



JACIELLY APARECIDA CARVALHO NETTO

**AVALIAÇÃO DA PRODUÇÃO DE PIGMENTOS POR
LEVEDURAS DO GÊNERO *RHODOTORULA* EM
FERMENTAÇÃO SUBMERSA UTILIZANDO CALDO DE
CANA COMO SUBSTRATO**

**LAVRAS – MG
2023**

JACIELLY APARECIDA CARVALHO NETTO

**AVALIAÇÃO DA PRODUÇÃO DE PIGMENTOS POR LEVEDURAS DO GÊNERO
RHODOTORULA EM FERMENTAÇÃO SUBMERSA UTILIZANDO CALDO DE
CANA COMO SUBSTRATO**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Curso de Ciências Biológicas, para a obtenção do título de Bacharel.

Prof. Dr. Whasley Ferreira Duarte
Orientador

Dra. Rafaela Pereira Andrade
Coorientadora

**LAVRAS – MG
2023**

**Ficha catalográfica elaborada pelo Sistema de Geração de Ficha Catalográfica da
Biblioteca Universitária da UFLA, com dados informados pelo(a) próprio(a) autor(a).**

JACIELLY APARECIDA CARVALHO NETTO

**AVALIAÇÃO DA PRODUÇÃO DE PIGMENTOS POR LEVEDURAS DO GÊNERO
RHODOTORULA EM FERMENTAÇÃO SUBMERSA UTILIZANDO CALDO DE
CANA COMO SUBSTRATO**

**ASSESSMENT OF THE PRODUCTION OF PIGMENTS BY YEASTS OF THE
GENUS *RHODOTORULA* IN SUBMERGED FERMENTATION USING SUGAR
CANE JUICE AS SUBSTRATE**

Trabalho de Conclusão de Curso
apresentado à Universidade Federal de
Lavras, como parte das exigências do
Curso de Ciências Biológicas, para a
obtenção do título de Bacharel.

APROVADA em

Dr. UFLA

Dr. UFLA

Prof. Dr. Whasley Ferreira Duarte
Orientador

Dra. Rafaela Pereira Andrade
Coorientadora

**LAVRAS – MG
2023**

AGRADECIMENTOS

A Deus, a Nossa Senhora Aparecida e todos os Santos intercessores por terem me mantido forte e me guiado durante toda minha vida.

Aos meus pais, Jaciane Carvalho e Juliano César pelo amor incondicional e pelo apoio em todos os momentos da minha vida. Sei que se não fosse por seus sacrifícios e dedicação, essa conquista não seria possível. Aos meus avós, Heduviges das Graças e João da Cruz (*in memoriam*) por terem sido meus exemplos de força, por todo amor e mimo.

À minha amada irmã, Ana Júlia Carvalho, por todo amor, carinho, risadas e pelos melhores cafés. Aos meus queridos primos e tios pelo carinho e apoio.

Ao meu orientador, Dr. Whasley Ferreira Duarte, pela confiança, oportunidade e ensinamentos que me foram transmitidos durante esses quatro anos e que levarei com carinho daqui pra frente.

A minha querida amiga e coorientadora Dra. Rafaela Pereira Andrade, pelo apoio, dedicação, ensinamentos, por ter me acolhido em sua casa com seus lindos filhos Boo e Pretinho, por ter me ajudado várias vezes nas crises de ansiedade com seu positivismo tóxico e pelos puxões de orelha. Me inspiro muito em você e na profissional incrível que é.

A todos os meus amigos e incríveis pesquisadores do Laboratório de Microbiologia: Ademir, Adriele, Daelen, Danilo, Francielle, José, Júlia, Mayara, Samantha, Suzana e Tamara pela disposição e entusiasmo ao ensinar, pela confiança, amizade e pelos momentos incríveis e risadas no café com signo.

Ao meu melhor amigo, André Luiz Ferreira, por ser meu porto seguro e pela nossa conexão de outras vidas, não há palavras que expresse o que você significa pra mim. A minha amada amiga, Laiany Matioli, por todo apoio, carinho e pela amizade maravilhosa que levarei pra vida toda. Sou grata e extremamente feliz por ter encontrado vocês, meu eterno trio.

Aos meus melhores amigos de infância: Ana Luiza, Gabrielly, Geicimara, Júlio Gabriel, Rafael, Vitor e Yan, pela incrível e essencial amizade e por todo amor. Obrigada por sempre estarem aí por mim e serem meu refúgio. Que sorte a minha ter vocês!

A Universidade Federal de Lavras e aos meus queridos professores que me capacitaram até aqui, em especial a Cristina Delarete, Lucimara Cruz e Mariana Mansanares e aos demais funcionários e técnicos, em especial a Wanderleia de Fátima por todo carinho.

Ao CNPq pelo apoio financeiro durante os quatro anos de Iniciação Científica.

Enfim, a todos aqueles que direta ou indiretamente me apoiaram e contribuíram para a efetivação desta etapa. Serei eternamente grata por tudo. Amo todos vocês!

RESUMO

No cenário atual, devido a crescente rejeição do uso de pigmentos sintéticos por parte do mercado consumidor, a produção de pigmentos por vias naturais tem ganhado cada vez mais enfoque. Considerando que alguns dos desafios para a produção de pigmentos em larga escala é o alto custo de produção, a busca por fontes alternativas de substratos está sendo cada vez mais explorada. Os pigmentos produzidos por microrganismos além de estarem relacionados à benefícios a saúde humana, oferecem ainda vantagens de custo e produção. Dentre os microrganismos produtores de pigmentos, destacam-se as leveduras do gênero *Rhodotorula*. Nesse sentido, o presente estudo teve como objetivo avaliar o potencial de três isolados de leveduras do gênero *Rhodotorula*, como produtoras de pigmento através da fermentação do caldo de cana. As três leveduras passaram por um processo fermentativo em caldo de cana (30%) suplementado com extrato de levedura (5 g/L) e YEPG (glicose, extrato de levedura e peptona) nas seguintes condições experimentais: 30 °C e 180 rpm por 120 horas. O rendimento da biomassa foi determinado por meio do peso seco. A extração dos carotenoides foi feita utilizando os solventes DMSO e acetona. A determinação dos carotenoides totais foi realizada por espectrofotometria. Todas as leveduras apresentaram bons resultados em caldo de cana. A levedura selecionada para a fermentação em maior volume apresentou peso seco máximo de 1,26 g e concentração máxima de carotenoides de 6.742,1 µg/L em 120h. Após a fermentação em larga escala, como resultado final, a Levedura 3 apresentou peso seco de 7 g com produção de carotenoides totais de 8.700 µg/L. Portanto, conclui-se que as leveduras do gênero *Rhodotorula* demonstraram grande potencial na produção de pigmentos carotenoides em um substrato alternativo de baixo custo.

PALAVRAS-CHAVE: Biomassa. Carotenoides. Pigmentos microbianos.

ABSTRACT

In the current scenario, due to the growing rejection of the use of synthetic pigments by the consumer market, the production of pigments by natural means has gained more and more focus. Considering that one of the challenges for producing pigments on a large scale is the high production cost, the search for alternative sources of substrates is being increasingly explored. Pigments produced by microorganisms, in addition to being related to human health benefits, also offer cost and production advantages. Among the pigment-producing microorganisms, yeasts of the genus *Rhodotorula* stand out. In this sense, the present study aimed to evaluate the potential of three isolates of yeasts of the genus *Rhodotorula*, as pigment producers through the fermentation of sugarcane juice. The three yeasts underwent a fermentation process in sugarcane juice (30%) supplemented with yeast extract (5 g/L) and YEPG (glucose, yeast extract and peptone) under the following experimental conditions: 30 °C and 180 rpm for 120 hours. The biomass yield was determined by means of dry weight. The extraction of carotenoids was performed using DMSO and acetone solvents. The determination of total carotenoids was performed by spectrophotometry. All yeasts showed good results in sugarcane juice. The yeast selected for large-scale fermentation showed a maximum dry weight of 1.26 g and a maximum concentration of carotenoids of 6,742.1 µg/L in 120h. After fermentation on a large scale, as a final result, yeast 3 had a dry weight of 7 g with a total carotenoid production of 8,700 µg/L. It is concluded that sugarcane juice supplemented with yeast extract is a viable culture medium to be used in fermentation processes with good yield and carotenoid production.

KEYWORDS: Biomass. Carotenoids. Microbial pigments.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	10
2. OBJETIVOS	11
2.1 OBJETIVO GERAL	11
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	11
3. REFERENCIAL TEÓRICO.....	12
3.1 PIGMENTOS.....	12
3.2 PIGMENTOS NATURAIS E SINTÉTICOS.....	15
3.3 USO DE MICRORGANISMOS NA PRODUÇÃO DE PIGMENTOS.....	16
3.4 GÊNERO <i>RHODOTORULA</i>.....	18
3.5 SUBSTRATOS PARA PRODUÇÃO DE PIGMENTOS.....	20
4. MATERIAIS E MÉTODOS.....	21
4.1 OBTENÇÃO DAS AMOSTRAS.....	21
4.2 REATIVAÇÃO E MULTIPLICAÇÃO.....	21
4.3 PREPARAÇÃO DOS MEIOS DE FERMENTAÇÃO.....	21
4.4 FERMENTAÇÃO.....	22
4.5 FERMENTAÇÃO EM MAIOR ESCALA.....	22
4.6 DETERMINAÇÃO DO RENDIMENTO DA BIOMASSA.....	22
4.5 EXTRAÇÃO DO PIGMENTO.....	23
4.6 DETERMINAÇÃO DE CAROTENOIDES TOTAIS E RENDIMENTO.....	23
5. RESULTADOS E DISCUSSÕES.....	24
5.1 POPULAÇÃO E RENDIMENTO DA BIOMASSA.....	24
5.2 DETERMINAÇÃO DE CAROTENOIDES TOTAIS.....	25
6. CONCLUSÃO.....	28
REFERÊNCIAS.....	29

1 INTRODUÇÃO

Nos últimos anos a produção industrial de pigmentos têm se tornado cada vez mais ampla. Recentemente, a análise das exigências do mercado consumidor revelou uma crescente rejeição do uso de pigmentos sintéticos, uma vez que aplicação de alguns desses compostos causam efeitos adversos à saúde, como ação carcinogênica e efeitos tóxicos. Dessa forma, a indústria tem buscado incorporar compostos naturais em seus produtos ao invés dos sintéticos (TULI et al., 2015; ARULDASS, DUFOSSÉ & AHMAD, 2018; AGÓCS & DELI et al., 2011). Nesse cenário, a ampla demanda por produtos naturais está impulsionando o mercado de orgânicos e indústrias de pigmentos, representando grandes setores que serão dominados por pigmentos naturais (NOVOVESKÁ et al., 2019).

Os pigmentos naturais são sintetizados por fontes vegetais e microrganismos, como bactérias, leveduras, fungos e microalgas. Visando otimizar o processo em escala industrial, ocorre a necessidade de desenvolver tecnologia de baixo custo para a produção de pigmentos (PANESAR, KAUR & PANESAR, 2015). Nesse sentido, em comparação às fontes vegetais, a produção microbiana tem a vantagem de utilizar substratos de baixo custo, além de ser mais rápida e, por isso, tem despertado o interesse no âmbito industrial (SCHROEDER et al., 1996).

Os pigmentos produzidos por microrganismos, são frequentemente associados a benefícios à saúde humana. Os carotenoides, por exemplo, são precursores de vitamina A, reduzem o risco de doenças crônicas, funcionam como antioxidantes biológicos e aditivos alimentares (FRASER & BRAMLEY, 2004). Dentre os microrganismos produtores de carotenoides, as leveduras do gênero *Rhodotorula* tem se destacado, pois são capazes de sintetizar carotenoides industrialmente importantes como β -caroteno, toruleno e torularrodina, e apresentam bom desempenho em substratos de baixo custo (ELFEKY et al., 2019; TANG et al., 2019).

Um grande desafio para a produção de pigmentos em larga escala é o alto custo de produção. Dessa forma, o uso de substratos agroindustriais vem como uma alternativa viável para aumentar a eficiência econômica. Dentre os substratos, pela facilidade de obtenção, o alto valor nutricional e resultados significativos, o caldo de cana vem despertando um crescente interesse para utilização em processos fermentativos (BHOSALE & GADRE, 2001).

Diante deste contexto, o presente trabalho teve como objetivo avaliar a produção de pigmentos de três isolados de leveduras do gênero *Rhodotorula* utilizando o caldo de cana como substrato fermentativo.

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

O principal objetivo deste estudo é avaliar o potencial de três isolados de leveduras do gênero *Rhodotorula* como produtoras de pigmento através da fermentação do caldo de cana.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- ✓ Avaliar o uso de caldo de cana como substrato para produção de pigmentos;
- ✓ Avaliar os isolados de leveduras quanto a produção de pigmentos;
- ✓ Selecionar um isolado para fermentação em larga escala;
- ✓ Extrair o pigmento da biomassa obtida;
- ✓ Quantificar o pigmento extraído.

3 REFERENCIAL TEÓRICO

3.1 PIGMENTOS

O uso de pigmentos é uma prática bastante antiga tendo registro de seu uso por volta de 1500 a.C através de fontes naturais, como páprica, açafrão, extratos de alguns alimentos como a beterraba, dentre outros (BURROWS, 2009). Os pigmentos continuam sendo usados nas rotinas diárias, além de possuir ampla aplicação na indústria agrícola, farmacêutica, têxtil, cosmética, alimentícia, entre outras (YUSUF, SHABBIR & MOHAMMAD, 2017; VENIL, DEVI & AHMAD, 2020).

Os pigmentos de origens naturais são uma excelente fonte de compostos bioativos e exibem uma ampla diversidade de composições químicas e diferentes propriedades (SIGURDSON, TANG & GIUSTI, 2017). Os pigmentos presentes em fontes vegetais, por exemplo, se enquadram principalmente em flavonoides, antocianinas, carotenoides e betalaínas. Já nos microrganismos, como leveduras, fungos, algas e bactérias, os pigmentos naturais são classificados em três grandes grupos: clorofila, ficobiliproteínas e carotenoides (MUTHUSAMY et al., 2020).

A clorofila é um pigmento verde, sintetizado por plantas, cianobactérias, algas e microalgas, atuando como um importante composto no processo de fotossíntese, absorvendo e transferindo energia luminosa (LI & CHEN, 2015). Esse pigmento apresenta inúmeras aplicações em vários campos biotecnológicos, sendo usado na área alimentícia como corante alimentar natural, na indústria de cosméticos e produtos farmacêuticos (RIEBLINGER, MOOSHEIMER & ZIEGLEDER, 2003). Além disso, apresenta benefícios para a saúde humana, como agente antitumoral e efeitos anti-inflamatórios (VESENICK et al., 2012). As algas verdes do gênero *Enteromorpha*, *Chlorella*, *Ulva*, a cianobactéria *Spirulina* e plantas verdes são as fontes mais comuns de clorofilas (MUTHUSAMY et al., 2020).

As ficobiliproteínas são proteínas fluorescentes e atuam como receptoras para a fotossíntese. Esses pigmentos são divididos em ficocianinas, aloficocianinas e ficoeritrinas, sendo encontrados principalmente em algas vermelhas dos gêneros *Rhodophyta*, *Cyanophyta*, *Cryptophyta* e cianobactérias. Tal composto apresenta atividade antiviral e anticancerígena, além de estimular o sistema imunológico (MUTHUSAMY et al., 2020).

Os carotenoides exibem as cores amarelo, laranja, vermelho e são amplamente distribuídos na natureza (BRITTON et al., 2004). São compostos sintetizados por organismos

fotossintéticos como plantas e algas, desempenhando um papel crucial na captação de luz no processo de fotossíntese (VARELA et al., 2015). Nos microrganismos, sua principal função está associada à proteção das células contra a influência negativa de formas reativas de oxigênio e radiação (DI MASCIO, MURPHY & SIES, 1991). Cabe ainda ressaltar que, mesmo não sendo naturalmente sintetizados pelo corpo humano e animal, os carotenoides podem ser absorvidos e depositados no corpo por meio da ingestão de alimentos (SINGH, AHMAD & AHMAD, 2015).

Os carotenoides são compostos hidrocarbonetos, tetraterpenoides com 40 átomos de carbono (C 40), sendo constituídos por oito unidades de isopreno, onde as moléculas são ligadas de forma linear e simétricas (SINGH & MUKHERJEE, 2022). As ligações duplas conjugadas são características estruturais que funcionam como cromóforos, responsáveis pela coloração da maioria dos carotenoides (MAPELLI-BRAHM et al., 2020). Podem ser divididos em dois grupos: os carotenos, que são hidrocarbonetos puros, ou seja, não possuem oxigênio em sua estrutura, como o α -caroteno, β -caroteno, γ -caroteno, toruleno e licopeno; e as xantofilas, que são hidrocarbonetos oxigenados, como a astaxantina, luteína, torularrodina, zeaxantina, β -criptoxantina, fucoxantina e cantaxantina (Figura 1) (NIRANJANA et al., 2015 e EJAZ, WANG & LANG, 2020).

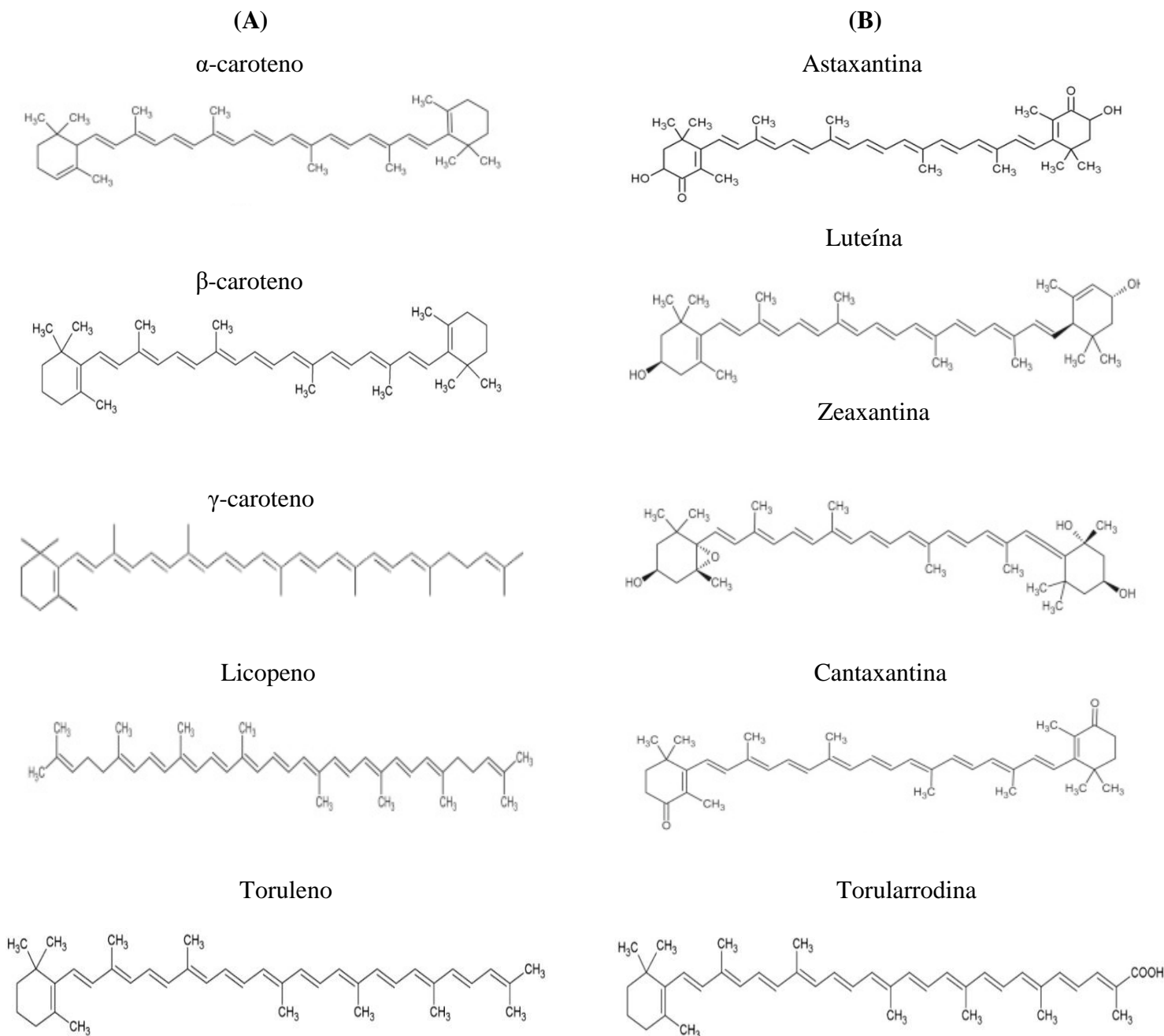
A eficiência dos carotenoides é conhecida pelas propriedades anti-inflamatórias, por exercerem um importante papel no aprimoramento das funções imunológicas e na prevenção de doenças crônicas (HADAD & LEVY, 2012). A torularrodina, por exemplo, é um carotenoide produzido principalmente pelas leveduras dos gêneros *Rhodotorula* e *Sporobolomyces*, o qual apresenta fortes propriedades antimicrobianas, podendo se tornar um novo antibiótico natural e, devido sua capacidade antioxidante é usada como agente neuroprotetor contra estresse oxidativo (UNGUREANU & FERDES, 2012; KECELI et al., 2013; KOT et al., 2016; LI, QIAN & PI, 2023).

O toruleno também se destaca pelas propriedades antioxidantes e anticancerígenas. As leveduras pertencentes ao gênero *Rhodotorula*, a espécie *Sporidiobolus pararoseus* e o fungo do gênero *Neurospora* são os principais produtores microbianos deste composto (DIMITROVA et al., 2013; DU et al., 2017; DI MASCIO, MURPHY & SIES, 1991; WEI et al., 2020 e HAUSMANN & SANDMANN, 2000).

O β -caroteno é a principal fonte de vitamina A, composto essencial para o crescimento, desenvolvimento embrionário e função visual (GUL et al., 2015). O β -caroteno pode ser obtido utilizando a microalga *Dunaliella salina* e o fungo *Blakeslea trispora* (RAJA,

HEMAISWARYA & RENGASAMY, 2007). A levedura *Rhodotorula glutinis*, *Rhodotorula mucilaginosa* e *Sporidiobolus pararoseus* também se destacam como produtores eficientes de β -caroteno (DI MASCIO, MURPHY & SIES, 1991; SHARMA & GHOSHAL, 2020 e MANOWATTANA et al., 2020).

Figura 1: Fórmula química de alguns carotenos (A) e xantofilas (B)



Fonte: MUSSAGY et al., 2019.

Além das aplicações na área da saúde, os carotenoides também estão sendo amplamente utilizados como aditivos e corantes alimentares naturais. É possível que o seu uso como ingredientes alternativos de rações, substitua medicamentos e nutrientes sintéticos na indústria avícola, por exemplo, uma vez que a suplementação alimentar com tal composto melhora significativamente a saúde das aves e, conseqüentemente, a qualidade dos ovos e da carne (NABI et al., 2020). Cabe ainda ressaltar que, devido aos efeitos adversos apresentados à saúde humana pelo uso de pigmentos sintéticos no processamento de alimentos e cosméticos, a demanda por pigmentos de origem natural está cada vez mais em alta.

3.2 PIGMENTOS NATURAIS E SINTÉTICOS

Os pigmentos sintéticos, são aqueles produzidos por síntese química, não sendo encontrados na natureza (CAROCHO et al., 2014). Por apresentarem maior estabilidade, bom custo benefício e um portfólio variado de cores, os pigmentos sintéticos são comercialmente mais atrativos para as indústrias que fazem maior uso desse material em suas produções (MARTINS et al., 2016). Entretanto, vários estudos demonstram que os pigmentos sintéticos podem causar um impacto negativo no meio ambiente por não serem renováveis e nem biodegradáveis (FUCK, BRANDELLI & GUTTERRES, 2018; ZERIN et al., 2020). Além disso, o consumo inadequado desses pigmentos pode causar efeitos nocivos à saúde, incluindo o comprometimento de processos vitais, como a replicação do DNA e a transcrição gênica, resultando em processos cancerígenos, além de toxicidade e efeitos alérgicos (ALBUQUERQUE et al., 2020 e DE ROSSI et al., 2021).

Os pigmentos naturais, por sua vez são obtidos por fontes naturais, podendo ser produzidos por plantas ou microrganismos, como fungos, microalgas, leveduras e bactérias. Por não apresentarem ações adversas à saúde pública, quando comparados aos pigmentos sintéticos, configuram um grupo industrialmente significativo de metabólitos (CHINTAPENTA et al., 2014). Além disso, pigmentos naturais estão associados a vantagens nutricionais, como uma melhor absorção de proteínas e lipídeos, possuindo alto valor na indústria de alimentos (YANG et al., 2018). Cabe também ressaltar, a relação de tais pigmentos com a prevenção de doenças e melhora de funções biológicas, como anticancerígenos e imunossupressores, além de serem biodegradáveis, atendendo às questões ecológicas (PANESAR, KAUR & PANESAR, 2015)

A conscientização da saúde pública e aceitação positiva dos consumidores em relação aos pigmentos naturais, incentiva as grandes indústrias a aumentar a demanda por esses

produtos. Estima-se que apenas na indústria alimentícia, o mercado global de pigmentos naturais atinja 2,5 bilhões de dólares até 2025, de acordo com o relatório feito pela GRAND VIEW RESERCH (LYU et al., 2022). Embora os pigmentos microbianos não sejam difundidos em formulações de corantes, eles representam uma alternativa importante que tem a capacidade de competir a longo prazo com corantes sintéticos (ZERIN et al., 2020). Dessa forma, muitas pesquisas estão sendo feitas com o intuito de substituir pigmentos sintéticos por pigmentos naturais, uma vez que a natureza é uma fonte rica de organismos produtores de pigmentos.

3.3 USO DE MICRORGANISMOS NA PRODUÇÃO DE PIGMENTOS

Os microrganismos são encontrados em quase todos os nichos ambientais e desempenham vários papéis na natureza, sendo conhecidos como fonte potencial para a produção de pigmentos. Quando comparados aos seus similares extraídos de fontes vegetais, os pigmentos microbianos apresentam certas vantagens em termos de produção, por não serem sazonais apresentam maior disponibilidade e estabilidade (ABEROUMAND, 2011; MATA-GÓMEZ et al., 2014), são mais estáveis ao calor, exposição à luz e variação de pH (NIGAM & LUKE, 2016), podem ser sintetizados utilizando substratos de baixo custo, além de oferecer a possibilidade do uso de engenharia genética para a expressar a produção de pigmentos por espécies industrialmente importantes, como *Escherichia coli* e *Saccharomyces cerevisiae* (VENIL, ZAKARIA & AHMAD, 2013). Dessa forma, a diversidade microbiana oferece um enorme potencial despertando interesse por parte das indústrias, além de expandir a possibilidade de encontrar novas moléculas (NIGAM & LUKE, 2016).

Pigmentos microbianos como a ankaflavina produzida pelo fungo *Monascus*, a astaxantina pela levedura *Xanthophyllomyces dendrorhous*, a antraquinona pelo fungo *Penicillium oxalicum*, a riboflavina pelo fungo *Ashbya gossypii* e o β -caroteno pelo fungo *Blakeslea trispora*, estão sendo usados na indústria de alimentos (DUFOSSE, 2006).

Os fungos são amplamente descritos como fontes promissoras e potenciais de pigmentos, destacando as famílias *Monascaceae*, *Trichocomaceae*, *Nectriaceae*, *Hypocreaceae*, *Pleosporaceae*, *Cordycipitaceae*, *Xylariaceae*, *Chaetomiaceae*, *Sordariaceae*, *Chlorociboriaceae* (RAMESH et al., 2019). Os pigmentos fúngicos, como carotenoides, quinonas, violaceína, flavinas apresentam um largo espectro de cores, além de propriedades bioativas como anticancerígenas, antioxidantes, antimicrobianas, anti-inflamatórias e imunossupressoras (MAPARI et al., 2009; LOPES et al., 2013) sendo, portanto, utilizados em

várias indústrias tanto em áreas alimentícias, como corantes em indústrias têxtil e aditivos em cosméticos (CHEN et al., 2019; LAGASHETTI et al., 2019; SAJJAD et al., 2020). Espécies fúngicas como *Mucor circinelloides*, *Phycomyces blakesleeanus* e *Blakeslea trispora* são conhecidas como produtores de β -caroteno (BÖHME, RICHTER e PÄTZ, 2006).

Muitos pigmentos bacterianos são considerados seguros para serem usados em inúmeras aplicações nas indústrias de cosméticos, alimentícia, farmacêutica e têxtil (PARMAR & SINGH, 2018). Os pigmentos produzidos por bactérias mais comuns são melaninas, carotenoides, fenazinas, quinonas, violaceína, sendo relatados por suas propriedades antioxidantes e de proteção UV, demonstrando alto potencial em aplicações biomédicas, como propriedades antimicrobianas, antimaláricas e anticancerígenas (SAJJAD et al., 2020).

Além das bactérias, vários gêneros de microalgas como *Nostoc*, *Dunaliella*, *Scenedesmus*, *Nannochloropsis*, *Haematococcus*, *Muriellopsis*, *Chlorella*, *Phaeodactylum*, *Spirulina*, *Arthrospira*, *Porphyridium*, *Agardhiella*, *Polysiphonia* também se destacam pela produção de diferentes grupos de pigmentos, como carotenoides, clorofilas e ficobiliproteínas (ARASHIRO et al., 2020). Devido às funções biológicas a si associados, como ação anti-inflamatória, antiviral, anticancerígena, bem como a regulação de doenças cardiovasculares e melhora de funções imunológicas, os pigmentos de microalgas possuem alto valor comercial em indústrias farmacêuticas, cosméticas, alimentícias, além de aplicações em pesquisas clínicas e biologia molecular (DE MORAIS et al., 2018; OKOLIE, MASON & CRITCHLEY, 2018; SAINI, PABBI & SHUKLA, 2018; AMBATI et al., 2019).

Dentre os microrganismos produtores de carotenoides, as leveduras se destacam por sua capacidade de crescimento em substrato de baixo custo e ricos em açúcar, o que as torna interessantes do ponto de vista industrial. Assim, certos gêneros de leveduras como *Rhodotorula*, *Sporidiobolus*, *Sporobolomyces*, *Xanthophyllomyces* e *Pichia* têm sido extensivamente estudadas como potenciais produtoras de pigmentos (ELFEKY et al., 2019; TANG et al., 2019).

Sendo organismos unicelulares, com elevadas taxas de crescimento, as leveduras, em relação aos fungos filamentosos, oferecem maiores vantagens para a produção de pigmentos (BHOSALE & GADRE, 2001). Os pigmentos produzidos por espécies de leveduras, como *Rhodotorula* spp, não causam malefícios para a saúde humana, em contrapartida, alguns pigmentos derivados de fungos filamentosos são prejudiciais à saúde (HERNÁNDEZ-ALMANZA et al., 2014). Além disso, geralmente, mais de uma molécula de carotenoide pode ser produzida por leveduras (ZOZ et al., 2014).

A levedura *Xanthophyllomyces dendrorhous*, também conhecida como *Phaffia rhodozyma*, é capaz de produzir astaxantina, um carotenoide de alto valor agregado e muito utilizado na aquicultura para alimentação de peixes e crustáceos, com o objetivo de torná-los pigmentados. Além disso, esta levedura é capaz de fermentar sacarose, glicose e xilose, além de materiais lignocelulósicos e resíduos agroindustriais (CHOCIAI et al., 2002).

Existe uma grande quantidade de microrganismos com grande potencial para produção biotecnológica de carotenoides, mas nem todos são potencialmente interessantes. As espécies de leveduras do gênero *Rhodotorula*, destacam-se pela versatilidade de substrato, sendo capazes de utilizar vários compostos como fontes de carbono, incluindo glicose, sacarose de melaço, lactose de soro de leite, galactose, maltose, etanol e glicerol (MUSSAGY, KHAN & KOT, 2021). Tais espécies são capazes de sintetizar em diferentes proporções, mais de uma molécula de carotenoide, como β -caroteno, toruleno e torularrodina (PERRIER, DUBREUCQ & GALZY, 1995; TINOI, RAKARIYATHAM & DEMING, 2005). Nesse sentido, dada a eficiência do processo de biossíntese e fatores econômicos, as leveduras do gênero *Rhodotorula* merecem atenção especial.

3.4 GÊNERO *RHODOTORULA*

Pertencentes ao filo Basidiomycota, o gênero *Rhodotorula* compreende leveduras unicelulares pigmentadas, incluindo diversas espécies amplamente distribuídas na natureza, podendo ser isoladas em ambientes aquáticos, no solo, em alimentos e na pele humana (WIRTH & GOLDANI, 2012). Filogeneticamente, o gênero *Rhodotorula* é considerado um grupo misto com as leveduras vermelhas dos gêneros *Sporobolomyces*, *Rhodospiridium* e *Sporidiobolus* (FELL et al., 2000).

A grande maioria das espécies do gênero não são patogênicas, entretanto algumas espécies como *Rhodotorula mucilaginosa*, *Rhodotorula glutinis* e *Rhodotorula minuta* foram consideradas como patógenos por serem frequentemente isoladas de infecções humanas (DAMASCENO et al. 2017; KITAZAWA et al., 2018; WANG et al., 2019).

As leveduras oleaginosas vermelhas têm sido amplamente estudadas, dentre elas, destaca-se o gênero *Rhodotorula*. Por serem consideradas fontes favoráveis para produção de pigmentos naturais, como carotenoides, proteínas, especialmente enzimas e óleos microbianos, ácidos graxos e triglicerídeos (TKÁČOVÁ et al., 2017; KOT et al., 2019; MUSSAGY et al., 2019). Tais leveduras estão sendo usadas para a obtenção de produtos químicos de alto valor,

aditivos alimentares e cosméticos, uma vez que, essas biomoléculas são apontadas como fontes promissoras para a produção de óleos coloridos, biocombustíveis e biocatalisadores (SAENGE et al. 2011; CHENG & YANG, 2016).

A grande capacidade que as leveduras do gênero *Rhodotorula* têm apresentado, aumenta o interesse na realização de pesquisas, fomentando novas áreas de estudo. Recentemente, Wang et al. (2023), por exemplo, estudaram o potencial biótico da levedura *Rhodotorula mucilaginosa* JM-01 sobre o crescimento, pigmentação da casca e atributos de defesa imunológica do camarão *Penaeus vannamei*. Por outro lado, Rekha et al. (2022) trabalharam com a utilização da levedura marinha *Rhodotorula paludigena* VA 242 como aditivo alimentar, com o intuito de intensificar o pigmento de carpas *Cyprinus carpio*, apresentando resultados bastante satisfatórios. Um outro estudo realizado por Yoo, Alnaeeli & Park, (2016), demonstraram a alta atividade antioxidante e antimicrobiana dos carotenoides glicosídeos extraídos da levedura *R. mucilaginosa* AY-01. O trabalho proposto por Allahkarami et al. (2021) verificaram que leveduras *Rhodotorula sp* com capacidade de produzir pigmentos carotenoides, foram isoladas de solos de parques florestais. Nesse sentido, tais estudos reforçam a versatilidade do uso das leveduras do gênero *Rhodotorula* e as potenciais aplicações em diversas indústrias.

Os carotenoides mais comuns sintetizados naturalmente pelas leveduras do gênero *Rhodotorula* são β -caroteno, toruleno e torularrodina (MATA-GÓMEZ et al., 2014; MUSSAGY et al., 2019). O toruleno é um pigmento de cor laranja ou vermelho-alaranjado, sendo o principal carotenoide da levedura *Rhodotorula mucilaginosa*. Apresenta grande potencial de interesse para aplicações industriais, com propriedades antioxidantes e anticancerígenas (ZOZ et al., 2014; DU et al., 2017; DIMITROVA et al., 2013). A torularrodina é um pigmento de caráter polar, de cor rosa escuro e possui atividade antioxidante considerável (DI MASCIO, MURPHY & SIES, 1991). O β -caroteno é caracterizado pela coloração do amarelo ao laranja, sendo a principal fonte de vitamina A na dieta (GUL et al., 2015).

Como já dito, as leveduras do gênero *Rhodotorula* são produtoras eficientes de diferentes tipos de carotenoides. Contudo, essa produção varia entre as espécies além de ser afetada pelos constituintes do meio e pelas condições ambientais (AKSU et al., 2007). Em relação a produção biotecnológica em larga escala de pigmentos, cada vez mais são desenvolvidas estratégias de otimização para uma boa rentabilidade de carotenoides com viés de baixo custo. Nesse sentido, devido a sua facilidade do cultivo e o potencial de crescimento em substratos baratos, tais leveduras vêm despertando o crescente interesse por parte das indústrias (CASTELO BRANCO, 2010).

3.5 SUBSTRATOS PARA PRODUÇÃO DE PIGMENTOS

Assim como todos os seres vivos, os microrganismos necessitam de energia e nutrientes para sua sobrevivência, funcionamento de seus processos metabólicos e para a construção de membranas e estruturas celulares. Dessa forma, os microrganismos necessitam, principalmente, de fontes de carbono e nitrogênio, bem como a presença em menores quantidades de outros compostos (ALTIDOR et al., 2018).

Um aspecto relevante para a produção sustentável de pigmentos microbianos é a definição de um meio de crescimento adequado, que seja econômico e resulte em altos rendimentos de pigmentos. A esse respeito, foi relatada a importância da utilização de subprodutos agroindustriais como substratos de crescimento para a produção de pigmento microbiano (KORUMILLI, MISHRA & KORUKONDA, 2020; VENIL, DEVI & AHMAD, 2020).

Pensando no setor industrial, a produção da maioria dos pigmentos em grande escala ainda é limitada. Longos períodos de fermentação, baixos rendimentos e alto custo de produção são obstáculos para a viabilidade econômica dos processos de fabricação desses compostos. Nesse sentido, uma alternativa eficiente para suprir a produção de pigmentos por microrganismos é otimizar os parâmetros de cultivo (VENIL et al., 2014; NARSING et al., 2017).

Nos últimos tempos, é notório que o interesse pela produção de pigmentos tem alavancado os estudos sobre a substituição de meios de cultivo comerciais por substratos alternativos. Kot et al. (2017) por exemplo, utilizaram água residuária de batata e glicerol na biossíntese de proteínas, lipídios e carotenoides pela levedura *Rhodotorula glutinis*, os resultados foram significativos, demonstrando que o glicerol e o efluente da batata são potenciais fontes de carbono e nitrogênio para a produção de biomassa de *R. glutinis*. Nessa mesma linha, Ribeiro et al. (2019), utilizaram a água residuária de mandioca para a produção de carotenoides e ácidos graxos por *Rhodotorula glutinis*, evidenciando que o crescimento de *R. glutinis* foi sustentado pela fonte de carbono presentes nesse substrato, além de demonstrar que esse resíduo pode ser utilizado como única fonte de nutriente para o cultivo da levedura.

O caldo de cana por apresentar uma facilidade de obtenção e um alto valor nutricional é um meio promissor para a produção de carotenoides, o que contribui para sua utilização em processos fermentativos (BHOSALE & GADRE, 2001; ABDELHAFEZ et. al., 2016). Lobo, Brandão & Assis, (2021), analisaram a produção de carotenoides por *Rhodotorula*

mucilaginoso, utilizando o caldo de cana, suplementado com extrato de levedura, como fonte para o processo fermentativo, apresentando resultados significativos, demonstrando a efetividade do uso de caldo de cana na produção de carotenoides e biomassa de *R. mucilaginoso*.

Cabe ainda ressaltar que, além da composição dos meios de cultivo, a produção de carotenoides pode ser afetada por fatores como luminosidade, temperatura e oxigênio, ocorrendo influências tanto negativas, quanto positivas. Além disso, com o intuito de aumentar ainda mais o rendimento de produção de pigmentos, estimulantes podem ser adicionados ao meio de cultivo e suas condições podem ser ajustadas de acordo com a necessidade (BHOSALE, 2004).

4 MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 OBTENÇÃO DAS AMOSTRAS

Neste trabalho foram utilizadas três leveduras previamente isoladas dos solos de cavernas pelo grupo de pesquisa a qual a autora faz parte, juntamente com o Centro de Ecologia e Biologia Subterrânea da Universidade Federal de Lavras (CEBS-UFLA). O Substrato utilizado para a fermentação foi o caldo de cana, obtido no Empório da Cachaça Carinhosa, na cidade de Perdões-MG.

4.2 REATIVAÇÃO E MULTIPLICAÇÃO

As leveduras foram reativadas em 1 mL de meio YEPG (1% de extrato de levedura, 2% de glicose e 2% de peptona) por 24 horas a 30 °C. Após este período, para o preparo do inóculo, foi realizado o crescimento celular através da adição de meio de cultura a cada 24 horas na proporção 1:10 com incubação a 30 °C até a obtenção da população desejada, aproximadamente 10^7 Log UFC.

4.3 PREPARAÇÃO DO MEIO DE FERMENTAÇÃO

O preparo do meio para a fermentação foi realizado de acordo com Bhosale & Gadre, (2001) e Lobo, Brandão & Assis, (2021), com algumas modificações. Primeiramente, o caldo

de cana foi diluído a 30% em água destilada, seu pH foi ajustado para 2,0 com 5 mol/L de ácido clorídrico (HCL) e mantido em banho-maria por 40 minutos para a hidrólise da sacarose. Após esse período, a solução foi resfriada em temperatura ambiente e o pH foi ajustado para 6,0 com 1 mol/L de hidróxido de sódio (NaOH). Após este ajuste, a solução foi centrifugada a 4000 rpm/10 min e o sobrenadante foi suplementado com 5 g/L de extrato de levedura e esterilizado em autoclave a 121 °C/ 15 min. O meio YEPG foi utilizado neste trabalho como meio de cultivo controle, uma vez que é o padrão utilizado para o crescimento de leveduras em geral.

4.4 FERMENTAÇÃO

A fim de selecionar o isolado com maior produção de carotenoides, foi realizada uma fermentação em pequena escala. Para isso, foi utilizado 90 mL de cada meio de cultivo e adicionado 10 mL do inóculo de cada levedura com população de 10^7 Log UFC/mL. O processo fermentativo foi feito em agitador orbital em condições operacionais fixadas à temperatura de 30 °C, velocidade de agitação de 180 rpm, pH inicial 6,0 durante 120 horas (KANZY et al., 2015; LOBO, BRANDÃO & ASSIS, 2021). A cada 24 horas foram retirados os meios de cultivo correspondentes de cada levedura para verificar a população no decorrer do processo fermentativo e quantificação dos pigmentos. A população foi verificada através do plaqueamento das alíquotas em YEPG sólido e mantidas a 30 °C por 48 horas. Todo o experimento foi realizado em duplicata.

4.5 FERMENTAÇÃO EM MAIOR ESCALA

Após a seleção do melhor isolado e melhor tempo de fermentação, foi realizada uma fermentação em larga escala. Para esta etapa, foi preparado 1 litro do caldo de cana, como já descrito no tópico 4.3 e o processo fermentativo foi realizado nas mesmas condições da fermentação anterior. Todo o experimento foi realizado em duplicata.

4.6 DETERMINAÇÃO DO RENDIMENTO DA BIOMASSA

Para determinar o rendimento da biomassa obtida durante a fermentação foram utilizadas as técnicas descritas por Moliné, Libkind & Van Broock, (2012) com algumas modificações. Utilizando-se o método de determinação de massa seca, os fermentados foram

centrifugados a 4000 rpm por 5 minutos em tubos falcon previamente pesados. O sobrenadante foi descartado e biomassa foi lavada por duas vezes com água destilada para completa retirada do meio de cultivo. A biomassa úmida obtida foi seca em estufa a 50 °C até atingir peso constante. Após a secagem, os tubos falcon foram novamente pesados, tendo a massa inicial do tubo subtraída para a determinação do peso seco.

4.7 EXTRAÇÃO DO PIGMENTO

A extração dos carotenoides foi realizada de acordo com Silva, Paixão e Alves, (2016) com algumas modificações. Para isso, 0,025 g de biomassa seca foram adicionadas em tubos tipo eppendorfs, acrescidas de 1 mL de DMSO e colocadas em agitador orbital à 50 °C, com agitação periódica em vórtex, totalizando uma hora. Após este período, foi adicionado 2 mL de acetona, os tubos foram agitados em vórtex por aproximadamente um minuto e centrifugados a 4000 rpm por 10 minutos. O sobrenadante foi armazenado e 1 mL de DMSO foi novamente adicionado a biomassa resultante para uma nova extração. Este processo foi repetido até que nenhuma cor fosse observada na biomassa. Os sobrenadantes obtidos foram misturados e utilizados para a determinação de carotenoides totais.

4.8 DETERMINAÇÃO DE CAROTENOIDES TOTAIS E RENDIMENTO

As concentrações de carotenoides totais nos extratos foram determinadas em espectrofotômetro, por meio do valor médio da máxima absorbância a 448 nm (CABRAL et al., 2011). A concentração de carotenoides foi determinada por meio da seguinte equação:

$$\text{Carotenoides totais } (\mu\text{g/g de levedura}) = A_{\text{máx}} \times D \times V / (E \times W)$$

$A_{\text{máx}}$: as absorbâncias do extrato total de carotenoides a 448 nm

D : taxa de diluição da amostra

V : volume de solvente de extração (ml)

E : coeficiente de extinção do carotenoide total (0,16)

W : peso seco de levedura (g)

Para calcular o rendimento total de carotenoides nas fermentações a quantidade de carotenoides totais foi multiplicado pela quantidade de biomassa seca encontrada. Isto foi

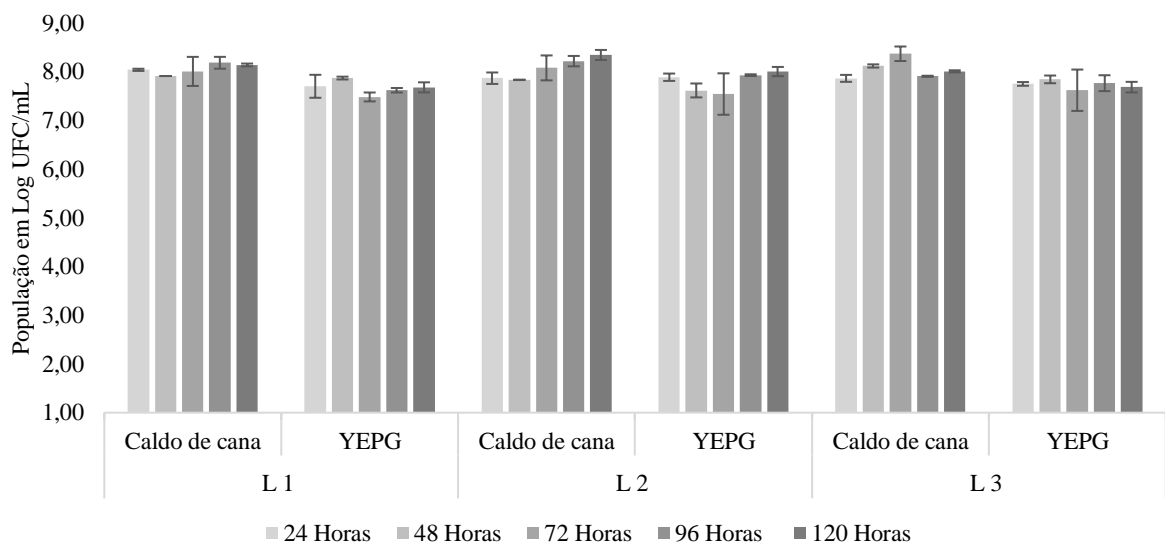
realizado para cada meio de cultivo, levedura e tempo separadamente (CHEN, HAN & GU, 2006; GU et al., 2008; CHENG et al., 2016).

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 POPULAÇÃO E PRODUÇÃO DE BIOMASSA

A fim de verificar a viabilidade das leveduras no decorrer da fermentação foi realizado o acompanhamento da população de cada isolado e em cada substrato separadamente, caldo de cana e YEPG, como pode-se observar no Gráfico 1. A população inoculada de cada levedura foi de aproximadamente 7,00 Log UFC/mL. As populações máximas foram encontradas nas fermentações que utilizaram o caldo de cana sendo, de 8,37 Log UFC/mL correspondentes a levedura 3 no intervalo de 72 horas e de 8,35 Log UFC/mL com 120 horas para a levedura 2 (Gráfico 1). O crescimento celular ocorreu nas primeiras 24 horas de fermentação e, após este intervalo, apresentou algumas variações, porém sem crescimento exponencial, se mantendo mais estável.

Gráfico 1: População dos isolados de leveduras 1, 2 e 3 no decorrer das 120 horas de fermentação no caldo de cana e no YEPG.



L 1: levedura 1, L 2: levedura 2 e L 3: levedura 3.

Ratledge & Cohen, (2008) observaram que microrganismos oleaginosos como leveduras e algas ao serem cultivadas em substratos com nutrientes limitados e altas

concentrações de carbono, há um favorecimento na síntese de lipídeos e, neste caso, o carbono é usado para a acumulação de lipídeos e carotenoides vez de processos de proliferação da biomassa celular. Portanto, isto explica a baixa produção de biomassa seca (Tabela 1) apresentada pelas leveduras estudadas.

Ao comparar a fermentação do caldo de cana com a de YEPG foi possível notar que a produção de biomassa foi maior no caldo de cana em todos os intervalos de tempo. A maior concentração de biomassa seca foi obtida com 120 horas de fermentação para as três leveduras, com valores de 0,79 g para a levedura 1, 0,64 g para a levedura 2 e 1,26 g para a levedura 3, todas em caldo de cana (Tabela 1). Bonadio, Freita & Mutton, (2018) estudaram o efeito da suplementação com nitrogênio, fósforo, zinco e magnésio na produção volumétrica de biomassa e carotenoides por *Rhodotorula rubra* L02 em caldo de cana e meio sintético de sacarose e maltose. Dentre os tratamentos avaliados, obtiveram a maior produção de biomassa seca no meio sintético de sacarose suplementado com Mg, com valor de 1,94 g. Comparando tal resultado com o obtido neste estudo, mostra que a suplementação do meio de cultivo o torna mais promissor na geração de biomassa, visto que, o caldo de cana suplementado com extrato de levedura, foi mais eficiente na geração de biomassa do que o YEPG.

Analisando a Tabela 1, percebe-se que ao final da fermentação a levedura 1 e a levedura 2 obtiveram um aumento de formação de biomassa de 66% e 55%, respectivamente, enquanto a levedura 3 mostrou um aumento superior de 80%. Além disso, a levedura 3 apresentou um pico de produção de biomassa entre os tempos de 72h e 120h. Em 120 h de fermentação, a levedura 3 produziu 37% a mais de biomassa do que a levedura 1 e 49% a mais que a levedura 2.

Tabela 1: Peso seco em gramas nos diferentes intervalos de tempo de biomassa seca.

Leveduras	Substrato	Tempo de fermentação				
		24 horas	48 horas	72 horas	96 horas	120 horas
Levedura 1	Caldo de Cana	0,27 ±0,01	0,40 ±0,02	0,60 ±0,00	0,68 ±0,05	0,79 ±0,01
	YEPG	0,23 ±0,02	0,30 ±0,00	0,44 ±0,05	0,55 ±0,00	0,66 ±0,04
Levedura 2	Caldo de Cana	0,29 ±0,04	0,37 ±0,03	0,49 ±0,02	0,60 ±0,05	0,64 ±0,00
	YEPG	0,23 ±0,01	0,39 ±0,01	0,42 ±0,04	0,51 ±0,10	0,56 ±0,04
Levedura 3	Caldo de Cana	0,25 ±0,01	0,31 ±0,05	0,60 ±0,00	1,01 ±0,03	1,26 ±0,01
	YEPG	0,24 ±0,00	0,28 ±0,00	0,50 ±0,00	0,61 ±0,07	0,74 ±0,08

5.2 DETERMINAÇÃO DE CAROTENOIDES TOTAIS

Atualmente o interesse no uso de substratos alternativos para a produção de pigmentos está cada vez maior. Porém, para o sucesso no uso de substratos alternativos nos processos fermentativos em escala industrial, o meio de crescimento deve fornecer uma boa relação de fontes de carbono e nitrogênio (C/N) a fim de promover melhores rendimentos. O caldo de cana do presente estudo foi complementado com extrato de levedura justamente para promover uma boa relação destes compostos, C/N e, como resultado, apresentou os melhores rendimentos de carotenoides, com valores de 6.742,1 µg/L para a levedura 3, 5.757,0 µg/L para a levedura 2 e 4.987,7 µg/L para a levedura 1 (Tabela 2). Em relação a determinação do rendimento de carotenoides totais, como já mencionado anteriormente, foi feito o cálculo de rendimento a partir do teor de biomassa seca.

Tabela 2: Rendimento de carotenoides em µg/L.

Leveduras	Substrato	Tempo de fermentação				
		24 horas	48 horas	72 horas	96 horas	120 horas
Levedura 1	Caldo de Cana	1008,3 ±0,00	1651,3 ±0,02	2491,6 ±0,00	4987,7 ±0,00	4933,0 ±0,00
	YEPG	1140,3 ±0,03	1814,1 ±0,05	2729,5 ±0,01	3468,6 ±0,06	2917,5 ±0,01
Levedura 2	Caldo de Cana	979,4 ±0,00	1469,5 ±0,03	3004,6 ±0,00	3159,6 ±0,04	5757,0 ±0,03
	YEPG	716,1 ±0,02	2436,6 ±0,06	2990,8 ±0,02	2970,5 ±0,04	3501,3 ±0,02
Levedura 3	Caldo de Cana	1309,6 ±0,01	2003,4 ±0,00	2645,2 ±0,02	3701,0 ±0,00	6742,1 ±0,00
	YEPG	1641,4 ±0,01	1952,5 ±0,02	2508,3 ±0,02	3986,8 ±0,03	3590,4 ±0,06

Nas primeiras 48 horas de fermentação da levedura 1 o aumento de carotenoides foi baixo tanto para YEPG e caldo de cana, porém, a partir de 96 h o meio de caldo de cana foi mais eficiente que o YEPG, apresentando valores de 4.987,7 µg/L e 3.468,6 µg/L, respectivamente.

Por outro lado, para a levedura 2, o YEPG apresentou o melhor rendimento com 120 h de fermentação, porém, o maior aumento de rendimento ocorreu entre 24 e 48 horas, com um aumento de 716,1 para 2.436,6 µg/L. Já para o caldo de cana, o rendimento dos carotenoides apresentou um aumento gradual ao longo do processo fermentativo, tendo destaque entre os tempos de 72 h e 120 h com o progresso de 3.004,6 para 5.757,0 µg/L, atingindo seu máximo.

Para a levedura 3 o rendimento dos carotenoides no YEPG apresentou valor máximo de 3986,8 µg/L com 96 h. Já para o caldo de cana, os valores aumentaram gradativamente até 96

h. Após este período, o rendimento teve um aumento mais relevante de 3.701,1 para 6.742,1 µg/L.

Hewedy & Ashour, (2009) observaram que o período de incubação ideal para a produção de carotenoides de leveduras do gênero *Rhodotorula* é de 120 h, apresentando similaridade com os resultados deste estudo, visto que os valores máximos encontrados tanto para a produção de biomassa seca quanto de carotenoides foram neste período. Ao comparar o melhor rendimento entre as leveduras estudadas, a levedura 3 foi a que se mostrou mais promissora, apresentando 175,44 e 98,51 µg/L a mais de carotenoides que a levedura 1 e levedura 2, respectivamente.

Rodrigues et al. (2022), mostraram o potencial da levedura *R. mucilaginosa* CCT 7688 em produzir lipídeos e carotenoides em meio de cultivo composto por melaço de cana de açúcar e licor de maceração de milho, com produção total de carotenoides de 1.794,2 µg/L, após 144 h de cultivo. No presente estudo, a concentração total de carotenoides foi superior para todas as leveduras estudadas em 72 h de cultivo, reforçando a efetividade do caldo de cana em menos tempo de fermentação, reduzindo os custos de produção.

Tendo em vista o progresso superior da levedura 3 em termos de produção de biomassa seca e de carotenoides e pelo meio de cultivo caldo de cana, estes foram selecionados para uma fermentação em larga escala com o tempo de 120 h. Como na fermentação em menor escala, a população inicial da levedura 3 foi de 7,00 Log UFC/mL chegando ao final da fermentação com uma população de 8,37 Log UFC/mL. O crescimento celular foi baixo quando comparado a quantidade de biomassa seca gerada, que foi de 7 gramas, com uma produção de carotenoides totais de 8.700 µg/L.

Ao comparar os resultados de produção de carotenoides com os valores da biomassa seca, nota-se que o aumento da biomassa foi proporcional ao aumento da concentração de carotenoides. É conhecido que a composição do substrato interfere na produção de biomassa e conseqüentemente, na produção de carotenoides. Este fato explica os resultados encontrados, onde todas as leveduras mostraram os melhores resultados de produção de carotenoides em caldo de cana.

Maldonade, Rodriguez-Amaya & Scamparini, (2012) estudaram métodos para maximizar a produção de carotenoides por *R. mucilaginosa*, analisando as variáveis pH, teores de glicose, extrato de levedura, MgSO₄.7H₂O e KH₂PO₄. O extrato de levedura foi a fonte de nitrogênio que se destacou no aumento da produção de carotenoides. Além disso, os autores analisaram o efeito da glicose e do extrato de levedura em 120 h de cultivo, alcançando a

concentração máxima de carotenoides, que foi correspondente a 745 $\mu\text{g/L}$. No presente trabalho, a composição do meio de cultivo caldo de cana apresentou os melhores rendimentos de carotenoides, variando de 4.933 $\mu\text{g/L}$ para 6.742,1 $\mu\text{g/L}$ em 120 h de processo fermentativo.

6. CONCLUSÃO

Ao realizar a avaliação da capacidade das leveduras isoladas em produzir pigmentos em um substrato de baixo custo, foi possível verificar uma alta produção e rendimento de carotenoides, com valores de 4.987,7 $\mu\text{g/L}$ para a levedura 1, 5.757,0 $\mu\text{g/L}$ para a levedura 2 e 6.742,1 $\mu\text{g/L}$ para a levedura 3. Dentre as leveduras estudadas, a levedura 3 se mostrou mais promissora e, ao ser avaliada para uma produção em maior escala, apresentou valores máximos de rendimento de carotenoides e biomassa seca de 8.700 $\mu\text{g/L}$ e 7 g, respectivamente. Portanto, os resultados demonstraram a versatilidade e o potencial das leveduras em questão na produção de pigmentos, além de atenderem a demanda por parte das indústrias pelo menor custo de produção.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABDELHAFEZ, A.; HUSSEINY, S.; ABDEL-AZIZ, A.; SANAD, H. Optimization of β -carotene production from agro-industrial by-products by *Serratia marcescens* ATCC 27117 using Plackett–Burman design and central composite design. **Annals of Agricultural Sciences**, v. 61, n. 1, p. 87-96, 2016.

ABEROUMAND, A. A review article on edible pigments properties and sources as natural biocolorants in foodstuff and food industry. **World Journal of Dairy & Food Sciences**, v. 6, n. 1, p. 71-78, 2011.

AGÓCS, A. & DELI, J. Pigments in your food. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 24, n. 6, p. 757-759, 2011.

AKSU, Z. & EREN, A. Production of carotenoids by the isolated yeast of *Rhodotorula glutinis*. **Biochemical Engineering Journal**, v. 35, n. 2, p. 107-113, 2007.

ALBUQUERQUE, B. R.; PINELA, J.; BARROS, L.; OLIVEIRA, M. B. P.; FERREIRA, I. C. Anthocyanin-rich extract of jaboticaba epicarp as a natural colorant: Optimization of heat-and ultrasound-assisted extractions and application in a bakery product. **Food Chemistry**, v. 316, p. 126364, 2020.

ALLAHKARAMI, S.; SEPAHI, A. A.; HOSSEINI, H. & RAZAVI, M. R. Isolation and identification of carotenoid-producing *Rhodotorula sp.* from *Pinaceae* forest ecosystems and optimization of in vitro carotenoid production. **Biotechnology Reports**, v. 32, p. e00687, 2021.

ALTIDOR, M. Nutritional types of bacteria. 2018.

AMBATI, R. R.; GOGISETTY, D.; ASWATHANARAYANA, R. G.; RAVI, S.; BIKKINA, P. N.; BO, L.; YUEPENG, S. Industrial potential of carotenoid pigments from microalgae: Current trends and future prospects. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 59, n. 12, p. 1880-1902, 2019.

ARASHIRO, L. T.; BOTO-ORDÓÑEZ, M.; VAN HULLE, S. W.; FERRER, I.; GARFÍ, M.; ROUSSEAU, D. P. Natural pigments from microalgae grown in industrial wastewater. **Bioresource Technology**, v. 303, p. 122894, 2020.

ARULDASS, C. A.; DUFOSSÉ, L. & AHMAD, W. A. Current perspective of yellowish-orange pigments from microorganisms-a review. **Journal of Cleaner Production**, v. 180, p. 168-182, 2018.

BHOSALE, P. & GADRE, R. V. Optimization of carotenoid production from hyper-producing *Rhodotorula glutinis* mutant 32 by a factorial approach. **Letters in Applied Microbiology**, v. 33, n. 1, p. 12-16, 2001.

BHOSALE, P. & GADRE, R. V. β -carotene production in sugarcane molasses by a *Rhodotorula glutinis* mutant. **Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology**, v. 26, p. 327-332, 2001.

BHOSALE, P. Environmental and cultural stimulants in the production of carotenoids from microorganisms. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 63, p. 351-361, 2004.

BÖHME, K.; RICHTER, C. & PÄTZ, R. New insights into mechanisms of growth and β -carotene production in *Blakeslea trispora*. **Biotechnology Journal: Healthcare Nutrition Technology**, v. 1, n. 10, p. 1080-1084, 2006.

BONADIO, M. D. P.; FREITA, L. A. D., & MUTTON, M. J. R. Carotenoid production in sugarcane juice and synthetic media supplemented with nutrients by *Rhodotorula rubra* 102. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 49, p. 872-878, 2018.

BOOK, C. H., BRITTON, G., LIAAEN-JENSEN, S., & PFANDER, H. BIRKHÄUSER: Basel. 2004.

BURROWS, JD, A. Palette of our palates: a brief history of food coloring and its regulation. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, v. 8, n. 4, p. 394-408, 2009.

CABRAL, M. M. S.; CENCE, K., ZENI, J.; TSAI, S. M.; DURRER, A.; FOLTRAN, L. & TREICHEL, H. Carotenoids production from a newly isolated *Sporidiobolus pararoseus* strain by submerged fermentation. **European Food Research and Technology**, v. 233, p. 159-166, 2011.

CAROCHO, M.; BARREIRO, M. F.; MORALES, P. & FERREIRA, I. C. Adding molecules to food, pros and cons: A review on synthetic and natural food additives. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, v. 13, n. 4, p. 377-399, 2014.

CASTELO BRANCO, L. Estudo da ampliação de escala na produção de biomassa de *Rhodotorula sp.* CNPAT02 em processo batelada para obtenção de carotenoides. 2010.

CHEN, D.; HAN, Y. & GU, Z. Application of statistical methodology to the optimization of fermentative medium for carotenoids production by *Rhodobacter sphaeroides*. **Process Biochemistry**, v. 41, n. 8, p. 1773-1778, 2006.

CHEN, W.; FENG, Y.; MOLNÁR, I. & CHEN, F. Nature and nurture: confluence of pathway determinism with metabolic and chemical serendipity diversifies *Monascus azaphilone* pigments. **Natural Product Reports**, v. 36, n. 4, p. 561-572, 2019.

CHENG, Y. T. & YANG, C. F. Using strain *Rhodotorula mucilaginosa* to produce carotenoids using food wastes. **Journal of the Taiwan Institute of Chemical Engineers**, v. 61, p. 270-275, 2016.

CHINTAPENTA, L. K.; RATH, C. C.; MARINGINTI, B. & OZBAY, G. Pigment production from a mangrove *Penicillium*. **African Journal of Biotechnology**, v. 13, n. 26, 2014.

CHOCIAI, M. B.; MACHADO, I. M. P.; FONTANA, J. D.; CHOCIAI, J. G.; BUSATO, S. B. & BONFIM, T. M. B. Cultivo da levedura *Phaffia rhodozyma* (*Xanthophyllomyces dendrorhous*) em processo descontínuo alimentado para produção de astaxantina. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v. 38, p. 457-462, 2002.

DAMASCENO, J. L.; SANTOS, R. A. D.; BARBOSA, A. H.; CASEMIRO, L. A.; PIRES, R. H., & MARTINS, C. H. G. Risk of fungal infection to dental patients. **The Scientific World Journal**, v. 2017, 2017.

DE MORAIS, M. G.; DA FONTOURA PRATES, D.; MOREIRA, J. B.; DUARTE, J. H., & COSTA, J. A. V. Phycocyanin from microalgae: properties, extraction and purification, with some recent applications. **Industrial Biotechnology**, v. 14, n. 1, p. 30-37, 2018.

DE ROSSI, P. H. S.; DE GOES FAVONI, S. P.; GIANNONI, J. A., & PEREIRA, M. T. C. Utilização tecnológica de corantes naturais em alimentos: uma revisão. **RECIMA21-Revista Científica Multidisciplinar-ISSN 2675-6218**, v. 2, n. 11, p. e211941-e211941, 2021.

DI MASCIO, P.; MURPHY, M. E. & SIES, H. Antioxidant defense systems: the role of carotenoids, tocopherols, and thiols. **The American Journal of Clinical Nutrition**, v. 53, n. 1, p. 194S-200S, 1991.

DIMITROVA, S.; PAVLOVA, K.; LUKANOV, L.; KOROTKOVA, E.; PETROVA, E.; ZAGORCHEV, P., & KUNCHEVA, M. Production of metabolites with antioxidant and emulsifying properties by Antarctic strain *Sporobolomyces salmonicolor* AL 1. **Applied Biochemistry and Biotechnology**, v. 169, p. 301-311, 2013.

DU, C.; GUO, Y.; CHENG, Y.; HAN, M.; ZHANG, W., & QIAN, H. Anti-cancer effects of torulene, isolated from *Sporidiobolus pararoseus*, on human prostate cancer LNCaP and PC-3 cells via a mitochondrial signal pathway and the down-regulation of AR expression. **RSC Advances**, v. 7, n. 5, p. 2466-2474, 2017.

DUFOSSÉ, L. Microbial production of food grade pigments. **Food Technology and Biotechnology**, v. 44, n. 3, p. 313-321, 2006.

EJAZ, H. W.; WANG, W., & LANG, M. Copper toxicity links to pathogenesis of Alzheimer's disease and therapeutics approaches. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 21, n. 20, p. 7660, 2020.

ELFEKY, N.; ELMAHMOUDY, M.; ZHANG, Y.; GUO, J., & BAO, Y. Lipid and carotenoid production by *Rhodotorula glutinis* with a combined cultivation mode of nitrogen, sulfur, and aluminium stress. **Applied Sciences**, v. 9, n. 12, p. 2444, 2019.

FELL, J. W.; BOEKHOUT, T.; FONSECA, A.; SCORZETTI, G., & STATZELL-TALLMAN, A. Biodiversity and systematics of basidiomycetous yeasts as determined by large-subunit rDNA D1/D2 domain sequence analysis. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, v. 50, n. 3, p. 1351-1371, 2000.

FRASER, P. D. & BRAMLEY, P. M. The biosynthesis and nutritional uses of carotenoids. **Progress in Lipid Research**, v. 43, n. 3, p. 228-265, 2004.

FUCK, W. F.; BRANDELLI, A. & GUTTERRES, M. Special review paper: leather dyeing with biodyes from filamentous fungi. **J. Am. Leather Chem. Assoc**, v. 113, p. 299-310, 2018.

GU, Z.; DEMING, C.; YONGBIN, H.; ZHIGANG, C., & FEIRONG, G. Optimization of carotenoids extraction from *Rhodobacter sphaeroides*. **LWT-Food Science and Technology**, v. 41, n. 6, p. 1082-1088, 2008.

GUL, K.; TAK, A.; SINGH, A. K.; SINGH, P.; YOUSUF, B., & WANI, A. A. Chemistry, encapsulation, and health benefits of β -carotene-A review. **Cogent Food & Agriculture**, v. 1, n. 1, p. 1018696, 2015.

HADAD, N. & LEVY, R. The synergistic anti-inflammatory effects of lycopene, lutein, β -carotene, and carnosic acid combinations via redox-based inhibition of NF- κ B signaling. **Free Radical Biology and Medicine**, v. 53, n. 7, p. 1381-1391, 2012.

HAUSMANN, A. & SANDMANN, G. A single five-step desaturase is involved in the carotenoid biosynthesis pathway to β -carotene and torulene in *Neurospora crassa*. **Fungal Genetics and Biology**, v. 30, n. 2, p. 147-153, 2000.

HERNÁNDEZ-ALMANZA, A.; MONTANEZ, J. C.; AGUILAR-GONZALEZ, M. A.; MARTÍNEZ-ÁVILA, C.; RODRÍGUEZ-HERRERA, R., & AGUILAR, C. N. *Rhodotorula glutinis* as source of pigments and metabolites for food industry. **Food Bioscience**, v. 5, p. 64-72, 2014.

HEWEDY, M. A. & ASHOUR, S. M. Production of a melanin like pigment by *Kluyveromyces marxianus* and *Streptomyces chibaensis*. **Aust J Basic Appl Sci**, v. 3, n. 2, p. 920-927, 2009.

KANZY, H. M.; NASR, N. F.; EL-SHAZLY, H. A., & BARAKAT, O. S. Optimization of carotenoids production by yeast strains of *Rhodotorula* using salted cheese whey. **Int J Curr Microbiol App Sci**, v. 4, n. 1, p. 456-469, 2015.

KECELI, T. M.; ERGINKAYA, Z.; TURKKAN, E., & KAYA, U. Antioxidant and antibacterial effects of carotenoids extracted from *Rhodotorula glutinis* strains. **Asian Journal of Chemistry**, v. 25, n. 1, p. 42, 2013.

KITAZAWA, T.; ISHIGAKI, S.; SEO, K.; YOSHINO, Y.; & OTA, Y. Catheter-related bloodstream infection due to *Rhodotorula mucilaginosa* with normal serum (1 \rightarrow 3)- β -D-glucan level. **Journal de Mycologie Médicale**, v. 28, n. 2, p. 393-395, 2018.

KORUMILLI, T.; MISHRA, S.; & KORUKONDA, J. R. Production of astaxanthin by *Xanthophyllomyces dendrorhous* on fruit waste extract and optimization of key parameters using Taguchi method. **Journal of Biochemical Technology**, v. 11, n. 1, p. 25, 2020.

KOT, A. M.; BŁAŻEJAK, S.; KURCZ, A.; BRYŚ, J.; GIENKA, I.; BZDUCHA-WRÓBEL, A.; & RECZEK, L. Effect of initial pH of medium with potato wastewater and glycerol on protein, lipid and carotenoid biosynthesis by *Rhodotorula glutinis*. **Electronic Journal of Biotechnology**, v. 27, p. 25-31, 2017.

KOT, A. M.; BŁAŻEJAK, S.; KURCZ, A.; GIENKA, I., & KIELISZEK, M. *Rhodotorula glutinis*—potential source of lipids, carotenoids, and enzymes for use in industries. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 100, p. 6103-6117, 2016.

KOT, A. M.; BŁAŻEJAK, S.; KIELISZEK, M.; GIENKA, I.; & BRYŚ, J. Simultaneous production of lipids and carotenoids by the red yeast *Rhodotorula* from waste glycerol fraction and potato wastewater. **Applied Biochemistry and Biotechnology**, v. 189, p. 589-607, 2019.

LAGASHETTI, A. C.; DUFOSSÉ, L.; SINGH, S. K.; & SINGH, P. N. Fungal pigments and their prospects in different industries. **Microorganisms**, v. 7, n. 12, p. 604, 2019.

LI, J.; QIAN, H.; & PI, F. Effects of torularhodin against acetaminophen induced liver injury base on antioxidation, anti-inflammation and anti-apoptosis. **Food Bioscience**, v. 52, p. 102388, 2023.

LI, Y.; & CHEN, M. Novel chlorophylls and new directions in photosynthesis research. **Functional Plant Biology**, v. 42, n. 6, p. 493-501, 2015.

LOBO, P. T. D.; BRANDÃO, H. N.; & ASSIS, S. A. Production of carotenoids by *Rhodotorula mucilaginosa* using sugarcane juice (*Saccharum officinarum*) in the fermentation. **Brazilian Journal of Development**, v. 7, n. 2, p. 18235-18250, 2021.

LOPES, F. C.; TICHOTA, D. M.; PEREIRA, J. Q.; SEGALIN, J.; DE OLIVEIRA RIOS, A.; & BRANDELLI, A. Pigment production by filamentous fungi on agro-industrial byproducts: an eco-friendly alternative. **Applied Biochemistry and Biotechnology**, v. 171, p. 616-625, 2013.

LYU, X.; LYU, Y.; YU, H.; CHEN, W.; YE, L.; & YANG, R. Biotechnological advances for improving natural pigment production: A state-of-the-art review. **Bioresources and Bioprocessing**, v. 9, n. 1, p. 1-38, 2022.

(<https://www.grandviewresearch.com/industry-analysis/food-colorants-market>)

MALDONADE, I. R.; RODRIGUEZ-AMAYA, D. B.; & SCAMPARINI, A. RP. Statistical optimisation of cell growth and carotenoid production by *Rhodotorula mucilaginosa*. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 43, p. 109-115, 2012.

MANOWATTANA, A.; TECHAPUN, C.; LAOKULDILOK, T.; PHIMOLSIRIPOL, Y.; & CHAIYASO, T. Enhancement of β -carotene-rich carotenoid production by a mutant *Sporidiobolus pararoseus* and stabilization of its antioxidant activity by microencapsulation. **Journal of Food Processing and Preservation**, v. 44, n. 8, p. e14596, 2020.

MAPARI, S. A.; MEYER, A. S.; THRANE, U.; & FRISVAD, J. C. Identification of potentially safe promising fungal cell factories for the production of polyketide natural food colorants using chemotaxonomic rationale. **Microbial Cell Factories**, v. 8, p. 1-15, 2009.

MAPELLI-BRAHM, P.; BARBA, F. J.; REMIZE, F.; GARCIA, C.; FESSARD, A.; KHANEGHAH, A. M.; & MELÉNDEZ-MARTÍNEZ, A. J. The impact of fermentation processes on the production, retention and bioavailability of carotenoids: An overview. **Trends in Food Science & Technology**, v. 99, p. 389-401, 2020.

MARTINS, N.; RORIZ, C. L.; MORALES, P.; BARROS, L.; & FERREIRA, I. C. Food colorants: Challenges, opportunities and current desires of agro-industries to ensure consumer

expectations and regulatory practices. **Trends in Food Science & Technology**, v. 52, p. 1-15, 2016.

MATA-GÓMEZ, L. C.; MONTAÑEZ, J. C.; MÉNDEZ-ZAVALA, A.; & AGUILAR, C. N. Biotechnological production of carotenoids by yeasts: an overview. **Microbial Cell Factories**, v. 13, n. 1, p. 1-11, 2014.

MOLINÉ, M.; LIBKIND, D.; & VAN BROOCK, M. Production of torularhodin, torulene, and β -carotene by *Rhodotorula* yeasts. **Microbial Carotenoids from Fungi: Methods and Protocols**, p. 275-283, 2012.

MUSSAGY, C. U.; WINTERBURN, J.; SANTOS-EBINUMA, V. C.; & PEREIRA, J. F. B. Production and extraction of carotenoids produced by microorganisms. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 103, p. 1095-1114, 2019.

MUSSAGY, C. U.; KHAN, S.; & KOT, A. M. Current developments on the application of microbial carotenoids as an alternative to synthetic pigments. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 62, n. 25, p. 6932-6946, 2021.

MUTHUSAMY, S.; UDHAYABASKAR, S.; UDAYAKUMAR, G. P.; KIRTHIKAA, G. B.; & SIVARAJASEKAR, N. Properties and applications of natural pigments produced from different biological sources—a concise review. **Sustainable Development in Energy and Environment: Select Proceedings of ICSDEE 2019**, p. 105-119, 2020.

NABI, F.; ARAIN, M. A.; RAJPUT, N.; ALAGAWANY, M.; SOOMRO, J.; UMER, M.; & LIU, J. Health benefits of carotenoids and potential application in poultry industry: A review. **Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition**, v. 104, n. 6, p. 1809-1818, 2020.

NARSING, R.; MANIK, P.; XIAO, M.; & LI, W. J. Fungal and bacterial pigments: secondary metabolites with wide applications. **Frontiers in Microbiology**, v. 8, p. 1113, 2017.

NIGAM, P. S.; & LUKE, J. S. Food additives: production of microbial pigments and their antioxidant properties. **Current Opinion in Food Science**, v. 7, p. 93-100, 2016.

NIRANJANA, R.; GAYATHRI, R.; MOL, S. N.; SUGAWARA, T.; HIRATA, T.; MIYASHITA, K.; & GANESAN, P. Carotenoids modulate the hallmarks of cancer cells. **Journal of Functional Foods**, v. 18, p. 968-985, 2015.

NOVOVESKÁ, L.; ROSS, M. E.; STANLEY, M. S.; PRADELLES, R.; WASIOLEK, V.; & SASSI, J. F. Microalgal carotenoids: A review of production, current markets, regulations, and future direction. **Marine Drugs**, v. 17, n. 11, p. 640, 2019.

OKOLIE, C. L.; MASON, B.; & CRITCHLEY, A. T. Seaweeds as a source of proteins for use in pharmaceuticals and high-value applications. **Novel Proteins for Food, Pharmaceuticals, and Agriculture: Sources, Applications, and Advances**, v. 217, 2018.

PANESAR, R.; KAUR, S.; & PANESAR, P. S. Production of microbial pigments utilizing agro-industrial waste: a review. **Current Opinion in Food Science**, v. 1, p. 70-76, 2015.

PARMAR, R. S.; & SINGH, C. A comprehensive study of eco-friendly natural pigment and its applications. **Biochemistry and Biophysics Reports**, v. 13, p. 22-26, 2018.

PERRIER, V.; DUBREUCQ, E.; & GALZY, P. Fatty acid and carotenoid composition of *Rhodotorula* strains. **Archives of Microbiology**, v. 164, p. 173-179, 1995.

RAJA, R.; HEMAISWARYA, S.; & RENGASAMY, R. Exploitation of *Dunaliella* for β -carotene production. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 74, p. 517-523, 2007.

RAMESH, C.; VINITHKUMAR, N. V.; KIRUBAGARAN, R.; VENIL, C. K.; & DUFOSSÉ, L. Multifaceted applications of microbial pigments: current knowledge, challenges and future directions for public health implications. **Microorganisms**, v. 7, n. 7, p. 186, 2019.

RATLEDGE, C.; & COHEN, Z. Microbial and algal oils: do they have a future for biodiesel or as commodity oils?. **Lipid Technology**, v. 20, n. 7, p. 155-160, 2008.

REKHA, R.; NIMSI, K. A.; MANJUSHA, K.; & SIRAJUDHEEN, T. K. Marine yeast *Rhodotorula paludigena* VA 242 a pigment enhancing feed additive for the Ornamental Fish Koi Carp. **Aquaculture and Fisheries**, 2022.

RIBEIRO, J. E. S.; DA SILVA SANT'ANA, A. M.; MARTINI, M.; SORCE, C.; ANDREUCCI, A.; DE MELO, D. J. N.; & DA SILVA, F. L. H. *Rhodotorula glutinis* cultivation on cassava wastewater for carotenoids and fatty acids generation. **Biocatalysis and Agricultural Biotechnology**, v. 22, p. 101419, 2019.

RIEBLINGER, K.; MOOSHEIMER, U.; & ZIEGLEDER, G. Transparent or partially transparent packaging materials that are coloured by means of colours. **U.S. Patent Application** n. 10/203,511, 24 jul. 2003.

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

SAENGE, C.; CHEIRSILP, B.; SUKSAROGUE, T. T.; & BOURTOOM, T. Potential use of oleaginous red yeast *Rhodotorula glutinis* for the bioconversion of crude glycerol from biodiesel plant to lipids and carotenoids. **Process Biochemistry**, v. 46, n. 1, p. 210-218, 2011.

SAINI, D.; PABBI, S.; & SHUKLA, P. Cyanobacterial pigments: Perspectives and biotechnological approaches. **Food and Chemical Toxicology**, v. 120, p. 616-624, 2018.

SAJJAD, W.; DIN, G.; RAFIQ, M.; IQBAL, A.; KHAN, S., ZADA, S.; & KANG, S. Pigment production by cold-adapted bacteria and fungi: colorful tale of cryosphere with wide range applications. **Extremophiles**, v. 24, p. 447-473, 2020.

SCHROEDER, W. A.; CALO, P.; DECLERCQ, M. L.; & JOHNSON, E. A. Selection for carotenogenesis in the yeast *Phaffia rhodozyma* by dark-generated singlet oxygen. **Microbiology**, v. 142, n. 10, p. 2923-2929, 1996.

SHARMA, R.; & GHOSHAL, G. Optimization of carotenoids production by *Rhodotorula mucilaginosa* (MTCC-1403) using agro-industrial waste in bioreactor: A statistical approach. **Biotechnology Reports**, v. 25, p. e00407, 2020.

SIGURDSON, G. T.; TANG, P.; & GIUSTI, M. M. Natural colorants: Food colorants from natural sources. **Annual Review of Food Science and Technology**, v. 8, p. 261-280, 2017.

SILVA, T. P.; PAIXAO, S. M.; & ALVES, L. Ability of *Gordonia alkanivorans* strain 1B for high added value carotenoids production. **RSC Advances**, v. 6, n. 63, p. 58055-58063, 2016.

SINGH, A.; AHMAD, S.; & AHMAD, A. Green extraction methods and environmental applications of carotenoids-a review. **RSC Advances**, v. 5, n. 77, p. 62358-62393, 2015.

SINGH, A.; & MUKHERJEE, T. Application of carotenoids in sustainable energy and green electronics. **Materials Advances**, v. 3, n. 3, p. 1341-1358, 2022.

TANG, W.; WANG, Y.; ZHANG, J.; CAI, Y.; & HE, Z. Biosynthetic pathway of carotenoids in *Rhodotorula* and strategies for enhanced their production. 2019.

TINOI, J.; RAKARIYATHAM, N.; & DEMING, R. L. Simplex optimization of carotenoid production by *Rhodotorula glutinis* using hydrolyzed mung bean waste flour as substrate. **Process Biochemistry**, v. 40, n. 7, p. 2551-2557, 2005.

TKÁČOVÁ, J.; ČAPLOVÁ, J.; KLEMPOVÁ, T.; & ČERTÍK, M. Correlation between lipid and carotenoid synthesis in torularhodin-producing *Rhodotorula glutinis*. **Annals of Microbiology**, v. 67, n. 8, p. 541-551, 2017.

TULI, H. S.; CHAUDHARY, P.; BENIWAL, V.; & SHARMA, A. K. Microbial pigments as natural color sources: current trends and future perspectives. **Journal of Food Science and Technology**, v. 52, p. 4669-4678, 2015.

UNGUREANU, C.; & FERDES, M. Evaluation of antioxidant and antimicrobial activities of torularhodin. **Advanced Science Letters**, v. 18, n. 1, p. 50-53, 2012.

VARELA, J. C.; PEREIRA, H.; VILA, M.; & LEÓN, R. Production of carotenoids by microalgae: achievements and challenges. **Photosynthesis Research**, v. 125, p. 423-436, 2015.

VENIL, C. K.; ARULDASS, C. A.; DUFOSSÉ, L.; ZAKARIA, Z. A.; & AHMAD, W. A. Current perspective on bacterial pigments: emerging sustainable compounds with coloring and biological properties for the industry—an incisive evaluation. **RSC Advances**, v. 4, n. 74, p. 39523-39529, 2014.

VENIL, C. K.; DEVI, P. R.; & AHMAD, W. A. Agro-industrial waste as substrates for the production of bacterial pigment. **Valorisation of Agro-industrial Residues—Volume I: Biological Approaches**, p. 149-162, 2020.

VENIL, C. K.; DUFOSSÉ, L.; RENUKA D.; PONNUSWAMY. Bacterial pigments: sustainable compounds with market potential for pharma and food industry. **Frontiers in Sustainable Food Systems**, v. 4, p. 100, 2020.

VENIL, C. K.; ZAKARIA, Z. A.; & AHMAD, W. A. Bacterial pigments and their applications. **Process Biochemistry**, v. 48, n. 7, p. 1065-1079, 2013.

VESENICK, D. C.; PAULA, N. A.; NIWA, A. M.; & MANTOVANI, M. S. Evaluation of the effects of chlorophyllin on apoptosis induction, inhibition of cellular proliferation and mRNA expression of CASP8, CASP9, APC and β -catenin. **Curr. Res. J. Biol. Sci**, v. 4, n. 3, p. 315, 2012.

WANG, B.; LIU, Y.; LUO, K.; ZHANG, S.; WEI, C.; WANG, L.; & TIAN, X. 'Biotic' potential of the red yeast *Rhodotorula mucilaginosa* strain JM-01 on the growth, shell pigmentation, and immune defense attributes of the shrimp, *Penaeus vannamei*. **Aquaculture**, v. 572, p. 739543, 2023.

WANG, C. H.; HSUEH, P. R.; CHEN, F. L.; & LEE, W. S. Breakthrough fungemia caused by *Rhodotorula mucilaginosa* during anidulafungin therapy. **Journal of Microbiology, Immunology, and Infection= Wei Mian Yu Gan Ran Za Zhi**, v. 52, n. 4, p. 674-675, 2019.

WEI, C.; WU, T.; AO, H.; QIAN, X.; WANG, Z.; & SUN, J. Increased torulene production by the red yeast, *Sporidiobolus pararoseus*, using citrus juice. **Preparative Biochemistry & Biotechnology**, v. 50, n. 1, p. 66-73, 2020.

WIRTH, F.; & GOLDANI, L. Z. Epidemiology of *Rhodotorula*: an emerging pathogen. **Interdisciplinary Perspectives on Infectious Diseases**, v. 2012, 2012.

YANG, P.; QIAN, J.; XIAO, W.; ZHENG, Z.; & ZHU, M. Bioactive compound prodigiosin in vivo affecting the nutrient metabolism of weaned rats. **ACS Omega**, v. 3, n. 12, p. 17474-17480, 2018.

YOO, A. Y.; ALNAEELI, M.; & PARK, J. K. Production control and characterization of antibacterial carotenoids from the yeast *Rhodotorula mucilaginosa* AY-01. **Process Biochemistry**, v. 51, n. 4, p. 463-473, 2016.

YUSUF, M.; SHABBIR, M.; & MOHAMMAD, F. Natural colorants: Historical, processing and sustainable prospects. **Natural Products and Bioprospecting**, v. 7, p. 123-145, 2017.

ZERIN, I.; FARZANA, N.; MUHAMMAD SAYEM, A.; ANANG, D. M.; & HAIDER, J. Potentials of Natural Dyes for Textile Applications, Editor(s): Saleem Hashmi, Imtiaz Ahmed Choudhury, **Encyclopedia of Renewable and Sustainable Materials, Elsevier**, 2020.

ZHAO, Y.; GUO, L.; XIA, Y.; ZHUANG, X.; & CHU, W. Isolation, identification of carotenoid-producing *Rhodotorula sp.* from marine environment and optimization for carotenoid production. **Marine Drugs**, v. 17, n. 3, p. 161, 2019.

ZOZ, L.; CARVALHO, J. C.; SOCCOL, V. T.; CASAGRANDE, T. C.; & CARDOSO, L. Torularhodin and torulene: bioproduction, properties and prospective applications in food and cosmetics-a review. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v. 58, p. 278-288, 2014.