extraída com etanol (FB2), com adição de β -caroteno comercial (FB3), Bala controle e Bala comercial com corante químico

Parâmetros de textura	Controle	FB1	FB2	FB3	Comercial
Dureza (N)	38,61 $\pm$ 5,623 ^b	44,21 $\pm$ 5,17 ^a	27,38 $\pm$ 0,90 ^b	29,85 $\pm$ 1,78 ^b	45,9 $\pm$ 6,45 ^a
Fraturabilidade	-	-	-	-	-
Adesividade (N.seg⁻¹)	-0,01 $\pm$ 0,00 ^a	-0,00 $\pm$ 0,00 ^a	-0,01 $\pm$ 0,00 ^a	-0,00 $\pm$ 0,00 ^a	-0,01 $\pm$ 0,02 ^a
Coesividade	0,90 $\pm$ 0,01 ^a	0,85 $\pm$ 0,04 ^a	0,94 $\pm$ 0,00 ^a	0,76 $\pm$ 0,24 ^a	0,8 $\pm$ 0,03 ^a
Resiliência	0,41 $\pm$ 0,01 ^b	0,39 $\pm$ 0,01 ^b	0,47 $\pm$ 0,01 ^a	0,46 $\pm$ 0,01 ^a	0,3 $\pm$ 0,01 ^c
Elasticidade (mm)	1,00 $\pm$ 0,00 ^c	0,94 $\pm$ 0,01 ^c	1,73 $\pm$ 0,04 ^b	1,90 $\pm$ 0,02 ^a	1,01 $\pm$ 0,04 ^c
Mastigabilidade (N)	38,41 $\pm$ 2,49 ^{bc}	33,84 $\pm$ 2,54 ^c	44,43 $\pm$ 0,65 ^{ab}	48,98 $\pm$ 3,51 ^a	35,2 $\pm$ 4,81 ^c

Letras minúsculas diferentes indicam diferenças significativas ($p < 0,05$) das diferentes formulações pelo teste de Tukey.

Para elasticidade a formulação FB3 apresentou o maior valor, seguido de FB2 que teve 8,9% a menos com relação a FB3, já a bala FB1 não apresentou diferença significativa com a bala controle e a bala comercial. Quando comparamos as balas FB2 e FB3 com a comercial observa-se um aumento de elasticidade de 41,6% e 46,8%, enquanto que a composição da biomassa pode ter contribuído com a menor elasticidade da FB1 deixando-a mais parecida com a que tem no mercado.

A mastigabilidade é outro fator importante no conceito das balas de gomas pois permite medir a força necessária para mastigar até o momento de deglutir. A FB1 e amostra comercial não apresentaram diferença significativa reiterando que representa um ponto positivo na formulação das balas. As amostras FB2 e FB3 apresentaram valores maiores de mastigabilidade, necessitando de maior força de mastigação antes de deglutir a bala. FB2 apresentou um incremento de 14,7% em relação ao controle e 21,9% a comercial; já a FB3 apresentou 24,6% a mais de mastigabilidade que o controle e 30,9% que a bala comercial.

Estes fatores podem ser variáveis de acordo com o processamento como o tempo de refrigeração anterior a análise. A formulação que apresentou melhor desempenho quando

comparada a uma amostra comercial foi a FB1 (com adição de biomassa integral), sendo promissora na substituição do corante para bala comercial.

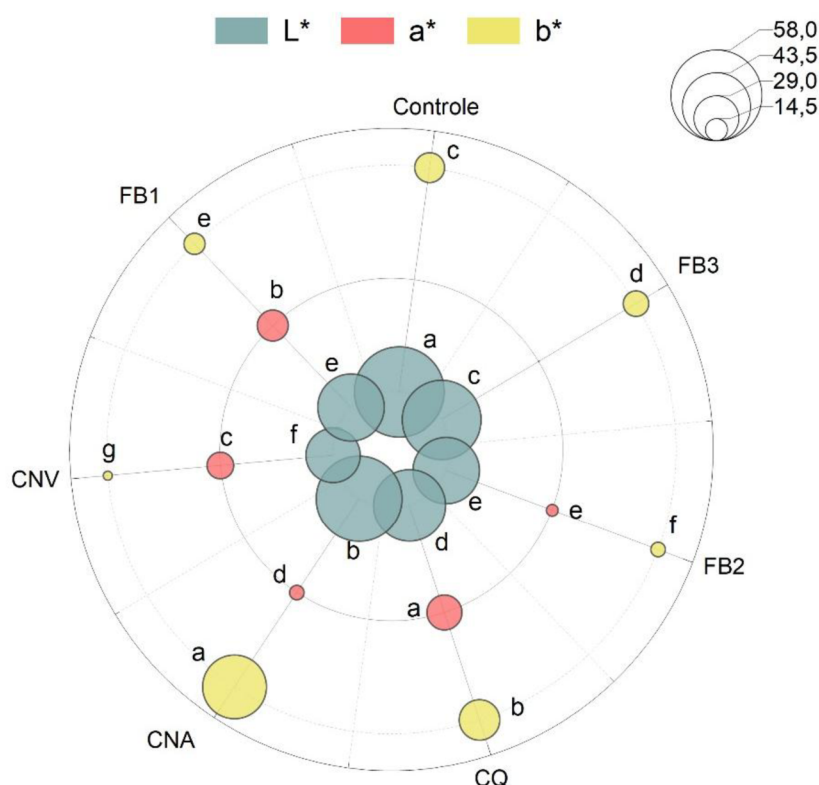
3.6 AVALIAÇÃO DA COR DAS BALAS DE GOMA

A cor é um parâmetro muito importante pois tem uma finalidade na publicidade, e na decisão de compra dos consumidores, influenciando nas emoções fortes e atitudes de quem consome, sendo a cor vermelho e amarelo as mais influentes na decisão de escolha do consumidor (Zaidi; Ismail, 2023). Como está se avaliando a biomassa de *P. rhodozyma* como futuro corante alimentício esta análise é de alta importância, sendo inserido amostras comerciais de balas de goma de gelatina com corante sintético e naturais, da cor amarela e vermelha (Figura 3).

O parâmetro L indica a luminosidade onde a amostra controle e a de corante natural amarelo (CNA) são as mais claras indicando uma translucidez. A FB1 e FB2 não se diferiram (43,1) mas apresentaram diferenças da FB3 com luminosidade de $50,8 \pm 0,05$. Ao avaliar as amostras comerciais é possível perceber que na intensidade de cor a que chegou mais próxima da industrial (CNA) foi a amostra FB3 com diferença de 8,2%, já as amostras FB1 e FB2 ficaram mais próxima a amostra com corante químico, com diferença apenas de 7,3%. Já comparada ao corante natural vermelho (CNV) ocorreu uma diferença de 21,5%, a amostra que apresentou maior luminosidade foi a amostra controle indicando translucidez na superfície. Paternina *et al.* (2024) no estudo com *Spirulina* encontrou no parâmetro L (19,23 a 17,29) indicando maior opacidade nas amostras com adição de biomassa, efeito contrário ao estudado que mesmo com adição de biomassa a intensidade de luminosidade foi maior.

Para a^* que mostra a mudança de cor de verde a vermelho, a amostra formulada no estudo que apresentou maior tendência de tonalidade vermelha foi a FB1 com 20,59, valor que quando comparado as comerciais foi próximo da tonalidade da amostra com corante químico (CQ) com 10,6% a menos e com a de CNV chegou a uma diferença de 13,3%. A amostra FB2 apresentou tonalidade vermelhada de 8,6% sendo inferior a CQ, CNV e a FB1 contudo ela foi inferior em 16,5% do CNA e superior da amostra controle em 89,0%. Já FB3 teve 1,29 na tonalidade vermelha, esta amostra contém apenas β -caroteno comercial podendo ser associada a baixa tonalidade vermelha, além disso a amostra FB3 foi diferente das amostras comerciais, mas semelhante a amostra controle que teve 0,94. No estudo de Pekdogan Goztok *et al.* (2024b) que avaliou a adição de microalgas *Porphyridium cruentum* apresentou valor de a^* entre 2,09 a 5,73, inferior as formulações FB1 e FB2, mas com maior tonalidade vermelha que FB3.

Figura 3- Parâmetros de cor L^* , a^* , b^* das formulações de bala de goma com biomassa seca de *P. rhodozyma*, Biomassa seca de *P. rhodozyma* extraída com etanol, com adição de β -caroteno comercial, Bala controle e Bala comercial com corante químico, e corantes naturais.



Letras minúsculas diferentes indicam diferenças significativas ($p < 0,05$) dos diferentes tratamentos pelo teste de Tukey. FB1 é bala de goma com adição de biomassa seca de *P. rhodozyma* integral, FB2 é bala de goma com adição de biomassa seca extraída com etanol de *P. rhodozyma*, FB3 é bala de goma com adição de β -caroteno comercial, CNV é a bala comercial com corante natural vermelho, CNA é a bala comercial com corante natural amarelo e CQ é a bala comercial com corante sintético de cor laranja

O parâmetro b^* representa a mudança de cor de azul para amarelo e nas amostras estudadas a maior tonalidade de amarelo foi encontrado em FB3 com 17,23, valor similar à bala controle em 13,2%, e diferente da comercial CQ em 35,5%. Quando comparado as amostras percebe-se uma diferença entre a FB1 e FB2 que chegaram a valores de 14,5 e 10,2 respectivamente, estas tiveram diferença com as balas comerciais e controle sendo que a menor diferença foi com controle de 26,8 e 48,5%, respectivamente. No estudo de Konar *et al.* (2025) as microalgas *Dunaliella salina*, e *Chlorella vulgaris* nas balas de gomas tiveram maiores valores de b^* oscilando entre 14,18 a 16,46, provavelmente devido aos carotenoides presentes nas microalgas.

Assim tem-se que a amostra FB1 apresenta uma tonalidade vermelha e levemente amarela, a FB2 possui uma tonalidade levemente vermelha e amarela e a FB3 possui uma tonalidade amarela e quase nada vermelha.

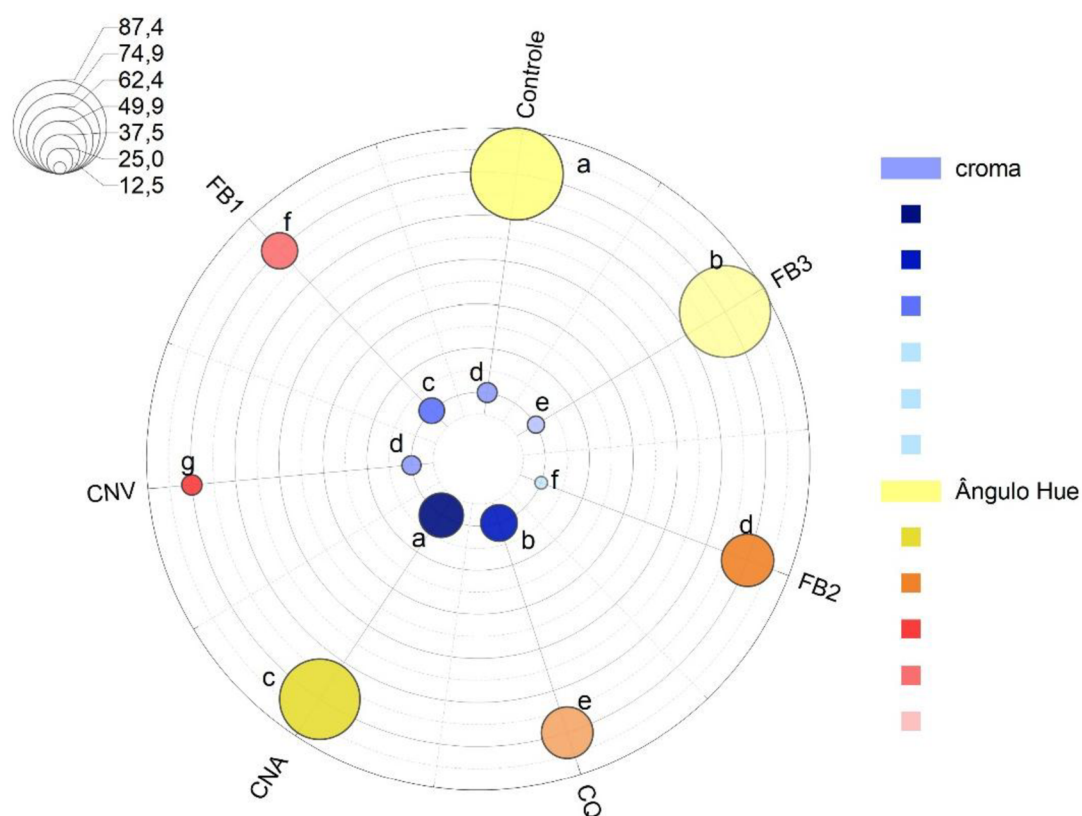
Para avaliar a tonalidade e a intensidade tem-se os valores de croma e Ângulo hue, estes parâmetros associados aos parâmetros a^* , b^* e L são de grande importância para definir o perfil colorimétrico da amostra. O croma e Ângulo Hue das amostras estão representadas na figura 4 onde a tonalidade (ângulo hue) da amostra FB1 possui um valor 35,08 deixando-a mais próxima a tonalidade vermelha, já que tonalidades avermelhadas ficam próximas de 0° (ou 360°). A FB2 apresenta um valor de 49,17 sendo este mais valor distante do vermelho e próximo do amarelo ($\approx 90^\circ$) podendo indicar uma tonalidade mais alaranjada. A FB3 chegou a 85,71 valor próximo a tonalidade amarela, inferior a amostra controle que alcançou 87,28, sendo estas duas amostras próximas a 90°C caracterizadas pela maior tonalidade amarela.

Quando se compara às amostras comerciais percebe-se que a amostra mais semelhante com a tonalidade da amostra CNV (20,45) é a FB1, já a FB2 se assemelha com a CQ (49,19) e a FB3 apresentou tonalidade parecida a CNA (76,03). Nas microalgas *P. cruentum*, *D. salina* e *C. vulgaris*, adicionadas as balas de gomas tiveram que as amostras que possuem uma tonalidade amarelada oscilaram de 51,24 a 93,48 (Konar *et al.*, 2025).

Quanto a saturação (croma) a amostra FB1 apresentou maior saturação com um valor de 25,19, seguida pela amostra FB3 com 17,28 e a amostra FB2 com 10,2. Comparando as amostras percebe-se que a amostra FB1 ficou levemente parecida com a amostra controle com 21,2% superior de saturação, e com a amostra CQ apresentou 28,6% a menos. A FB2, contudo, foi diferente das saturações de todas as amostras, sendo que a CQ e CNA ficaram muito mais distante, a saturação mais parecida desta formulação (FB2) com as comerciais foi com a CNV com 30,1% a menos.

Amostra FB3 apresentou saturação inferior de 9,33% com a amostra comercial CNV e 12,9% que a controle, e diferença significativa das demais amostras comerciais. Paternina *et al.* (2024) percebeu uma diferença na saturação quando adicionou a biomassa de *Spirulina* com um valor de 11,50 alcançando uma diferença de 46,7% da amostra controle. Este valor de saturação foi menor ao deste estudo contudo, representa que ao adicionar biomassa na formulação ocorre um aumento da saturação da cor das balas de goma.

Figura 4-Parâmetros de cor croma e Ângulo hue das balas de goma com biomassa seca de *P. rhodozyma* , Biomassa seca de *P. rhodozyma* extraída com etanol, com adição de β -caroteno comercial, Bala controle e Bala comercial com corante químico, e corantes naturais.

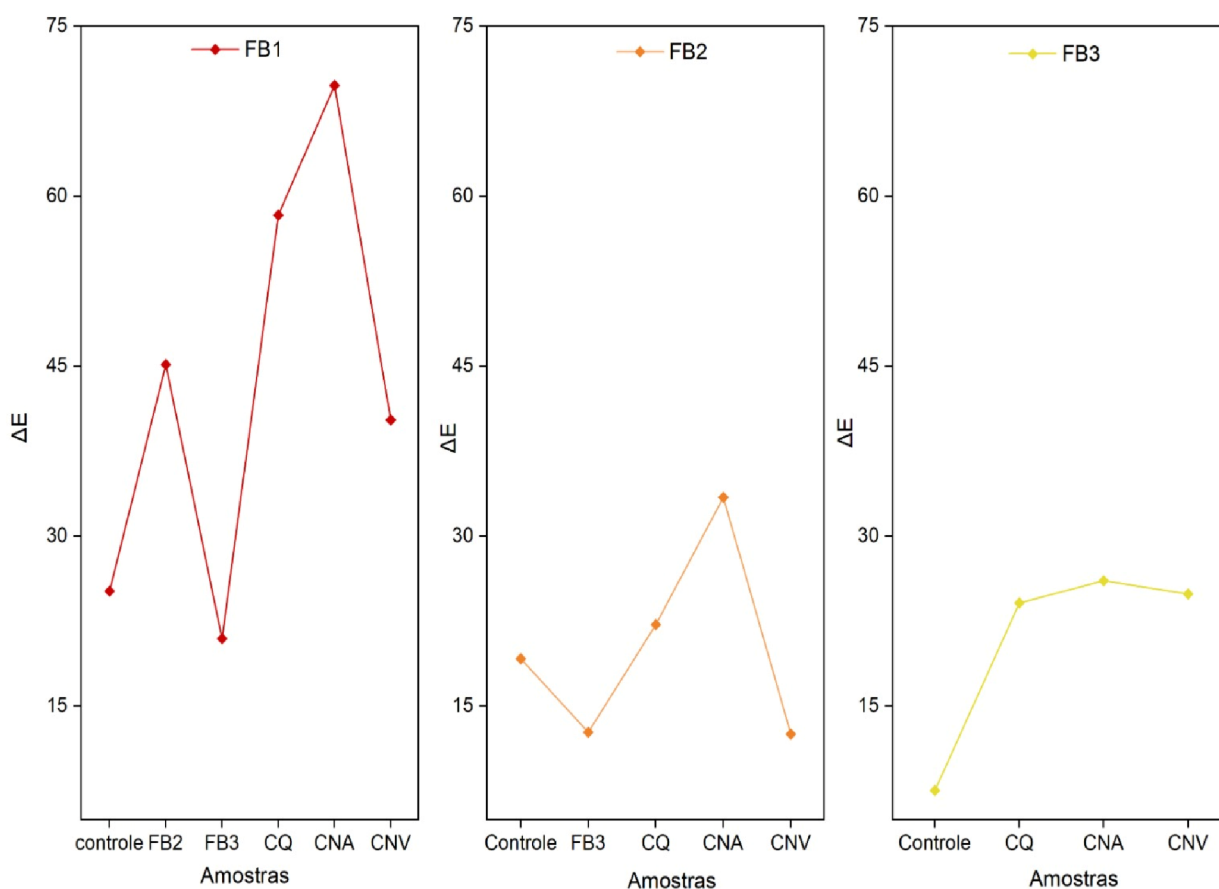


Letras minúsculas diferentes indicam diferenças significativas ($p < 0,05$) nas diferentes formulações pelo teste de Tukey. FB1 é bala de goma com adição de biomassa seca de *P.rhodozyma* integral, FB2 é bala de goma com adição de biomassa seca extraída com etanol de *P.rhodozyma*, FB3 é bala de goma com adição de β -caroteno comercial, CNV é a bala comercial com corante natural vermelho CNA é a bala comercial com corante natural amarelo e CQ é a bala comercial com corante químico

A figura 5 mostra os valores de ΔE que indicam quão diferente visualmente uma amostra se diferencia de outra. A formulação FB1 apresenta a maior diferença obtida com a amostra CNA com um valor de 69,79, e quando compara-se com as comerciais a menor diferença foi com a amostra CNV (40,25), indicando assim potencial de substituto de cor para balas vermelhas comerciais. Quando se compara com as outras balas formuladas, é possível perceber

uma diferença menor com a FB3 (20,95) e controle (25,16), já a maior diferença foi com a FB2(45,15).

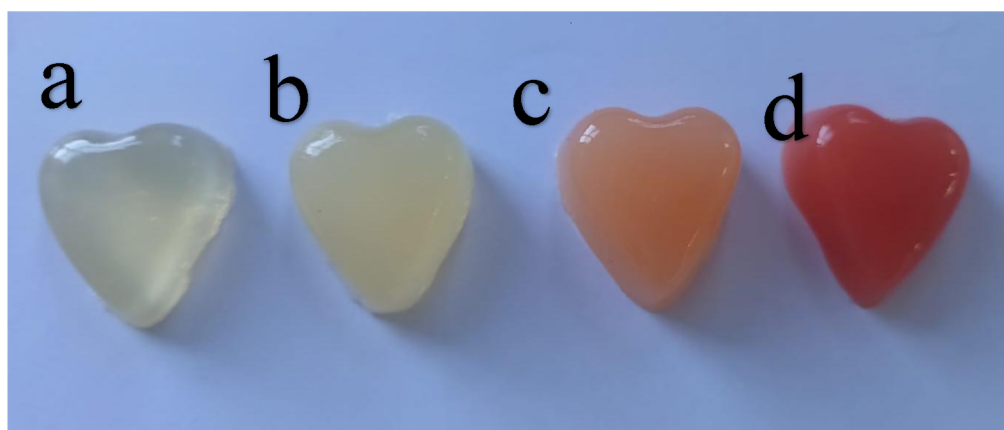
Figura 5- Parâmetros de cor ΔE das balas de goma com biomassa seca de *P. rhodozyma* (FB1), Biomassa seca de *P. rhodozyma* extraída com etanol (FB2), com adição de β -caroteno comercial (FB3), Bala controle (controle), Bala comercial com corante químico laranja (CQ), Bala comercial com corante natural amarelo (CNA) e Bala comercial com corante natural vermelho (CNV).



A amostra FB2 a diferença maior foi com a bala comercial CNA com 33,42 e a menor com a comercial CNV (12,53). Com as amostras formuladas tem-se uma diferença de cor menor com a amostra FB3 (12,69), com a amostra controle teve-se uma diferença de 19,19 indicando diferença perceptível. A amostra FB3 quando se compara as balas comerciais apresentou diferença da bala comercial CNA em 26,07 sendo a maior encontrada, mas que para CQ e CNV a diferença foi similar tendo 24,11 e 24,91, respectivamente. Com a amostra controle mostrou uma leve diferença com 7,5, indicando que a adição de β -caroteno comercial não influenciou na formulação base.

Esses valores indicam que a amostra FB1, FB2 e FB3 possuem diferença visualmente notável a amostra controle, apresentado na figura 6. Autores como Paternina *et al.* (2024) tiveram uma grande diferença no valor controle e com adição de *Spirulina* com 65,79 a 67,58 sendo diferentes a percepção.

Figura 6 - Bala de goma controle (a), bala de goma com adição de β -caroteno comercial (b), bala de goma com adição de biomassa seca de *P. rhodozyma* extraída com etanol (c) e bala de goma com biomassa seca integral de *P. rhodozyma* (d).



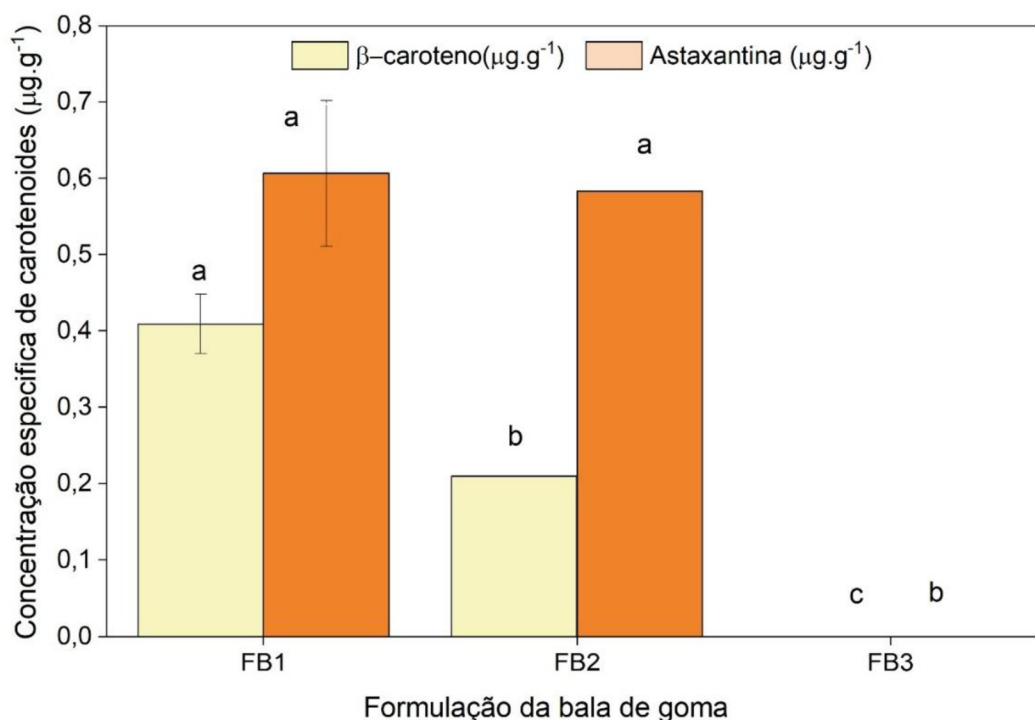
3.7 RECUPERAÇÃO DE CAROTENOIDES PRESENTES NA DIFERENTES FORMULAÇÕES DAS BALAS DE GOMA.

A recuperação de carotenoides das balas de goma está representada na Figura 7, onde observa-se que quanto a concentração de carotenoides totais expressos em β - caroteno, todas as amostras mostram diferença significativa e os valores recuperados de FB1 foi de $0,41 \pm 0,04 \mu\text{g. g}^{-1}$, FB2, $0,21 \mu\text{g. g}^{-1}$ e na FB3 não houve nenhum valor recuperado. Quanto ao teor de concentração expresso em astaxantina FB1 e FB2 não tiveram diferença significativa com $0,61 \pm 0,096 \mu\text{g. g}^{-1}$ e $0,58 \mu\text{g. g}^{-1}$, respectivamente, já para recuperação de carotenoides da FB3 não foi efetiva. Esses valores encontrados são muito pequenos e associa-se a que a gelatina pode ter atuado nos encapsulamentos desse biocompostos quando foi misturado, formando a rede de géis, os carotenoides podem ficar ligados a esta estrutura tendo assim maior estabilidade (Guedes *et al.*, 2021), dificultando a recuperação. Mesmo fazendo o processo de pré-tratamento na extração dos biocompostos, a ligação forte dos carotenoides com a matriz impossibilitou o branquear da bala de goma para recuperação total dos carotenoides presentes.

É possível observar que quanto mais puro o carotenoide foi adicionado na formulação a recuperação foi inferior, isso devido a influência de ácidos graxos, proteínas, polissacarídeos,

amidos e polifenóis no extrato ou na biomassa integral, diminui a eficiência de aprisionamento (Liu *et al.*, 2024).

Figura 7 - Concentração específica de carotenoides totais nas balas de goma com biomassa seca integral de *P. rhodozyma* (FB1), biomassa seca de *P. rhodozyma* extraída com etanol (FB2) e com adição de β -caroteno comercial (FB3).



Letras minúsculas diferentes indicam diferenças significativas ($p < 0,05$) para as três formulações após análise de variância seguida pelo teste de Tukey.

Konar *et al.* (2025) encontrou valores similares a presente investigação na formulação de balas de goma com biomassa de microalgas encapsuladas, tendo valores de $0,02$ a $1 \mu\text{g.g}^{-1}$ de carotenoides totais, associando esse efeito a fatores físico-químicos e ambientais do processamento da bala de goma, que também pode ter sido outro fator de influência na baixa concentração de carotenoides. Pintanela *et al.* (2022) estudou a adição de pitaya em balas de goma, onde encontrou valores de $5,45 \pm 1,96\text{mg}$ em 100g de peso de bala recém produzida e após 60 dias, e encontraram $5,78 \pm 0,03\text{mg}$ de carotenoides totais, em 100g de peso de bala úmida sem ser seca, explicando que após o armazenamento foi possível extrair mais carotenoides devido a liberação do composto da bala de goma após a exposição de calor, corroborando assim que a rede na bala de goma pode aprisionar os carotenoides.

3.8 COMPOSIÇÃO CENTESIMAL DAS FORMULAÇÕES DA BALA DE GOMA

A composição centesimal em alimentos e suplementos é necessária pois garante qualidade e o padrão de identidade do alimento, auxiliando ao consumidor através do rótulo a entender a composição do produto (Molin *et al.*, 2020). A avaliação da composição centesimal das balas produzidas apresenta um cenário para avaliar as alterações que a adição de *P. rhodozyma*, o extrato etanólico e o β -caroteno comercial proporciona na matriz alimentar. Assim apresenta-se na tabela 6 a composição centesimal das diferentes formulações obtidas.

Observa-se que a adição de biomassa seca integral na bala de goma (FB1) aumentou em 47,3% o teor de lipídeos à bala de goma e que nas formulações FB3 o aumento foi de 36,5% a mais que a controle, já a formulação FB2 não teve diferença estatística no aumento de lipídeo da bala controle. Nas balas FB3 e FB2 pode ser atribuído esse fator aos carotenoides presentes nas amostras. Na amostra FB1 o aumento de lipídeos pode ser devido a biomassa conter 34,9% de lipídeos na biomassa, acrescentando assim com essa porcentagem na bala de goma.

A formulação FB1 apresentou um aumento em 23,7% de proteína quando comparada ao controle, enquanto as formulações FB2 e FB3 não tiveram diferença significativa com controle; podendo relacionar também que a biomassa da levedura possui 23,3% de proteína resultando no aumento o teor proteico na bala de goma, sendo interessante na suplementação desta matriz alimentar.

Esse comportamento também é relatado por Paternina *et al.* (2024) que ao adicionar biomassa de *Spirulina* nas balas de goma obteve um aumento de 2,02 g.100g de lipídeo na formulação de 3% de polpa de fruta do açaí e 1% de *Spirulina* e um aumento de 16,3% de proteína na formulação com 1% de polpa de fruta do açaí e 3% de *Spirulina*.

O teor de cinzas não houve diferença significativa, comparando a amostra controle com nenhuma formulação, sendo assim a adição de biocompostos não alterou este parâmetro. Valores de teor de cinzas próximos a este estudo foram encontrados por Meira *et al.* (2024) em balas de goma adicionada com probióticos e baixo teor de açúcar alcançando 0,3 e 0,4 %. Já Paternina *et al.* (2024) encontrou valores de cinzas entre 0,21 e 1,11 g. 100g⁻¹, quando adicionou biomassa de *Spirulina* as balas de goma, estes valores estão acima do encontrado no presente estúdio, e pode-se dar ao fato de ser microrganismos diferentes com outros compostos, ela também encontrou um teor de carboidratos de 84,99g.100 g de amostra sendo muito superior ao encontrado no estudo, que encontrou valores aproximado de 30,5 e 34,4%.

Tabela 7 - Composição centesimal das balas de gomas com biomassa seca de *P. rhodozyma*, Biomassa seca de *P. rhodozyma* extraída com etanol e com adição de β -caroteno comercial.

Componente	Composição do componente (% m.m ⁻¹)			
	Controle	FB1	FB2	FB3
Lipídeos	1,6 $\pm$ 0,1 ^c	3,0 $\pm$ 0,4 ^a	2,2 $\pm$ 0,1 ^{bc}	2,5 $\pm$ 0,3 ^{ab}
Proteínas	9,0 $\pm$ 0,7 ^b	11,8 $\pm$ 0,7 ^a	9,5 $\pm$ 0,6 ^b	9,1 $\pm$ 0,6 ^b
Cinzas	0,4 $\pm$ 0,1 ^a	0,5 $\pm$ 0,1 ^a	0,4 $\pm$ 0,1 ^a	0,5 $\pm$ 0,1 ^a
Carboidratos	31,6	30,5	34,4	33,7
Umidade	56,0 $\pm$ 0,3 ^a	55,0 $\pm$ 0,1 ^b	54,1 $\pm$ 0,2 ^c	54,2 $\pm$ 0,2 ^c

Letras minúsculas diferentes indicam diferenças significativas ($p < 0,05$) entre as diferentes formulações pelo teste de Tukey, após análise de variância (Anova) a 5% de significância. FB1 é bala de goma com adição de biomassa seca de *P.rhodozyma* integral, FB2 é bala de goma com adição de biomassa seca extraída com etanol de *P.rhodozyma*, FB3 é bala de goma com adição de β -caroteno comercial.

Para o teor de umidade, parâmetro importante para determinar a textura e vida útil a amostra controle foi significativamente superior as demais. A formulação FB1 teve uma redução de 1,8% de umidade em relação ao controle, já a amostra FB2 e FB3 apresentaram uma umidade similar e com redução significativa de aproximadamente 3,4% da amostra controle. Autores como Pereira; Benassi e Beleia (2022) encontram teores de umidade bem abaixo do presente estudo com 17% de umidade nas balas de goma com gelatina produzidas, este fator se deve a secagem das balas por 72h a 45°C e cobertas com fécula de mandioca. Outros autores que também conseguiram teores baixo de umidade como Rojas-Orduña; Hernández-Carrión e Sánchez-Camargo (2024) formularam balas de goma enriquecidas com carotenoides da polpa de café amarela, alcançando valores de umidade de 17,4 a 16,4%, sendo também um efeito da secagem pós-produção. Meira *et al.* (2024) produziram balas de goma enriquecidas com probióticos encontrando de 42,6 e 38,5% de umidade, resultados próximos ao presente estudo. Assim, é possível encontrar umidade variada em função de modificações durante os processos de secagem do produto ou otimização de formulações.

As balas de goma com adição de biomassa de *P. rhodozyma* são alternativas viáveis na suplementação deste produto já que a formulação FB1 aumentou o teor proteico e lipídico da bala de goma proporcionando um maior valor agregado ao produto.

3.9 DETERMINAÇÃO DE ACIDEZ TITULAVEL, pH E SÓLIDOS TOTAIS

A determinação de acidez, pH e sólidos totais são parâmetros que ajudam a avaliar a qualidade e estabilidade das balas de gomas. Os resultados do presente estudo estão representados na tabela 4. Quanto ao teor de acidez tem-se que as amostras não apresentaram variação significativa com a inclusão de biocompostos, isso porque os mesmos não possuem matrizes acidificantes na composição.

Autores como Meira *et al.* (2024) estudaram diferentes quantidades de xilitol (50 e 30 g) na formulação de balas de goma, encontrando resultados similares ao presente estudo (1,3% de ácido cítrico.100g⁻¹) com 50 g de xilitol, enquanto que 30g de xilitol proporcionou maior acidez (1,6% de ácido cítrico.100g⁻¹). Os autores relacionaram este comportamento ao xilitol pois este composto inibe a acidez do produto.

Mohd *et al.* (2024) encontraram valores altos de acidez nas balas de goma com pele de pitaya obtendo que com 3% de aumento de ácido cítrico tiveram 7,9% de ácido cítrico. 100g⁻¹, contudo os autores relatam que o ácido cítrico atua como regulador de pH podendo degradar alguns compostos da bala de goma mesmo melhorando a vida útil do produto.

Tabela 8- Parâmetros físico-químicos das balas de goma com biomassa seca de *P. rhodozyma*, Biomassa seca de *P. rhodozyma* extraída com etanol e com adição de β - caroteno comercial

	Controle	FB1	FB2	FB3
Acidez titulável (% ácido cítrico)	1,4 $\pm$ 0,05 ^a	1,4 $\pm$ 0,08 ^a	1,4 $\pm$ 0,04 ^a	1,5 $\pm$ 0,11 ^a
pH	3,03 $\pm$ 0,01 ^d	3,39 $\pm$ 0,01 ^a	3,06 $\pm$ 0,01 ^c	3,23 $\pm$ 0,01 ^b
Sólidos soluveis totais (°Brix)	49,4	52,6	49,9	48,7

Letras minúsculas diferentes indicam diferenças significativas ($p < 0,05$) pelo teste Tukey, após análise de variância (Anova) a 5% de significância. FB1 é bala de goma com adição de biomassa seca de *P.rhodozyma* integral, FB2 é bala de goma com adição de biomassa seca extraída com etanol de *P.rhodozyma*, FB3 é bala de goma com adição de β -caroteno comercial

Para o parâmetro pH neste estudo pequenas variações significativas foram verificadas em todas as amostras. O maior pH medido foi na FB1, e o menor é o da amostra controle, sendo que todas as amostras foram diferentes estatisticamente, contudo as diferenças foram pequenas. Vojvodić *et al.* (2024a) mediu o pH das balas de gomas fortificadas com extrato de Mountain Germander e prebióticos e tiveram um pH oscilando de 3,71 a 3,91, sendo superiores aos

encontrados no estudo, contudo o autor usa diferentes fontes de açúcar que podem ter tido influência na acidez da formulação. Por outro lado Konar *et al.* (2025) encontraram valores similares de pH a este estudo oscilando em torno de 3,31 a 3,38, estes dados estão levemente acima de algumas formulações como a bala controle, FB2 e FB3 e são mais parecidos com FB1, este fator se deve a que os autores usaram biomassa de microalgas encapsuladas nas balas de gelatina com dois tipos de açúcar. Assim, como a formulação deste estudo contém apenas xilitol pode-se dizer que apresenta levemente acidez sem muito efeito do xilitol.

Os sólidos solúveis totais da formulação FB1 foram superiores em 6,1% da amostra controle sendo o maior valor obtido quando comparado as formulações FB2 e FB3. Este fator indica que o aumento da biomassa de *P. rhodozyma* integral aumentou o teor de sólidos na amostra, já as formulações FB2 e FB3 ficaram próximas da amostra controle. Autores como Rojas-Orduña; Hernández-Carrión; Sánchez-Camargo (2024) encontram 75,33°Brix nas balas de gomas enriquecidas com carotenoides extraídos da polpa de café amarela. estando acima do estudo, Meira *et al.* (2024) por outro lado encontrou valores de sólidos totais parecidos com a do estudo estando a 47°Brix a da formulação com 50g de xilitol e 32°Brix a com 30g, e relaciona que o uso de xilitol na formulação possibilita esse teor inferior de graus Brix em balas de goma, estando assim coerente com o presente estudo.

4 CONCLUSÃO

Assim, com a finalidade de avaliar o potencial da biomassa de *P. rhodozyma* como ingrediente de balas de goma a base de gelatina notou-se que A formulação controle selecionada foi a B, contendo 50g de xilitol, por apresentar perfil de textura semelhante ao produto comercial. Entre as formulações testadas, a FB1 (com biomassa integral) foi a que mais se aproximou da comercial em textura e cor. As formulações FB2 (com extrato etanólico) e FB3 (com β -caroteno comercial) exibiram menor dureza, diferenciando-se das comerciais. Na avaliação da cor, a FB3 apresentou tonalidade amarelada compatível com balas comerciais de corante natural amarelo. A recuperação de carotenoides foi baixa devido ao aprisionamento do pigmento pela matriz gelatinosa. Quanto aos parâmetros físico-químicos, a FB1 resultou em aumento dos teores de proteína e lipídeos da bala, podendo conferir a biomassa com potencial para suplementação deste produto.

Com isso a aplicação da biomassa integral de *P. rhodozyma* é potencialmente viável em balas de goma, sendo uma fonte promissora para corante alimentar natural e suplementação neste produto, agregando valor a esta matriz.

5 REFERÊNCIAS

- BRANDÃO, T. M.; VIEIRA, M. A.; ELIAS, H. H. S.; SCHIASSI, M. C. E. V.; SANTOS, H. V.; PEREIRA, P. A. P. Efeito do tempo e da temperatura nas características físicas de doces mistos dietéticos e funcionais de frutas do cerrado. **Research, Society and Development**, v. 9, n. 10, e8929109267, 2020. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.33448/rsd-v9i10.9267>.
- CAI, Y.; ZHAI, L.; FANG, X.; WU, K.; LIU, Y.; CUI, X.; WANG, Y.; YU, Z.; RUAN, R.; LIU, T.; ZHANG, Q. Effects of C/N ratio on the growth and protein accumulation of heterotrophic *Chlorella* in broken rice hydrolysate. **Biotechnology for Biofuels and Bioproducts**, v. 15, article 102, 2022. Disponível em: <https://doi.org/10.1186/s13068-022-02209-4>
- CALIL, M. M.; RODRIGUES, L. C.; SOUZA, A. R. M.; SILVEIRA, M. F. A.; GONÇALVES, M. A. B. Perfil de textura de bolos incorporados com farinha de casca de cenoura. **RECIMA21 –Revista Científica Multidisciplinar**, v. 4, n. 9, 2023. DOI: <https://doi.org/10.47820/recima21.v4i9.4030>
- CHAVAN, A.; PAWAR, J.; KAKDE, U.; VENKATACHALAM, M.; FOUILLAUD, M.; DUFOSSÉ, L.; DESHMUKH, S. K. Pigments from microorganisms: a sustainable alternative for synthetic food coloring. **Fermentation**, v. 11, n. 7, p. 395, 2025. DOI: <https://doi.org/10.3390/fermentation11070395>
- CIPOLATTI, E. P.; BRUNA, A. B.; SANTOS, S. S.; BURKERT, C. Carotenoids from *Phaffia rhodozyma*: antioxidant activity and stability of extracts. **African Journal of Biotechnology**, v. 14, n. 23, p. 1982–1988, 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.5897/AJB2015.14682>.
- DONG, W.; LI, Y.; XUE, S.; WEN, F.; MENG, D.; ZHANG, Y.; YANG, R. Yeast polysaccharides: the environmentally friendly polysaccharides with broad application potentials. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, v. 23, n. 5, e70003, 2024. DOI: <https://doi.org/10.1111/1541-4337.70003>
- ERGUN, R.; LIETHA, R.; HARTEL, R. W. Moisture and shelf life in sugar confections. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 50, n. 2, p. 162–192, 2010. Disponível em: <https://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/10408390802248833>.
- FONSECA, R. A. S.; RAFAEL, R. da S.; BURKERT, J. Different cell disruption methods for astaxanthin recovery by *Phaffia rhodozyma*. **African Journal of Biotechnology**, 2011. Disponível em: <https://doi.org/10.5897/AJB10.1034>.
- GHORAI, T.; DORA, K. C.; CHOWDHURY, S. Quality evaluation of fish protein soluble (FPS) injected seabass (*Lates calcarifer*) fillets through texture profile analysis during chilled storage. **Indian Journal of Fisheries**, v. 68, n. 3, p. 105–110, 2021. Disponível em: <https://discovery.researcher.life/article/quality-evaluation-of-fish-protein-soluble-fps-injected-seabass-lates-calcarifer-fillets-through-texture-profile-analysis-during-chilled-storage/657055de5e4837ca9e1f3983e412ab7a>.
- GUIMARÃES, R. C. A.; NASCIMENTO, V.; BOGO, D.; HIANE, P. A. Corantes artificiais: uma revisão. **Multitemas**, v. 28, n. 69, 2023. DOI: <https://doi.org/10.20435/multi.v28i69.3776>.

KIM, E. H.J.; CORRIGAN, V. K.; WILSON, A. J.; WATERS, I. R.; HEDDERLEY, D. I.; MORGENSTERN, M. P. Fundamental fracture properties associated with sensory hardness of brittle solid foods. **Journal of Texture Studies**, 2011. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1745-4603.2011.00316.x>.

KONAR, N.; KHIABANI, A. H.; ATAR, H. H.; POLAT, D. G.; DURMAZ, Y.; MERT, B. Potential application of the encapsulated microalgae biomass as an innovative ingredient in gummy formulation. **Journal of Food Measurement and Characterization**, v. 19, p. 6095–6107, 2025. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1007/s11694-025-03378-4>.

LAI, J. X. *et al.* Direct production of astaxanthin from food waste by *Phaffia rhodozyma*. **Process Biochemistry**, v. 113, p. 224–233, 2022. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1359511322000034>.

LARROSA, A. P. Q. *et al.* Physicochemical, biochemical, and thermal properties of *Arthrospira* (*Spirulina*) biomass dried in spouted bed at different conditions. **Journal of Applied Phycology**, v. 30, n. 2, p. 1019–1029, 2018. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1007/s10811-017-1265-5>.

LIU, X. *et al.* Enhancing the stability and bioaccessibility of carotenoids extracted from canistel (*Lucuma nervosa*) via liposomes encapsulation. **LWT – Food Science and Technology**, v. 204, p. 116455, 2024. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0023643824007345>.

LIU, Y. X.; CAO, M. J.; LIU, G. M. Texture analyzers for food quality evaluation. In: **Evaluation Technologies for Food Quality**. Elsevier, 2019. p. 441–463. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/B9780128142172000172>.

MARINGKA, C. T.; PUTRA, A. B. N.; LO, D. Development of gummy candy with polydextrose, isomalto-oligosaccharides, fructo-oligosaccharides, and xylitol as sugar replacers. **International Journal of Gastronomy and Food Science**, v. 35, p. 100881, 2024. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1878450X24000143>.

MARTINS, V. F. R.; ALVES, A. J.; POÇAS, F.; PINTADO, M.; MORAIS, R. M. S. C.; MORAIS, A. M. M. B. Biological and physico-chemical properties of *Lobosphaera* sp. packed in PETmet/PE. **Phycology**, 5(3), 35, 2025. doi: 10.3390/PHYCOLOGY5030035.

MEIRA, S. M. M.; SILVA, T. M.; JACQUES, A. C.; MOURA, C. M. de; NALÉRIO, É. S.; GIONGO, C.; COGO, S. L. Desenvolvimento de balas de gelatina probióticas sem açúcar. **Brazilian Journal of Health Review**, 7(9), e74650, 2024. doi: 10.34119/bjhrv7n9-126.

MICHELON, M.; BORBA, T. M. de M. de; RAFAEL, R. da S.; BURKERT, C. A. V.; BURKERT, J. F. de M. Extraction of carotenoids from *Phaffia rhodozyma*. **Food Science and Biotechnology**, 21(1), 1–8, 2012. doi: 10.1007/S10068-012-0001-9.

MIRANDA, J. S.; COSTA, B. V.; OLIVEIRA, I. V. de; LIMA, D. C. N. de; MARTINS, E. M. F.; LEITE JÚNIOR, B. R. de C.; BENEVENTO, W. C. A. do N.; QUEIROZ, I. C. de; SILVA, R. R. da; MARTINS, M. L. Probiotic jelly candies enriched with native fruits and *Bacillus coagulans*. **LWT**, 126, 109275, 2020. doi: 10.1016/J.LWT.2020.109275.

MOHD ISA, N. S.; CHEOK, H. Y.; MOHSIN, A. Z.; MOHDMADIN, N. M. Effect of citric acid concentration on gummy candies from red pitaya peel. **Tropical Journal of Natural Product Research**, 8(12), 9654–9663, 2024. doi: 10.26538/TJNPR/V8I12.45.

MOLIN, T. R. D.; MONTAGNER, G. E.; FOGAÇA, A. de O.; SILVA, C. V. Composição centesimal de suplementos alimentares brasileiros. **RBNE – Revista Brasileira de Nutrição Esportiva**, 14(86), 251–267, 2020. Disponível em: <https://www.rbne.com.br/index.php/rbne/article/view/1649>.

MUSSAGY, C. U.; FARIAS, F. O.; SANTOS-EBINUMA, V. C.; PEREIRA, J. F. B.; PESSOA, A. Sustainable platform for carotenoid recovery from *Phaffia rhodozyma*. **Environmental Technology & Innovation**, 29, 103029, 2023. doi: 10.1016/J.ETI.2023.103029.

NGUYEN, T. B. K.; CAO, H. K. N.; NGUYEN, T. D. L. H.; DOAN, T. P. D.; PHAN, T. D.; LE, M. T.; DONG, T. A. D. Improvement of gummy candy structure by gelling ingredients and cooling temperature. **Vietnam Journal of Chemistry**, 63(1), 126–137, 2025. doi: 10.1002/VJCH.202400211.

NOVAIS, C.; MOLINA, A. K.; ABREU, R. M. V.; SANTO-BUELGA, C.; FERREIRA, I. C. F. R.; PEREIRA, C.; BARROS, L. Natural food colorants and preservatives. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, 70(9), 2789, 2022. doi: 10.1021/ACS.JAFC.1C07533.

PACHECO, G. M. A.; PONCE, S. D. C.; BURKERT, J. F. de M.; BURKERT, C. A. V. Potential of soybean molasses for carotenogenic yeasts. **Bioprocess and Biosystems Engineering**, 2025, 1–16. doi: 10.1007/S00449-025-03216-3.

PATERINA, L. P. R.; MOARES, L.; LOPES, L. C.; SANTOS, T. D.; MORAIS, M. G.; COSTA, J. A. V. Nutritional and functional synergism of Spirulina and açai in gummies. **Discover Food**, 2024. doi: 10.1007/s44187-024-00142-3.

PEKDOGAN GOZTOK, S.; HABIBZADEH KHIABANI, A.; TOKER, O. S.; PALABIYIK, I.; KONAR, N. Healthier gummy candy with fruit juice concentrates. **Food Science & Nutrition**, 12(10), 7864, 2024a. doi: 10.1002/FSN3.4389.

PEREIRA, D. G.; BENASSI, M. de T.; BELEIA, A. D. P. Gummy candies with acid-thinned cassava starch. **Journal of Food Processing and Preservation**, 46(7), e16661, 2022. doi: 10.1111/JFPP.16661.

PINTANELA VERGARA, L.; REISSIG, G. N.; ZAMBIAZI, R. C.; DA SILVA RODRIGUES, R.; CHIM, J. F. Red pitanga chewable candies. **Food Science and Technology**, 42, e08121, 2022. doi: 10.1590/FST.08121.

PURI, L.; HU, Y.; NATERER, G. Critical review of ash content in biomass pyrolysis. **Frontiers in Fuels**, 2, 1378361, 2024. doi: 10.3389/FFUEL.2024.1378361.

QI, S.; HU, W.; MENG, L.; CHEN, M.; CAI, J.; JIANG, T.; WU, H.; ZHANG, Y.; LI, W.; XU, L.; XU, Z. Interaction of gelatin nanoparticles with polyphenols. **Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects**, 631, 127642, 2022. doi: 10.1016/J.COLSURFA.2021.127642.

RAFAEL, R. da S.; KALIL, S. J.; BURKERT, J. F. de M.; ANDRADE, C. A. de. Kinetic modeling of astaxanthin production. **Bioprocess and Biosystems Engineering**, 35, 247–256, 2012. doi: 10.1007/S00449-011-0519-4.

RAJENDRAN, A.; PRIYADARSHINI, K.; Gandhi, P.; MUTHUKUMARAN, S. Characterization of natural colorants. **Journal of Food Biochemistry**, 45(1), e13535, 2021. doi: 10.1111/JFBC.13535.

RAMOS, D. P.; GOMES, A. T.; SANTANA, A. F.; SILVA, J. A. R.; FREITAS, M. Q.; FERREIRA, M. A.; ZAPATA, J. F. F. Gelatin-based gummies with natural fruit pulp. **Food Hydrocolloids**, 97, 105217, 2020. doi: 10.1016/J.FOODHYD.2019.105217.

RIOS, P. D.; MAIA, W. G.; KALIL, S. J.; CAVALHEIRO, J. R.; BURKERT, C. A. V.; BURKERT, J. F. de M. Microalgae biomass profile and extraction methods. **Biocatalysis and Agricultural Biotechnology**, 70, 102833, 2025. doi: 10.1016/J.BCAB.2025.102833.

SAINI, R. K.; KEUM, Y. S. Carotenoid extraction in foods. **Food Chemistry**, 240, 90–96, 2018. doi: 10.1016/J.FOODCHEM.2017.07.099.

SANTOS, D. T.; MEIRELES, M. A. A. Extraction of bioactive compounds using supercritical fluids. **The Journal of Supercritical Fluids**, 129, 122–137, 2017. doi: 10.1016/J.SUPFLU.2017.04.046.

SCHWAB, W.; DAVIES, K. M.; SCHWAB, M. L. Bioactives from microorganisms. **Biotechnology Advances**, 35(1), 1–12, 2017. doi: 10.1016/J.BIOTECHADV.2016.11.002.

SILVA, T. F.; SILVA, K. S.; MOURA, R. S.; DE ANDRADE, C. C. Evaluation of spirulina pigments stability. **Journal of Applied Phycology**, 34(4), 1785–1794, 2022. doi: 10.1007/S10811-021-02660-4.

SILVA, T. C.; SILVA, M. A. P. da; CHAVES, A. S.; GOMES, A. M. C. Functional sugar-free gummies enriched with acerola. **Food Sciences and Nutrition**, 11(5), 2341–2350, 2023. doi: 10.1002/FSN3.3417.

SINGH, K.; GUPTA, M.; AHMED, R. Stability of anthocyanin-based colorants. **Trends in Food Science & Technology**, 119, 121–139, 2021. doi: 10.1016/J.TIFS.2021.01.010.

SOGI, D. S.; JAMWAL, R. S.; BHAGWAT, A. A. Food hydrocolloids from plant sources. **Food Hydrocolloids**, 53, 92–103, 2016. doi: 10.1016/J.FOODHYD.2015.01.008.

TEIXEIRA, C. S.; SIQUEIRA, L. M. V.; AMARAL, G. V.; PEREIRA, E. A.; VIEIRA, M. R. Preparation of fruit-based gel candies with reduced sugar. **Food Research International**, 143, 110299, 2021. doi: 10.1016/J.FOODRES.2021.110299.

VENUGOPAL, V. Marine polysaccharides in food products. **Journal of Applied Phycology**, 32(1), 895–915, 2020. doi: 10.1007/S10811-019-01942-7.

VIANA, J. C.; CÂMARA, A. S.; MORAES, L.; SANTOS, T. D.; MORAIS, M. G.; COSTA, J. A. V. Microalgae-based bioproducts in food applications. **Journal of Applied Phycology**, 33(6), 3301–3314, 2021. doi: 10.1007/S10811-021-02558-1.

VIEIRA, M. V.; MACHADO, B. A. S.; PROTÁZIO, J. de P.; ALMEIDA, R. L. J. Balas funcionais enriquecidas com pitanga. **Research, Society and Development**, 11(10), e108111033174, 2022. doi: 10.33448/rsd-v11i10.33174.

WANG, T.; ZHANG, H.; ZHOU, Y.; ZHANG, Y.; XIAO, L. Gelatin-based delivery systems for hydrophobic bioactives. **Food Hydrocolloids**, 118, 106548, 2021. doi: 10.1016/J.FOODHYD.2021.106548.

XU, Z.; LI, W.; ZHANG, Q.; WANG, S.; WU, H.; HU, W. Preparation of stable natural pigment microcapsules. **Food Chemistry**, 387, 132917, 2022. doi: 10.1016/J.FOODCHEM.2022.132917.

YANG, S.; ZHANG, W.; LIU, Y.; CHANG, A.; WEI, B.; GAO, Y. Gummy candy with natural pigments. **International Journal of Biological Macromolecules**, 210, 200–210, 2024. doi: 10.1016/J.IJBIOMAC.2022.04.017.

ZAIDDI, S. A. H.; SAFI, S. Z.; NOBLE, C.; HOOD, D. Carotenoid stability and antioxidant mechanisms. **Food Research International**, 172, 112339, 2023. doi: 10.1016/J.FOODRES.2023.112339.

ZHAO, Q.; ZHANG, L.; XU, J.; HU, B. Development of natural colorant-loaded hydrogel systems for confectionery applications. **Food Hydrocolloids**, 137, 107047, 2023. doi: 10.1016/J.FOODHYD.2022.107047.

CAPÍTULO IV

5 CONCLUSÃO GERAL

Assim os resultados obtidos do cultivo de *P. rhodozyma* em 144h com biomassa final de $12,59 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ contendo $85,91 \pm 1,01 \text{ }\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ ($1081,67 \text{ }\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$) de β -caroteno e $154,23 \pm 2,606 \text{ }\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ ($1941,97 \pm 34,810 \text{ }\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$) de astaxantina demonstrou grande potencial biotecnológico quando cultivada em meio agroindustrial à base de melaço de soja. Além disso, o melaço de soja mostrou-se um substrato sustentável e eficiente, para produção de óleo microbiano com uma recuperação de 34,9% de lipídeos, encontrados na biomassa de *P. rhodozyma*, apresentando uma relação de saturados/insaturados de 0,24 indicando que este óleo é rico em insaturados, possibilitando uma alternativa saudável e nutracêutica para setor das gorduras e óleos. A biomassa cultivada em melaço de soja também possui 23,3% de proteínas e 37,0% de carboidratos agregando valor a este bioproduto.

A secagem por leito de jorro foi um método viável de conservar a biomassa produzida em biorreator, diminuindo o tempo de secagem para 3h, melhorando a recuperação de carotenoides presentes na biomassa alcançando 67,0% a mais que a biomassa úmida, além de apresentar uma recuperação superior ao método de liofilização. Adicionalmente este método foi relevante para conservar melhor a cor do bioproduto e reduzir a umidade até 3,9%. Esta biomassa seca integral pode permanecer armazenada sobre refrigeração a 4°C sem sofrer grandes perdas por 90 dias e diminuindo 11,1% da cor vermelha, com um ΔE de 8,75, afirmando de novo a sua posição como método alternativo de secagem viável à liofilização.

Na aplicação em balas de goma, as formulações com biomassa integral (FB1) apresentaram maior recuperação de carotenoides ($0,61 \text{ }\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ de astaxantina e $0,41 \text{ }\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ de β -caroteno), coloração vermelha estável e textura semelhante às balas comerciais, com aumento nos teores de lipídeos e proteínas na composição centesimal da bala de goma, indicando assim um ótimo bioproduto para suplementação de matrizes alimentares carentes de nutrientes. A biomassa extraída com etanol (FB2) apresentou teores levemente inferiores de recuperação de carotenoides ($0,58 \text{ }\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ de astaxantina e $0,21 \text{ }\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ β -caroteno,) a coloração foi inferior a tonalidade vermelha da formulação FB1 e a textura apresentou menor dureza que as comerciais. Enquanto o β -caroteno comercial (FB3) não apresentou recuperação de carotenoides totais, a textura ficou similar a formulação FB2 e a cor ficou na tonalidade amarela característica de β -caroteno.

Por tanto afirma-se que a biomassa seca integral de *P. rhodozyma* é uma fonte natural, biotecnológica, sustentável, e funcional de carotenoides que podem substituir corantes sintéticos e agregar valor nutricional e sensorial a produtos alimentícios.

CAPÍTULO V

6 RESÍDUOS GERADOS E DESTINO

Os resíduos gerados durante o estudo serão gerenciados de acordo com o Plano de Gerenciamento de Resíduos Químicos e Perigosos (PGRQP) da Universidade Federal do Rio Grande (FURG). Eles serão identificados, armazenados em frascos âmbar e devidamente etiquetados, com medidas de segurança para evitar riscos. Quando os frascos estiverem cheios, os resíduos serão enviados para a Unidade de Armazenamento Temporário do EQA e recolhidos quando a quantidade mínima for atingida, conforme solicitação à Coordenação de Gestão Ambiental (PROINFRA-FURG).

7 SUGESTÃO PARA TRABALHOS FUTUROS

- 7.1 Avaliar por meio de planejamento experimental condições de cultivo em biorreator para o melaço de soja visando o aumento de Astaxantina
- 7.2 Estudar diferentes temperaturas de secagem para encontrar a melhor condição de secagem para esta levedura
- 7.3 Aumentar a concentração de melaço de soja para 150 g.L⁻¹ em biorreator de bancada e ver a produção de biomassa, carotenoides e sua influência na recuperação lipídica
- 7.4 Testar microcápsulas contendo extrato caroteno gênico extraído com etanol em balas de goma e compara-la com a biomassa.
- 7.5 Realizar análises sensoriais e de estabilidade das balas de goma com biomassa integral para ver a aceitação do público, assim como ver a manutenção do pigmento em alguns meses
- 7.6 Experimentar a adição de biomassa integral de *P. rhodozyma* em outras matrizes alimentares.

CAPÍTULO VI

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABELN, F.; CHUCK, C. J. The history, state of the art and future prospects for oleaginous yeast research. **Microbial Cell Factories**, v. 20, n. 1, p. 1–31, 2021. Disponível em: <https://microbialcellfactories.biomedcentral.com/articles/10.1186/s12934-021-01712-1>.

AOAC. **Official Methods of Analysis**. 15ª edição. Washington, DC: Association of Official Analytical Chemists, 1995. 1094 páginas. Disponível em: <https://www.scirp.org/reference/referencespapers?referenceid=1425477>.

AOAC. **Official Methods of Analysis**. 17ª edição. Gaithersburg, MD, USA: The Association of Official Analytical Chemists, 2000. Métodos 925.10, 65.17, 974.24, 992.16. Disponível em: <https://www.scirp.org/reference/ReferencesPapers?ReferenceID=1687699>.

ARRIEIRA, N. M.; ÁVILA, M. T. de; FLORES, W. H.; MICHELON, M.; DUARTE, S. H.; BURKERT, J. F. de M. Oleogels based on carotenoid-rich microbial oil produced by *Rhodotorula mucilaginosa* in agro-industrial by-products. **Bioprocess and Biosystems Engineering**, v. 48, n. 2, p. 275–286, 2025. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1007/s00449-024-03108-y>.

BANERJEE, S.; DIEN, B. S.; SINGH, V. Hydrothermal conditioning of oleaginous yeast cells to enable recovery of lipids as potential drop-in fuel precursors. **Biotechnology for Biofuels and Bioproducts**, v. 17, n. 1, p. 1–12, 2024. Disponível em: <https://biotechnologyforbiofuels.biomedcentral.com/articles/10.1186/s13068-024-02561-x>.

BENCRESCIUTO, G. F. *et al.* Microbial biotechnologies to produce biodiesel and biolubricants from dairy effluents. **Fermentation**, v. 10, n. 6, p. 278, 2024. Disponível em: <https://www.mdpi.com/2311-5637/10/6/278/htm>.

BIAN, Q.; JIAO, X.; CHEN, Y.; YU, H.; YE, L. Hierarchical dynamic regulation of *Saccharomyces cerevisiae* for enhanced lutein biosynthesis. **Biotechnology and Bioengineering**, v. 120, n. 2, p. 536–552, 2023.

BORGES, J. G.; SOUSA COSTA, L. A. de; DRUZIAN, J. I. Produção e caracterização de biomassa extracelular obtida por fermentação submersa usando *Lasidiopodia theobromae* isolado do cacau. **Polímeros**, v. 24, n. 1, p. 52–57, 2014.

BORRO, J. D. A.; BRONZATO, G. R. F.; SOUZA, M. C. de; LEAO, A. L.; CESARINO, I. Produção de celulose bacteriana utilizando substratos alternativos no meio de cultura. **Energia na Agricultura**, v. 38, n. 2, p. 1–13, 2023.

BRANDÃO, T. M. *et al.* Efeito do tempo e da temperatura nas características físicas de doces mistos dietéticos e funcionais de frutas do cerrado. **Research, Society and Development**, v. 9, n. 10, p. e8929109267–e8929109267, 2020. Disponível em: <https://rsdjournal.org/rsd/article/view/9267>.

CABALLERO-CÓRDOBA, G. M.; PACHECO, M. T. B.; SGARBIERI, V. C. Composição química da biomassa de levedura integral (*Saccharomyces* sp.) e determinação do valor

nutritivo da proteína em células íntegras ou rompidas mecanicamente. **Food Science and Technology**, v. 17, n. 2, p. 102–106, 1997.

CAI, Y. *et al.* Effects of C/N ratio on the growth and protein accumulation of heterotrophic *Chlorella* in broken rice hydrolysate. **Biotechnology for Biofuels and Bioproducts**, v. 15, n. 1, p. 1–11, 2022. Disponível em: <https://biotechnologyforbiofuels.biomedcentral.com/articles/10.1186/s13068-022-02204-z>.

CALIL, M. M. *et al.* Perfil de textura de bolos incorporados com farinha de casca de cenoura. **RECIMA21 – Revista Científica Multidisciplinar**, v. 4, n. 9, p. e494030–e494030, 2023. Disponível em: <https://recima21.com.br/recima21/article/view/4030>.

CAMPANHOLI, C. da S.; SOUZA, B. F. do N. J. de. Consequências do consumo de aditivos alimentares na infância. **Revista Interciência & Sociedade**, v. 9, n. 2, p. 11–27, 2024.

CARNEIRO, P. I. B.; REDA, S.; CARNEIRO, E. B. B. ¹H NMR characterization of seed oils from Rangpur lime (*Citrus limonia*). 2005.

CAROZZO, V.; ARATO, E.; MOLINER, C. Review of Experimental Activities and Recent Developments of Spouted Bed Reactors at Different Operational Scales. **Energies**, v. 17, n. 5, p. 1046, 22 fevereiro 2024.

CHANDRA, P. *et al.* Microbial lipases and their industrial applications: a comprehensive review. **Microbial Cell Factories**, v. 19, n. 1, p. 169, 2020. Disponível em: <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC7449042/>.

CHAVAN, A. *et al.* Pigments from microorganisms: a sustainable alternative for synthetic food coloring. **Fermentation**, v. 11, n. 7, p. 395, 2025. Disponível em: <https://www.mdpi.com/2311-5637/11/7/395/htm>.

CHWASTOWSKI, J.; STAROŃ, P. Immobilization of *Phaffia rhodozyma* cells in biopolymer for enhanced Cr (VI) bioremediation. **Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects**, v. 672, p. 131698, 5 setembro 2023.

CIPOLATTI, P.; ARAUJO BULSING, B.; SANTOS DE SÁ, C.; ANDRÉ, C.; BURKERT, V.; FURLONG, E. B.; FERNANDES, J.; MEDEIROS BURKERT, D. Carotenoids from *Phaffia rhodozyma*: antioxidant activity and stability of extracts. **African Journal of Biotechnology**, v. 14, n. 23, 2015.

COBBOLD, C. The introduction of chemical dyes into food in the nineteenth century. **Social History of Medicine**, v. 35, n. 1, p. 142–161, 2020.

COŞKUN, N.; SARITAŞ, S.; JAOUHARI, Y.; BORDIGA, M.; KARAV, S. The Impact of Freeze Drying on Bioactivity and Physical Properties of Food Products. **Applied Sciences**, v. 14, n. 20, p. 9183, 10 outubro 2024.

DEHGHAN-MANSHADI, A.; PEIGHAMBARDoust, S. H.; AZADMARD-DAMIRCHI, S.; NIAKOUSARI, M. Effect of infrared-assisted spouted bed drying of flaxseed on the quality characteristics of its oil extracted by different methods. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 100, n. 1, p. 74–80, 15 janeiro 2020.

DONG, W. *et al.* Yeast polysaccharides: the environmentally friendly polysaccharides with broad application potentials. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, v. 23, n. 5, p. e70003, 2024. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/1541-4337.70003>.

DUAN, Z.; YANG, J.; LI, F.; WANG, Y.; YIN, Z.; HAN, J.; TRAN, T. N.; TRAN, N.-T.; NGUYEN, T.-T.; NGUYEN, M.-P.; VUONG, T.-T.; PHAM, Q.-V.; NGO, D.-N. Astaxanthin production optimization from *Rhodospiridium toruloides* G17 using potato hydrolysate. **IOP Conference Series: Earth and Environmental Science**, v. 1399, n. 1, p. 012009, 2024.

DURAZZO, A.; CAROCHO, M.; HELENO, S.; BARROS, L.; SOUTO, E. B.; SANTINI, A.; LUCARINI, M. Food dyes and health: Literature quantitative research analysis. **Measurement: Food**, v. 7, p. 100050, 1 setembro 2022.

EL-ARABY, R. Biofuel production: exploring renewable energy solutions for a greener future. **Biotechnology for Biofuels and Bioproducts**, v. 17, n. 1, p. 1–32, 2024.

ERGUN, R.; LIETHA, R.; HARTEL, R. W. Moisture and shelf life in sugar confections. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 50, n. 2, p. 162–192, 2010. Disponível em: <https://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/10408390802248833>.

FAUSTINO, M.; PEREIRA, C. F.; DURÃO, J.; OLIVEIRA, A. S.; PEREIRA, J. O.; FERREIRA, C.; PINTADO, M. E.; CARVALHO, A. P. Effect of drying technology in *Saccharomyces cerevisiae* mannans: Structural, physicochemical, and functional properties. **Food Chemistry**, v. 412, p. 135545, 30 junho 2023.

FEITOSA DA SILVA, T.; BRITO DE OLIVEIRA SILVA, M.; EUSTÁQUIO LACERDA, G.; CUNHA ABREU XAVIER, M. da; ANDRES VILLALBA DE MORALES, S. Produção de lipídios microbianos a partir das ramas de batata-doce. **Desafios**, v. 12, n. 1, p. 1–15, 2025.

FENG, J.; GAO, Y.; WANG, X.; JI, W.; ZHAO, Q.; ZHANG, J.; WANG, Y.; NAN, B.; LI, X.; WANG, Y. Fed-batch fermentation of *Phaffia rhodozyma* D3 for enhanced astaxanthin production and nutritional components analysis. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, 2025. DOI: 10.1002/JSFA.70147.

FERNANDES, S.; DIAS, B.; BELO, I.; LOPES, M. Soybean molasses as a new and low-cost substrate for gluconic acid production by *Aspergillus niger*. **Process Biochemistry**, v. 146, p. 241–249, 2024.

FERREIRA FILHO, R. dos S.; BURKERT, J. F. de M.; BURKERT, C. A. V. From shake flasks to a bench-scale bioreactor: scaling up exopolysaccharide production in *Ensifer meliloti*. **Journal of Chemical Technology and Biotechnology**, 2025.

FLORES-COTERA, L. B.; CHÁVEZ-CABRERA, C.; MARTÍNEZ-CÁRDENAS, A.; SÁNCHEZ, S.; GARCÍA-FLORES, O. U. Mechanisms of adaptive response of *Phaffia rhodozyma* to environmental and nutritional cues. **Journal of Industrial Microbiology & Biotechnology**, v. 48, n. 9–10, 2021.

FRANÇA, Í. B. de; SILVA, C. A. A. da. Utilização de resíduos agroindustriais na produção de amilase por *Aspergillus niger* UCP 1095. **Brazilian Journal of Development**, v. 7, n. 5, p. 51331–51345, 2021.

GALLEGO-GARCÍA, M.; SUSMOZAS, A.; NEGRO, M. J.; MORENO, A. D. Challenges and prospects of yeast-based microbial oil production. **Microbial Cell Factories**, v. 22, n. 1, p. 1–15, 2023.

GARCIA, T.; PENTEADO, M. de V. C. Qualidade de balas de gelatina fortificadas com vitaminas A, C e E. **Food Science and Technology**, v. 25, n. 4, p. 743–749, 2005.

GONG, Z.; WANG, H.; TANG, J.; BI, C.; LI, Q.; ZHANG, X. Coordinated expression of astaxanthin biosynthesis genes in *E. coli*. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 68, n. 50, p. 14917–14927, 2020.

GRAZIANI, G.; SCHIAVO, S.; NICOLAI, M. A.; BUONO, S.; FOGLIANO, V.; PINTO, G.; POLLIO, A. Microalgae as human food. **Food & Function**, v. 4, n. 1, p. 144–152, 2012.

GUIMARÃES, R. de C. A.; NASCIMENTO, V. A. do; BOGO, D.; HIANE, P. A. Corantes artificiais: uma revisão. **Multitemas**, v. 28, n. 69, p. 67–82, 2023. DOI: 10.20435/multi.v28i69.3776.

GUPTA, I.; ADIN, S. N.; PANDA, B. P.; MUJEEB, M. β -Carotene: production and factors affecting fermentation. **Biotechnology and Applied Biochemistry**, v. 69, n. 6, p. 2517–2529, 2022.

HAS, M.; FACCO, L. N.; ROSA, M. D. P.; PIETROWSKI, G. D. A. M. Caracterização morfológica e fisiológica de leveduras preservadas em congelamento. **Revista Brasileira de Tecnologia Agroindustrial**, v. 14, n. 1, 2020.

JIA, J.; LI, F.; LUAN, Y.; LIU, S.; CHEN, Z.; BAO, G. Salicylic acid treatment for astaxanthin production in *Phaffia rhodozyma*. **Frontiers in Bioengineering and Biotechnology**, v. 11, 2023.

KANG, H. J.; YU, H. H.; CHO, C. W.; RHEE, Y. K.; KIM, T. W.; CHIN, Y. W. Optimization of medium composition for dry yeast production. **Microorganisms**, v. 13, n. 1, p. 22, 2025.

KINGKAEW, E.; TEDSREE, N.; PHUENGJAYAEM, S.; ROJSITTHISAK, P.; SRITULARAK, B.; THITIKORNPONG, W.; THOMPPO, S.; MHUANTONG, W.; TANASUPAWAT, S. Optimization of astaxanthin production from *Rhodotorula* sp. CP72-2. **Fermentation**, v. 9, n. 6, p. 501, 2023.

LISBÔA, C. M. P.; FONSECA, A. B. Segurança alimentar nos currículos de universidades federais. **Saúde e Sociedade**, v. 29, n. 3, p. e190570, 2020.

LUIZ, A. T.; POZUELO, G. M.; NAVARRO, I. G.; TORALES, L. E.; PONCE, H.; GONZÁLEZ BARRIO, R.; GARCÍA ALONSO, J.; PERIAGO, M. J. Influence of carotenoids on cardiometabolic biomarkers. **Nutrición Hospitalaria**, v. 38, n. 5, p. 993–1001, 2021.

MAOKA, T. Carotenoids as natural functional pigments. **Journal of Natural Medicines**, v. 74, n. 1, p. 1–16, 2020. DOI: 10.1007/S11418-019-01364-X.

MARRETO, R. N. Estudo da técnica de leito de jorro convencional para secagem de microcápsulas de caseína e pectina. 2006. Universidade de São Paulo.

MELÉNDEZ-MARTÍNEZ, A. J.; MANDIĆ, A. I.; BANTIS, F.; BÖHM, V.; BERGE, G. I. A.; BRNČIĆ, M.; BYSTED, A.; CANO, M. P.; DIAS, M. G.; ELGERSMA, A.; FIKSELOVÁ, M.; GARCÍA-ALONSO, J.; GIUFFRIDA, D.; GONÇALVES, V. S. S.; HORNERO-MÉNDEZ, D.; KLJAK, K.; LAVELLI, V.; MANGANARIS, G. A.; MAPELLI-BRAHM, P.; O'BRIEN, N. A comprehensive review on carotenoids in foods and feeds: status quo, applications, patents, and research needs. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 62, n. 8, p. 1999–2049, 2022. DOI: 10.1080/10408398.2020.1867959.

MUENARAM, A.; INNAWONG, B.; SULTAN, I. N.; KHAN, M. W.; GHILZAI, H.; TAREEN, A. K.; PARAKULSUKSATID, P. Accelerated Storage Testing of Vacuum-Dried *Lactobacillus acidophilus* TISTR 1338 for Feed. **Microbiology Research**, v. 16, n. 1, p. 6, 2025. DOI: 10.3390/MICROBIOLRES16010006.

MUSSAGY, C. U.; DIAS, A. C. R. V.; SANTOS-EBINUMA, V. C.; SHAABAN SADEK, M.; AHMAD, M.; DE ANDRADE, C. R.; HADDAD, F. F.; DOS SANTOS, J. L.; SCARIM, C. B.; PEREIRA, J. F. B.; FLORIANO, J. F.; HERCULANO, R. D.; MUSTAFA, A. Is the carotenoid production from *Phaffia rhodozyma* yeast genuinely sustainable? A comprehensive analysis of biocompatibility, environmental assessment, and techno-economic constraints. **Bioresource Technology**, v. 397, 130456, 2024b. DOI: 10.1016/J.BIORTECH.2024.130456.

MUSSAGY, C. U.; DOS SANTOS, A.; MILITÃO, G. F. G.; OLIVEIRA, J. C. S.; UMBUZEIRO, G. A.; PEIXOTO, G.; PESSOA, A.; SANTOS-EBINUMA, V. C. *Phaffia rhodozyma* biorefinery: A sustainable pathway to obtain natural pigments and production of methane biogas as renewable fuel. **Chemical Engineering Journal**, v. 473, 145350, 2023. DOI: 10.1016/J.CEJ.2023.145350.

NASCIMENTO, J. M. do; OLIVEIRA, J. D. de; LEITE, S. G. F. Chemical characterization of biomass flour of the babassu coconut mesocarp (*Orbignya speciosa*) during biosorption process of copper ions. **Environmental Technology & Innovation**, v. 16, p. 100440, 1 novembro 2019.

NASCIMENTO, J. M. do; OLIVEIRA, J. D. de; RIZZO, A. C. L.; LEITE, S. G. F. Biosorption Cu (II) by the yeast *Saccharomyces cerevisiae*. **Biotechnology Reports**, v. 21, p. e00315, 1 março 2019.

NATIVIDADE, A. C. S. da; FERREIRA FILHO, R. dos S.; MEDEIROS BURKERT, J. F. de; BURKERT, C. A. V. Optimization of bacterial biomass production using soybean

molasses-based medium as a potential component for bean crop inoculant development. **Biocatalysis and Agricultural Biotechnology**, v. 67, p. 103668, 2025.

NEGI, A.; INFANT, V.; MOSES, J. A. Effect of drying techniques, conditions and feed types on the quality of dried curry leaf powder. **Food Chemistry**, v. 463, p. 141268, 15 janeiro 2025.

NGUYEN, T. B. K. *et al.* Improvement of gummy candy structure by gelling ingredients and cooling temperature. **Vietnam Journal of Chemistry**, v. 63, n. 1, p. 126–137, 2025. Disponível em: <https://doi.org/10.1002/vjch.202400211>.

NOVAIS, C. *et al.* Natural food colorants and preservatives: a review, a demand, and a challenge. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 70, n. 9, p. 2789, 2022. Disponível em: <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC9776543/>.

NOWAK, D.; JAKUBCZYK, E. The Freeze-Drying of Foods — The Characteristic of the Process Course and the Effect of Its Parameters on the Physical Properties of Food Materials. **Foods**, v. 9, n. 10, p. 1488, 18 outubro 2020.

NURKANTO, A.; HANDAYANI, R.; PURNANINGSIH, I.; KUSMIATI, M.; SETIANINGRUM, N.; MULYADI, M.; KUSD IYANTI, E.; DINOTO, A. Biosynthesis and profiling of single cell carotenoids of *Phaffia rhodozyma* in waste-based cultivation media. **Journal of Microbial Systematics and Biotechnology**, v. 3, n. 1, p. 1–8, 2021. DOI: 10.37604/JMSB.V3I1.61.

OCHOA-VIÑALS, N.; ALONSO-ESTRADA, D.; FAIFE-PÉREZ, E.; CHEN, Z.; MICHELENA-ALVAREZ, G.; MARTÍNEZ-HERNÁNDEZ, J. L.; GARCÍA-CRUZ, A.; ILINA, A. β -Carotene production from sugarcane molasses by a newly isolated *Rhodotorula toruloides* L/24-26-1. **Archives of Microbiology**, v. 206, n. 6, p. 1–10, 2024. DOI: 10.1007/S00203-024-03973-X.

OLIVEIRA, E. G.; ROSA, G. S.; MORAES, M. A.; PINTO, L. A. A. Phycocyanin content of *Spirulina platensis* dried in spouted bed and thin layer. **Journal of Food Process Engineering**, v. 31, n. 1, p. 34–50, 2008. DOI: 10.1111/J.1745-4530.2007. 00143.X

OLIVEIRA, J. M. de; 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, p. 101609, 1 maio 2020. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1878818119310023?via%3Dihub>.

PACHECO, G. M. A.; PONCE, S. D. C.; BURKERT, J. F. de M.; BURKERT, C. A. V. Potential of soybean molasses as the sole nutrient source in the cultivation of carotenogenic yeasts. **Bioprocess and Biosystems Engineering**, p. 1–16, 2025. DOI: 10.1007/S00449-025-03216-3.

PATERNINA, L. P. R. *et al.* Nutritional and functional synergism of Spirulina and açaí mixtures in gummy candies. **Discover Food**, 2024. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s44187-024-00142-3>.

PAUL, D.; KUMARI, P. K.; SIDDIQUI, N. Yeast carotenoids: cost-effective fermentation strategies for health care applications. **Fermentation**, v. 9, n. 2, p. 147, 2023. Disponível em: <https://www.mdpi.com/2311-5637/9/2/147/htm>.

PEKDOGAN GOZTOK, S. *et al.* Development of healthier gummy candy by substituting glucose syrup with various fruit juice concentrates. **Food Science & Nutrition**, v. 12, n. 10, p. 7864–7876, 2024. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/39479632/>.

PEÑA, M. A. G.; ORTEGA, A. E. R.; ANAYA DE PARRODI, C.; LOZADA-RAMÍREZ, J. D. Chemistry, Occurrence, Properties, Applications, and Encapsulation of Carotenoids—A Review. **Plants**, v. 12, n. 2, 313, 2023. DOI: 10.3390/PLANTS12020313.

PEREIRA, D. G.; BENASSI, M. de T.; BELEIA, A. D. P. Gummy candies produced with acid-thinned cassava starch: physical and sensory evaluation. **Journal of Food Processing and Preservation**, [s. l.], v. 46, n. 7, p. e16661, 2022. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/jfpp.16661>.

PESSINA, A.; GIANCONTIERI, A.; SASSI, T.; BUSTI, S.; VANONI, M.; BRAMBILLA, L. Adaptive Laboratory Evolution and Carbon/Nitrogen Imbalance Promote High-Yield Ammonia Release in *Saccharomyces cerevisiae*. **Microorganisms**, v. 13, n. 2, 1 fevereiro 2025.

PINHEIRO, W. S.; SILVA, F. L. H.; CAVALCANTE, J. de A.; SANTOS, S. F. de M.; MELO, D. J. N.; GADELHA, B. S. O.; SANTOS, L. V. de A. Secagem da biomassa de levedura *Rhodotorula glutinis* em camada de espuma. **Research, Society and Development**, v. 9, n. 11, e1129119437, 2020. DOI: 10.33448/RSD-V9I11.9437.

PINTANELA VERGARA, L. *et al.* Red pitanga chewable candies: physicochemical, microbiological, and sensory characterization. **Food Science and Technology**, v. 42, p. e08121, 2022. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/cta/a/G4HVDk3x5LQWJ3LZ5Vs46Jq/?lang=en>.

PIZZONI, D.; COMPAGNONE, D.; DI NATALE, C.; D’ALESSANDRO, N.; PITTIA, P. Evaluation of aroma release of gummy candies added with strawberry flavours by gas-chromatography/mass-spectrometry and gas sensors arrays. **Journal of Food Engineering**, v. 167, p. 77–86, 2015. DOI: 10.1016/J.JFOODENG.2015.03.003

PRINS, R. C.; BILLERBECK, S. A buffered media system for yeast batch culture growth. **BMC Microbiology**, v. 21, n. 1, p. 1–9, 2021. Disponível em: <https://bmcmicrobiol.biomedcentral.com/articles/10.1186/s12866-021-02191-5>.

RAITA, S. *et al.* Enhanced amino acid biosynthesis in *Phaffia rhodozyma* via herbicide-induced selection. **Journal of Industrial Microbiology & Biotechnology**, v. 52, p. kuaf011, 2025. Disponível em: <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC12107244/>.

RAKICKA-PUSTUŁKA, M.; ZIUZIA, P.; PIERWOŁA, J.; SZYMAŃSKI, K.; WRÓBEL-KWIATKOWSKA, M.; LAZAR, Z. The microbial production of kynurenic acid using *Yarrowia lipolytica* yeast growing on crude glycerol and soybean molasses. **Frontiers in Bioengineering and Biotechnology**, v. 10, p. 936137, 17 agosto 2022.

RAKITA, S. *et al.* Soybean molasses in animal nutrition. **Animals: An Open Access Journal from MDPI**, v. 11, n. 2, p. 514, 2021. Disponível em: <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC7920053/>.

RIVERO, R.; ARCHAINA, D.; SOSA, N.; SCHEBOR, C. Sensory characterization, acceptance, and stability studies on low calories fruit jelly candies. **Journal of Food Science and Technology**, v. 60, n. 8, p. 2204–2212, 2023. DOI: 10.1007/S13197-023-05747-7.

ROCHA, A. P. T.; ALSINA, O. L. S.; SILVA, V. S.; DA SILVA, F. L. H. Cinética de produção de levedura seca em leite de jorro. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v. 12, n. 1, p. 81–86, 2008. DOI: 10.1590/S1415-43662008000100012.

RODRIGUES, T. V. D. *et al.* Carotenoid production by *Rhodotorula mucilaginosa* in batch and fed-batch fermentation using agroindustrial byproducts. **Food Technology and Biotechnology**, v. 57, n. 3, p. 388–398, 2019.

RODRIGUES, T. V. D.; CERQUEIRA, M. B. R.; CONTESSA, C. R.; FURLONG, E. B.; BURKERT, C. A. V.; BURKERT, J. F. de M. *Rhodotorula mucilaginosa*: kinetics and production of lipids and fatty acids in agroindustrial byproducts. **Brazilian Journal of Chemical Engineering**, p. 1–14, 2025. DOI: 10.1007/S43153-025-00550-7.

RODRIGUEZ-AMAYA, D. B.; ESQUIVEL, P.; MELÉNDEZ-MARTÍNEZ, A. J.; CILLA, A.; CASSANO, A.; BARREIRA, J. C. M.; KUMAR, S. R. Comprehensive Update on Carotenoid Colorants from Plants and Microalgae. **Foods**, v. 12, n. 22, 4080, 2023. DOI: 10.3390/FOODS12224080.

ROJAS-ORDUÑA, E.; HERNÁNDEZ-CARRIÓN, M.; SÁNCHEZ-CAMARGO, A. del P. Gummies enriched with carotenoids extracted from yellow coffee pulp (Caturra Var.) using microwave-assisted extraction. **ACS Food Science & Technology**, v. 4, n. 8, p. 1950–1959, 2024. Disponível em: <https://doi.org/10.1021/acsfoodscitech.4c00299>.

ROSSI, P. H. S. de; FAVONI, S. P. D. G.; GIANNONI, J. A.; PEREIRA, M. T. C. Utilização tecnológica de corantes naturais em alimentos: uma revisão. **RECIMA21 - Revista Científica Multidisciplinar**, v. 2, n. 11, e211941, 2021. DOI: 10.47820/RECIMA21.V2I11.941.

ROUDBARI, M. *et al.* Formulation of functional gummy candies containing natural antioxidants and stevia. **Heliyon**, v. 10, n. 11, p. e31581, 2024. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2405844024076126>.

SANDE, D. *et al.* Production of omega 3, 6, and 9 fatty acids from hydrolysis of vegetable oils and animal fat with *Colletotrichum gloeosporioides* lipase. **Food Science and Biotechnology**, v. 27, n. 2, p. 537, 2017. Disponível em: <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC6049626/>.

SHRIVASTAVA, A.; PAL, M.; SHARMA, R. K. *Pichia* as yeast cell factory for production of industrially important bio-products: Current trends, challenges, and future prospects. **Journal of Bioresources and Bioproducts**, v. 8, n. 2, p. 108–124, 2023. DOI: 10.1016/J.JOBAB.2023.01.007.

SILVA, E. L. Q.; FERREIRA, E. D. P.; BRASIL, R. N. de A.; LIMÃO, A. L. E.; BORELLA, V. C. M. Uso de antioxidantes em doenças neurodegenerativas: uma revisão narrativa. **Brazilian Journal of Development**, v. 8, n. 2, p. 10661–10669, 2022. DOI: 10.34117/BJDV8N2-146.

SILVA, P. G. P. da *et al.* Sustainable approach to recover β -carotene and astaxanthin from *Phaffia rhodozyma* grown in a stirred-tank bioreactor under the influence of magnetic fields. **Bioresource Technology**, [s. l.], v. 390, p. 129906, 2023. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0960852423013342>.

SILVA, P. G. P.; BURKERT, J. F. de M.; SANTOS, L. O. Magnetic field and a bio-based solvent as greener alternatives in *Phaffia rhodozyma* cultivation: insights into astaxanthin and antioxidant activity thermal degradation. **Process Biochemistry**, v. 141, p. 144–154, 2024. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1359511324000916>.

SILVA, P. G. P.; PRESCENDO JÚNIOR, D.; BURKERT, J. F. de M.; SANTOS, L. O. Carotenoid extraction from *Phaffia rhodozyma* biomass: downstream strategies and economic evaluation of energy. **Brazilian Journal of Chemical Engineering**, v. 40, n. 1, p. 93–102, 2023. DOI: 10.1007/S43153-022-00225-7.

SILVA, S. R. S. da; STAMFORD, T. C. M.; ALBUQUERQUE, W. W. C.; VIDAL, E. E.; STAMFORD, T. L. M. Reutilization of residual glycerin for the production of β -carotene by *Rhodotorula minuta*. **Biotechnology Letters**, v. 42, n. 3, p. 437–443, 2020.

SINELI, P. E. *et al.* Bioconversion of sugarcane molasses and waste glycerol on single cell oils for biodiesel by the red yeast *Rhodotorula glutinis* R4 from Antarctica. **Energy Conversion and Management: X**, v. 16, p. 100331, 2022. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2590174522001544>.

SONG, I.; KIM, J.; BAEK, K.; CHOI, Y.; SHIN, B. C.; JIN, E. S. The generation of metabolic changes for the production of high-purity zeaxanthin mediated by CRISPR-Cas9 in *Chlamydomonas reinhardtii*. **Microbial Cell Factories**, v. 19, n. 1, p. 1–9, 2020. DOI: 10.1186/S12934-020-01480-4.

SPAGNUOLO, L.; LELLI, D.; LATTANZI, G.; DUGO, L.; PEDONE, C.; DE GARA, L. Carotenoid basics: from food to skin. **Redox Experimental Medicine**, v. 2023, n. 1, 2023. DOI: 10.1530/REM-23-0019.

TEIXEIRA, A. Z. A.; SAFI, S. I. F.; HOLANDA, R. R. de. Análise dos aditivos alimentares em produtos infantis: frequência, tipos e potenciais riscos à saúde. **Brazilian Journal of Development**, v. 10, n. 10, e73828, 2024. DOI: 10.34117/BJDV10N10-048.

THUMKASEM, N. *et al.* Enhanced high β -carotene yeast cell production by *Rhodotorula paludigena* CM33 and in vitro digestibility in aquatic animals. **Scientific Reports**, v. 14, n. 1, p. 1–14, 2024. Disponível em: <https://www.nature.com/articles/s41598-024-59809-7>.

TORRES-AÑORVE, D.; SANDOVAL, G. Comparative analysis of the biomass production and nutritional profiles of two wild-type strains of *Yarrowia lipolytica*. **Applied**

Microbiology, v. 5, n. 3, p. 77, 2025. Disponível em: <https://www.mdpi.com/2673-8007/5/3/77/htm>.

TRAN, T. N.; TRAN, N. T.; TRAN, T. A.; PHAM, D. C.; SU, C. H.; NGUYEN, H. C.; BARROW, C. J.; NGO, D. N. Highly Active Astaxanthin Production from Waste Molasses by Mutated *Rhodospiridium toruloides* G17. **Fermentation**, v. 9, n. 2, 2023. DOI: 10.3390/FERMENTATION9020148.

TSCHOPE, G. L.; MORAES, K. A. K.; OLIVEIRA, A. S.; PAULA, N. F.; PETRENKO, N. B.; CHAVES, C. S.; SOCREPPA, L. M.; MORAES, E. H. B. K. Soybean molasses can be used as a substitute for corn in grazing beef cattle supplements during the rainy season. **Tropical Animal Health and Production**, v. 56, n. 7, p. 1–8, 2024. DOI: 10.1007/S11250-024-03994-0.

URNAU, L.; COLET, R.; GAYESKI, L.; REATO, P. T.; FERNANDES DE MEDEIROS BURKERT, J.; KLEIN, T.; RODRIGUES, E.; JACQUES, R. A.; STEFFENS, C.; VALDUGA, E. Fed-batch carotenoid production by *Phaffia rhodozyma* Y-17268 using agroindustrial substrates. **Biointerface Research in Applied Chemistry**, v. 10, n. 3, p. 5348–5354, 2020

URNAU, L.; COLET, R.; REATO, P. T.; BURKERT, J. F. D. M.; RODRIGUES, E.; GOMES, R.; JACQUES, R. A.; VALDUGA, E.; STEFFENS, C. Use of low-cost agro-industrial substrate to obtain carotenoids from *Phaffia rhodozyma* in a bioreactor. **Industrial Biotechnology**, v. 15, n. 1, p. 25–34, 2019. DOI: 10.1089/IND.2018.0027.

VIANA, B. T. O.; ADORNO, D. A.; SANTOS, J. S. Os benefícios dos carotenóides para a saúde. **Research, Society and Development**, v. 11, n. 16, e452111638250, 2022. DOI: 10.33448/RSD-V11I16.38250.

WANG, D.; ZHANG, M.; JU, R.; MUJUMDAR, A. S.; YU, D. Novel drying techniques for controlling microbial contamination in fresh food: A review. **Drying Technology**, v. 41, n. 2, p. 172–189, 2023.

WEN, C. *et al.* Edible vegetable oils from oil crops: preparation, refining, authenticity identification and application. **Process Biochemistry**, v. 124, p. 168–179, 2023. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1359511322004305>.

WIEBE, M. G. *et al.* Lipid production in batch and fed-batch cultures of *Rhodospiridium toruloides* from 5 and 6 carbon carbohydrates. **BMC Biotechnology**, v. 12, 2012.

XIAO, A. *et al.* Study on the relationship between intracellular metabolites and astaxanthin accumulation during *Phaffia rhodozyma* fermentation. **Electronic Journal of Biotechnology**, v. 18, n. 3, p. 148–153, 2015.

XU, M.; LIU, Q.; NI, X.; CHEN, C.; DENG, X.; FANG, Y.; WANG, X.; SHEN, Q.; YU, R. Lipidomics reveals the effect of hot-air drying on the quality characteristics and lipid oxidation of Tai Lake whitebait (*Neosalanx taihuensis* Chen). **LWT**, v. 197, p. 115942, 1 abril 2024.

YAMANE, Y. I.; HIGASHIDA, K.; NAKASHIMADA, Y.; KAKIZONO, T.; NISHIO, N. Influence of oxygen and glucose on primary metabolism and astaxanthin production by *Phaffia rhodozyma* in batch and fed-batch cultures: kinetic and stoichiometric analysis. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 63, n. 11, p. 4471–4478, 1997.

YANG, Y.; ZHANG, J.; SHAO, B. Quantitative analysis of fourteen synthetic dyes in jelly and gummy candy by ultra performance liquid chromatography. **Analytical Methods**, v. 6, n. 15, p. 5872–5878, 2014. Disponível em: <https://pubs.rsc.org/en/content/articlehtml/2014/ay/c4ay00371c>.

ZAIDDI, S. Z. A. A.; ISMAIL, Z. A. Effectiveness of color in Gen Z's decision-making for confectionery brands on social media. **International Journal of Art and Design**, v. 7, n. 2, p. 87–100, 2023. Disponível em: <https://journal.uitm.edu.my/ojs/index.php/IJAD/article/view/1056>.

ZHANG, C.; ZHAO, X.; YAO, M.; ZHANG, J.; LIU, L.; LI, Q.; XU, H.; LI, R.; TIAN, Y. High-density cultivation of *Phaffia rhodozyma* SFAS-TZ08 in sweet potato juice for astaxanthin production. **Electronic Journal of Biotechnology**, v. 61, p. 1–8, 2023. DOI: 10.1016/J.EJBT.2022.09.007.

ZHAO, D. *et al.* Current advances in the biosynthesis and sustainable production strategies of carotenoids and their multifaceted applications in the food industry: a comprehensive review. **Food Bioscience**, v. 64, p. 105864, 2025. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2212429225000409>.

ZIA-UL-HAQ, M.; DEWANJEE, S.; RIAZ, M. **Carotenoids: Structure and Function in the Human Body**. p. 1–859, 2021. DOI: 10.1007/978-3-030-46459-2.

APÊNDICE

APÊNDICE 1- Curva padrão de biomassa utilizada para *Phaffia rhodoozyma* NRRL Y-17268

