CARACTERIZAÇÃO PRELIMINAR DO ÓLEO MICROBIANO DE *Rhodotorula toruloides* E AVALIAÇÃO DO PERFIL ESPECTRAL DE CAROTENÓIDES

Autores: Yusen Estrada Tortosa, Marco Antônio Silva Carvalho, José Geraldo da Cruz Pradella

[1]Universidade do Vale do Paraíba/Instituto de Pesquisa e Desenvolvimento, Avenida Shishima Hifumi, 2911, Urbanova - 12244-000 - São José dos Campos-SP, Brasil, yusen.estrada@gmail.com, mascarvalho7@gmail.com, jpradella51@gmail.com

Resumo

Rhodotorula toruloides é uma levedura oleaginosa capaz de produzir lipídios e carotenoides de interesse biotecnológico. Este trabalho teve como objetivo caracterizar o óleo microbiano produzido pela levedura e avaliar a presença de compostos com perfil espectral compatíveis com carotenoides associados à fração lipídica. O óleo foi caracterizado por FTIR e UV-Vis e posteriormente submetido à saponificação alcalina, seguida de extração com hexano para obtenção da fração insaponificável. O espectro UV-Vis apresentou máximo de absorção em 485 nm, perfil compatível com a presença de carotenoides. A saponificação permitiu o fracionamento preliminar da matriz lipídica em frações saponificável e insaponificável, direcionando a fração insaponificável para etapas posteriores de caracterização. Os resultados demonstram o potencial da metodologia para a caracterização preliminar do óleo microbiano e fornecem subsídios para futuras etapas de identificação e quantificação dos carotenoides.

Palavras-chave: *Rhodotorula toruloides*; carotenoides; óleo microbiano; saponificação; UV-Vis.

Área do Conhecimento: Bioquímica

Introdução

A busca por fontes alternativas de compostos naturais tem impulsionado o estudo de microrganismos capazes de produzir pigmentos de interesse biotecnológico. Entre esses microrganismos, a levedura oleaginosa *Rhodotorula toruloides* destaca-se pela capacidade de acumular lipídios e sintetizar carotenoides, como β-caroteno, toruleno e torularrodina, compostos de interesse devido às suas propriedades biológicas e aplicações industriais (**Mata-Gómez et al., 2014; Kot et al., 2018; Zhao et al., 2021)**. Os carotenoides apresentam caráter lipossolúvel e podem estar associados à fração lipídica produzida pela levedura, tornando necessária a utilização de métodos de separação e caracterização **(Maoka, 2020; Squina; Mercadante, 2003)**. A saponificação alcalina permite o fracionamento da matriz lipídica, favorecendo a obtenção da fração insaponificável, na qual podem ser concentrados compostos lipossolúveis, incluindo carotenoides. Técnicas espectroscópicas, como FTIR e UV-Vis, podem auxiliar na caracterização preliminar dessas frações **(Passarinho et al., 2020).** Diante disso, o presente trabalho teve como objetivo caracterizar preliminarmente o óleo microbiano de *Rhodotorula toruloides* e avaliar a presença de carotenoides associados à fração lipídica, utilizando saponificação alcalina, FTIR e UV-Vis.

Metodologia

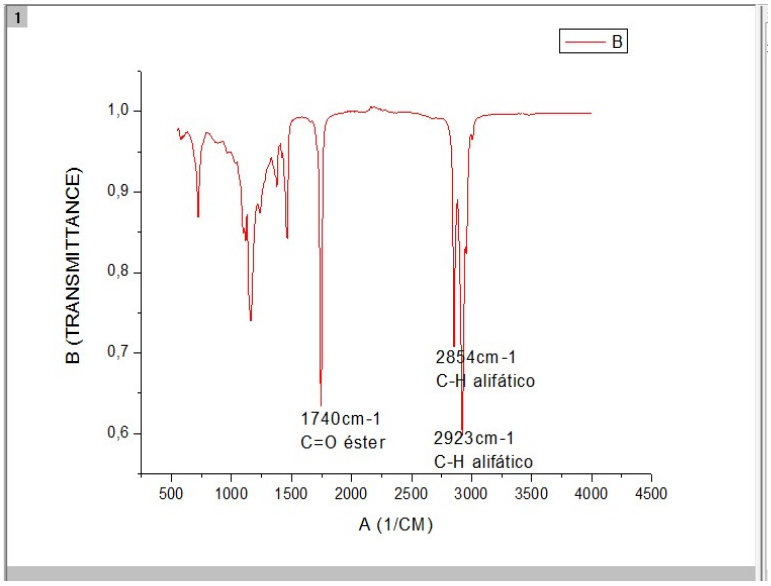
Inicialmente, o óleo microbiano foi submetido à caracterização por espectroscopia no infravermelho por transformada de Fourier (FTIR), o equipamento usado foi Perkin Elmer Spectrum Two, resolução 4 cm-1, Background 32 scans, análise 16 scans com o objetivo de identificar os principais grupos funcionais presentes na amostra. Posteriormente, foi realizada a caracterização espectrofotométrica na região do ultravioleta-visível (UV-Vis). Para a análise, foram adicionados 100 µL de óleo microbiano a 10 mL de hexano, obtendo-se um fator de diluição de 100. As leituras foram realizadas em espectrofotômetro UV-Vis Kasvi, modelo K37-VIS, com largura de banda de 4 nm e faixa operacional de 320 a 1020 nm. Para obtenção do perfil espectral dos compostos com características de absorção de carotenoides, foram realizadas leituras nos comprimentos de onda de 400, 410, 420, 430, 440, 450,

455, 460, 470, 475, 480, 485, 490, 495, 500, 510, 520 e 550 nm, permitindo a determinação do comprimento de onda de máxima absorção (λmáx). Para a separação dos compostos presentes na fração lipídica, foi empregada a técnica de saponificação alcalina, utilizando solução de hidróxido de potássio (KOH) em álcool etílico a 95%. Foram adicionados 5 gramas de óleo microbiano à solução de saponificação, mantendo-se a mistura sob agitação constante em chapa de aquecimento, a 35 °C, durante 35 minutos. Após o período de saponificação, a mistura foi resfriada à temperatura ambiente e, posteriormente, adicionou-se hexano como solvente orgânico para a extração dos compostos lipossolúveis presentes na fração insaponificável, incluindo os carotenoides. A mistura foi então transferida para um funil de separação e mantida em repouso até que ocorresse a completa separação entre as fases orgânica e aquosa. Após a separação, a fase orgânica, contendo os compostos lipossolúveis presentes na fração insaponificável, foi cuidadosamente coletada. Em seguida, essa fase foi submetida a três lavagens sucessivas com água destilada, aguardando-se, a cada lavagem, a separação das fases antes da retirada da fase orgânica, com o objetivo de remover possíveis resíduos da solução alcalina. Após as lavagens, a fração orgânica foi coletada e destinada às análises posteriores.

Resultados

A caracterização inicial do óleo microbiano de *Rhodotorula toruloides* foi realizada por espectroscopia no infravermelho por transformada de Fourier (FTIR) conforme apresentado na Figura 1. O espectro obtido apresentou bandas características de compostos de natureza lipídica. Entre as principais regiões observadas, destacou-se a banda próxima a **1740 cm⁻¹**, associada à vibração da ligação carbonila (C=O) de ésteres. Também foram observadas bandas relacionadas às ligações C–H das cadeias presentes nos compostos lipídicos. Esses resultados confirmaram a presença de componentes de natureza lipídica no óleo analisado

Figura 1 – Espectro de FTIR do óleo microbiano de *Rhodotorula toruloides*.

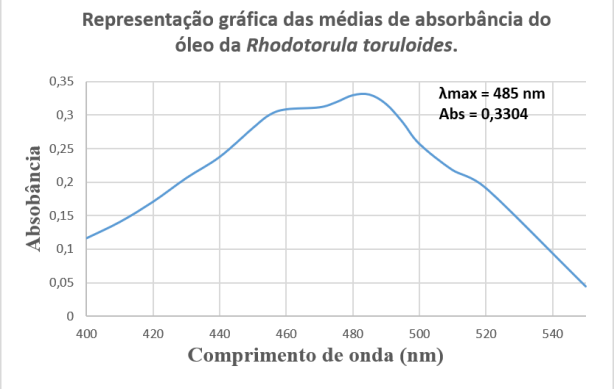


Fonte: Os autores (2026).

A análise do óleo microbiano por espectroscopia na região do ultravioleta-visível (UV-Vis) foi realizada em diferentes comprimentos de onda, entre **400 e 550 nm**, como representado na Figura 2, com o objetivo de obter o perfil espectral da amostra. Observou-se um aumento gradual da absorbância entre 400 e 485 nm, atingindo o maior valor de absorbância em **485 nm (0,3304 ± 0,0462)**. A partir de 485 nm, verificou-se uma redução progressiva da absorbância, alcançando **0,0444 ± 0,0141 em 550 nm**.

O perfil obtido apresentou máximo de absorção em **485 nm**, região espectral compatível com a presença de pigmentos na matriz lipídica. Esse resultado forneceu a base para as etapas posteriores de separação e futura quantificação dos carotenoides.

Figura 2 – Perfil espectral do óleo microbiano de *Rhodotorula toruloides* obtido por espectroscopia UV-Vis na faixa de 400–550 nm.



Fonte: Os autores (2026).

Após a caracterização inicial, o óleo microbiano foi submetido à saponificação alcalina com o objetivo de promover o fracionamento da matriz lipídica e favorecer a separação dos carotenoides da fração saponificável. Foram utilizados 5 g de óleo microbiano, 3,12 g de KOH e 43,25 mL de etanol 95%. A mistura foi mantida sob agitação e aquecimento, a aproximadamente 35 °C, durante 35 minutos. Após o resfriamento, foi adicionado hexano e a mistura foi transferida para um funil de separação de 500 mL, permanecendo em repouso por aproximadamente 30 minutos, até a completa separação das fases, conforme apresentado na Figura 3. Após a separação, a fração saponificável foi coletada e armazenada para posterior análise, conforme apresentado na Figura 4. A fração insaponificável, correspondente à fase orgânica, foi submetida a três lavagens sucessivas, com o objetivo de remover possíveis resíduos provenientes da etapa de saponificação. Após as lavagens, a fração foi coletada em tubo de ensaio e armazenada para posteriores análises Figura 5.

Figura 3 – Separação das fases após a adição de hexano ao material saponificado.



Fonte: Os autores (2026).

Figura 4 – Fração saponificável obtida após a saponificação do óleo microbiano de *Rhodotorula toruloides*.



Fonte: Os autores (2026)

Figura 5 – Fração insaponificável (fase orgânica) obtida após a saponificação do óleo microbiano de *Rhodotorula toruloides*.



Fonte: Os autores (2026)

Discussão

O óleo microbiano de *R. toruloides* foi caracterizado utilizando a técnica de espectroscopia no infravermelho com transformada de Fourier (FTIR). O espectro apresenta bandas compatíveis com compostos de natureza lipídica, destacando-se uma região próxima a **1740 cm^{-1}**, relacionada à vibração de estiramento da ligação carbonila (C=O). Essa banda é compatível com estruturas contendo grupos carbonila, como os encontrados em ésteres presentes em lipídios, indicando a natureza predominantemente lipídica da amostra analisada.

Esse resultado é compatível com a composição do óleo microbiano de *R. toruloides*, uma levedura oleaginosa capaz de acumular lipídios em sua biomassa. A identificação de grupos funcionais associados à matriz lipídica é relevante para este trabalho, uma vez que os pigmentos carotenoides estão associados à fração lipídica. Dessa forma, a caracterização inicial do óleo é importante para compreender a matriz na qual esses pigmentos estão presentes e para o posterior processo de separação das frações.

Como complemento à caracterização por FTIR, foi realizada uma análise espectrofotométrica na região do UV-Vis, visando avaliar o perfil de absorção do óleo e identificar a região de máxima absorbância associada aos pigmentos presentes na amostra. A varredura foi realizada na faixa de 400 a 550 nm, observando-se um aumento da absorbância até a região de 485 nm, correspondente ao comprimento de onda de máxima absorbância (λmáx = 485 nm). Esse perfil espectral é compatível com a presença de carotenoides na amostra, uma vez que estes pigmentos apresentam absorção característica na região do espectro visível. A obtenção de um máximo de absorbância nessa região reforça os resultados obtidos na caracterização inicial do óleo e indica a necessidade de etapas posteriores de

separação e caracterização para avaliar individualmente os carotenoides presentes na matriz lipídica. O λmáx observado neste estudo apresenta proximidade com os valores descritos para carotenoides produzidos por *Rhodotorula toruloides*. **Pham et al. (2020)** relataram máximos de absorção de aproximadamente 450–454 nm para o β-caroteno, 482–485 nm para o toruleno e 492 nm para a torularrodina. Os autores também observaram máximo de absorbância em 488 nm para o extrato de carotenoides de *R. toruloides*, valor próximo ao encontrado no presente estudo (485 nm). Essa proximidade sugere que o perfil espectral obtido para o óleo microbiano apresenta características compatíveis com a presença de carotenoides, particularmente aqueles que absorvem na região próxima a 485 nm.

Entretanto, o máximo de absorbância observado não permite, isoladamente, a identificação individual dos carotenoides presentes na amostra, uma vez que diferentes carotenoides podem apresentar regiões de absorção próximas e contribuir conjuntamente para o perfil espectral. Nesse sentido, **Nagaraj et al. (2022)**, utilizando técnicas cromatográficas para a caracterização de carotenoides de *R. toruloides* CBS 14, identificaram β-caroteno, γ-caroteno, torularrodina e toruleno, demonstrando a possibilidade de ocorrência simultânea de diferentes carotenoides nessa levedura. Dessa forma, os resultados obtidos por UV-Vis devem ser interpretados como uma evidência do perfil espectral compatível com carotenoides, sendo necessária a utilização de técnicas complementares para sua identificação e quantificação individual.

Conclusão

Os resultados obtidos por meio das técnicas de FTIR e UV-Vis, evidenciam que o óleo microbiano de *R. toruloides* apresenta características compatíveis com uma matriz de natureza lipídica e com a presença de carotenoides.A análise por FTIR apresentou bandas características de grupos funcionais associados à fração lipídica, destacando-se a região próxima a 1740 cm^{-1}. A análise por UV-Vis apresentou um perfil de absorção na faixa de 400 a 550 nm, com máximo de absorbância em 485 nm, resultado compatível com a presença de carotenoides na amostra. A saponificação alcalina possibilitou o fracionamento do óleo em frações saponificável e insaponificável, permitindo o direcionamento das etapas posteriores de caracterização. Dessa forma, os resultados obtidos demonstram que a associação das técnicas empregadas constitui uma abordagem adequada para a caracterização inicial do óleo microbiano e para o estudo dos carotenoides associados à sua fração lipídica.

Referências

KOT, A. M. et al. Torulene and torularhodin: “new” fungal carotenoids for industry? **Microbial Cell Factories**, v. 17, n. 1, p. 49, 2018.

MAOKA, T. Carotenoids as natural functional pigments. **Journal of Natural Medicines**, v. 74, n. 1, p. 1-16, 2020.

MATA-GÓMEZ, L. C. et al. Biotechnological production of carotenoids by yeasts: an overview. **Microbial Cell Factories**, v. 13, p. 12, 2014.

NAGAVARA NAGARAJ, Y. et al. Identification, quantification and kinetic study of carotenoids and lipids in *Rhodotorula toruloides* CBS 14 cultivated on wheat straw hydrolysate. **Fermentation**, v. 8, n. 7, p. 300, 2022.

PASSARINHO, P. C. et al. Sequential carotenoids extraction and biodiesel production from *Rhodosporidium toruloides* NCYC 921 biomass. **Waste and Biomass Valorization**, v. 11, p. 2075-2086, 2020.

PHAM, K. D. et al. Effect of light on carotenoid and lipid production in the oleaginous yeast *Rhodosporidium toruloides*. **Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry**, v. 84, n. 7, p. 1501-1512, 2020.

SQUINA, F. M.; MERCADANTE, A. Z. Análise, por CLAE, de carotenóides de cinco linhagens de *Rhodotorula*. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v. 39, n. 3, p. 309-318, 2003.

ZHAO, Y. et al. *Rhodotorula toruloides*: an ideal microbial cell factory to produce oleochemicals, carotenoids, and other products. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, v. 38, n. 1, p. 13, 2021.

Agradecimentos

O presente trabalho foi realizado com apoio do Conselho Nacional de Desenvolvimento Cientifico e Tecnológico-CNPq (chamada/processo nº 407946/2022-5). Os autores expressam sua gratidão pelo fomento à pesquisa.