



MAÍRA BESERRA BARBOSA DE SOUZA

**POTENCIAL DE BIOMASSAS DE LEVEDURAS
OLEAGINOSAS PARA APLICAÇÃO EM ANÁLOGOS
CÁRNEOS: ANÁLISE INTEGRADA DE LIPÍDEOS E ÁCIDOS
GRAXOS**

**LAVRAS – MG
2026**

MAÍRA BESERRA BARBOSA DE SOUZA

**POTENCIAL DE BIOMASSAS DE LEVEDURAS OLEAGINOSAS PARA
APLICAÇÃO EM ANÁLOGOS CÁRNEOS: ANÁLISE INTEGRADA DE LIPÍDEOS E
ÁCIDOS GRAXOS**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do programa de Pós-Graduação em Microbiologia Agrícola, área de concentração em Microbiologia Agrícola, para a obtenção do título de Mestre.

Prof. Dr. Disney Ribeiro Dias
Orientador

Prof.^a Dra. Rosane Freitas Schwan
Dra. Andreísa Teixeira de Castro
Coorientadoras

**LAVRAS – MG
2026**

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

Souza, Máira Beserra Barbosa de.

Potencial de biomassas de leveduras oleaginosas para aplicação em análogos cárneos : Análise integrada de lipídeos e ácidos graxos / Máira Beserra Barbosa de Souza. - 2026.

77 p. : il.

Orientador: Disney Ribeiro Dias

Coorientadora: Rosane Freitas Schwan

Coorientadora: Andreísa Teixeira de Castro

Dissertação (Mestrado Acadêmico) - Universidade Federal de Lavras, 2026.
Bibliografia.

1. Leveduras oleaginosas. 2. Análogos cárneos. 3. Ácidos graxos. 4. Glicerol bruto. 5. Lipídios. I. Dias, Disney Ribeiro. II. Schwan, Rosane Freitas. III. Castro, Andreísa Teixeira de. IV. Universidade Federal de Lavras. V. Título.

MAÍRA BESERRA BARBOSA DE SOUZA

**POTENCIAL DE BIOMASSAS DE LEVEDURAS OLEAGINOSAS PARA
APLICAÇÃO EM ANÁLOGOS CÁRNEOS: ANÁLISE INTEGRADA DE LIPÍDEOS E
ÁCIDOS GRAXOS**

**POTENTIAL OF OLEAGINOUS YEAST BIOMASS FOR APPLICATION IN
MEAT ANALOGUES: AN INTEGRATED ANALYSIS OF LIPIDS AND FATTY ACIDS**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do programa de Pós-Graduação em Microbiologia Agrícola, área de concentração em Microbiologia Agrícola, para a obtenção do título de Mestre.

APROVADA em 27 de fevereiro de 2026.

Dr. Disney Ribeiro Dias, UFLA

Dra. Cíntia Lacerda Ramos, UFVJM

Dra. Pâmela Mynsen Machado Martins, UFLA

Prof. Dr. Disney Ribeiro Dias
Orientador

Prof.^a Dra. Rosane Freitas Schwan
Dra. Andreísa Teixeira de Castro
Coorientadoras

**LAVRAS – MG
2026**

À minha mãe, pelo amor e força incondicionais, e a todos que caminharam ao meu lado,
oferecendo apoio e encorajamento ao longo desta jornada. Cada gesto de cuidado e
compreensão me ajudaram a transformar dificuldades em aprendizado e me trouxeram até
aqui.

Dedico

AGRADECIMENTOS

A Deus, pela força, pela luz e pela coragem que me sustentaram em todos os momentos desta caminhada.

À minha mãe, Maria Beserra, e à minha avó, Antônia Lopes, minha base e meu porto seguro. Obrigada por serem minha fortaleza, pelas orações, pelos “puxões de orelha” e pelo apoio constante. À minha família, que mesmo de longe sempre foi abrigo e motivação, agradeço o carinho, apoio e pelas raízes que me mantêm firme.

Ao meu orientador, professor Disney Ribeiro, pela confiança depositada em mim, pelos conselhos e pela oportunidade de crescer cientificamente sob sua orientação. À minha coorientadora Andreísa Teixeira, agradeço de forma especial pela parceria construída ao longo desta jornada. Sua dedicação, comprometimento e capacidade de encontrar soluções nos momentos mais desafiadores foram fundamentais. Além de referência profissional, você foi exemplo de responsabilidade e entrega científica. À minha coorientadora Rosane Schwan, pela oportunidade de aprendizado, pela inspiração acadêmica e por todo o conhecimento compartilhado no ambiente de pesquisa.

À professora Ana Luiza, por ter acreditado no meu potencial desde o início e por ter sido essencial na minha vinda para Lavras, abrindo portas para a minha vida acadêmica.

Aos colegas do NEFER, pela recepção, pelo incentivo, pela disponibilidade em tirar dúvidas, pelas trocas de conhecimento no dia a dia e pela colaboração durante a realização dos experimentos.

Aos colegas de trabalho da Drogaria Araujo, pelo acolhimento, pelo apoio, pela amizade e leveza que proporcionaram nos dias mais desafiadores desta jornada.

Ao Héctor Valerio por todo o carinho, companheirismo e cumplicidade ao longo desta caminhada. Obrigada por me apoiar de forma tão presente, com paciência nos dias difíceis e alegria nas pequenas vitórias. Seu incentivo, sua escuta e sua ajuda fizeram diferença de verdade para que eu seguisse com mais leveza e confiança. Sou muito grata por ter você ao meu lado, pela parceria diária e por tudo o que construímos juntos, com respeito, cuidado e amor.

Á Yuliana Sorto pela amizade, delicadeza e por sempre me ouvir com tanto carinho.

À Mari, pela amizade construída no laboratório, pela parceria nos processos experimentais, por sempre topar ajudar e dividir a bancada com leveza e paciência.

Ao Pietro Telino, pelo companheirismo no início dessa jornada em Lavras e pelo incentivo.

A dupla imbatível, Cidinha e Eustáquio, muito obrigada pelo acolhimento, por me ouvirem quando precisei e pelos conselhos.

Aos amigos Blenda Tavares e Diney de Melo, pela amizade verdadeira, pelos conselhos sinceros e por nunca soltarem a minha mão, mesmo quando os caminhos pareciam confusos.

À Universidade Federal de Lavras (UFLA), ao Departamento de Biologia (DBI) e ao Programa de Pós-Graduação em Microbiologia Agrícola (PPGMA/UFLA), pela oportunidade de formação acadêmica e pela estrutura disponibilizada para o desenvolvimento deste trabalho.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de Financiamento 001.

À Financiadora de Estudos e Projetos (FINEP), pelo apoio financeiro ao desenvolvimento deste trabalho.

Por fim, a todos que, de alguma forma, contribuíram para esta conquista, com palavras de apoio, gestos de amizade, incentivo científico ou simplesmente acreditando em mim, deixo meu sincero agradecimento. Este trabalho também é parte de cada um de vocês.

“A ferida é o lugar por onde a luz entra em você.”
(Rumi)

RESUMO

As leveduras oleaginosas têm sido investigadas como alternativa sustentável para a obtenção de lipídios e biomassa com potencial aplicação em alimentos, incluindo produtos análogos cárneos. Nesse contexto, este trabalho teve como objetivo avaliar leveduras oleaginosas cultivadas em substratos de baixo custo, com ênfase em glicerol bruto, como fonte de lipídios e proteínas para aplicação em análogos cárneos. Para isso, foram otimizadas as condições de cultivo e comparou-se o perfil de ácidos graxos das biomassas com carnes bovinas. As linhagens *Yarrowia lipolytica* CCMA 0357 e *Cystofilobasidium ferigula* CCMA 1623 foram cultivadas e caracterizadas quanto à produção de biomassa e lipídios, além da determinação de proteínas totais na biomassa seca. Nas condições otimizadas, observou-se teor lipídico de 51,79% para *Y. lipolytica* e 63,12% para *C. ferigula*. Adicionalmente, as biomassas microbianas demonstraram potencial como fonte proteica, com $16,4 \pm 0,1\%$ (m/m) de proteínas totais para *Y. lipolytica* e $12,1 \pm 0,1\%$ (m/m) para *C. ferigula*. A análise do perfil de ácidos graxos, avaliada comparativamente por heatmap, evidenciou que os ácidos majoritários em carnes e leveduras foram o palmítico (C16:0) e o esteárico (C18:0). Em menor proporção, apareceram os ácidos mirístico (C14:0), linoleico (C18:2) e oleico (C18:1); entretanto, o mirístico se destacou nas carnes, enquanto o linoleico foi mais abundante nas leveduras. Em conjunto, os resultados reforçam o potencial do aproveitamento de resíduos agroindustriais para a geração sustentável de biomassa e lipídios microbianos, sustentando a aplicação de leveduras oleaginosas como plataformas promissoras para o desenvolvimento de análogos cárneos. Como etapa futura, recomenda-se aprofundar a avaliação do perfil lipídico por testes de estabilidade oxidativa e validar o desempenho em formulações alimentares.

Palavras-chave: glicerol bruto; lipídios; ureia; otimização; proteína.

ABSTRACT

Oleaginous yeasts have been investigated as a sustainable alternative for obtaining lipids and biomass with potential application in foods, including meat analogue products. In this context, this study aimed to evaluate oleaginous yeasts cultivated on low-cost substrates, with emphasis on crude glycerol, as a source of lipids and proteins for application in meat analogues. For this purpose, the cultivation conditions were optimized and the fatty acid profile of the biomasses was compared with bovine meats. The strains *Yarrowia lipolytica* CCMA 0357 and *Cystofilobasidium ferigula* CCMA 1623 were cultivated and characterized in terms of biomass and lipid production, in addition to the determination of total proteins in the dry biomass. Under the optimized conditions, a lipid content of 51.79% was observed for *Y. lipolytica* and 63.12% for *C. ferigula*. Additionally, the microbial biomasses demonstrated potential as a protein source, with $16.4 \pm 0.1\%$ (w/w) total proteins for *Y. lipolytica* and $12.1 \pm 0.1\%$ (w/w) for *C. ferigula*. The fatty acid profile analysis, comparatively evaluated by heatmap, showed that the major fatty acids in meats and yeasts were palmitic (C16:0) and stearic (C18:0), while myristic (C14:0), linoleic (C18:2), and oleic (C18:1) acids appeared in lower proportions; however, myristic acid stood out in meats, whereas linoleic acid was more abundant in yeasts. Taken together, the results reinforce the potential of using agro-industrial residues for the sustainable generation of microbial biomass and lipids, supporting the application of oleaginous yeasts as promising platforms for the development of meat analogues. As a future step, it is recommended to further evaluate the lipid profile through oxidative stability tests and to validate performance in food formulations.

Keywords: crude glycerol; lipids; urea; optimization; protein.

INDICADORES DE IMPACTO

A pesquisa desenvolvida neste trabalho apresenta impactos sociais, tecnológicos, econômicos e ambientais, ainda em grande parte potenciais, mas relevantes diante da crescente busca por alternativas sustentáveis na produção de alimentos. Do ponto de vista social e cultural, a utilização de lipídios e proteínas microbianas em produtos análogos cárneos pode diversificar a dieta da população, oferecendo alternativas mais saudáveis, acessíveis e alinhadas às mudanças de hábitos alimentares, que incluem o interesse por fontes de proteínas sustentáveis e pela redução do consumo de produtos de origem animal. No campo tecnológico e produtivo, o estudo contribui para o avanço do conhecimento sobre o uso de substratos de baixo custo, como glicerol bruto e melaço, na geração de biomassa microbiana. A otimização de parâmetros de cultivo e a análise do perfil lipídico e proteico fornecem subsídios para processos industriais mais eficientes e alinhados aos conceitos de biorrefinaria e economia circular. Do ponto de vista econômico, o aproveitamento de resíduos agroindustriais agrega valor a cadeias produtivas consolidadas, como as do biodiesel e da cana-de-açúcar, reduzindo custos e aumentando a utilização de subprodutos, que gera benefícios tanto para a indústria quanto para o meio ambiente. Na dimensão ambiental, a valorização desses resíduos contribui para a diminuição dos impactos de seu descarte inadequado, incentivando práticas de produção mais responsáveis. Embora o caráter do trabalho seja majoritariamente acadêmico, há potencial extensionista, pois os resultados podem atender demandas da sociedade e de setores industriais ligados à biotecnologia de alimentos e sustentabilidade, abrindo espaço para futuras parcerias com indústrias alimentícias, de biocombustíveis e políticas públicas de segurança alimentar e reaproveitamento de resíduos. O território diretamente impactado corresponde ao Brasil, país em que tanto a produção de biodiesel quanto a da cana-de-açúcar possuem grande importância econômica, beneficiando potenciais públicos como produtores rurais, indústrias e consumidores interessados em novas alternativas alimentares. De acordo com a Política Nacional de Extensão, os impactos identificados se relacionam às áreas de meio ambiente, saúde, tecnologia e produção e trabalho. Além disso, os resultados alinham-se a diversos Objetivos de Desenvolvimento Sustentável (ODS) da ONU, especialmente ao ODS 2 (fome zero e agricultura sustentável), ODS 3 (saúde e bem-estar), ODS 9 (indústria, inovação e infraestrutura), ODS 12 (consumo e produção responsáveis) e ODS 13 (ação contra a mudança global do clima). Assim, este estudo reforça a relevância das leveduras oleaginosas como plataformas biotecnológicas versáteis e promissoras, capazes de contribuir para sistemas alimentares mais equilibrados, inovadores e ambientalmente responsáveis.

IMPACT INDICATORS

The research developed in this work presents social, technological, economic, and environmental impacts, still largely potential but highly relevant in the current context of the growing search for sustainable alternatives in food production. From a social and cultural perspective, the use of microbial lipids and proteins in meat analog products can diversify the population's diet, offering healthier and more affordable alternatives aligned with changing eating habits, which increasingly include interest in sustainable protein sources and reduced consumption of animal-based products. From a technological and productive point of view, this study advances knowledge on the use of low-cost substrates, such as crude glycerol and molasses, in microbial biomass generation. The optimization of cultivation parameters and the analysis of lipid and protein profiles provide a foundation for more efficient industrial processes, in line with the concepts of biorefineries and circular economy. Economically, the valorization of agro-industrial residues adds value to established production chains, such as biodiesel and sugarcane, reducing costs while increasing the utilization of by-products, generating benefits for both industry and the environment. In environmental terms, the valorization of these residues contributes to reducing the impacts of improper waste disposal while encouraging more sustainable production practices. Although the research is primarily academic, it presents extensionist potential, as the results resonate with the demands of society and industrial sectors focused on food biotechnology and sustainability, opening space for future partnerships with the food industry, biofuel companies, and public policies related to food security and waste reutilization. The directly impacted territory is Brazil, a country where both biodiesel and sugarcane production have strategic economic importance, potentially benefiting rural producers, agribusiness industries, and consumers seeking sustainable dietary alternatives. According to the National Extension Policy, the impacts of this study are related to the areas of environment, health, technology and production, and labor. Furthermore, the results are aligned with several United Nations Sustainable Development Goals (SDGs), especially SDG 2 (Zero hunger and sustainable agriculture), SDG 3 (Good health and well-being), SDG 9 (Industry, innovation, and infrastructure), SDG 12 (Responsible consumption and production), and SDG 13 (Climate action). Thus, this work reinforces the relevance of oleaginous yeasts as versatile and promising biotechnological platforms capable of contributing to more balanced, innovative, and environmentally responsible food systems.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1	Fluxograma das etapas experimentais do trabalho	30
Figura 2	Superfícies de resposta (A e B), Diagrama de Pareto (C), gráfico de desejabilidade (D) para otimização do teor lipídico para a <i>Cystofilobasidium ferigula</i>	41
Figura 3	Superfícies de resposta (A e B), Diagrama de Pareto (C), gráfico de desejabilidade (D) para otimização do teor lipídico para a <i>Yarrowia lipolytica</i>	43
Figura 4	Heatmap do perfil de ácidos graxos em altas concentrações nas amostras analisadas	47
Figura 5	Heatmap do perfil de ácidos graxos em baixas concentrações nas amostras analisadas	47

LISTA DE TABELAS

Tabela 1	Parâmetros utilizados no delineamento composto central rotacional.....	33
Tabela 2	Matriz do delineamento composto central 2 ³ para avaliação da síntese lipídica utilizando diferentes concentrações de glicerol bruto, ureia e temperaturas como variáveis independentes.....	34
Tabela 3	Matriz do delineamento composto central 2 ³ para avaliação da síntese lipídica utilizando diferentes concentrações de glicerol bruto, ureia e temperaturas como variáveis independentes.....	35
Tabela 4	Produção de lipídeos (%) de leveduras em diferentes meios de cultivo...	38
Tabela 5	Composição de ácidos graxos (%) das leveduras (357 e 1623) em diferentes meios e da carne bovina (média dos cortes), com somatórios de saturados (Σ SFA) e insaturados (Σ UFA).	38
Tabela 6	Matriz de planejamento experimental para a produção de lipídios e por <i>Cystofilobasidium ferigula</i> (CCMA 1623) em fermentação submersa utilizando glicerol bruto como substrato, e valores das variáveis independentes utilizadas no Delineamento Composto Central (Concentração de carbono, concentração de ureia e temperatura)	40
Tabela 7	Matriz de planejamento experimental para a produção de lipídios e por <i>Yarrowia lipolytica</i> (CCMA 0357) em fermentação submersa utilizando glicerol bruto como substrato, e valores das variáveis independentes utilizadas no Delineamento Composto Central (Concentração de carbono, concentração de ureia e temperatura)	42
Tabela 8	Perfil de ácidos graxos (% área) dos ensaios pré-selecionados após a otimização e somatório de saturados e insaturados	44
Tabela 9	Teor lipídico (%) das amostras de carne (média e desvio padrão).	45
Tabela 10	Biomassa, lipídios e teor lipídico obtidos na validação nas condições otimizadas.	46
Tabela 11	Perfil de ácidos graxos (%) dos lipídios de leveduras na validação em maior volume (300 mL).	46
Tabela 12	Teor de proteínas totais (%) na biomassa seca em condições otimizadas	48

LISTA DE SIGLAS

CNPq	Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico
DCV	Doenças Cardiovasculares
EMBRAPA	Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária
GRAS	<i>Generally Recognized As Safe</i>
OD	Oxigênio dissolvido
AMP	Adenosina monofosfato
IDH	Isocitrato desidrogenase
LDs	Gotículas lipídicas
SCO	<i>Single cell oil</i>
SCP	<i>Single cell protein</i>
SCPO	<i>Single cell oils e single cell protein</i>
TAGS	Triacilgliceróis
UFLA	Universidade Federal de Lavras

SUMÁRIO

	PRIMEIRA PARTE	15
1	INTRODUÇÃO	15
2	REFERENCIAL TEÓRICO	16
2.1	Produção de lipídios por leveduras	16
2.2	Ácidos graxos sintetizados por leveduras	18
2.3	Leveduras e biomassa microbiana como fontes de óleos e proteínas unicelulares (SCO e SCP)	20
2.4	Utilização de fontes alternativas de carbono e nitrogênio para o cultivo de leveduras	21
2.5	Parâmetros de cultivo que interferem na síntese lipídica por leveduras	23
2.6	Perfil de ácidos graxos de carne e implicações nutricionais	25
	SEGUNDA PARTE – ARTIGO	26
	ARTIGO – POTENCIAL DE BIOMASSAS DE LEVEDURAS OLEAGINOSAS PARA APLICAÇÃO EM ANÁLOGOS CÁRNEOS: ANÁLISE INTEGRADA DE LIPÍDEOS E ÁCIDOS GRAXOS	27
	TERCEIRA PARTE	64
3	CONSIDERAÇÕES FINAIS	64
	REFERÊNCIAS	66

PRIMEIRA PARTE

1 INTRODUÇÃO

As leveduras oleaginosas têm ganhado destaque como plataformas biotecnológicas capazes de converter substratos de baixo custo em biomassa e em compostos de interesse industrial, especialmente lipídios microbianos (SHAIGANI *et al.*, 2021). Esse interesse se intensifica no cenário atual, em que setores alimentares enfrentam o desafio de conciliar demanda crescente por alimentos, qualidade nutricional e redução de impactos ambientais (BAJIĆ *et al.*, 2023). Em paralelo, observa-se o crescimento do mercado de produtos análogos cárneos, impulsionado por mudanças de hábitos alimentares e pela busca por alternativas que reduzam a dependência de matérias-primas de origem animal (ISMAIL; HWANG; JOO, 2020). Nesse contexto, lipídios microbianos são uma opção promissora para diversificar fontes de nutrientes e apoiar o desenvolvimento de alimentos mais sustentáveis (BAJIĆ *et al.*, 2023).

A construção de análogos cárneos que sejam nutricional e sensorialmente competitivos depende, entre outros fatores, da composição de macronutrientes e do perfil lipídico (VILA-CLARÀ *et al.*, 2024). Os lipídios participam diretamente da suculência, da textura e da percepção de sabor, além de influenciarem estabilidade durante processamento e armazenamento (DOMÍNGUEZ *et al.*, 2019; WANG *et al.*, 2023). Assim, a escolha da fonte lipídica não se limita ao teor total de gordura, mas também de quais ácidos graxos predominam, pois a proporção entre saturados, monoinsaturados e poli-insaturados influencia características tecnológicas e nutricionais (MARANGONI *et al.*, 2012; DOMÍNGUEZ *et al.*, 2019). Dessa forma, realizar a comparação do perfil de ácidos graxos de biomassas microbianas com o de cortes de carne bovina se torna uma estratégia pertinente para avaliar compatibilidades e direcionar aplicações em formulações alimentares (VILA-CLARÀ *et al.*, 2024).

Entre os microrganismos capazes de acumular lipídios intracelulares, as leveduras oleaginosas se destacam por apresentarem tolerância a variações nas condições de cultivo, flexibilidade metabólica e potencial para produção integrada de biomassa e óleo (SHAIGANI *et al.*, 2021). Em condições adequadas, especialmente sob limitação de nutrientes como nitrogênio, essas leveduras redirecionam o metabolismo para o acúmulo de lipídios de reserva, frequentemente na forma de triacilgliceróis, ao mesmo tempo em que geram biomassa com frações proteicas relevantes (PAPANIKOLAOU; AGGELIS, 2011; ABELN; CHUCK, 2021).

Além do microrganismo, o substrato é determinante para a viabilidade e economia do processo (LOPES DA SILVA *et al.*, 2023). O glicerol bruto (coproduto do biodiesel) e o melaço

(subproduto do setor sucroenergético), por exemplo, destacam-se como fontes de carbono de baixo custo e ampla disponibilidade, com potencial de valorização por bioconversão em rotas alinhadas à biorrefinaria e à economia circular (KOSAMIA *et al.*, 2020; ZHANG *et al.*, 2021; LEE *et al.*, 2023).

Entretanto, apesar do avanço dos estudos com leveduras oleaginosas e lipídios microbianos, a aplicação voltada a análogos cárneos ainda requer uma abordagem mais completa, que considere o cultivo em substratos residuais, a composição da biomassa (lipídios e proteínas) e o perfil de ácidos graxos (ISHAQ *et al.*, 2022; ISMAIL; HWANG; JOO, 2020). Não basta demonstrar a produção de lipídios: é necessário otimizar o cultivo e obter uma biomassa com bom teor lipídico, fração proteica relevante e perfil de ácidos graxos compatível com as características desejadas para produtos análogos cárneos (SHAIGANI *et al.*, 2021; ZHANG *et al.*, 2023; VILA-CLARÀ *et al.*, 2024). Nesse sentido, a comparação direta com cortes bovinos fornece um padrão de comparação, permitindo verificar em que medida a composição lipídica das biomassas microbianas se aproxima da carne e orientar decisões de aplicação em formulações alimentares (VILA-CLARÀ *et al.*, 2024; DE MARCHI *et al.*, 2021).

Diante desse contexto, o presente trabalho teve por objetivo avaliar o potencial de leveduras oleaginosas cultivadas em meio de glicerol bruto como fonte sustentável de lipídios e proteínas para aplicação em análogos cárneos, por meio da otimização das condições de cultivo e da comparação do perfil de ácidos graxos das biomassas microbianas com cortes de carne bovina.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 Produção de lipídios por leveduras

Os lipídios são reconhecidos como um grupo variado de compostos hidrofóbicos ou anfifílicos, sendo solúveis em solventes orgânicos apolares e insolúveis em água. Eles apresentam um papel crucial para a fisiologia das células, desempenhando diferentes funções como armazenamento de energia, sinalização celular e elementos estruturais (GHAZANI; MARANGONI, 2022).

Nos últimos tempos houve uma grande procura por lipídios. Esses compostos são matéria-prima para a produção de óleos e gorduras que, por sua vez, são ingredientes para a

formulação de produtos alimentares e biotecnológicos como o biodiesel (SZCZEPANSKA; HAPETA; LAZAR, 2021).

Os microrganismos são reconhecidos por serem produtores naturais de lipídios, compondo maior parte de suas membranas biológicas, como a membrana plasmática. Microrganismos que acumulam mais de 20% em teor de lipídios, com base no peso seco da célula, são classificados como microrganismos oleaginosos (JONES *et al.*, 2019; PATEL *et al.*, 2020).

Os microrganismos oleaginosos incluem leveduras, bactérias, microalgas e fungos (GHAZANI; MARANGONI, 2022). Entre eles, as leveduras se destacam como promissoras para a produção desses compostos. Isso se deve à sua eficiente capacidade de sintetizar lipídios, à habilidade de utilizar diversas fontes de carbono, muitas vezes de fácil acesso, e à viabilidade do cultivo em larga escala. Além disso, as leveduras oferecem vantagens adicionais devido à existência de diversas ferramentas de engenharia genética que podem ser empregadas para torná-las ainda mais eficazes na síntese e acúmulo lipídico (SZCZEPANSKA; HAPETA; LAZAR, 2021).

Existem mais de 160 espécies de leveduras não convencionais (não-Saccharomyces) descritas como oleaginosas. Porém, a quantidade de espécies relativamente bem descritas é baixa e inclui principalmente *Lipomyces starkeyi*, *Yarrowia lipolytica*, *Rhodotorula toruloides*, *Rhodotorula glutinis*, *Cutaneotrichosporon oleaginosus* e *Cutaneotrichosporon cutaneum* (MOTA; MÔGICA; SÁ-CORREIA, 2022).

Nos últimos dez anos, foram extensas as pesquisas nos gêneros de leveduras oleaginosas *Yarrowia*, *Rhodotorula*, *Lipomyces*, *Trichosporon* e *Candida*, com a intenção de avaliar estratégias apropriadas de engenharia e desenvolver técnicas e ferramentas genéticas adequadas (CHATTOPADHYAY; MAITI, 2021). Isto ocorre porque essas medidas de melhoramento genético têm se mostrado uma estratégia poderosa na melhoria da produção celular da biomolécula desejada (CHATTOPADHYAY; MAITI, 2021).

No entanto, a produção lipídica é altamente dependente das condições de cultivo e da composição do meio. Assim, a otimização de parâmetros de processo continua sendo fundamental (MOTA; MÔGICA; SÁ-CORREIA, 2022). Um exemplo bem-sucedido sobre a otimização do processo de produção foi descrito por Kumar *et al.* (2017). No estudo foram utilizados substratos com baixo custo (glicerol bruto e Licor de milho) para o cultivo da cepa de levedura *Pichia guilliermondii*, resultando numa fração lipídica (52,09% em peso) com potencial para ser usado como bioemulsionante extracelular e biodiesel.

Em geral, as rotas de biossíntese lipídica em leveduras incluem a formação de ácidos graxos, sua incorporação em lipídios de membrana (fosfolipídios) e/ou lipídios de armazenamento (principalmente triacilgliceróis) e, finalmente, a organização de lipídios de armazenamento em gotículas lipídicas (LDs), as quais servem de reserva energética. Os ácidos graxos são os componentes básicos dos lipídios e o acúmulo destes, em leveduras, pode ocorrer por meio de mecanismos conhecidos como “de novo” e “ex novo” (CHATTOPADHYAY; MAITI, 2021).

A síntese de ácidos graxos ocorre pela via “de novo” quando leveduras oleaginosas utilizam substratos hidrofílicos, como glicose e glicerol, como fonte de carbono sob condições de limitação de nutrientes (especialmente nitrogênio) (MOTA; MÔGICA; SÁ-CORREIA, 2022). Ao usar glicose como fonte exclusiva de carbono, ocorre sua conversão a piruvato no citosol (LIU *et al.*, 2021). O piruvato passa pela mitocôndria e é transformado em acetil-coA, precursor chave na síntese de ácidos graxos, por uma série de reações (CARSANBA; PAPANIKOLAOU; ERTEN, 2018). O acetil-coA pode seguir pelo ciclo de Krebs ou ser direcionado para a síntese de ácidos graxos no citoplasma. Nesse último caso, o acetil-coA não passa pela membrana da mitocôndria, então, geralmente quando há limitação de nutrientes (especialmente nitrogênio), citrato é secretado no citosol, passa pela membrana da mitocôndria e assim acetil-coA é produzido no citoplasma (LIU *et al.*, 2021).

Ácidos graxos livres presentes no meio de cultura são assimilados e incorporados em outras estruturas lipídicas, como triacilgliceróis (TAGS) e fosfolipídios, por leveduras através da via “ex novo” (LÓPEZ; VANDEPUTTE; VAN BOGAERT, 2022). Dentro da célula microbiana os ácidos graxos são modificados e usados para a multiplicação celular ou para a síntese de novas estruturas de ácidos graxos (CARSANBA; PAPANIKOLAOU; ERTEN, 2018).

Microrganismos podem sintetizar diversos ácidos graxos, formando hidrocarbonetos de diferentes comprimentos. Esses lipídios incluem cadeias hidrocarbonadas curtas e longas e podem apresentar-se como saturados, monoinsaturados ou polinsaturados, de acordo com a presença e do número de ligações duplas na cadeia (PATEL *et al.*, 2020).

2.2 Ácidos graxos sintetizados por leveduras

Os ácidos graxos são compostos formados por uma cadeia de hidrocarbonetos que contém um ácido carboxílico em sua extremidade, constituindo unidades estruturais dos lipídios (GALANTE; ARAÚJO, 2014). Os ácidos graxos que não apresentam ligações duplas entre seus

carbonos são conhecidos como saturados, enquanto aqueles que possuem ligações duplas em sua cadeia carbônica são denominados insaturados. Quando existe apenas uma ligação dupla, o ácido graxo é monoinsaturado, mas, quando apresenta mais de uma, é classificado como poli-insaturado (MORAN et al., 2013).

Nas leveduras oleaginosas, os lipídios acumulados são compostos predominantemente por ácidos graxos de cadeia C16 e C18, com destaque para os ácidos palmítico (C16:0), palmitoleico (C16:1), esteárico (C18:0), oleico (C18:1) e linoleico (C18:2). Em menores proporções, também podem ocorrer outros ácidos graxos, como o mirístico (C14:0) e, em algumas espécies, o linolênico (C18:3). A participação desses compostos varia conforme a espécie, a linhagem e as condições de cultivo, o que demonstra a variabilidade da composição lipídica das leveduras oleaginosas (CAPORUSSO; CAPECE; DE BARI, 2021; CHATTOPADHYAY; MAITI, 2021).

Essa composição influencia diretamente as propriedades funcionais da fração lipídica. Ácidos graxos saturados, como o palmítico (C16:0) e o esteárico (C18:0), tendem a contribuir para maior ponto de fusão, firmeza e consistência, enquanto ácidos graxos insaturados, como o oleico (C18:1) e o linoleico (C18:2), estão associados a maior fluidez. Além disso, a composição em ácidos graxos interfere no comportamento sensorial e tecnológico da gordura, aspecto importante quando se considera sua aplicação em alimentos (DINH; TO; SCHILLING, 2021).

Isso é relevante porque a gordura da carne apresenta predomínio de ácidos graxos monoinsaturados e saturados, com destaque para os ácidos oleico (C18:1), palmítico (C16:0) e esteárico (C18:0) (VALSTA; TAPANAINEN; MÄNNISTÖ, 2005). Assim, o estudo dos ácidos graxos sintetizados por leveduras vai além da quantificação lipídica, uma vez que a composição desses compostos pode aproximar os lipídios microbianos de perfis de interesse tecnológico para aplicações alimentícias, inclusive no desenvolvimento de ingredientes alternativos à gordura animal (CAPORUSSO; CAPECE; DE BARI, 2021; DINH; TO; SCHILLING, 2021).

2.3 Leveduras e biomassa microbiana como fontes de óleos e proteínas unicelulares (SCO e SCP)

Cada vez mais os consumidores vêm demonstrando interesse em consumir alimentos saudáveis. Para atender essas necessidades, os cientistas buscam formas inovadoras de produção de alimentos que ofereçam proteínas de fácil digestão e com composição equilibrada de aminoácidos (JACH; SEREFKO; ZIAJA; KIELISZEK, 2022). Neste contexto, a

bioconversão microbiana de materiais valiosos em células microbianas nutritivas representa uma alternativa sustentável ao sistema alimentar (ALVES *et al.*, 2023).

As proteínas unicelulares ou *Single cell proteins* (SCP) referem-se a células de microrganismos e representam uma fonte de proteína altamente promissora, sendo alternativa para diversas aplicações. SCP apresenta um rico perfil nutricional com aminoácidos e ácidos graxos, ácidos nucleicos, minerais e várias vitaminas (KOUKOUMAKI *et al.*, 2024).

As SCPs possuem uma ampla variedade de aplicações potenciais, com destaque para o seu uso como ingrediente alimentar na nutrição animal, aquicultura ou alimentos para animais de estimação. Há ainda o crescente interesse em seu uso para produtos de consumo humano, como suplementos ricos em nutrientes (PETERSON *et al.*, 2023).

As proteínas unicelulares são produzidas por vários microrganismos, como fungos, leveduras, bactérias e algas, muitos dos quais possuem status GRAS (*Generally Recognized As Safe*), portanto podem ser usados para alimentação humana e animal (KOUKOUMAKI *et al.*, 2024; ALVES *et al.*, 2023). Além de contribuir como fonte alimentar, a produção de *single cell proteins* surge como uma alternativa de reduzir o descarte de resíduos e o custo de produção, atendendo ao desenvolvimento sustentável (ALVES *et al.*, 2023).

A biomassa proteica de levedura é um produto biodisponível obtido principalmente quando substratos de resíduos baratos, como resíduos agrícolas e industriais, são utilizados como meio de cultura (JACH; SEREFKO; ZIAJA; KIELISZEK, 2022). A produção de *single cell oils* e *single cell protein* (SCPO) por meio da valorização da biomassa requer a conversão de diversos resíduos orgânicos da indústria agroalimentar em fontes alimentares abundantes em lipídios e proteínas, utilizando microrganismos unicelulares (PETERSON *et al.*, 2023).

Nos últimos anos, tem sido atribuída também uma atenção significativa aos lipídios microbianos, ou “*single cell oils*” (SCO), devido ao seu grande potencial para diferentes aplicações biotecnológicas e das suas propriedades atrativas, como a sustentabilidade e a renovabilidade (AYADI *et al.*, 2018). Além disso, esses compostos também atuam como fonte de nutrientes essenciais e são responsáveis por gerar sabores e off-flavors nos alimentos (SHAHIDI; HOSSAIN, 2022).

Atualmente, grande parte dos óleos e gorduras alimentares é proveniente de fontes animais e vegetais. No entanto, esforços globais estão sendo voltados para desenvolver plataformas alternativas de produção de lipídios, sendo os óleos microbianos uma alternativa promissora (SOFEO *et al.*, 2024).

2.4 Utilização de fontes alternativas de carbono e nitrogênio para o cultivo de leveduras

Produzir óleo unicelular utilizando leveduras oleaginosas é uma alternativa promissora aos lipídios obtidos de animais e plantas. No entanto, os custos do substrato para a fermentação microbiana é um fator limitante. Assim, o uso de fontes alternativas que substituam substratos como a glicose, para o cultivo de leveduras, é uma solução potencialmente econômica (SOFEO *et al.*, 2024).

Existe uma grande variedade de matérias-primas de baixo custo que são consideradas e utilizadas para a produção de SCOs. Normalmente, as fontes de carbono usadas para produzir óleo microbiano podem ser divididas em hidrofílicos e hidrofóbicos. As pesquisas que envolvem substratos baratos têm se concentrado principalmente em materiais hidrofílicos, como glicerol bruto, águas residuais e alguns substratos hidrofóbicos, como resíduos de processos industriais (QIN *et al.*, 2017).

Segundo Abeln e Chuck (2021) diferentes fontes de carbono têm sido empregadas na produção de lipídios por leveduras: sacarídeos simples, hidrolisados e glicerol (tanto bruto quanto puro) surgem como as mais comuns, totalizando cerca de 71% do material utilizado. Em contrapartida, ácidos graxos, águas residuais, óleos/gorduras e melaço/xaropes têm sido menos frequentemente utilizados, enquanto álcoois, aromáticos, extratos aquosos e outros resíduos são ainda menos comuns na prática.

O glicerol, também conhecido como glicerina, em seu estado puro, é um líquido incolor, inodoro e viscoso, que possui três grupos hidroxilas hidrofílicos, os quais são responsáveis pela sua solubilidade em água e sua natureza higroscópica (RAHMAT; ABDULLAH; MOHAMED, 2010). Normalmente ele é obtido através da reação de hidrólise e saponificação em plantas óleo-químicas, como principal subproduto. Além disso, também pode ser gerado por reações de transesterificação em fábricas de biodiesel (AMIN *et al.*, 2010).

O glicerol bruto é diferente do glicerol puro, pois geralmente contém impurezas, como água, metanol, sabão, ácidos graxos e ésteres metílicos de ácidos graxos. Ele é normalmente refinado para o glicerol puro, matéria prima importante para indústrias, incluindo de alimentos, bebidas e farmacêutica (LUO *et al.*, 2016).

O glicerol bruto tem um custo reduzido, pois possui baixo teor de pureza o que limita sua aplicação nas indústrias. Então, o desenvolvimento de processos que possam utilizar esse subproduto é intensivamente explorado (TAN; AZIZ; AROUA, 2013).

Existem uma ampla variedade de leveduras capazes de converter o glicerol em lipídios por meio da síntese de novo. O glicerol residual, derivado da fabricação de biodiesel, contém elementos que podem ser usados por microrganismos, sendo uma alternativa ao glicerol puro, cujo cultivo em larga escala de levedura é caro e impraticável (QIN *et al.*, 2017). Segundo Keita

et al. (2024), quando comparado ao biodiesel, o glicerol bruto obtido por meio do processo de hidrólise de gorduras pode ser mais compatível para a obtenção de lipídios, pois possui menor concentração de glicerol e metanol (KEITA *et al.*, 2020), compostos que inibem o crescimento celular.

A biomassa lignocelulósica é constituída principalmente por celulose, hemicelulose e lignina (YUAN *et al.*, 2021). Exemplos dessa biomassa incluem palha de arroz, bagaço de cana-de-açúcar e palha de trigo (PHILIPPINI *et al.*, 2020).

O uso da biomassa lignocelulósica tem a vantagem de não competir com alimentos, ração animal ou outros usos de terras aráveis. Além disso, ela pode ser fornecida em grande escala a partir de resíduos agrícolas, madeira e resíduos municipais e industriais (YUAN *et al.*, 2021).

Os resíduos lignocelulósicos, principalmente aqueles produzidos pelo setor agroindustrial, possuem um grande potencial como materiais de baixo custo para bioprocessos, devido a sua ampla disponibilidade e elevada quantidade de elementos ricos em açúcares e nutrientes. Esta biomassa pode ser empregada como fonte de carbono na fabricação de várias moléculas através de diferentes microrganismos (BALBINO *et al.*, 2023).

Uma vez que o subproduto lignocelulósico contém vários compostos, a eficiência da conversão dos açúcares em lipídios de alta qualidade é o principal desafio para as leveduras oleaginosas, visto que a maior parte delas tendem a consumir os açúcares em sequência, com forte preferência para a glicose (QIN *et al.*, 2017). Por outro lado, segundo BALBINO *et al.*, (2023) as leveduras têm sido usadas no bioprocessamento de biomassa lignocelulósica, devido a sua capacidade de metabolizar várias fontes de carbono C5 e C6.

Além do carbono, as fontes de nitrogênio também são essenciais para o desenvolvimento microbiano e incluem amônia, sais de amônio, ureia, nitrato e nitrogênio orgânico, presentes em diferentes substratos, como os de resíduos. Em algumas ocasiões, recomenda-se adicionar suplementos minerais ao meio de cultura com intuito de compensar as deficiências nutricionais, caso as concentrações sejam insuficientes para promover o crescimento adequado (REIHANI; KHOSRAVI-DARANI, 2019).

Extrato de levedura e peptona são exemplos de substratos complexos, porém caros, que ainda são amplamente usados em processos industriais. Produtos alternativos, como o licor de milho, é uma opção econômica e que contém nutrientes importantes (nitrogênio, aminoácidos, vitaminas e outros minerais) para o crescimento microbiano. Contudo, assim como ocorre com outros substratos complexos, há uma desvantagem no uso do licor de milho e que consiste em sua variabilidade de lote para lote, resultado das diferenças no processo de maceração, origem

do milho e outros efeitos sazonais. Assim, ao usar compostos complexos, essa variabilidade frequentemente torna o desempenho das fermentações inconsistentes (WAHJUDI *et al.*, 2023)

O efeito de fontes de nitrogênio sobre o crescimento microbiano e a formação de bioprodutos é mostrado em várias pesquisas. Em Brabender *et al.* (2018), é demonstrado a equivalência ou os benefícios da substituição do sulfato de amônio por ureia no crescimento de *Yarrowia lipolytica*. Segundo os autores, em termos de nitrogênio equivalente, a ureia é muito mais eficaz para o acúmulo de biomassa do que sulfato de amônio. Além disso, a ureia parece superar o sulfato de amônio ao utilizar glicose como fonte de carbono para a produção tanto de biomassa quanto de lipídios.

2.5 Parâmetros de cultivo que interferem na síntese lipídica por leveduras

Em leveduras oleaginosas, diversos fatores fisiológicos e ambientais influenciam o crescimento microbiano, a acumulação e o perfil lipídico. Dentre esses elementos estão: as espécies de leveduras utilizadas, composição do meio de cultura (como fonte de carbono (C) e fonte de nitrogênio (N)), estado fisiológico do inóculo, pH, temperatura e nível de oxigênio dissolvido (OD). A otimização desses parâmetros é essencial para alcançar altos níveis de produtividade e minimizar os custos de produção (MOTA; MÔGICA; SÁ-CORREIA, 2022).

O carbono é um recurso indispensável para a célula microbiana, visto que está envolvido em vários processos metabólicos. Para que ocorra o crescimento celular em leveduras oleaginosas é necessário que o carbono seja disponibilizado em excesso (GHAZANI; MARANGONI, 2022). As células incorporam o carbono mais rapidamente do que conseguem convertê-lo em novas células, assim elas encontram um mecanismo para armazenar o excesso de carbono, convertendo-o em lipídio (RATLEDGE; WYNN, 2002). De modo geral, fontes de carbono que são metabolizadas mais rápido, como a glicose, permitem maior rendimento de biomassa, no entanto o acúmulo de lipídios pode ser menor. Por outro lado, fontes mais complexas, como a xilose e a celobiose, permitem um acúmulo de lipídio maior (SILVA *et al.*, 2023).

Além do carbono, existem diversos outros nutrientes que são essenciais para o crescimento microbiano. Entre eles, o nitrogênio se destaca como um dos componentes mais importantes dos meios microbianos, sendo relevante para processos metabólicos, como biossíntese de nucleotídeos e aminoácidos (BRABENDER *et al.*, 2018).

Em leveduras oleaginosas, a formação e o armazenamento de lipídios ocorrem quando a fonte de carbono está em excesso, mas pelo menos um nutriente essencial, em especial o nitrogênio, está esgotado. Nessa fase oleaginosa, a divisão celular é desacelerada, entretanto a

assimilação de carbono continua e a síntese lipídica se desloca para a produção de lipídios de armazenamento na forma de triacilglicerol (TAG) (MCNEIL; STUART, 2018).

A limitação de nitrogênio no meio promove a decomposição da adenosina monofosfato (AMP) e quando há uma redução da concentração de AMP, a atividade da isocitrato desidrogenase (IDH) pode diminuir, induzindo o acúmulo de citrato nas mitocôndrias. Por sua vez, o citrato vai para o citosol, onde é transformado em acetil-CoA que é um precursor dos ácidos graxos (ZHANG *et al.*, 2022).

No que diz respeito à temperatura, esse é um dos parâmetros que mais influenciam no crescimento microbiano. Para o cultivo de diferentes microrganismos é comum usar uma temperatura entre 25 e 27 °C (REIHANI; KHOSRAVI-DARANI, 2019). Em relação à maioria das leveduras oleaginosas, a melhor temperatura para o crescimento é em torno de 30 °C (ROBLES-IGLESIAS *et al.*, 2023), embora o acúmulo de lipídios seja observado em *Yarrowia lipolytica* na faixa de 28°C (PAPANIKOLAOU *et al.*, 2002).

2.6 Perfil de ácidos graxos de carne e implicações nutricionais

Na gordura da carne bovina, o perfil costuma ser composto principalmente por ácidos graxos saturados e monoinsaturados, com destaque para C16:0 (palmítico), C18:0 (esteárico) e C18:1 (oleico). Em menores proporções, aparecem C14:0 (mirístico) e ácidos graxos poli-insaturados (PUFA) e, entre os PUFA, o C18:2 (linoleico) é o mais representativo (NOGOY *et al.*, 2022).

Esses ácidos graxos contribuem para características como estrutura, estabilidade, sabor, aroma e aspectos sensoriais e visuais dos alimentos (JORGE; MALACRIDA, 2014). Quando há maior participação de saturados, como C16:0 (palmítico) e C18:0 (esteárico), a porção lipídica tende a apresentar maior firmeza, pois esses ácidos graxos contribuem para maior ponto de fusão e maior consistência da gordura (DEVI; KHATKAR, 2016). De forma semelhante, o C14:0 (ácido mirístico), por ser saturado, também contribui para maior consistência da gordura e, em estudos controlados de substituição dietética, pode aumentar o LDL-colesterol quando substitui gorduras insaturadas (SACKS, 2017).

Por sua vez, o ácido oleico (C18:1) está associado a uma gordura com menor ponto de fusão e maior fluidez, o que se reflete em maior sensação de suculência e em melhor percepção sensorial da carne bovina (SMITH, 2016). Isso pode ser explicado pelo fato de a fase lipídica reter compostos aromáticos, e uma gordura mais fluida tender a favorecer a liberação desses voláteis durante a mastigação, intensificando a percepção de sabor (FRANK; JOO; WARNER, 2016).

Já o ácido linoleico (C18:2) e outros polinsaturados, embora geralmente estejam em menor proporção na composição lipídica da gordura, são relevantes por também participarem da formação do aroma durante o cozimento (MOTTRAM, 1998). Ao mesmo tempo, quanto maior a fração de polinsaturados, maior tende a ser a suscetibilidade à oxidação lipídica, o que pode reduzir a estabilidade e favorecer a formação de odores e sabores, como amargor, quando há exposição a oxigênio, luz e temperaturas mais altas, especialmente durante o processamento e o armazenamento (DOMÍNGUEZ et al., 2019).

O C18:2 (ácido linoleico) é um ácido graxo poli-insaturado essencial. Isso significa que o corpo humano não consegue produzi-lo, então ele precisa ser obtido pela alimentação (WHELAN; FRITSCHÉ, 2013). Em estudos clínicos, quando a ingestão de ácido linoleico aumenta, o LDL-colesterol tende a diminuir, principalmente quando ele substitui parte das gorduras saturadas da dieta (WANG et al., 2023). Além disso, uma meta-análise com estudos de acompanhamento mostrou que pessoas que consomem mais ácido linoleico têm menor risco de desenvolver doença coronariana, reforçando a importância desse PUFA na alimentação (FARVID et al., 2014). Além da importância nutricional, os ácidos graxos poli-insaturados também desempenham funções relevantes no organismo, por integrarem os fosfolipídios de membrana, influenciarem propriedades celulares e atuarem como precursores de mediadores lipídicos (CALDER, 2015; DYALL et al., 2022).

SEGUNDA PARTE

Artigo - Elaborado conforme a norma NBR 6022	
Título do artigo:	Potencial de biomassas de leveduras oleaginosas para aplicação em análogos cárneos: análise integrada de lipídeos, ácidos graxos e proteínas
Autores:	Maíra Beserra Barbosa de Souza Disney Ribeiro Dias Andreísa Teixeira de Castro Rosane Freitas Schwan



ARTIGO - POTENCIAL DE BIOMASSAS DE LEVEDURAS OLEAGINOSAS PARA APLICAÇÃO EM ANÁLOGOS CÁRNEOS: ANÁLISE INTEGRADA DE LIPÍDEOS E ÁCIDOS GRAXOS

ARTICLE TITLE - POTENTIAL OF OLEAGINOUS YEAST BIOMASS FOR APPLICATION IN MEAT ANALOGUES: AN INTEGRATED ANALYSIS OF LIPIDS AND FATTY ACIDS.¹

Maíra Beserra Barbosa de Souza

<https://orcid.org/0009-0000-0570-6051>

Disney Ribeiro Dias

<https://orcid.org/0000-0002-1010-1484>

Andreísa Teixeira de Castro

<https://orcid.org/0000-0001-7465-8954>

Rosane Freitas Schwan

<https://orcid.org/0000-0003-1320-8882>

Resumo: Leveduras oleaginosas têm sido estudadas como fonte alternativa de lipídios e biomassa para aplicações em alimentos, incluindo o desenvolvimento de produtos análogos cárneos. Neste trabalho, foram comparados os perfis de ácidos graxos das biomassas de *Yarrowia lipolytica* CCMA 0357 e *Cystofilobasidium ferigula* CCMA 1623 com amostras de carne bovina, utilizando uma abordagem visual por heatmap. Os resultados indicaram sobreposição nos ácidos graxos predominantes entre leveduras e carne, com destaque para C16:0 (palmítico) e C18:0 (esteárico). Em contrapartida, observaram-se diferenças no balanceamento entre saturados e insaturados. As leveduras apresentaram maior participação de C18:2 (linoleico), enquanto as amostras de carne bovina apresentaram maior destaque relativo para C14:0 (mirístico). Em conjunto, os achados sugerem que as biomassas lipídicas das leveduras compartilham ácidos graxos predominantes com a carne bovina (principalmente C16:0 e C18:0). Esses resultados indicam potencial de aplicação como ingrediente lipídico, porém a confirmação do desempenho em produtos análogos cárneos depende de avaliações complementares, como estabilidade oxidativa, comportamento térmico (perfil de fusão) e desempenho tecnológico em formulações (textura e sensorial).

Palavras-chave: leveduras oleaginosas; ácidos graxos; glicerol bruto; carne bovina; análogos cárneos.

¹ Artigo científico apresentado à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Microbiologia Agrícola, área de concentração em Microbiologia Agrícola.

Abstract: Oleaginous yeasts have been studied as an alternative source of lipids and biomass for food applications, including the development of meat analog products. In this study, the fatty acid profiles of the biomass from *Yarrowia lipolytica* CCMA 0357 and *Cystofilobasidium ferigula* CCMA 1623 were compared with samples of beef, using a visual heatmap-based approach. The results indicated overlap in the predominant fatty acids between yeasts and beef, with emphasis on C16:0 (palmitic) and C18:0 (stearic). In contrast, differences were observed in the balance between saturated and unsaturated fatty acids. The yeasts showed a higher proportion of C18:2 (linoleic), whereas the beef samples showed a relatively greater contribution of C14:0 (myristic). Overall, the findings suggest that yeast lipid biomass shares predominant fatty acids with beef (mainly C16:0 and C18:0). These results indicate potential for application as a lipid ingredient; however, confirming performance in meat analog products depends on complementary evaluations, such as oxidative stability, thermal behavior (melting profile), and technological performance in formulations (texture and sensory attributes).

Keywords: oleaginous yeasts; fatty acids; crude glycerol; beef; meat analogues.

1 INTRODUÇÃO

As leveduras oleaginosas vêm demonstrando elevado potencial biotecnológico para a produção de ingredientes alimentares, contribuindo significativamente para a construção de sistemas alimentares mais diversificados e sustentáveis (SIVADAS et al., 2026). Esses microrganismos apresentam atributos que os tornam atrativos para a indústria alimentícia, destacando-se pela notável versatilidade metabólica, pela elevada escalabilidade dos processos de cultivo e pela eficiência na síntese de compostos de alto valor agregado, como os óleos unicelulares (*Single Cell Oils* – SCOs) e as proteínas unicelulares (*Single Cell Proteins* – SCPs) (PETERSON et al., 2023; SZCZEPANSKA; HAPETA; LAZAR, 2021).

Os *Single Cell Oils* são lipídios que microrganismos oleaginosos acumulam no interior das células, enquanto as *Single Cell Proteins* correspondem ao aproveitamento da biomassa microbiana como fonte proteica (AYADI et al., 2018; KOUKOUMAKI et al., 2024). Esses bioprodutos vêm ganhando espaço na biotecnologia alimentar porque podem funcionar como fontes sustentáveis de nutrientes, produzidas por microrganismos de crescimento rápido e capazes de utilizar substratos de menor custo, incluindo resíduos agroindustriais (PETERSON et al., 2023). Nesse cenário, as leveduras se sobressaem por ajustar o metabolismo às condições do meio e direcionar a rota produtiva para maior acúmulo de lipídios ou maior formação de biomassa proteica conforme a disponibilidade de nutrientes (KANTAR; KOUBAA, 2022; SAWANGKEAW; NGAMPRASERTSITH, 2013).

Diversos estudos indicam que os lipídios sintetizados por leveduras oleaginosas apresentam composição e perfil de ácidos graxos semelhantes aos encontrados em produtos cárneos (Gallego-García et al., 2023; Småros et al., 2025). Essa semelhança confere a esses compostos um papel promissor na formulação de alimentos *plant-based*, atendendo à crescente demanda por produtos que não sejam de origem animal, uma vez que podem contribuir para reproduzir características sensoriais típicas da carne, como sabor, suculência e textura (SMÅROS et al., 2025). No entanto, a predominância de ácidos graxos insaturados nos óleos de levedura resulta em uma natureza majoritariamente líquida, o que representa um desafio para a substituição de gorduras sólidas em determinadas formulações alimentares, nas quais a consistência e a plasticidade são essenciais para a textura e a sensação na boca (SIVADAS et al., 2026).

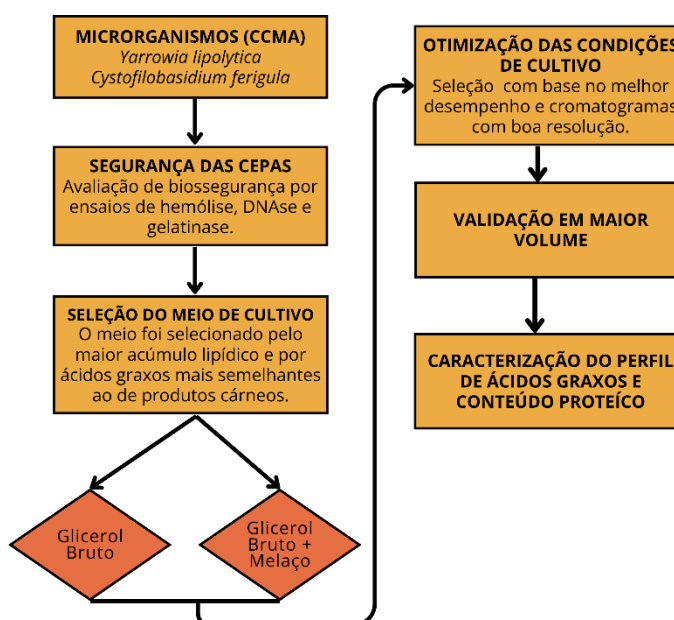
Nesse cenário, compreender e otimizar a produção lipídica de leveduras oleaginosas torna-se fundamental para o avanço de alternativas biotecnológicas aplicáveis à indústria de alimentos sustentáveis. Assim, o presente trabalho teve como objetivo otimizar as condições de cultivo, variando temperatura, concentração de ureia e proporção de glicerol bruto, a fim

de identificar o conjunto de parâmetros capaz de favorecer a produção de lipídios com composição e perfil de ácidos graxos semelhantes aos encontrados em produtos cárneos. Além disso, buscou-se empregar fontes de baixo custo, como o glicerol bruto e a ureia, visando reduzir os custos do processo e contribuir para a viabilidade econômica e ambiental da produção de óleos microbianos.

2 METODOLOGIA

2.1 Descrição das etapas do experimento

Figura 1 – Fluxograma das etapas experimentais do trabalho.



Fonte: Elaborado pela autora (2026)

Foram utilizadas duas espécies de leveduras oleaginosas pertencentes à Coleção de Cultura da Microbiologia Agrícola (CCMA): *Yarrowia lipolytica* e *Cystofilobasidium ferigula*. Inicialmente, realizou-se a pré-seleção por meio de testes de segurança das cepas, incluindo ensaios de hemólise, DNase e gelatinase, visando verificar características relacionadas à biossegurança.

Na sequência, foi conduzida a etapa de seleção do meio de cultivo. As cepas foram cultivadas em dois meios: um contendo apenas glicerol bruto como fonte de carbono e outro contendo glicerol bruto suplementado com melaço. Ao final do cultivo, a biomassa foi coletada e submetida à extração lipídica para quantificação do acúmulo de lipídios. Em paralelo, o perfil de ácidos graxos foi avaliado de forma comparativa, considerando a

similaridade com produtos cárneos. Assim, para cada cepa, foi selecionado o meio que apresentou maior acúmulo lipídico associado ao perfil de ácidos graxos mais semelhante ao de produtos cárneos, sendo esse o meio empregado nos ensaios subsequentes.

Com o meio selecionado, foram realizados ensaios de otimização das condições de cultivo, variando-se parâmetros como concentração de glicerol, concentração de ureia e temperatura, com o objetivo de identificar combinações que favorecessem maior acúmulo de lipídios. A partir dos resultados, foram escolhidas as condições de melhor desempenho (maior teor lipídico), priorizando cromatogramas com boa resolução e picos bem definidos, de modo a assegurar maior confiabilidade na identificação dos compostos, bem como a similaridade com o perfil lipídico da carne bovina. Assim, foram definidas as condições selecionadas para a etapa de validação.

Posteriormente, foi realizada a validação das condições definidas em maior volume (300 mL), com a finalidade de confirmar a reprodutibilidade e a consistência dos resultados obtidos (biomassa, lipídios e teor lipídico). Por fim, na etapa de caracterização, as biomassas produzidas nas condições validadas foram analisadas quanto ao perfil de ácidos graxos e ao conteúdo proteico.

2.2 Reativação e cultivo das leveduras oleaginosas

Conforme estudos prévios e literatura especializada foram selecionadas duas espécies de leveduras oleaginosas pertencentes à Coleção de Cultura da Microbiologia Agrícola (CCMA, Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG, Brasil) (HUANG et al., 2013; KARAMEROU; WEBB, 2019; SOUZA et al., 2017; SOUZA; SCHWAN; DIAS, 2014; CASTRO et al., 2025).

Os microrganismos foram inicialmente reativados em microtubos (Eppendorf) contendo 2 mL de meio YEPG, composto por 10 g/L de extrato de levedura, 20 g/L de peptona e 20 g/L de glicose. Em seguida, o cultivo para propagação do inóculo foi realizado em frascos contendo 200 mL de meio YEPG, incubados por 24 horas a 28 °C.

2.3 Segurança da cepa

Para investigar a segurança das cepas selecionadas, foram avaliadas a atividade hemolítica, atividade de DNase e capacidade de hidrólise de gelatina, segundo a metodologia descrita por Sales *et al.*, 2023.

De início, as cepas de levedura foram cultivadas em ágar sangue (KASVI, São José dos Pinhais, PR, Brasil) e incubadas a 28°C por 48 horas. Então, as placas foram examinadas para detectar sinais de atividade β -hemolítica (halos transparentes ao redor das colônias), α -hemolítica (halos verdes ao redor das colônias) e γ -hemolítica (sem halos ao redor das colônias).

Após o teste anterior, as leveduras foram cultivadas em ágar DNase. As placas foram incubadas a 28°C por 48 horas, seguido da adição de HCl (1M) às colônias. A formação de um halo transparente ao redor das colônias é considerada positiva para produção de DNase.

A produção de gelatinase das cepas foram avaliadas utilizando ágar triptona-neopeptona-dextrose (g L^{-1} : 17,0 triptona, 3,0 neopeptona, 2,5 dextroses, 5,0 NaCl, 2,5 K_2HPO_4 e 20,0 agar) contendo 0,4% de gelatina. As placas de Petri com o meio foram inoculadas com a cultura de teste e incubadas a 37°C por 48 horas. Após a incubação, uma solução saturada de sulfato de amônio foi adicionada sobre toda a placa de Petri. O resultado é positivo quando se formam halos transparentes ao redor das colônias.

Os três testes mencionados foram realizados em triplicatas, e uma cepa de *Staphylococcus aureus* foi utilizada como controle positivo.

2.4 Substrato para a produção de lipídios

Os cultivos foram realizados utilizando glicerol bruto e glicerol bruto suplementado com melaço como fontes de carbono, e ureia como fonte de nitrogênio. O glicerol bruto foi fornecido pelo Laboratório de Biodiesel da Universidade Federal de Lavras (UFLA), o melaço foi fornecido pela usina sucroalcooleira e a ureia foi adquirida da empresa Química Moderna.

2.5 Amostras de carne bovina e hambúrguer

As amostras de carne bovina foram obtidas em açougue local, localizado na cidade de Lavras - MG, adquiridas no mesmo dia das análises e mantidas sob refrigeração até o processamento. Foram selecionados os seguintes cortes: paleta, fraldinha, acém e patinho. Além desses cortes, foi analisado um hambúrguer bovino industrializado, adquirido em comércio local, identificado como *Beef Burger com Bacon* (marca Friboi). De acordo com as informações do rótulo, o produto é composto por carne bovina, gordura bovina, bacon, água, sal, especiarias, antioxidantes e conservantes autorizados para produtos cárneos processados. O produto foi mantido sob refrigeração e aberto apenas no momento do preparo.

2.6 Condições de cultivo submerso e seleção do meio de cultivo

Cada levedura foi cultivada separadamente em dois meios de fermentação. O meio à base de glicerol bruto foi preparado com (g/L): glicerol bruto (40), ureia (1), glicose (5,0), Tween 80 (0,5) e CaCl_2 (1,1), com pH ajustado para 6,0. O meio suplementado com melaço continha (g/L): melaço (20), glicerol bruto (10), ureia (1), glicose (5,0), Tween 80 (0,5) e CaCl_2 (1,1).

A inoculação dos isolados de levedura (10^7 células/mL) foi realizada em frascos de 250 mL contendo 150 mL de meio de fermentação. Os frascos foram incubados por 96 horas a 28 °C, sob agitação de 150 rpm, utilizando um agitador orbital (Max 400, modelo 4328; Thermo Scientific, Marietta, OH, EUA). Foram retiradas amostras do meio de fermentação nos tempos de 0, 48 e 96 horas, permitindo o acompanhamento do crescimento das leveduras por meio da contagem de células na câmara de Neubauer.

Os ensaios foram realizados em triplicata, seguindo metodologia adaptada (composição do meio de cultivo) conforme descrito por Souza et al. (2017). Após o cultivo, foram realizadas as etapas de extração, quantificação e a identificação dos ácidos graxos presentes nas biomassas, conforme metodologia descrita no item 3.7.2.

2.7 Avaliação da síntese de lipídios

2.7.1 Planejamento Experimental

Após a seleção do meio com maior acúmulo lipídico, a otimização do cultivo das cepas *Y. lipolytica* e *C. ferigula* foi realizada por meio do Delineamento Composto Central (DCC). As variáveis avaliadas no processo de otimização estão apresentadas na Tabela 1, na qual são relacionados os fatores do processo e seus respectivos valores codificados, de acordo com os níveis inferior, central e superior.

Tabela 1- Parâmetros utilizados no delineamento composto central rotacional.

Parâmetros	Código	Níveis		
		-1	0	+1
Concentração de glicerol bruto (g/L)	X1	30	40	50

Concentração de ureia (g/L)	X2	0,2	0,5	0,8
Temperatura (°C)	X3	18	25	32

Fonte: Elaborado pela autora (2026)

Foram realizados 17 ensaios de acordo com a matriz de planejamento fatorial 2^3 do Delineamento Composto Central Rotacional (DCC), conforme apresentado na Tabela 2.

Tabela 2 - Matriz do delineamento composto central 2^3 para avaliação da síntese lipídica utilizando diferentes concentrações de glicerol bruto, ureia e temperaturas como variáveis independentes.

Ensaio	Variáveis codificadas			Variáveis reais		
	X1	X2	X3	Concentração de glicerol bruto (g/L)	Concentração de ureia (g/L)	Temperatura (°C)
1	-1	-1	-1	30	0,2	18
2	+1	-1	-1	50	0,2	18
3	-1	+1	-1	30	0,8	18
4	+1	+1	-1	50	0,8	18
5	-1	-1	+1	30	0,2	32
6	+1	-1	+1	50	0,2	32
7	-1	+1	+1	30	0,8	32
8	+1	+1	+1	50	0,8	32

Tabela 3 - Matriz do delineamento composto central 2³ para avaliação da síntese lipídica utilizando diferentes concentrações de glicerol bruto, ureia e temperaturas como variáveis independentes.

Ensaio	Variáveis codificadas			Variáveis reais		
	X1	X2	X3	Concentração de glicerol bruto (g/L)	Concentração de ureia (g/L)	Temperatura (°C)
9	-1	0	0	30	0,5	25
10	+1	0	0	50	0,5	25
11	0	-1	0	40	0,2	25
12	0	+1	0	40	0,8	25
13	0	0	-1	40	0,5	18
14	0	0	+1	40	0,5	32
15	0	0	0	40	0,5	25
16	0	0	0	40	0,5	25
17	0	0	0	40	0,5	25

Fonte: Elaborado pela autora (2026)

Os resultados apresentados pelo modelo experimental aplicado foram avaliados utilizando o *Software Statistica Release* versão 7.1, Stat Soft. Inc., USA.

2.7.2 Extração de lipídeos da biomassa de leveduras e amostras de carnes e identificação de ácidos graxos por CG-MS.

A extração dos lipídios provenientes das células leveduriformes foi realizada de acordo com a metodologia descrita por Souza et al. (2017), com algumas modificações. Inicialmente, a biomassa foi seca em estufa a 70 °C por 12 horas. Em seguida, a biomassa

seca foi submetida à digestão ácida para rompimento da parede celular das leveduras. Nessa etapa, o volume total da biomassa seca foi finamente triturado e adicionado a um tubo contendo 5 mL de HCl 2 M. O tubo foi mantido em banho-maria a 80 °C por 1 hora. Após esse período, o material foi resfriado e centrifugado a 2.000 rpm por 15 minutos e o sobrenadante descartado.

A etapa de extração lipídica foi conduzida utilizando-se uma solução de clorofórmio/metanol (2:1 v/v). Após a adição da solução, a mistura foi centrifugada, originando um sistema trifásico composto por uma fase inferior líquida (clorofórmio com lipídios), uma fase interfacial (biomassa residual) e uma fase superior (metanol e água). A fase inferior foi cuidadosamente coletada, e o procedimento foi repetido duas vezes para garantir a extração completa dos lipídios. Ao final, os lipídios obtidos foram dissolvidos em clorofórmio, o solvente foi evaporado e o conteúdo lipídico foi determinado em base de massa seca (% p/p). Os lipídios extraídos foram posteriormente convertidos em ésteres metílicos de ácidos graxos (FAMES), conforme Bellou et al. (2016).

A extração de lipídios totais das amostras de carne foi realizada pelo método de Bligh e Dyer (1959), conforme aplicado para matrizes cárneas por Pérez-Palacios et al. (2008). Para cada amostra, 5 g de carne previamente homogeneizada foram transferidos para recipiente apropriado e adicionou-se 15 mL da mistura clorofórmio:metanol (1:2, v/v), foi realizada a homogeneização para extração dos lipídios. Em seguida, a suspensão foi centrifugada e filtrada, e o resíduo sólido foi submetido a uma nova extração com 5 mL de clorofórmio. Os extratos obtidos foram reunidos e adicionou-se 5 mL de água destilada, com agitação vigorosa para formação do sistema bifásico. Após a separação das fases, a fase aquosa superior foi descartada e a fase orgânica inferior (clorofórmica) foi passada por sulfato de sódio anidro para remoção de umidade. A quantificação de lipídios foi realizada após evaporação do solvente e secagem do extrato lipídico até obtenção de massa constante.

A análise cromatográfica foi realizada de acordo com a metodologia descrita por Singh et al. (2020), com adaptação da coluna. As amostras foram analisadas em um sistema GC/MS (modelo GCMS-QP2010SE; Shimadzu, Tóquio, Japão) equipado com coluna capilar Rtx-5MS (30 m × 0,25 mm × 0,25 µm) e detector de quadrupolo.

Foi utilizado um sistema de ionização por elétrons (70 eV), com gás de arraste hélio (99,99%) a um fluxo constante de 1,1 mL/min. A temperatura do injetor foi ajustada para 250 °C e a linha de transferência para 220 °C. A programação do forno iniciou-se a 50 °C, mantida por 2 min, seguida de aumento de 4 °C/min até 220 °C, permanecendo por 10 min; em seguida atingiu 250 °C, mantidos por 2 min. Injetou-se 1 µL de amostra no modo split (10:1), e os

sinais foram registrados no modo varredura total (20–600 m/z). Os ácidos graxos foram identificados por comparação dos espectros de massa com a biblioteca NIST (GC/MS Solution v2.6) e, após a identificação, foi realizada a quantificação relativa em porcentagem, considerando-se a soma das áreas dos picos igual a 100%.

2.7.3 Análise estatística

Os dados obtidos após a realização do item 2.7.2 foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e as médias foram comparadas pelo teste de Tukey, utilizando o software Sisvar (versão 5.6). As diferenças foram consideradas estatisticamente significativas quando $p < 0,05$.

2.8 Cultivo em maior volume (300 mL) para validação das condições otimizadas

Para a etapa de validação em maior volume (300 mL), foram selecionadas duas condições da etapa de otimização previamente conduzida (Seção 2.7), uma para cada linhagem. A escolha foi feita após a triagem dos ensaios, considerando o maior teor lipídico, a qualidade do cromatograma (picos mais intensos e bem resolvidos na região dos principais ácidos graxos) e a distribuição de ácidos graxos saturados e insaturados (SFA/UFA) mais próxima ao perfil observado na carne, com o objetivo de assegurar confiabilidade na identificação/quantificação e orientar a seleção das condições mais adequadas à comparação proposta no estudo. Assim, foram escolhidas as condições correspondentes ao Ensaio 1 (CCMA 0357: 30 g/L de glicerol, 0,2 g/L de ureia e 18 °C) e ao Ensaio 7 (CCMA 1623: 30 g/L de glicerol, 0,8 g/L de ureia e 32 °C) para o cultivo em maior volume.

2.9 Análise de proteínas

Para análise de proteínas totais, 100 mL de biomassa centrifugada foram secos em estufa a 70 °C até peso constante. A biomassa seca foi triturada em cadinho de porcelana com auxílio de pistilo. Uma massa de 0,15 g da biomassa foi encapsulada em folha de estanho e analisada em analisador automático de nitrogênio LECO® FP828 (LECO Corporation, Michigan, EUA), para determinação da porcentagem de proteínas totais pelo método de combustão de Dumas, conforme descrito pela AOAC (1990). O teor de proteína bruta foi obtido a partir da quantificação do nitrogênio total, utilizando-se o fator de conversão 6,25.

3 RESULTADOS

3.1 Avaliação da segurança das cepas por testes enzimáticos

As leveduras *Yarrowia lipolytica* (CCMA 0357) e *Cystofilobasidium ferigula* não apresentaram atividade hemolítica quando cultivadas em ágar sangue, sendo classificadas como γ -hemolíticas, ou seja, sem formação de halo ao redor das colônias.

Da mesma forma, ambas as cepas não apresentaram formação de halos transparentes em ágar DNase, o que indica ausência de produção da enzima DNase. No teste de hidrólise de gelatina, também não foram observados halos ao redor das colônias, sugerindo que não houve atividade de gelatinase. A cepa controle positiva (*Staphylococcus aureus*) apresentou os resultados esperados em todos os ensaios, validando a metodologia aplicada.

3.2 Produções de lipídeos pelas leveduras em diferentes meios de cultivo

Tabela 4 - Produção de lipídeos (%) de leveduras em diferentes meios de cultivo.

Leveduras	Meios de cultivo		SE
	Melaço + glicerol bruto	Glicerol bruto	
<i>Y. lipolytica</i> (CCMA 0357)	27,6Bb	59,6Ba	2,07
<i>C. ferigula</i> (CCMA 1623)	47,3Ab	72,0Aa	

Legenda: Letras minúsculas nas linhas comparam meios de cultivo e letras maiúsculas nas colunas comparam as leveduras. Letras diferentes indicam diferença significativa ($p < 0,05$) pelo teste de Tukey. Programa estatístico R (R i386 3.3.3). SE = Erro padrão

Fonte: Elaborado pela autora (2026).

A Tabela 4 mostra que a produção de lipídios pelas leveduras *Yarrowia lipolytica* (CCMA 0357) e *Cystofilobasidium ferigula* (CCMA 1623) variou significativamente entre os meios de cultivo testados. O meio composto apenas por glicerol bruto proporcionou maior acúmulo lipídico em ambas as espécies, em comparação ao meio contendo melaço e glicerol bruto.

Tabela 5 - Composição de ácidos graxos (%) das leveduras (357 e 1623) em diferentes meios e da carne bovina (média dos cortes), com somatórios de saturados (Σ SFA) e insaturados (Σ UFA).

Amostra	C14:0	C16:0	C16:1	C18:0	C18:1	C18:2	C18:3	C20:0	C22:0	C24:0	ΣSFA	ΣUFA
357 GB	0.0	83.6	0.0	7.3	3.4	5.7	0.0	0.0	0.0	0.0	90.9	9.1
357 GBM	1.2	55.1	0.5	6.7	0.0	36.5	0.0	0.0	0.0	0.0	63.0	37.0
1623 GB	2.9	73.2	0.0	8.0	5.2	10.8	0.0	0.0	0.0	0.0	84.0	16.0
1623 GBM	1.3	57.5	0.3	10.5	11.1	18.6	0.0	0.4	0.3	0.0	69.9	30.1
Carne (média)	10.8	32.4	2.7	30.0	14.5	1.1	0.0	0.2	0.0	0.0	73.4	18.3

Legenda: GB = glicerol bruto; GBM = glicerol bruto suplementado com melaço.

Nota: ΣSFA = saturados; ΣUFA = insaturados. “Carne (média)” = média aritmética simples dos cortes (acém, fraldinha, paleta, patinho e hambúrguer) por ácido graxo, desconsiderando valores ausentes.

Fonte: Elaborado pela autora (2026).

Os lipídeos das leveduras foram predominio por C16:0 e C18:0, com variação dos insaturados conforme o meio. Para a linhagem 357, o cultivo em glicerol bruto concentrou maior proporção de saturados (ΣSFA = 90,9%) e menor de insaturados (ΣUFA = 9,1%), enquanto o meio de melaço com glicerol bruto elevou C18:2 e aumentou os insaturados (ΣUFA = 37,0%). Na linhagem 1623, o meio de melaço com glicerol bruto aumentou C18:1 (11,1%) e também os insaturados (ΣUFA = 30,1%) em relação ao glicerol bruto (ΣUFA = 16,0%). A carne bovina (média dos cortes) apresentou maiores proporções de C18:0 (30,0%) e C18:1 (14,5%) e menor proporção de C18:2 (1,1%). Assim, com base nos resultados obtidos, optou-se por seguir os procedimentos metodologicos com o meio composto apenas por glicerol bruto, que apresentou maior acúmulo lipídico associado a composição de ácidos graxos mais semelhante ao de produtos cárneos.

3.3 Otimização da produção de lipídeos sob diferentes condições de cultivo em glicerol bruto

3.3.1 *Cystofilobasidium ferigula* (CCMA 1623)

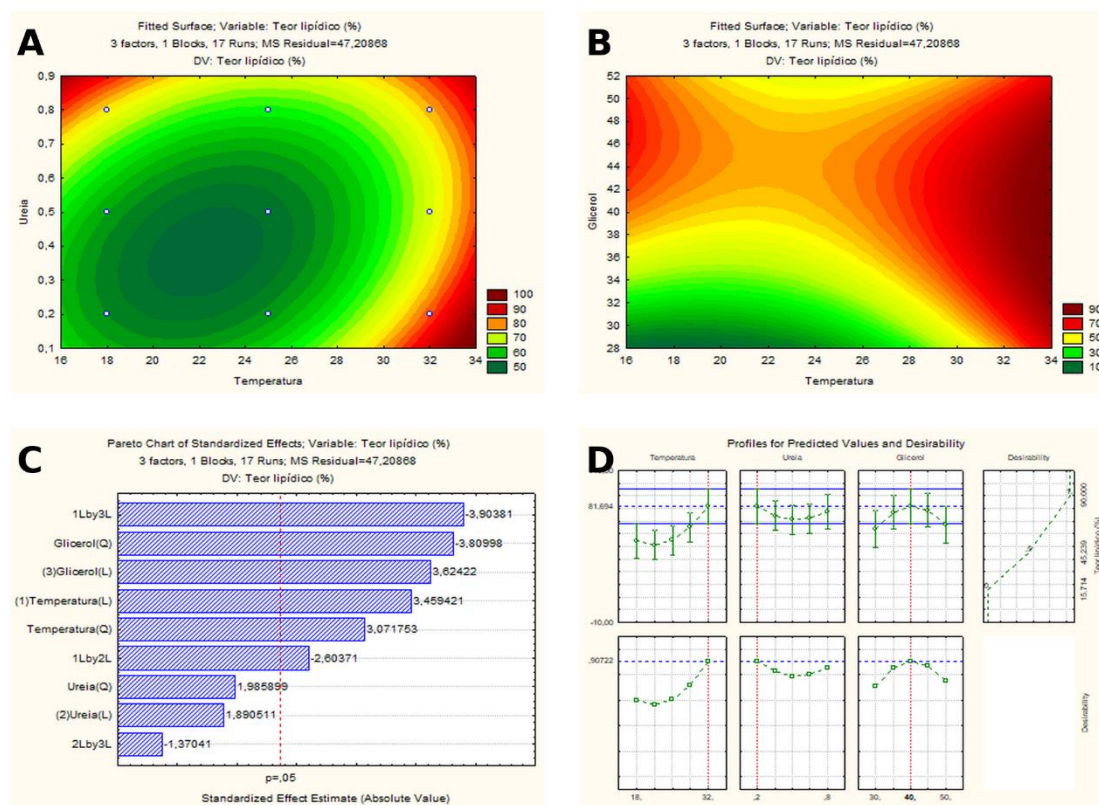
Tabela 6 - Matriz de planejamento experimental para a produção de lipídios e por *Cystofilobasidium ferigula* (CCMA 1623) em fermentação submersa utilizando glicerol bruto como substrato, e valores das variáveis independentes utilizadas no Delineamento Composto Central (Concentração de carbono, concentração de ureia e temperatura).

Ensaio	Variáveis Codificadas			Variáveis Reais				Conteúdo lipídico (%)
	X1	X2	X3	Concentração de glicerol Bruto (g/L)	Concentração de ureia (g/L)	Temperatura (C°)	Homogeneização (rpm)	
1	-1	-1	-1	30	0,2	18	150	15,71
2	+1	-1	-1	50	0,2	18	150	62,81
3	-1	+1	-1	30	0,8	18	150	46,82
4	+1	+1	-1	50	0,8	18	150	74,76
5	-1	-1	+1	30	0,2	32	150	63,16
6	+1	-1	+1	50	0,2	32	150	66,49
7	-1	+1	+1	30	0,8	32	150	63,12
8	+1	+1	+1	50	0,8	32	150	58,97
9	-1	0	0	30	0,5	25	150	30,42
10	+1	0	0	50	0,5	25	150	34,94
11	0	-1	0	40	0,2	25	150	54,23
12	0	+1	0	40	0,8	25	150	59,79
13	0	0	-1	40	0,5	18	150	49,80
14	0	0	+1	40	0,5	32	150	73,33
15	0	0	0	40	0,5	25	150	62,84
16	0	0	0	40	0,5	25	150	50,13
17	0	0	0	40	0,5	25	150	47,45

Fonte: Elaborado pela autora (2026).

A Tabela 6 apresenta a matriz do DCC (17 ensaios) para *C. ferigula* CCMA 1623, avaliando glicerol bruto (30, 40, 50 g/L), ureia (0,2, 0,5, 0,8 g/L) e temperatura (18, 25, 32 °C), com homogeneização constante (150 rpm). O conteúdo lipídico foi de 15,71% a 74,76%, com maior valor no ensaio 4 e menor no ensaio 1, evidenciando o efeito das condições de cultivo sobre o acúmulo lipídico. Com base no modelo ajustado, as superfícies de resposta e a função de desejabilidade foram utilizadas para indicar a região de maior teor lipídico.

Figura 2 – Superfícies de resposta (A e B), Diagrama de Pareto (C), gráfico de desejabilidade (D) para otimização do teor lipídico para a *Cystofilobasidium ferigula*.



Fonte: Elaborado pela autora (2026)

No diagrama de Pareto (C), observam-se os fatores com efeito estimado estatisticamente significativo ($p \leq 0,05$), bem como o sentido do efeito (sinérgico ou antagônico). Glicerol, temperatura e a interação entre esses fatores apresentaram os maiores efeitos sobre a resposta. As interações temperatura×glicerol e temperatura×ureia exibiram efeito antagônico, indicando dependência entre essas variáveis na produção de lipídios. Em contraste, a temperatura apresentou efeito sinérgico, de modo que seu aumento tende a elevar a produção lipídica. Para o glicerol, o termo quadrático apresentou efeito antagônico e o termo linear, efeito sinérgico. Nos gráficos de superfície de resposta (A e B), as regiões de maior produção lipídica foram observadas, na superfície A, em 18 °C com 0,8 g/L de ureia e em 32 °C com 0,2 ou 0,8 g/L de ureia; e, na superfície B, em 18 °C com aproximadamente 48 g/L de glicerol ou em 32 °C com cerca de 40 g/L de glicerol. Já o gráfico de desejabilidade (D) indicou como condição predita para maior produção lipídica a combinação de 32 °C, 0,2 g/L de ureia e 40 g/L de glicerol.

3.3.2 *Yarrowia lipolytica* (CCMA 0357)

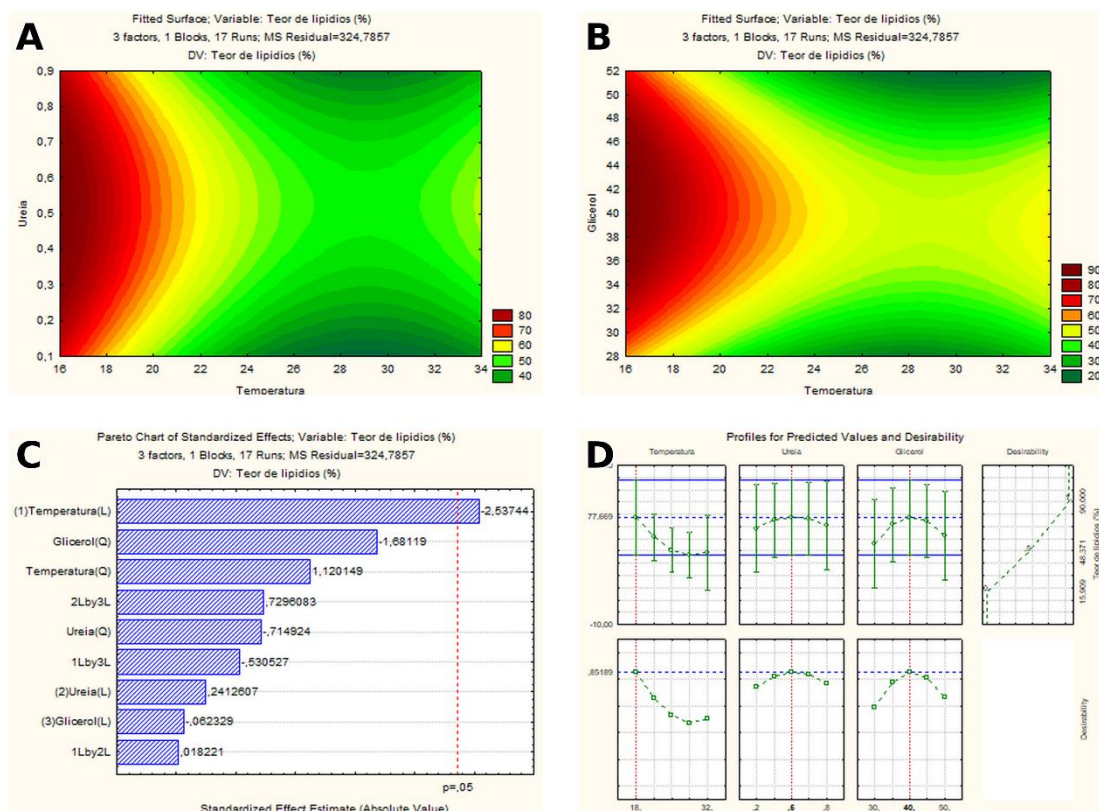
Tabela 7 - Matriz de planejamento experimental para a produção de lipídios e por *Yarrowia lipolytica* (CCMA 0357) em fermentação submersa utilizando glicerol bruto como substrato, e valores das variáveis independentes utilizadas no Delineamento Composto Central (Concentração de carbono, concentração de ureia e temperatura).

Ensaio	Variáveis Codificadas			Variáveis Reais				Conteúdo lipídico (%)
	X1	X2	X3	Concentração de glicerol Bruto (g/L)	Concentração de ureia (g/L)	Temperatura (C°)	Homogeneização (rpm)	
1	-1	-1	-1	30	0,2	18	150	51,79
2	+1	-1	-1	50	0,2	18	150	51,63
3	-1	+1	-1	30	0,8	18	150	47,83
4	+1	+1	-1	50	0,8	18	150	61,85
5	-1	-1	+1	30	0,2	32	150	34,00
6	+1	-1	+1	50	0,2	32	150	15,91
7	-1	+1	+1	30	0,8	32	150	26,09
8	+1	+1	+1	50	0,8	32	150	31,00
9	-1	0	0	30	0,5	25	150	21,74
10	+1	0	0	50	0,5	25	150	17,50
11	0	-1	0	40	0,2	25	150	30,10
12	0	+1	0	40	0,8	25	150	30,42
13	0	0	-1	40	0,5	18	150	69,71
14	0	0	+1	40	0,5	32	150	31,21
15	0	0	0	40	0,5	25	150	64,60
16	0	0	0	40	0,5	25	150	58,17
17	0	0	0	40	0,5	25	150	80,83

Fonte: Elaborado pela autora (2026).

Na Tabela 7 consta a matriz do DCCR e os teores lipídicos obtidos para *Yarrowia lipolytica* (CCMA 0357) sob diferentes combinações de concentração de glicerol bruto, ureia e temperatura. O conteúdo lipídico registrado nos ensaios situou-se entre 15,91% (Ensaio 6) e 80,83% (Ensaio 17). Com base no modelo ajustado, as superfícies de resposta e a função de desejabilidade foram utilizadas para indicar a região de maior teor lipídico.

Figura 3 – Superfícies de resposta (A e B), Diagrama de Pareto (C), gráfico de desejabilidade (D) para otimização do teor lipídico para a *Yarrowia lipolytica*.



Fonte: Elaborado pela autora (2026)

Na figura 3 observa-se que a temperatura (linear) foi o fator de maior impacto sobre o teor lipídico, apresentando efeito negativo, o que indica que o aumento desse parâmetro, de forma isolada, pode reduzir a resposta. Por outro lado, o efeito quadrático da temperatura mostrou-se positivo, sugerindo que há uma faixa ótima onde o incremento desse fator favorece o acúmulo de lipídios. O glicerol (quadrático) também apresentou efeito negativo, evidenciando que concentrações muito elevadas comprometem o processo, embora seu efeito linear tenha sido pouco expressivo. A ureia (quadrática) exibiu contribuição negativa, enquanto as interações avaliadas tiveram menor influência, destacando-se apenas a interação 2Lby3L, com efeito positivo, mas de baixa magnitude. De forma geral, a temperatura se destaca como principal variável de controle, seguida pelo glicerol, enquanto a ureia exerceu influência secundária.

Os gráficos de superfície de resposta representam as condições mais favoráveis à produção lipídica. Para *Yarrowia lipolytica* estão na faixa de 18 a 22 °C, com concentrações de glicerol entre 42 e 52 g/L e de ureia entre 0,4 e 0,6 g/L. O gráfico de desejabilidade indicou como condição ótima predita a temperatura de 20 °C, 0,5 g/L de ureia e 40 g/L de glicerol, atingindo desejabilidade próxima de 1,0.

3.3.3 Composição de ácidos graxos e somatório de saturados/insaturados nos ensaios pré-selecionados

Tabela 8 - Perfil de ácidos graxos (% área) dos ensaios pré-selecionados após a otimização e somatório de saturados e insaturados.

Amostras	C14:0	C16:0	C16:1	C18:0	C18:1	C18:2	C18:3	C20:0	C22:0	C24:0	Σ Saturados (SFA)	Σ Insaturados (UFA)
357 (1)	1,07	41,36	0,99	6,71	10,55	39,03	0,00	0,00	0,29	0,00	49,42	50,58
357 (15)	1,40	31,14	0,43	1,66	3,32	62,05	0,00	0,00	0,00	0,00	34,20	65,80
357 (16)	0,75	34,72	1,70	5,54	10,08	46,69	0,00	0,26	0,26	0,00	41,53	58,47
1623 (15)	6,73	79,06	0,00	0,00	12,25	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	87,75	12,25
1623 (6)	2,21	71,66	0,18	9,76	6,32	9,87	0,00	0,00	0,00	0,00	83,62	16,38
1623 (7)	1,56	61,45	0,23	10,20	9,37	16,78	0,00	0,00	0,41	0,00	73,62	26,38

Legenda: Os valores foram calculados como média ponderada em % de área a partir dos compostos identificados e agrupados por classe de ácido graxo; Σ SFA e Σ UFA correspondem ao somatório das frações saturadas e insaturadas.

Fonte: Elaborada pela própria autora (2026)

Após a etapa de otimização, foram selecionados ensaios candidatos à validação com base em dois critérios principais: acúmulo lipídico (Tabelas 6 e 7) e qualidade analítica do

extrato, considerando a estabilidade do cromatograma e a presença de picos mais bem definidos. A partir dessa pré-seleção, para *Y. lipolytica* (CCMA 0357) foram escolhidos os ensaios 1, 15 e 16, e para *C. ferigula* (CCMA 1623) os ensaios 15, 6 e 7.

Com base na média ponderada (% área) do perfil de ácidos graxos, observou-se predominância de ácidos graxos de cadeia C16 e C18 em ambas as leveduras (Tabela 5). Para a CCMA 0357, o ensaio 1 apresentou distribuição mais equilibrada entre saturados e insaturados (Σ SFA = 49,42%; Σ UFA = 50,58%), enquanto os ensaios 15 e 16 mostraram maior participação de insaturados. Para a CCMA 1623, houve predominância de saturados em todos os ensaios avaliados, com maior fração de insaturados no ensaio 7 (Σ UFA = 26,38%) em comparação aos ensaios 6 e 15. Dessa forma, a combinação entre teor lipídico, qualidade cromatográfica e perfil de ácidos graxos embasou a escolha do ensaio 1 para a levedura 357 e do ensaio 7 para a levedura 1623, os quais foram conduzidos para a etapa de validação em maior volume (300 mL).

3.4 Teor de lipídios nos diferentes cortes de carne e no hambúrguer

Tabela 9 - Teor lipídico (%) das amostras de carne (média e desvio padrão).

Amostra	A1	A2	A3	Média	Desvio padrão
Patinho	6,4	8,2	6,4	7,0	1,04
Fraldinha	4,6	7,8	7,0	6,5	1,67
Acém	5,8	7,6	5,2	6,2	1,25
Paleta	9,0	11,0	13,2	11,1	2,10
Hambúrguer	33,2	27,6	34,4	31,7	3,63

Fonte: Elaborado pela autora (2026)

O teor lipídico (Tabela 9) obtido com o corte patinho ficou com média de 7,0%. A fraldinha e o acém apresentaram valores próximos, em torno de 6 a 7%. Já a paleta mostrou quase o dobro dessa gordura, chegando a 11,1%. O hambúrguer foi o que mais se destacou: apresentou cerca de 31,7% de gordura.

3.5 Desempenho na validação das condições otimizadas

Tabela 10 – Biomassa, lipídios e teor lipídico obtidos na validação nas condições otimizadas.

Linhagem	Biomassa (g/L)	Lipídios (g/L)	Teor lipídico (%)
<i>Yarrowia lipolytica</i>	2,86 ± 0,56	1,85 ± 0,32	65,10 ± 4,66
<i>Cystofilobasidium ferigula</i>	0,75 ± 0,13	0,37 ± 0,07	49,42 ± 0,99

Nota: valores apresentados como média ± desvio padrão.

Fonte: Elaborado pela autora (2026)

A Tabela 10 consta os resultados obtidos para biomassa, lipídios e teor lipídico nas condições otimizadas para cada linhagem. A linhagem *Yarrowia lipolytica* apresentou maiores valores médios de biomassa e de lipídios em comparação à *Cystofilobasidium ferigula*. Além disso, o teor lipídico na biomassa para a 357 foi 65,10 ± 4,66% e em relação a 1623 foi de 49,42 ± 0,99%.

Tabela 11 – Perfil de ácidos graxos (%) dos lipídios de leveduras na validação em maior volume (300 mL).

Ácidos Graxos	<i>Y. lipolytica</i> CCMA 0357 (%)	<i>C. ferigula</i> CCMA 1623 (%)
C12:0	0,60 ± 0,40	0,23 ± 0,10
C14:0	0,98 ± 0,09	2,76 ± 0,80
C16:0	36,38 ± 0,63	29,46 ± 10,67
C16:1	1,00 ± 0,12	2,74 ± 0,94
C16:2	0,05 ± 0,05	0,33 ± 0,13
C18:0	7,13 ± 0,80	6,42 ± 2,68
C18:1	15,33 ± 0,59	16,12 ± 4,73
C18:2	36,68 ± 1,34	40,15 ± 18,81
C20:0	0,89 ± 0,32	1,07 ± 0,56
C20:2	0,03 ± 0,05	0,30 ± 0,12
C22:0	0,93 ± 0,45	0,42 ± 0,18
SFA	46,91 ± 1,13	40,35 ± 14,92
UFA	53,09 ± 1,13	59,65 ± 14,92

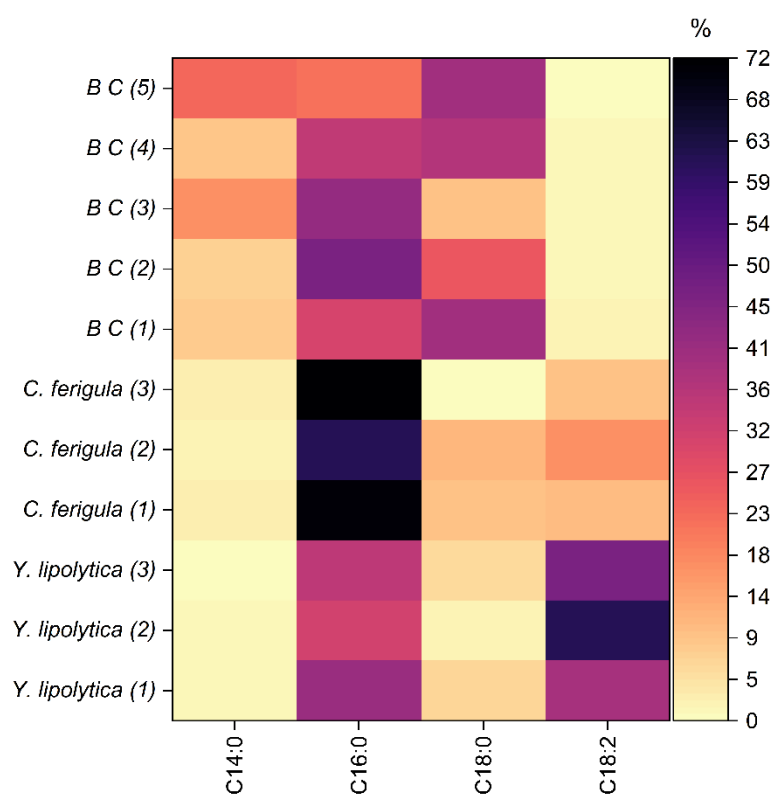
Legenda: Média ± desvio padrão; SFA = ácidos graxos saturados; UFA = ácidos graxos insaturados.

Fonte: Elaborado pela autora (2026)

Quanto ao perfil de ácidos graxos, ambas as linhagens apresentaram predominância de ácidos graxos C16 e C18, com destaque para C16:0, C18:0, C18:1 e C18:2 (Tabela 11). Em 357, os principais componentes foram C16:0 e C18:2, seguidos de C18:1 e C18:0. Em 1623, também houve maior participação de C18:2 e C16:0, com C18:1 e C18:0 (Tabela 11).

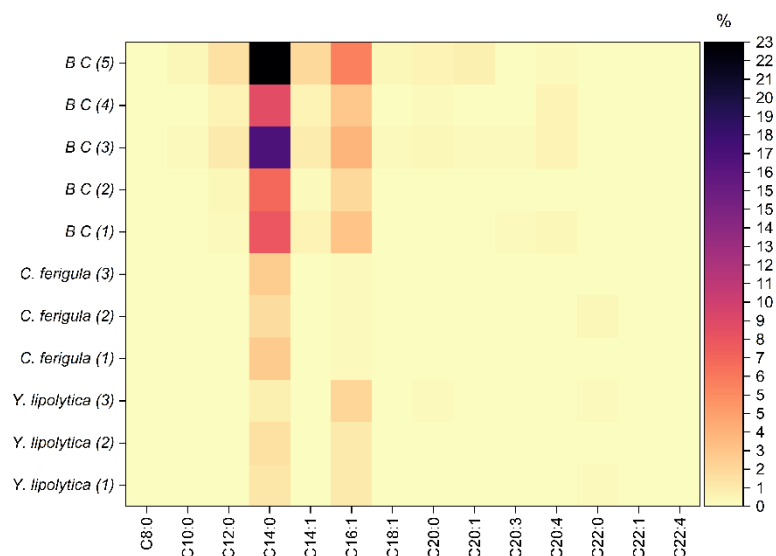
3.6 Comparação do perfil de ácidos graxos

Figura 4 – Heatmap do perfil de ácidos graxos em altas concentrações nas amostras analisadas.



Fonte: Elaborado pela autora (2026)

Figura 5 – Heatmap do perfil de ácidos graxos em baixas concentrações nas amostras analisadas.



Fonte: Elaborado pela autora (2026).

As amostras de leveduras (*Y. lipolytica* e *C. ferigula*) e as amostras de carne bovina (BC1 = acém; BC2 = fraldinha; BC3 = paleta; BC4 = patinho; BC5 = hambúrguer) apresentaram, em comum, os ácidos graxos predominantes em maiores concentrações: C14:0, C16:0, C18:0 e C18:2. Nas leveduras, o perfil foi marcado por maior concentração de C16:0, C18:0 e C18:2. Nas carnes bovinas, destacaram-se principalmente C14:0, C16:0 e C18:0, com C14:0 em proporção mais elevada na carne, enquanto C18:2 apresentou maiores teores nas leveduras.

Na faixa de menores concentrações (Figura 5), os ácidos graxos mais evidentes foram C14:0 e C14:1 para os cortes bovinos e C16:1 para ambas as amostras. Os demais ácidos graxos, como os de cadeia curta (C8:0, C10:0 e C12:0) e os de cadeia mais longa ($\geq$ C18:1) apresentaram valores muito baixos na maioria das amostras.

3.7 Análise de Proteínas

Tabela 12 – Teor de proteínas totais (%) na biomassa seca em condições otimizadas.

Amostra	<i>Y. lipolytica</i> CCMA 0357 (%)	<i>C. ferigula</i> CCMA 1623 (%)
Amostra 1	16,3	12
Amostra 2	16,4	12,1
Amostra 3	16,5	12,2
Média $\pm$ DP	16,4 $\pm$ 0,1	12,1 $\pm$ 0,1

Fonte: Elaborado pela autora (2026).

Nas condições otimizadas de cultivo, correspondentes ao ensaio 1 para *Yarrowia lipolytica* e ao ensaio 7 para *Cystofilobasidium ferigula*, observou-se diferença no teor de proteínas totais na biomassa seca. A cepa 357 apresentou teor médio de proteínas totais de $16,4 \pm 0,1\%$ (m/m), enquanto a cepa 1623 apresentou $12,1 \pm 0,1\%$ (m/m) (Tabela 12).

4 DISCUSSÃO

A ausência de atividade hemolítica, DNase e gelatinase indica que as cepas avaliadas não apresentaram fenótipos normalmente investigados em testes de segurança microbiológica. Em leveduras com potencial de uso alimentar e biotecnológico, a ausência dessas atividades é vista como um resultado favorável, pois reduz indícios de comportamento associado à virulência e reforça a adequação das cepas para esse tipo de aplicação (RICETO et al., 2015; FERNÁNDEZ-PACHECO et al., 2021; MO et al., 2024).

Para *Y. lipolytica*, os achados reforçam seu histórico de uso seguro. A espécie é classificada como GRAS (Generally Recognized As Safe) pela FDA e tem ampla aplicação industrial, incluindo produção de biomassa, ácidos graxos poliinsaturados e proteínas unicelulares (GROENEWALD et al., 2014; PAPANIKOLAOU; AGGELIS, 2011; GONÇALVES et al., 2014). Assim, a ausência de fatores de virulência nas cepas avaliadas sustentam a adequação para processos que demandam rigor microbiológico, como formulações alimentares e obtenção de insumos biotecnológicos.

No caso de *Cystofilobasidium ferigula*, apesar de ainda haver lacunas na literatura quanto à caracterização toxicológica, os resultados deste estudo apontam para um perfil microbiológico seguro. A cepa foi isolada de frutos de café, alimento amplamente consumido mundialmente e sem relatos de efeitos adversos associados ao consumo. Martinez et al. (2021) observaram predominância do gênero *Cystofilobasidium* na comunidade eucariótica associada a grãos de café em diferentes altitudes, com maior prevalência em regiões de clima mais ameno. Em ambientes industriais de bebidas, *Cystofilobasidium ferigula* foi identificada apenas em amostras de ar, enquanto outras leveduras não-*Saccharomyces* (por exemplo, *Wickerhamomyces anomalus* e *Candida pararugosa*) ocorreram em matérias-primas, superfícies e produtos. Considerando essa ocorrência restrita e a ausência de relatos de associação com deterioração de bebidas, sugere-se um potencial reduzido de impacto microbiológico (SOHLBERG; SARLIN; JUVONEN, 2022).

Atendida a etapa de segurança, a avaliação do desempenho em cultivo considerou diferentes fontes de carbono, uma vez que a composição do meio influencia diretamente o crescimento celular e o rendimento lipídico em leveduras oleaginosas (KANTAR; KOUBAA, 2022). Os resultados mostram que ambas as espécies acumularam lipídios intracelulares em níveis expressivos, com melhor desempenho no meio contendo apenas glicerol bruto. Nesse meio, *Y. lipolytica* atingiu 59,6% de acúmulo lipídico e *C. ferigula* 72,0%, valores superiores aos obtidos no meio contendo melaço e glicerol bruto (27,6% e 47,3%, respectivamente). Isso indica maior eficiência do glicerol bruto como fonte de carbono para a biossíntese lipídica nas condições avaliadas. Nos diferentes meios avaliados, o perfil de ácidos graxos, de modo geral, permaneceu concentrado nas cadeias majoritárias (C16–C18), aproximando-se ao conjunto de ácidos graxos dos cortes de carne. No entanto, o glicerol bruto se destacou quanto a produção lipídica, favorecendo sua escolha para a continuidade do estudo.

Ainda assim, o melaço permanece atrativo, especialmente para produção de biomassa, por ser um substrato de baixo custo e rico em compostos relevantes ao metabolismo fermentativo, como discutido por Rakicka et al. (2015). Nessa perspectiva, estratégias combinadas têm sido propostas, utilizando melaço para a etapa de produção de biomassa e glicerol para a etapa posterior de produção de lipídios, explorando o melhor desempenho de cada substrato ao longo do processo.

A literatura reforça que a eficiência de melaço e glicerol pode variar conforme a espécie e as condições de cultivo. Kongruang, Roytrakul e Sriariyanun (2020) observaram melhor desempenho do melaço do que do glicerol bruto para acúmulo lipídico, com destaque para *Rhodotorula toruloides* TISTR 5154 (32,35% de lipídios), enquanto apenas *R. graminis* apresentou desempenho relevante em glicerol (KONGRUANG; ROYTRAKUL; SRIARIYANUN, 2020). Em *Pichia guilliermondii*, o uso de glicerol bruto combinado a licor de milho (CSL) e sais minerais resultou em elevada produção de biomassa (24,47 g/L) e teor lipídico de 52,09%, além da síntese de bioemulsificante e do aproveitamento da biomassa residual como fonte proteica e de carboidratos para alimentação animal (KUMAR et al., 2017). Em conjunto, esses achados apoiam a viabilidade de resíduos industriais, como glicerol e melaço, dentro de modelos de biorrefinaria voltados à produção de biodiesel e coprodutos de maior valor agregado.

Na etapa de otimização, ficou evidente que as duas espécies respondem de forma distinta às condições de cultivo, refletindo diferenças metabólicas relevantes para a produção de lipídios. Em *Y. lipolytica*, os melhores resultados ocorreram em temperaturas mais baixas (18–22 °C), com glicerol bruto entre 20 e 30 g/L e ureia em torno de 0,3–0,4 g/L. Esse padrão

sugere que a redução de temperatura tende a limitar o crescimento e favorecer o redirecionamento do carbono para síntese e acúmulo de lipídios, comportamento descrito em leveduras oleaginosas sob condições de estresse, incluindo variações de temperatura (SITEPU et al., 2014). Duman-Özdamar et al. (2022) também relataram maior acúmulo lipídico em *Y. lipolytica* em temperaturas relativamente baixas (20–25 °C), em concordância com o observado neste trabalho. Além disso, a limitação de nitrogênio (ureia) atua como gatilho clássico para lipogênese, reduzindo a síntese proteica e favorecendo o acúmulo de carbono na forma de triacilgliceróis (CALVEY et al., 2016).

Já *C. ferigula* apresentou melhor desempenho em temperaturas mais elevadas (30–34 °C), com glicerol entre 42 e 52 g/L e ureia em torno de 0,8–0,9 g/L. Essa resposta pode estar associada a uma fisiologia mais tolerante ao calor moderado e capaz de sustentar atividade metabólica em condições mais intensas. Řezanka, Kolouchová e Sigler (2016) mostraram que temperaturas mais altas (25–30 °C) podem favorecer o acúmulo de lipídios neutros em leveduras, enquanto temperaturas mais baixas estimulam a síntese de fosfolipídios. Dessa forma, os dados sugerem que, para *C. ferigula*, o aumento de temperatura se relaciona ao maior acúmulo lipídico observado no intervalo avaliado. Além disso, a resposta ao glicerol variou com a concentração: em níveis moderados houve estímulo à produção de lipídios, enquanto concentrações elevadas reduziram o acúmulo, possivelmente por estresse osmótico e/ou limitações no transporte e assimilação do substrato (PAPANIKOLAOU; AGGELIS, 2011).

Em relação à similaridade com produtos cárneos, foram analisados cortes de carne bovina e um produto processado. Patinho e acém apresentaram teores lipídicos entre 6% e 7%, compatíveis com dados oficiais (NEPA, 2011), confirmando o perfil de cortes magros. A fraldinha, embora descrita em referência oficial com teores mais elevados quando analisada sem a camada de gordura visível (NEPA, 2011), mostrou valores próximos aos cortes magros neste estudo, o que pode estar relacionado à retirada dessa gordura durante a preparação. A paleta apresentou teor intermediário, em torno de 11%, possivelmente devido à maior proporção de gordura intermuscular nessa região (FELÍCIO, 2013). O hambúrguer apresentou o maior valor (31,7%), resultado consistente com a adição de gordura em sua formulação. Esse teor supera o limite de 25% estabelecido pelo RTIQ no Brasil (BRASIL, 2022) e ilustra como produtos processados concentram lipídeos para garantir sabor e suculência (JORGE; MALACRIDA, 2014).

Nas condições otimizadas de cultivo (ensaio 1 para a cepa 357 e ensaio 7 para a cepa 1623), *Yarrowia lipolytica* CCMA 0357 apresentou teor médio de proteínas totais de $16,4 \pm 0,1\%$ (m/m) na biomassa seca, enquanto *Cystofilobasidium ferigula* CCMA 1623 apresentou

$12,1 \pm 0,1\%$ (m/m). Considerando o cultivo em glicerol bruto sob limitação de nitrogênio, é esperado que o teor de proteína na biomassa não seja elevado, uma vez que a restrição de N reduz a síntese de componentes nitrogenados e favorece o acúmulo de lipídios de reserva (TAG) em leveduras oleaginosas (PAPANIKOLAOU; AGGELIS, 2011). Em *Y. lipolytica*, Kamzolova et al. (2022) reportaram teores de proteína entre 0,19 e 0,22 g/g de biomassa seca ($\approx 19\text{--}22\%$, m/m), faixa próxima à obtida neste trabalho para a cepa CCMA 0357 (16,4%), o que reforça que o teor proteico observado aqui está dentro do esperado para cultivos sob limitação de nitrogênio.

Quando os teores de proteína das biomassas são comparados aos de cortes bovinos, fica claro que os valores obtidos neste trabalho foram menores. Em novilhas mestiças terminadas em confinamento, Macedo et al. (2008) encontraram 20,96% de proteína no acém, 21,99% na alcatra, 21,18% no contrafilé, 21,30% no coxão mole e 21,33% no patinho. Isso indica que, nas condições empregadas, a biomassa produzida não se destacou pelo alto teor proteico. No entanto, esse resultado faz sentido quando se considera a estratégia de cultivo adotada. Como o meio apresentava baixa disponibilidade de nitrogênio, as leveduras tenderam a direcionar seu metabolismo para o acúmulo de lipídios de reserva, em vez de priorizar a formação de nova biomassa e a síntese de proteínas. Portanto, o menor percentual proteico observado não deve ser visto como uma limitação do processo, mas como uma consequência esperada de um cultivo conduzido para favorecer uma biomassa mais oleaginosa (PAPANIKOLAOU; AGGELIS, 2011; HAPETA; KERKHOVEN; LAZAR, 2020).

A comparação entre os perfis lipídicos da carne bovina e das leveduras mostrou convergência nos ácidos graxos majoritários. Esse ponto é relevante porque a fração predominante tende a determinar características físicas da fase lipídica (ponto de fusão e consistência) e atributos sensoriais associados à gordura (JORGE; MALACRIDA, 2014; RIOS et al., 2014). A análise por heatmap (Figuras 4 e 5) evidenciou, em ambos os grupos, predominância de ácidos graxos na faixa C16–C18, com destaque para o ácido palmítico (C16:0), o ácido esteárico (C18:0) e o ácido oleico (C18:1). Isso sugere manutenção de componentes de cadeia longa frequentes na fração lipídica da carne, o que é favorável para aplicação como matriz lipídica em formulações alimentares (RIOS et al., 2014).

Entre os ácidos graxos em menor proporção, o C14:0 (mirístico) apareceu mais associado às amostras de carne e, mesmo em baixos teores, pode contribuir para a fração sólida e para maior firmeza da fase lipídica por ser um saturado com ponto de fusão superior ao de ácidos graxos insaturados (ISEO, 2006; DEVI; KHATKAR, 2016). Já entre os majoritários, observa-se contribuição mais expressiva de C18:2 (ácido linoleico) nas amostras de leveduras,

especialmente em *Yarrowia lipolytica*. Trata-se de um ácido graxo essencial (não sintetizado pelo organismo humano) e, em humanos, maior ingestão de C18:2 (particularmente quando substitui parte da gordura saturada) tem sido associada à melhora de marcadores lipídicos, incluindo redução de LDL, em revisões e meta-análises (WANG et al., 2023). Assim, a maior participação de C18:2 no óleo microbiano pode ser vista como atributo nutricional relevante e com potencial de agregação de valor em formulações alimentares. É importante considerar que o perfil de ácidos graxos em leveduras oleaginosas pode ser modulado por condições de cultivo (por exemplo, temperatura e disponibilidade de oxigênio), permitindo direcionar o equilíbrio entre saturação e insaturação dentro do grupo principal (C16–C18) conforme o objetivo tecnológico do produto (DUMAN-ÖZDAMAR et al., 2026).

Os resultados deste trabalho reforçam o potencial biotecnológico das leveduras avaliadas, tanto pelo aproveitamento de substratos alternativos quanto pela produção de biomassa e lipídios de interesse industrial. Soma-se a isso o fato de as cepas não terem apresentado características indesejáveis nos testes de segurança microbiológica, o que fortalece essa perspectiva de aplicação. Em *Yarrowia lipolytica*, esse potencial confirma a versatilidade de uma espécie já amplamente reconhecida na literatura para aplicações em alimentos e bioprocessos. Já em *Cystofilobasidium ferigula*, os resultados ganham destaque por envolver uma levedura ainda pouco explorada, o que amplia a importância do estudo e indica novas possibilidades de investigação. Como perspectiva, estudos futuros podem aprofundar a caracterização do óleo obtido e avaliar ajustes nas condições de cultivo capazes de direcionar a síntese lipídica para perfis mais adequados à aplicação desejada, inclusive com maior proporção de ácidos graxos saturados (ZINJARDE, 2014; DE CASTRO et al., 2025; DUMAN-ÖZDAMAR et al., 2022).

5 CONCLUSÃO

Este trabalho demonstrou o potencial de *Yarrowia lipolytica* CCMA 0357 e *Cystofilobasidium ferigula* CCMA 1623 para produzir óleo microbiano e biomassa a partir de substratos residuais (glicerol bruto e melaço), reforçando a viabilidade de um processo com foco sustentável. Dentro do que foi avaliado, os resultados atendem aos critérios de segurança de cepa considerados. A otimização (Pareto, mapas de calor e ponto ótimo) ajudou a identificar as condições mais favoráveis e a direcionar o cultivo, com confirmação do desempenho nas condições selecionadas. Em glicerol bruto, foram obtidos altos teores lipídicos, com 59,6% para *Y. lipolytica* e 72,0% para *C. ferigula*, além de uma fração proteica

em torno de ~16% para *Y. lipolytica* e ~12% para *C. ferigula*. O óleo produzido apresentou perfil dominado por ácidos graxos C16–C18 (C16:0, C18:0, C18:1 e C18:2), com destaque para a presença de C18:2 (linoleico) nas leveduras, o que agrega relevância nutricional ao produto. Por fim, os dados indicam que esse perfil pode ser ajustado por condições de cultivo, permitindo adequar o óleo às diferentes aplicações desejadas.

6 REFERÊNCIAS

ABBAS, Charles A.. Production of Antioxidants, Aromas, Colours, Flavours, and Vitamins by Yeasts. **Yeasts In Food And Beverages**, [S.L.], p. 285-334, 2006. DOI: 10.1007/978-3-540-28398-0_10.

ABELN, Felix; CHUCK, Christopher J.. The history, state of the art and future prospects for oleaginous yeast research. **Microbial Cell Factories**, [S.L.], v. 20, n. 1, p. 1-32, 7 dez. 2021. DOI: 10.1186/s12934-021-01712-1.

ALVES, Samara Cardoso; DÍAZ-RUIZ, Erick; LISBOA, Bruna; SHARMA, Minaxi; MUSSATTO, Solange I.; THAKUR, Vijay Kumar; KALASKAR, Deepak M.; GUPTA, Vijai Kumar; CHANDEL, Anuj K.. Microbial meat: a sustainable vegan protein source produced from agri-waste to feed the world. **Food Research International**, [S.L.], v. 166, p. 112596, abr. 2023. DOI: 10.1016/j.foodres.2023.112596.

AMIN, Indok Nurul Hasyimah Mohd; MOHAMMAD, Abdul Wahab; MARKOM, Mastura; PENG, Leo Choe; HILAL, Nidal. Analysis of deposition mechanism during ultrafiltration of glycerin-rich solutions. **Desalination**, [S.L.], v. 261, n. 3, p. 313-320, out. 2010. DOI: 10.1016/j.desal.2010.04.016.

AOAC INTERNATIONAL. Official Methods of Analysis of AOAC International. 21. ed., AOAC International, **Rockville: AOAC International**, 2019.

AOAC. Official Methods of Analysis. **Gaithersburg: Association of Official Analytical Chemists**, 1990. Method 968.06.

AYADI, Ines; BELGHITH, Hafedh; GARGOURI, Ali; GUERFALI, Mohamed. Screening of new oleaginous yeasts for single cell oil production, hydrolytic potential exploitation and agro-industrial by-products valorization. **Process Safety And Environmental Protection**, [S.L.], v. 119, p. 104-114, out. 2018. DOI: 10.1016/j.psep.2018.07.012.

BALBINO, Thercia Rocha; SÁNCHEZ-MUÑOZ, Salvador; DÍAZ-RUIZ, Erick; ROCHA, Thiago Moura; MIER-ALBA, Edith; INÁCIO, Stephanie Custódio; CASTRO-ALONSO, Maria Jose; SANTOS-EBINUMA, Valéria de Carvalho; PEREIRA, Jorge Fernando Brandão; SANTOS, Júlio César. Lignocellulosic biorefineries as a platform for the production of high-value yeast derived pigments – A review. **Bioresource Technology**, [S.L.], v. 386, p. 129549, out. 2023. DOI: 10.1016/j.biortech.2023.129549.

BELLOU, S.; TRIANTAPHYLLIDOU, I.-E.; MIZERAKIS, P.; AGGELIS, G.. High lipid accumulation in *Yarrowia lipolytica* cultivated under double limitation of nitrogen and magnesium. **Journal Of Biotechnology**, [S.L.], v. 234, p. 116-126, set. 2016. DOI: 10.1016/j.jbiotec.2016.08.001.

BEOPOULOS, Athanasios et al. Control of Lipid Accumulation in the Yeast *Yarrowia lipolytica*. **Applied And Environmental Microbiology**, [S.L.], v. 74, n. 24, p. 7779-7789, 15 dez. 2008. DOI: 10.1128/aem.01412-08.

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

BRABENDER, Matthew; HUSSAIN, Murtaza Shabbir; RODRIGUEZ, Gabriel; BLENNER, Mark A.. Urea and urine are a viable and cost-effective nitrogen source for *Yarrowia lipolytica* biomass and lipid accumulation. **Applied Microbiology And Biotechnology**, [S.L.], v. 102, n. 5, p. 2313-2322, 30 jan. 2018. DOI: 10.1007/s00253-018-8769-z.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Portaria SDA nº 724, de 23 de dezembro de 2022. Aprova o Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade do Hambúrguer. **Diário Oficial da União**, Brasília, 2022.

CALVEY, Christopher H. et al. Nitrogen limitation, oxygen limitation, and lipid accumulation in *Lipomyces starkeyi*. **Bioresource Technology**, [S.L.], v. 200, p. 780-788, jan. 2016. DOI: 10.1016/j.biortech.2015.10.104.

CARSANBA, E.; PAPANIKOLAOU, S.; ERTEN, H.. Production of oils and fats by oleaginous microorganisms with an emphasis given to the potential of the nonconventional yeast *Yarrowia lipolytica*. **Critical Reviews In Biotechnology**, [S.L.], v. 38, n. 8, p. 1230-1243, 15 maio 2018. DOI: 10.1080/07388551.2018.1472065.

CASTRO, Andreísa Teixeira de; SOUZA, Angélica Cristina de; SILVA, Cristina Ferreira; MARTINEZ, Silvia Juliana; SCHWAN, Rosane Freitas; DIAS, Disney Ribeiro. Biotechnological valorization of yeast strains for lipids and carotenoids production from renewable resources. **Biocatalysis and Agricultural Biotechnology**, v. 64, p. 103499, fev. 2025. DOI: 10.1016/j.bcab.2025.103499.

CHATTOPADHYAY, Atrayee; MAITI, Mrinal K.. Lipid production by oleaginous yeasts. **Advances In Applied Microbiology**, [S.L.], p. 1-98, 2021. DOI: 10.1016/bs.aambs.2021.03.003.

DINH, Thu T. N.; TO, K. Virellia; SCHILLING, M. Wes. Fatty Acid Composition of Meat Animals as Flavor Precursors. **Meat And Muscle Biology**, [S.L.], v. 5, n. 1, p. 1-16, 10 ago. 2021. **Iowa State University**. DOI: 10.22175/mmb.12251.

DOMÍNGUEZ, Rubén; PATEIRO, Mirian; GAGAOUA, Mohammed; BARBA, Francisco J.; ZHANG, Wangang; LORENZO, José M. A comprehensive review on lipid oxidation in meat and meat products. **Antioxidants**, v. 8, art. 429, 2019. DOI: 10.3390/antiox8100429.

DUAN, XI-Yu et al. Efficient production of cordycepin by engineered *Yarrowia lipolytica* from agro-industrial residues. **Bioresource Technology**, [S.L.], v. 377, p. 128964, jun. 2023. DOI: 10.1016/j.biortech.2023.128964.

DUARTE, S. H. C. C. P. DE A. G. G. F. M. Exploration of brazilian biodiversity and selection of a new oleaginous yeast strain cultivated in raw glycerol. **Bioresource Technology**, 2013.

DUMAN-ÖZDAMAR, Zeynep Efsun; SANTOS, Vitor A. P. Martins dos; HUGENHOLTZ, Jeroen; SUAREZ-DIEZ, Maria. Tailoring and optimizing fatty acid production by oleaginous yeasts through the systematic exploration of their physiological fitness. **Microbial Cell Factories**, [S.L.], v. 21, n. 1, p. 1-19, 3 nov. 2022. DOI: 10.1186/s12934-022-01956-5.

FELÍCIO, P. E. de. Fatores que influenciam a composição da carne bovina. In: _____. Qualidade da carne bovina: características físicas e químicas. 2. ed. São Paulo: **Editora da Unesp**, 2013. p. 35-48.

FERNÁNDEZ-PACHECO, P.; RAMOS MONGE, I. M.; FERNÁNDEZ-GONZÁLEZ, M.; POVEDA COLADO, J. M.; ARÉVALO-VILLENA, M. Safety evaluation of yeasts with probiotic potential. **Frontiers in Nutrition**, [s. l.], v. 8, e659328, 2021. DOI: 10.3389/fnut.2021.659328.

FINCO, Ana Maria de Oliveira; MAMANI, Luis Daniel Goyzueta; CARVALHO, Júlio Cesar de; PEREIRA, Gilberto Vinícius de Melo; THOMAZ-SOCCOL, Vanete; SOCCOL, Carlos Ricardo. Technological trends and market perspectives for production of microbial oils rich in omega-3. **Critical Reviews In Biotechnology**, [S.L.], v. 37, n. 5, p. 656-671, 10 ago. 2016. DOI: 10.1080/07388551.2016.1213221.

GALANTE, Fernanda; ARAÚJO, Marcus Vinicius Ferreira de (org.). Fundamentos de bioquímica: para universitários, técnicos e demais profissionais da área de saúde. 2. ed. São Paulo: **Rideel**, 2014. E-book. Disponível em: <https://plataforma.bvirtual.com.br>. Acesso em: 29 fev. 2024.

GALLEGO-GARCÍA, María; SUSMOZAS, Ana; NEGRO, María José; MORENO, Antonio D. Challenges and prospects of yeast-based microbial oil production within a biorefinery concept. **Microbial Cell Factories**, v. 22, art. 246, 2023. DOI: 10.1186/s12934-023-02254-4.

GHAZANI, Saeed M.; MARANGONI, Alejandro G.. Microbial lipids for foods. **Trends In Food Science & Technology**, [S.L.], v. 119, p. 593-607, jan. 2022. DOI: 10.1016/j.tifs.2021.10.014.

GROENEWALD, Marizeth; BOEKHOUT, Teun; NEUVÉGLISE, Cécile; GAILLARDIN, Claude; VAN DER WALT, Pieter W.; WYSS, Markus. *Yarrowia lipolytica*: Safety assessment of an oleaginous yeast with a great industrial potential. **Critical Reviews in Microbiology**, v. 40, n. 3, p. 187-206, 2014. DOI: 10.3109/1040841X.2013.770386.

HAPETA, P.; KERKHOVEN, E. J.; LAZAR, Z. Nitrogen as the major factor influencing gene expression in *Yarrowia lipolytica*. **Biotechnology Reports**, [s. l.], v. 27, e00521, 2020.

HUANG, Chao; CHEN, Xue-Fang; XIONG, Lian; CHEN, Xin-De; MA, Long-Long; CHEN, Yong. Single cell oil production from low-cost substrates: the possibility and potential of its industrialization. **Biotechnology Advances**, [S.L.], v. 31, n. 2, p. 129-139, mar. 2013. DOI: 10.1016/j.biotechadv.2012.08.010.

JACH, Monika Elżbieta; SEREFKO, Anna; ZIAJA, Maria; KIELISZEK, Marek. Yeast Protein as an Easily Accessible Food Source. **Metabolites**, [S.L.], v. 12, n. 1, p. 63, 11 jan. 2022. DOI: 10.3390/metabo12010063.

JONES, A. Daniel; BOUNDY-MILLS, Kyria L.; BARLA, G. Florin; KUMAR, Sandeep; UBANWA, Bryan; BALAN, Venkatesh. Microbial Lipid Alternatives to Plant Lipids. **Methods In Molecular Biology**, [S.L.], p. 1-32, 2019. DOI: 10.1007/978-1-4939-9484-7_1.

JORGE, Cassia Roberta Jorge; MALACRIDA, Neusa. Efeitos dos Ácidos Graxos na Saúde Humana. São Paulo: **Cultura Acadêmica Editora**, 2014. 64 p. Disponível em: https://www.ibilce.unesp.br/Home/LaboratorioEditorial/2008_njorge.pdf. Acesso em: 29 fev. 2024.

KAMZOLOVA, S. V. et al. Effect of nitrogen concentration on the biosynthesis of citric acid, protein, and lipids in the yeast *Yarrowia lipolytica*. **Biomolecules**, v. 12, n. 10, p. 1421, 2022.

KANTAR, Sally El; KOUBAA, Mohamed. Valorization of Low-Cost Substrates for the Production of Odd Chain Fatty Acids by the Oleaginous Yeast *Yarrowia lipolytica*. **Fermentation**, [S.L.], v. 8, n. 6, p. 284, 16 jun. 2022. DOI: 10.3390/fermentation8060284.

KARAMEROU, E. E.; WEBB, C. Cultivation modes for microbial oil production using oleaginous yeasts – A review. **Biochemical Engineering Journal**, v. 151, n. April, p. 107322, 2019.

KEITA, Valeriane Malika; GONZALEZ-VILLANUEVA, Miriam; WONG, Tuck Seng; TEE, Kang Lan. Microbial Utilization of Glycerol for Biomanufacturing. **Engineering Of Microbial Biosynthetic Pathways**, [S.L.], p. 245-302, 2020. DOI: 10.1007/978-981-15-2604-6_16.

KEITA, Valérie Malika; LEE, Yi Qing; LAKSHMANAN, Meiyappan; OW, Dave Siak-Wei; STANILAND, Paul; STANILAND, Jessica; SAVILL, Ian; TEE, Kang Lan; WONG, Tuck Seng; LEE, Dong-Yup. Evaluating oleaginous yeasts for enhanced microbial lipid production using sweetwater as a sustainable feedstock. **Microbial Cell Factories**, [S.L.], v. 23, n. 1, p. 1-17, 24 fev. 2024. DOI: 10.1186/s12934-024-02336-x.

KONGRUANG, Sasithorn; ROYTRAKUL, Sittiruk; SRIARIYANUN, Malinee. Renewable Biodiesel Production from Oleaginous Yeast Biomass Using Industrial Wastes. **E3S Web Of Conferences**, [S.L.], v. 141, p. 03010, 2020. DOI: 10.1051/e3sconf/202014103010.

KOUKOUMAKI, Danai Ioanna; TSOUKO, Erminta; PAPANIKOLAOU, Seraphim; IOANNOU, Zacharias; DIAMANTOPOULOU, Panagiota; SARRIS, Dimitris. Recent advances in the production of single cell protein from renewable resources and applications. **Carbon Resources Conversion**, [S.L.], v. 7, n. 2, p. 100195, jun. 2024. DOI: 10.1016/j.crcon.2023.07.004.

KUMAR, Raviranjana; DHANARAJAN, Gunaseelan; BHAUMIK, Moumita; CHOPRA, Jayita; SEN, Ramkrishna. Performance evaluation of a yeast biorefinery as a sustainable model for co-production of biomass, bioemulsifier, lipid, biodiesel and animal-feed components using inexpensive raw materials. **Sustainable Energy & Fuels**, [S.L.], v. 1, n. 4, p. 923-931, 2017. DOI: 10.1039/c7se00010c.

KUMAR, Satish; KUMAR, Vikas; SHARMA, Rakesh; PAUL, Anna Aleena; SUTHAR, Priyanka; SAINI, Rajni. Plant Proteins as Healthy, Sustainable and Integrative Meat Alternates. **Veganism - A Fashion Trend Or Food As A Medicine**, [S.L.], p. 1-19, 31 mar. 2021. DOI: 10.5772/intechopen.94094.

KYRIAKOPOULOU, K.; DEKKERS, B.; VAN DER GOOT, A. J. Functionality of ingredients and additives in plant-based meat analogues. **Foods**, v. 10, 600, 2021.

LIU, Huhu; SONG, Yulan; FAN, Xiao; WANG, Chong; LU, Xiangyang; TIAN, Yun. Yarrowia lipolytica as an Oleaginous Platform for the Production of Value-Added Fatty Acid-Based Bioproducts. **Frontiers In Microbiology**, [S.L.], v. 11, n. 0, p. 1-13, 5 jan. 2021. DOI: 10.3389/fmicb.2020.608662.

LÓPEZ, José Manuel Salvador; VANDEPUTTE, Meriam; VAN BOGAERT, Inge N. A.. Oleaginous yeasts: time to rethink the definition?. **Yeast**, [S.L.], v. 39, n. 11-12, p. 553-606, nov. 2022. DOI: 10.1002/yea.3827.

LOWRY, Oliverh.; ROSEBROUGH, Niraj.; FARR, A. Lewis; RANDALL, Rosej.. PROTEIN MEASUREMENT WITH THE FOLIN PHENOL REAGENT. **Journal Of Biological Chemistry**, [S.L.], v. 193, n. 1, p. 265-275, nov. 1951. DOI: 10.1016/s0021-9258(19)52451-6.

LUO, Xiaolan; GE, Xumeng; CUI, Shaoqing; LI, Yebo. Value-added processing of crude glycerol into chemicals and polymers. **Bioresource Technology**, [S.L.], v. 215, p. 144-154, set. 2016. DOI: 10.1016/j.biortech.2016.03.042.

MACEDO, Livia Maria Araújo et al. Composição química e perfil de ácidos graxos de cinco diferentes cortes de novilhas mestiças (Nelore vs Charolês). **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 29, n. 3, p. 597-608, jul./set. 2008. DOI: 10.5433/1679-0359.2008v29n3p597.

MARTINEZ, Silvia Juliana et al. The Altitude of Coffee Cultivation Causes Shifts in the Microbial Community Assembly and Biochemical Compounds in Natural Induced Anaerobic Fermentations. **Frontiers In Microbiology**, [S.L.], v. 12, n. 1, p. 1-1, 20 maio 2021. DOI: 10.3389/fmicb.2021.671395.

MCNEIL, Bonnie A.; STUART, David T.. Lipomyces starkeyi: an emerging cell factory for production of lipids, oleochemicals and biotechnology applications. **World Journal Of Microbiology And Biotechnology**, [S.L.], v. 34, n. 10, p. 1-10, 12 set. 2018. DOI: 10.1007/s11274-018-2532-6.

MO, X.; ZHOU, M.; LI, Y.; YU, L.; BAI, H.; SHEN, P.; ZHOU, X.; ZHU, H.; SUN, H.; BU, R.; JIANG, C. Safety assessment of a novel marine multi-stress-tolerant yeast *Meyerozyma guilliermondii* GXDK6 according to phenotype and whole genome-sequencing analysis. **Food**

Science and Human Wellness, v. 13, n. 4, p. 2048-2059, 2024. DOI: 10.26599/FSHW.2022.9250170.

MORAN, L. A. et al. Bioquímica. 5. ed. São Paulo: **Pearson**, 2013. E-book. Disponível em: <https://plataforma.bvirtual.com.br>. Acesso em: 29 fev. 2024.

MOTA, Marta; MÔGICA, Paula; SÁ-CORREIA, Isabel. Exploring Yeast Diversity to Produce Lipid-Based Biofuels from Agro-Forestry and Industrial Organic Residues. **Journal Of Fungi**, [S.L.], v. 8, n. 7, p. 687, 29 jun. 2022. DOI: 10.3390/jof8070687.

NEPA – Núcleo de Estudos e Pesquisas em Alimentação. Tabela brasileira de composição de alimentos. 4. ed. rev. e ampl. Campinas: **NEPA-UNICAMP**, 2011. 161 p.

NOVELLO, Daiana; FRANCESCHINI, Priscilla; QUINTILIANO, Daiana Aparecida. A IMPORTÂNCIA DOS ÁCIDOS GRAXOS ω -3 E ω -6 PARA A PREVENÇÃO DE DOENÇAS E NA SAÚDE HUMANA. **Salus-Guarapuava**, Paraná, v. 2, n. 1, p. 77-87, mar. 2008.

PAPANIKOLAOU, S.; AGGELIS, G. Lipids of oleaginous yeasts. Part II: Technology and potential applications. **European Journal of Lipid Science and Technology**, v. 113, p. 1052–1073, 2011.

PAPANIKOLAOU, Seraphim; CHEVALOT, Isabelle; KOMAITIS, Michael; MARC, Ivan; AGGELIS, George. Single cell oil production by *Yarrowia lipolytica* growing on an industrial derivative of animal fat in batch cultures. **Applied Microbiology And Biotechnology**, [S.L.], v. 58, n. 3, p. 308-312, 1 mar. 2002. DOI: 10.1007/s00253-001-0897-0.

PATEL, Alok; KARAGEORGOU, Dimitra; ROVA, Emma; KATAPODIS, Petros; ROVA, Ulrika; CHRISTAKOPOULOS, Paul; MATSAKAS, Leonidas. An Overview of Potential Oleaginous Microorganisms and Their Role in Biodiesel and Omega-3 Fatty Acid-Based Industries. **Microorganisms**, [S.L.], v. 8, n. 3, p. 434, 19 mar. 2020. DOI: 10.3390/microorganisms8030434.

PATRIGNANI, Francesca; IUCCI, Luciana; VALLICELLI, Melania; GUERZONI, M. Elisabetta; GARDINI, Fausto; LANCIOTTI, Rosalba. Role of surface-inoculated *Debaryomyces hansenii* and *Yarrowia lipolytica* strains in dried fermented sausage manufacture. Part 1: evaluation of their effects on microbial evolution, lipolytic and proteolytic patterns. **Meat Science**, [S.L.], v. 75, n. 4, p. 676-686, abr. 2007. DOI: 10.1016/j.meatsci.2006.09.017.

PEÑUELA-SIERRA, Lina; CASTAÑEDA-SERRANO, Roman; SANMIGUEL, R.A.. Ácidos graxos poliinsaturados e ácido linoléico conjugado na carne suína. Benefícios para a saúde humana: revisão. **Pubvet**, Maringá, v. 9, n. 7, p. 337-347, jul. 2015. Editora MV Valero. DOI: 10.22256/pubvet.v9n7.337-347.

PÉREZ-PALACIOS, T. et al. Comparison of different methods for total lipid quantification in meat and meat products. **Food Chemistry**, v. 110, p. 1025–1029, 2008. DOI: 10.1016/j.foodchem.2008.03.026.

PETERSON, Eric Charles; SIAO, Rowanne; CHUA, Gi Gi; BUSRAN, Coleen Toledo; PAVLOVIC, Renata; THONG, Aaron; HERMANSEN, Christian; SOFEO, Naazneen; KANAGASUNDARAM, Yoganathan; WEINGARTEN, Melanie. Single cell protein and oil production from solid cocoa fatty acid distillates co-fed ethanol. **Bioresource Technology**, [S.L.], v. 387, p. 129630, nov. 2023. DOI: 10.1016/j.biortech.2023.129630.

PHILIPPINI, Rafael Rodrigues; MARTINIANO, Sabrina Evelin; INGLE, Avinash P.; MARCELINO, Paulo Ricardo Franco; SILVA, Gilda Mariano; BARBOSA, Fernanda Gonçalves; SANTOS, Júlio César dos; SILVA, Silvio Silvério da. Agroindustrial Byproducts for the Generation of Biobased Products: alternatives for sustainable biorefineries. **Frontiers In Energy Research**, [S.L.], v. 8, n. 1, p. 1-23, 29 jul. 2020. DOI: 10.3389/fenrg.2020.00152.

QIN, Lei; LIU, Lu; ZENG, An-Ping; WEI, Dong. From low-cost substrates to Single Cell Oils synthesized by oleaginous yeasts. **Bioresource Technology**, [S.L.], v. 245, p. 1507-1519, dez. 2017. DOI: 10.1016/j.biortech.2017.05.163.

RAHMAT, Norhasyimi; ABDULLAH, Ahmad Zuhairi; MOHAMED, Abdul Rahman. Recent progress on innovative and potential technologies for glycerol transformation into fuel additives: a critical review. **Renewable And Sustainable Energy Reviews**, [S.L.], v. 14, n. 3, p. 987-1000, abr. 2010. DOI: 10.1016/j.rser.2009.11.010.

RAKICKA, Magdalena et al. Lipid production by the oleaginous yeast *Yarrowia lipolytica* using industrial by-products under different culture conditions. **Biotechnology For Biofuels**, [S.L.], v. 8, n. 1, p. 1-10, 25 jul. 2015. DOI: 10.1186/s13068-015-0286-z.

RATLEDGE, Colin; WYNN, James P.. The Biochemistry and Molecular Biology of Lipid Accumulation in Oleaginous Microorganisms. **Advances In Applied Microbiology**, [S.L.], p. 1-52, 2002. DOI: 10.1016/s0065-2164(02)51000-5.

REIHANI, S. Fatemeh S.; KHOSRAVI-DARANI, Kianoush. Influencing factors on single-cell protein production by submerged fermentation: a review. **Electronic Journal Of Biotechnology**, [S.L.], v. 37, p. 34-40, jan. 2019. DOI: 10.1016/j.ejbt.2018.11.005.

RICETO, É. B. M.; MENEZES, R. P.; PENATTI, M. P. A.; PEDROSO, R. S. Enzymatic and hemolytic activity in different *Candida* species. **Revista Iberoamericana de Micología**, [s. l.], v. 32, n. 2, p. 79-82, 2015. DOI: 10.1016/j.riam.2013.11.003.

RIOS, Raquel Vallerio; PESSANHA, Meibel Durigan Ferreira; ALMEIDA, Poliana Fernandes de; VIANA, Clara Leonel; LANNES, Suzana Caetano da Silva. Application of fats in some food products. **Food Science and Technology**, Campinas, v. 34, n. 1, p. 3-15, jan./mar. 2014.

ROBLES-IGLESIAS, Raúl; NAVEIRA-PAZOS, Cecilia; FERNÁNDEZ-BLANCO, Carla; VEIGA, María C.; KENNES, Christian. Factors affecting the optimisation and scale-up of lipid accumulation in oleaginous yeasts for sustainable biofuels production. **Renewable And Sustainable Energy Reviews**, [S.L.], v. 171, p. 113043, jan. 2023. DOI: 10.1016/j.rser.2022.113043.

SALES, G. F. C.; CARVALHO, B. F.; SCHWAN, R. F.; PEREIRA, M. N.; ÁVILA, C. L. S.. Diversity and probiotic characterisation of yeast isolates in the bovine gastrointestinal tract.

Antonie van Leeuwenhoek, [S.L.], v. 116, n. 11, p. 1123-1137, 31 ago. 2023. DOI: 10.1007/s10482-023-01865-6.

SHAHIDI, Fereidoon; HOSSAIN, Abul. Role of Lipids in Food Flavor Generation. **Molecules**, [S.L.], v. 27, n. 15, p. 5014, 6 ago. 2022. DOI: 10.3390/molecules27155014.

SILVA, Jonilson de Melo e; MARTINS, Luiza Helena da Silva; MOREIRA, Débora Kono Taketa; SILVA, Leonardo do Prado; BARBOSA, Paula de Paula Menezes; KOMESU, Andrea; FERREIRA, Nelson Rosa; OLIVEIRA, Johnatt Allan Rocha de. Microbial Lipid Based Biorefinery Concepts: a review of status and prospects. **Foods**, [S.L.], v. 12, n. 10, p. 2074, 22 maio 2023. DOI: 10.3390/foods12102074.

SINGH, Gunjan; SINHA, Sweta; KUMAR, Kukkala K.; GAUR, Naseem A.; BANDYOPADHYAY, K.K.; PAUL, Debarati. High density cultivation of oleaginous yeast isolates in ‘mandi’ waste for enhanced lipid production using sugarcane molasses as feed. **Fuel**, [S.L.], v. 276, p. 118073, set. 2020. DOI: 10.1016/j.fuel.2020.118073.

SIRI-TARINO, Patty W.; SUN, Qi; HU, Frank B.; KRAUSS, Ronald M.. Saturated Fatty Acids and Risk of Coronary Heart Disease: modulation by replacement nutrients. **Current Atherosclerosis Reports**, [S.L.], v. 12, n. 6, p. 384-390, 14 ago. 2010. DOI: 10.1007/s11883-010-0131-6.

SITEPU, Irnayuli R. et al. Oleaginous yeasts for biodiesel: current and future trends in biology and production. **Biotechnology Advances**, [S.L.], v. 32, n. 7, p. 1336-1360, nov. 2014. DOI: 10.1016/j.biotechadv.2014.08.003.

SIVADAS, Dhaneesha *et al.* Oleogels produced using single cell oils from the oleaginous yeast *Metschnikowia pulcherrima* as potential fat replacers. *Food Hydrocolloids*, [S.L.], v. 172, p. 111921, mar. 2026. **Elsevier BV**. <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodhyd.2025.111921>.

SMÅROS, Fiona *et al.* Microbial production of food lipids using the oleaginous yeast *Apiotrichum brassicae*. **Food Research International**, [S.L.], v. 200, p. 115481, jan. 2025. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodres.2024.115481>.

SOFEO, Naazneen; TOI, Min Gin; EE, En Qi Grace; NG, Jing Yang; BUSRAN, Coleen Toledo; LUKITO, Benedict Ryan; THONG, Aaron; HERMANSEN, Christian; PETERSON, Eric Charles; GLITSOS, Renata. Sustainable production of lipids from cocoa fatty acid distillate fermentation driven by adaptive evolution in *Yarrowia lipolytica*. **Bioresource Technology**, [S.L.], v. 394, p. 130302, fev. 2024. DOI: 10.1016/j.biortech.2024.130302.

SOHLBERG, Elina; SARLIN, Tuija; JUVONEN, Riikka. Fungal diversity on brewery filling hall surfaces and quality control samples. **Yeast**, [S. l.], v. 39, n. 1–2, p. 141–155, 2022. DOI: 10.1002/yea.3687.

SOUZA, K. S. T.; SCHWAN, R. F.; DIAS, D. R. Lipid and Citric Acid Production by Wild Yeasts Grown in Glycerol. **Journal of Microbiology and Biotechnology**, v. 24, n. 4, p. 497–506, 28 abr. 2014.

SOUZA, Karla Silva Teixeira; RAMOS, Cintia Lacerda; SCHWAN, Rosane Freitas; DIAS, Disney Ribeiro. Lipid production by yeasts grown on crude glycerol from biodiesel industry.

Preparative Biochemistry & Biotechnology, [S.L.], v. 47, n. 4, p. 357-363, 12 jan. 2017. DOI: 10.1080/10826068.2016.1244689.

SPEROTTO, Raul Antonio (org.). Protocolos e métodos de análise em laboratórios de biotecnologia agroalimentar e de saúde humana. **Lajeado: Univates**, 2014. 329 p.

SZCZEPAŃSKA, Patrycja; HAPETA, Piotr; LAZAR, Zbigniew. Advances in production of high-value lipids by oleaginous yeasts. **Critical Reviews In Biotechnology**, [S.L.], v. 42, n. 1, p. 1-22, 18 maio 2021. DOI: 10.1080/07388551.2021.1922353.

TAN, H.W.; AZIZ, A.R. Abdul; AROUA, M.K.. Glycerol production and its applications as a raw material: a review. **Renewable And Sustainable Energy Reviews**, [S.L.], v. 27, p. 118-127, nov. 2013. DOI: 10.1016/j.rser.2013.06.035.

TILMAN, David; CLARK, Michael. Global diets link environmental sustainability and human health. **Nature**, [S.L.], v. 515, n. 7528, p. 518-522, nov. 2014. DOI: 10.1038/nature13959.

UEMURA, Hiroshi. Synthesis and production of unsaturated and polyunsaturated fatty acids in yeast: current state and perspectives. **Applied Microbiology And Biotechnology**, [S.L.], v. 95, n. 1, p. 1-12, 6 maio 2012. DOI: 10.1007/s00253-012-4105-1.

VALLI, Veronica et al. Sugar Cane and Sugar Beet Molasses, Antioxidant-rich Alternatives to Refined Sugar. **Journal Of Agricultural And Food Chemistry**, [S.L.], v. 60, n. 51, p. 12508-12515, 12 dez. 2012. DOI: 10.1021/jf304416d.

VALSTA, L.M.; TAPANAINEN, H.; MÄNNISTÖ, S.. Meat fats in nutrition. **Meat Science**, [S.L.], v. 70, n. 3, p. 525-530, jul. 2005. DOI: 10.1016/j.meatsci.2004.12.016.

WAHJUDI, Sekar Mayang W.; PETRZIK, Thomas; OUDENNE, Françoise; CALVO, Concepción Lera; BÜCHS, Jochen. Unraveling the potential and constraints associated with corn steep liquor as a nutrient source for industrial fermentations. **Biotechnology Progress**, [S.L.], v. 39, n. 6, p. 1-16, 27 ago. 2023. DOI: 10.1002/btpr.3386.

WOOD, J. D.; RICHARDSON, R. I.; NUTE, G. R.; FISHER, A. V.; CAMPO, M. M.; KASAPIDOU, E.; SHEARD, P. R.; ENSER, M. Effects of fatty acids on meat quality: a review. **Meat Science**, v. 66, p. 21-32, 2003. DOI: 10.1016/S0309-1740(03)00022-6.

YUAN, Hua-Wei; TAN, Li; KIDA, Kenji; MORIMURA, Shigeru; SUN, Zhao-Yong; TANG, Yue-Qin. Potential for reduced water consumption in biorefining of lignocellulosic biomass to bioethanol and biogas. **Journal Of Bioscience And Bioengineering**, [S.L.], v. 131, n. 5, p. 461-468, maio 2021. DOI: 10.1016/j.jbiosc.2020.12.015.

ZHANG, Le; LEE, Jonathan T.e.; OK, Yong Sik; DAI, Yanjun; TONG, Yen Wah. Enhancing microbial lipids yield for biodiesel production by oleaginous yeast *Lipomyces starkeyi* fermentation: a review. **Bioresource Technology**, [S.L.], v. 344, p. 126294, jan. 2022. DOI: 10.1016/j.biortech.2021.126294.

ZINJARDE, S. S. Food-related applications of *Yarrowia lipolytica*. **Food Chemistry**, [s. l.], v. 152, p. 1-10, 2014. DOI: 10.1016/j.foodchem.2013.11.117.

TERCEIRA PARTE

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Este trabalho investigou leveduras oleaginosas como alternativa biotecnológica para gerar biomassa e lipídios a partir de glicerol bruto, com potencial aplicação futura em produtos análogos cárneos. O objetivo geral foi selecionar uma cepa com capacidade de síntese e acúmulo de ácidos graxos alvos, principalmente saturados e monoinsaturados, e avaliar a biomassa também como possível fonte de proteínas.

Nos ensaios de segurança, não foram observadas atividades hemolítica, DNase e gelatinase nas duas cepas, indicando perfil microbiológico favorável nas condições avaliadas. Para *Y. lipolytica*, os resultados acompanham seu histórico de uso seguro. Para *C. ferigula*, apesar das lacunas na literatura, os dados obtidos apontam baixo potencial de virulência.

Quanto aos substratos, o glicerol bruto foi o mais eficiente para o acúmulo lipídico em ambas as espécies: 59,6% em *Y. lipolytica* e 72,0% em *C. ferigula*. No meio com melaço e glicerol bruto, os valores foram menores (27,6% e 47,3%, respectivamente). Além disso, as cepas em ambos os meios mantiveram predominância de ácidos graxos na faixa C16–C18, com destaque para C16:0, C18:0 e C18:1, e presença de C18:2 nas leveduras.

A otimização evidenciou respostas diferentes entre as espécies. Em *Y. lipolytica*, o melhor desempenho ocorreu em 18–22 °C, com glicerol entre 20 e 30 g/L e ureia em torno de 0,3–0,4 g/L. Já *C. ferigula* apresentou maior acúmulo lipídico em 30–34 °C, com glicerol entre 42 e 52 g/L e ureia em torno de 0,8–0,9 g/L, indicando demandas de processo distintas.

Nas condições otimizadas (ensaio 1 para 357 e ensaio 7 para 1623), *Y. lipolytica* apresentou maior teor de proteínas totais na biomassa ($16,4 \pm 0,1\%$) do que *C. ferigula* ($12,1 \pm 0,1\%$). Em termos de lipídios, os perfis de ácidos graxos foram dominados por C16–C18, com C16:0, C18:0 e C18:1, em consonância com os principais componentes da fração lipídica da carne bovina. Observou-se ainda maior contribuição de C18:2 nas leveduras e C14:0 nos cortes de carne.

Como limitação do estudo, o aumento de escala em biorreator não foi realizado no período, sendo uma etapa recomendada para validar o desempenho em condições mais próximas do processo industrial. Assim, como perspectiva futura, recomenda-se aprofundar a avaliação do perfil lipídico por testes de estabilidade oxidativa, executar o escalonamento, avaliar reprodutibilidade com diferentes lotes de glicerol bruto e realizar testes aplicados de

estabilidade e formulação em matriz alimentar, mantendo o foco na aplicação em análogos cárneos.

REFERÊNCIAS

- ABBAS, Charles A.. Production of Antioxidants, Aromas, Colours, Flavours, and Vitamins by Yeasts. **Yeasts In Food And Beverages**, [S.L.], p. 285-334, 2006. DOI: 10.1007/978-3-540-28398-0_10.
- ABELN, Felix; CHUCK, Christopher J.. The history, state of the art and future prospects for oleaginous yeast research. **Microbial Cell Factories**, [S.L.], v. 20, n. 1, p. 1-32, 7 dez. 2021. DOI: 10.1186/s12934-021-01712-1.
- ALVES, Samara Cardoso; DÍAZ-RUIZ, Erick; LISBOA, Bruna; SHARMA, Minaxi; MUSSATTO, Solange I.; THAKUR, Vijay Kumar; KALASKAR, Deepak M.; GUPTA, Vijai Kumar; CHANDEL, Anuj K.. Microbial meat: a sustainable vegan protein source produced from agri-waste to feed the world. **Food Research International**, [S.L.], v. 166, p. 112596, abr. 2023. DOI: 10.1016/j.foodres.2023.112596.
- AMIN, Indok Nurul Hasyimah Mohd; MOHAMMAD, Abdul Wahab; MARKOM, Mastura; PENG, Leo Choe; HILAL, Nidal. Analysis of deposition mechanism during ultrafiltration of glycerin-rich solutions. **Desalination**, [S.L.], v. 261, n. 3, p. 313-320, out. 2010. DOI: 10.1016/j.desal.2010.04.016.
- AOAC INTERNATIONAL. Official Methods of Analysis of AOAC International. 21. ed., AOAC International, **Rockville: AOAC International**, 2019.
- AOAC. Official Methods of Analysis. Gaithersburg: Association of Official Analytical Chemists, 1990. Method 968.06.
- KAMZOLOVA, S. V. et al. Effect of nitrogen concentration on the biosynthesis of citric acid, protein, and lipids in the yeast *Yarrowia lipolytica*. **Biomolecules**, v. 12, n. 10, p. 1421, 2022.
- AYADI, Ines; BELGHITH, Hafedh; GARGOURI, Ali; GUERFALI, Mohamed. Screening of new oleaginous yeasts for single cell oil production, hydrolytic potential exploitation and agro-industrial by-products valorization. **Process Safety And Environmental Protection**, [S.L.], v. 119, p. 104-114, out. 2018. DOI: 10.1016/j.psep.2018.07.012.
- BAJIĆ, Bojana; VUČUROVIĆ, Damjan; VASIĆ, Đurđina; JEVTIĆ-MUČIBABIĆ, Rada; DODIĆ, Siniša. Biotechnological Production of Sustainable Microbial Proteins from Agro-Industrial Residues and By-Products. **Foods**, [S.L.], v. 12, n. 1, art. 107, 2023. DOI: 10.3390/foods12010107.
- BALBINO, Thercia Rocha; SÁNCHEZ-MUÑOZ, Salvador; DÍAZ-RUIZ, Erick; ROCHA, Thiago Moura; MIER-ALBA, Edith; INÁCIO, Stephanie Custódio; CASTRO-ALONSO, Maria Jose; SANTOS-EBINUMA, Valéria de Carvalho; PEREIRA, Jorge Fernando Brandão; SANTOS, Júlio César. Lignocellulosic biorefineries as a platform for the production of high-value yeast derived pigments – A review. **Bioresource Technology**, [S.L.], v. 386, p. 129549, out. 2023. DOI: 10.1016/j.biortech.2023.129549.
- BELLOU, S.; TRIANTAPHYLLOIDOU, I.-E.; MIZERAKIS, P.; AGGELIS, G.. High lipid accumulation in *Yarrowia lipolytica* cultivated under double limitation of nitrogen and

magnesium. **Journal Of Biotechnology**, [S.L.], v. 234, p. 116-126, set. 2016. DOI: 10.1016/j.jbiotec.2016.08.001.

BEOPOULOS, Athanasios et al. Control of Lipid Accumulation in the Yeast *Yarrowia lipolytica*. **Applied And Environmental Microbiology**, [S.L.], v. 74, n. 24, p. 7779-7789, 15 dez. 2008. DOI: 10.1128/aem.01412-08.

BRABENDER, Matthew; HUSSAIN, Murtaza Shabbir; RODRIGUEZ, Gabriel; BLENNER, Mark A.. Urea and urine are a viable and cost-effective nitrogen source for *Yarrowia lipolytica* biomass and lipid accumulation. **Applied Microbiology And Biotechnology**, [S.L.], v. 102, n. 5, p. 2313-2322, 30 jan. 2018. DOI: 10.1007/s00253-018-8769-z.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Portaria SDA nº 724, de 23 de dezembro de 2022. Aprova o Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade do Hambúrguer. **Diário Oficial da União**, Brasília, 2022.

CALDER, Philip C. Functional roles of fatty acids and their effects on human health. **JPEN Journal of Parenteral and Enteral Nutrition**, v. 39, n. 1 Suppl., p. 18S-32S, 2015. DOI: 10.1177/0148607115595980.

CALVEY, Christopher H. et al. Nitrogen limitation, oxygen limitation, and lipid accumulation in *Lipomyces starkeyi*. **Bioresource Technology**, [S.L.], v. 200, p. 780-788, jan. 2016. DOI: 10.1016/j.biortech.2015.10.104.

CAPORUSSO, Antonio; CAPECE, Angela; DE BARI, Isabella. Oleaginous yeasts as cell factories for the sustainable production of microbial lipids by the valorization of agri-food wastes. **Fermentation**, v. 7, n. 2, art. 50, 2021. DOI: 10.3390/fermentation7020050.

CARSANBA, E.; PAPANIKOLAOU, S.; ERTEN, H.. Production of oils and fats by oleaginous microorganisms with an emphasis given to the potential of the nonconventional yeast *Yarrowia lipolytica*. **Critical Reviews In Biotechnology**, [S.L.], v. 38, n. 8, p. 1230-1243, 15 maio 2018. DOI: 10.1080/07388551.2018.1472065.

CHATTOPADHYAY, Atrayee; MAITI, Mrinal K.. Lipid production by oleaginous yeasts. **Advances In Applied Microbiology**, [S.L.], p. 1-98, 2021. DOI: 10.1016/bs.aambs.2021.03.003.

DE MARCHI, Massimo; COSTA, Angela; POZZA, Marta; GOI, Arianna; MANUELIAN, Carmen L. Detailed characterization of plant-based burgers. **Scientific Reports**, [S.L.], v. 11, art. 2049, 2021. DOI: 10.1038/s41598-021-81684-9.

DEVI, Amita; KHATKAR, B. S. Physicochemical, rheological and functional properties of fats and oils in relation to cookie quality: a review. **Journal Of Food Science And Technology**, [S.L.], v. 53, n. 10, p. 3633-3641, out. 2016. DOI: 10.1007/s13197-016-2355-0.

DINH, Thu T. N.; TO, K. Virellia; SCHILLING, M. Wes. Fatty Acid Composition of Meat Animals as Flavor Precursors. **Meat And Muscle Biology**, [S.L.], v. 5, n. 1, p. 1-16, 10 ago. 2021. Iowa State University. DOI: 10.22175/mmb.12251.

DOMÍNGUEZ, Rubén; PATEIRO, Mirian; GAGAOUA, Mohammed; BARBA, Francisco J.; ZHANG, Wangang; LORENZO, José M. A comprehensive review on lipid oxidation in meat and meat products. **Antioxidants**, v. 8, art. 429, 2019. DOI: 10.3390/antiox8100429.

DUAN, XI-Yu et al. Efficient production of cordycepin by engineered *Yarrowia lipolytica* from agro-industrial residues. **Bioresource Technology**, [S.L.], v. 377, p. 128964, jun. 2023. DOI: 10.1016/j.biortech.2023.128964.

DUARTE, S. H. C. C. P. DE A. G. G. F. M. Exploration of brazilian biodiversity and selection of a new oleaginous yeast strain cultivated in raw glycerol. **Bioresource Technology**, 2013.

DUMAN-ÖZDAMAR, Z. E.; MARTINS DOS SANTOS, V. A.; HUGENHOLTZ, J.; SUAREZ-DIEZ, M. Tailoring and optimizing fatty acid production by oleaginous yeasts through the systematic exploration of their physiological fitness. **Microbial Cell Factories**, v. 21, n. 1, p. 228, 2022. DOI: 10.1186/s12934-022-01956-5.

DYALL, Simon C. et al. Polyunsaturated fatty acids and fatty acid-derived lipid mediators: recent advances in the understanding of their biosynthesis, structures, and functions. **Progress in Lipid Research**, v.86, p. 101165, 2022. DOI: 10.1016/j.plipres.2022.101165.

FARVID, Maryam S.; DING, Ming; PAN, An; SUN, Qi; CHIUVE, Stephanie E.; STEFFEN, Lyn M.; WILLETT, Walter C.; HU, Frank B. Dietary Linoleic Acid and Risk of Coronary Heart Disease: A Systematic Review and Meta-Analysis of Prospective Cohort Studies. **Circulation**, [S.L.], v. 130, n. 18, p. 1568-1578, 2014. DOI: 10.1161/CIRCULATIONAHA.114.010236.

FELÍCIO, P. E. de. Fatores que influenciam a composição da carne bovina. In: _____. Qualidade da carne bovina: características físicas e químicas. 2. ed. São Paulo: **Editora da Unesp**, 2013. p. 35-48.

FINCO, Ana Maria de Oliveira; MAMANI, Luis Daniel Goyzueta; CARVALHO, Júlio Cesar de; PEREIRA, Gilberto Vinícius de Melo; THOMAZ-SOCCOL, Vanete; SOCCOL, Carlos Ricardo. Technological trends and market perspectives for production of microbial oils rich in omega-3. **Critical Reviews In Biotechnology**, [S.L.], v. 37, n. 5, p. 656-671, 10 ago. 2016. DOI: 10.1080/07388551.2016.1213221.

FRANK, Damian; JOO, Seon-Tea; WARNER, Robyn. Consumer Acceptability of Intramuscular Fat. **Korean Journal For Food Science Of Animal Resources**, [S.L.], v. 36, n. 6, p. 699-708, 2016. DOI: 10.5851/kosfa.2016.36.6.699.

GALANTE, Fernanda; ARAÚJO, Marcus Vinicius Ferreira de (org.). Fundamentos de bioquímica: para universitários, técnicos e demais profissionais da área de saúde. 2. ed. São Paulo: **Rideel**, 2014. E-book. Disponível em: <https://plataforma.bvirtual.com.br>. Acesso em: 29 fev. 2024.

GHAZANI, Saeed M.; MARANGONI, Alejandro G.. Microbial lipids for foods. **Trends In Food Science & Technology**, [S.L.], v. 119, p. 593-607, jan. 2022. DOI: 10.1016/j.tifs.2021.10.014.

GROENEWALD, Marizeth; BOEKHOUT, Teun; NEUVÉGLISE, Cécile; GAILLARDIN, Claude; VAN DER WALT, Pieter W.; WYSS, Markus. *Yarrowia lipolytica*: Safety assessment of an oleaginous yeast with a great industrial potential. **Critical Reviews in Microbiology**, v. 40, n. 3, p. 187-206, 2014. DOI: 10.3109/1040841X.2013.770386.

HUANG, Chao; CHEN, Xue-Fang; XIONG, Lian; CHEN, Xin-De; MA, Long-Long; CHEN, Yong. Single cell oil production from low-cost substrates: the possibility and potential of its industrialization. **Biotechnology Advances**, [S.L.], v. 31, n. 2, p. 129-139, mar. 2013. DOI: 10.1016/j.biotechadv.2012.08.010.

ISHAQ, Anum; IRFAN, Shafeeqa; SAMEEN, Arooba; KHALID, Nauman. Plant-based meat analogs: A review with reference to formulation and gastrointestinal fate. **Current Research In Food Science**, [S.L.], v. 5, p. 973-983, 2022. DOI: 10.1016/j.crfs.2022.06.001.

ISMAIL, Ishamri; HWANG, Young-Hwa; JOO, Seon-Tea. Meat analog as future food: a review. **Journal Of Animal Science And Technology**, [S.L.], v. 62, n. 2, p. 111-120, 2020. DOI: 10.5187/jast.2020.62.2.111.

JACH, Monika Elżbieta; SEREFKO, Anna; ZIAJA, Maria; KIELISZEK, Marek. Yeast Protein as an Easily Accessible Food Source. **Metabolites**, [S.L.], v. 12, n. 1, p. 63, 11 jan. 2022. DOI: 10.3390/metabo12010063.

JONES, A. Daniel; BOUNDY-MILLS, Kyria L.; BARLA, G. Florin; KUMAR, Sandeep; UBANWA, Bryan; BALAN, Venkatesh. Microbial Lipid Alternatives to Plant Lipids. *Methods In Molecular Biology*, [S.L.], p. 1-32, 2019. DOI: 10.1007/978-1-4939-9484-7_1.

JORGE, Cassia Roberta Jorge; MALACRIDA, Neusa. Efeitos dos Ácidos Graxos na Saúde Humana. São Paulo: **Cultura Acadêmica Editora**, 2014. 64 p. Disponível em: https://www.ibilce.unesp.br/Home/LaboratorioEditorial/2008_njorge.pdf. Acesso em: 29 fev. 2024.

KARAMEROU, E. E.; WEBB, C. Cultivation modes for microbial oil production using oleaginous yeasts – A review. **Biochemical Engineering Journal**, v. 151, n. April, p. 107322, 2019.

KANTAR, Sally El; KOUBAA, Mohamed. Valorization of Low-Cost Substrates for the Production of Odd Chain Fatty Acids by the Oleaginous Yeast *Yarrowia lipolytica*. **Fermentation**, [S.L.], v. 8, n. 6, p. 284, 16 jun. 2022. DOI: 10.3390/fermentation8060284.

KEITA, Valeriane Malika; GONZALEZ-VILLANUEVA, Miriam; WONG, Tuck Seng; TEE, Kang Lan. Microbial Utilization of Glycerol for Biomanufacturing. **Engineering Of Microbial Biosynthetic Pathways**, [S.L.], p. 245-302, 2020. DOI: 10.1007/978-981-15-2604-6_16.

KEITA, Valérie Malika; LEE, Yi Qing; LAKSHMANAN, Meiyappan; OW, Dave Siak-Wei; STANILAND, Paul; STANILAND, Jessica; SAVILL, Ian; TEE, Kang Lan; WONG, Tuck Seng; LEE, Dong-Yup. Evaluating oleaginous yeasts for enhanced microbial lipid production using sweetwater as a sustainable feedstock. **Microbial Cell Factories**, [S.L.], v. 23, n. 1, p. 1-17, 24 fev. 2024. DOI: 10.1186/s12934-024-02336-x.

KYRIAKOPOULOU, K.; DEKKERS, B.; VAN DER GOOT, A. J. Functionality of ingredients and additives in plant-based meat analogues. **Foods**, v. 10, 600, 2021.

KONGRUANG, Sasithorn; ROYTRAKUL, Sittiruk; SRIARIYANUN, Malinee. Renewable Biodiesel Production from Oleaginous Yeast Biomass Using Industrial Wastes. **E3S Web Of Conferences**, [S.L.], v. 141, p. 03010, 2020. DOI: 10.1051/e3sconf/202014103010.

KOSAMIA, Niravkumar Mahendrasinh; SAMAVI, Mahdieh; UPRETY, Bijaya Kumar; RAKSHIT, Sudip Kumar. Valorization of Biodiesel Byproduct Crude Glycerol for the Production of Bioenergy and Biochemicals. **Catalysts**, [S.L.], v. 10, n. 6, art. 609, 2020. DOI: 10.3390/catal10060609.

KOUKOUMAKI, Danai Ioanna; TSOUKO, Erminta; PAPANIKOLAOU, Seraphim; IOANNOU, Zacharias; DIAMANTOPOULOU, Panagiota; SARRIS, Dimitris. Recent advances in the production of single cell protein from renewable resources and applications. **Carbon Resources Conversion**, [S.L.], v. 7, n. 2, p. 100195, jun. 2024. DOI: 10.1016/j.crcon.2023.07.004.

KUMAR, Raviranjana; DHANARAJAN, Gunaseelan; BHAUMIK, Moumita; CHOPRA, Jayita; SEN, Ramkrishna. Performance evaluation of a yeast biorefinery as a sustainable model for co-production of biomass, bioemulsifier, lipid, biodiesel and animal-feed components using inexpensive raw materials. **Sustainable Energy & Fuels**, [S.L.], v. 1, n. 4, p. 923-931, 2017. DOI: 10.1039/c7se00010c.

KUMAR, Satish; KUMAR, Vikas; SHARMA, Rakesh; PAUL, Anna Aleena; SUTHAR, Priyanka; SAINI, Rajni. Plant Proteins as Healthy, Sustainable and Integrative Meat Alternates. **Veganism - A Fashion Trend Or Food As A Medicine**, [S.L.], p. 1-19, 31 mar. 2021. DOI: 10.5772/intechopen.94094.

LIU, Huhu; SONG, Yulan; FAN, Xiao; WANG, Chong; LU, Xiangyang; TIAN, Yun. *Yarrowia lipolytica* as an Oleaginous Platform for the Production of Value-Added Fatty Acid-Based Bioproducts. **Frontiers In Microbiology**, [S.L.], v. 11, n. 0, p. 1-13, 5 jan. 2021. DOI: 10.3389/fmicb.2020.608662.

LOPES DA SILVA, Teresa; FONTES, Afonso; REIS, Alberto; SIVA, Carla; GÍRIO, Francisco. Oleaginous Yeast Biorefinery: Feedstocks, Processes, Techniques, Bioproducts. **Fermentation**, [S.L.], v. 9, n. 12, art. 1013, 2023. DOI: 10.3390/fermentation9121013.

LOWRY, Oliverh.; ROSEBROUGH, Niraj.; FARR, A. Lewis; RANDALL, Rosej.. PROTEIN MEASUREMENT WITH THE FOLIN PHENOL REAGENT. **Journal Of Biological Chemistry**, [S.L.], v. 193, n. 1, p. 265-275, nov. 1951. DOI: 10.1016/s0021-9258(19)52451-6.

LÓPEZ, José Manuel Salvador; VANDEPUTTE, Meriam; VAN BOGAERT, Inge N. A.. Oleaginous yeasts: time to rethink the definition?. **Yeast**, [S.L.], v. 39, n. 11-12, p. 553-606, nov. 2022. DOI: 10.1002/yea.3827.

LUO, Xiaolan; GE, Xumeng; CUI, Shaoqing; LI, Yebo. Value-added processing of crude glycerol into chemicals and polymers. **Bioresource Technology**, [S.L.], v. 215, p. 144-154, set. 2016. DOI: 10.1016/j.biortech.2016.03.042.

MARANGONI, Alejandro G.; ACEVEDO, Nuria; MALEKY, Farahnaz; CO, Edmund; PEYRONEL, Fernando; MAZZANTI, Giuliana; QUINN, Benjamin; PINK, David. Structure and functionality of edible fats. **Soft Matter**, [S.L.], v. 8, n. 5, p. 1275-1300, 2012. DOI: 10.1039/C1SM06234D.

MARTINEZ, Silvia Juliana et al. The Altitude of Coffee Cultivation Causes Shifts in the Microbial Community Assembly and Biochemical Compounds in Natural Induced Anaerobic Fermentations. **Frontiers In Microbiology**, [S.L.], v. 12, n. 1, p. 1-1, 20 maio 2021. DOI: 10.3389/fmicb.2021.671395.

MCNEIL, Bonnie A.; STUART, David T.. Lipomyces starkeyi: an emerging cell factory for production of lipids, **oleochemicals and biotechnology applications**. **World Journal Of Microbiology And Biotechnology**, [S.L.], v. 34, n. 10, p. 1-10, 12 set. 2018. DOI: 10.1007/s11274-018-2532-6.

MORAN, L. A. et al. Bioquímica. 5. ed. São Paulo: **Pearson**, 2013. E-book. Disponível em: <https://plataforma.bvirtual.com.br>. Acesso em: 29 fev. 2024.

MOTA, Marta; MÔGICA, Paula; SÁ-CORREIA, Isabel. Exploring Yeast Diversity to Produce Lipid-Based Biofuels from Agro-Forestry and Industrial Organic Residues. **Journal Of Fungi**, [S.L.], v. 8, n. 7, p. 687, 29 jun. 2022. DOI: 10.3390/jof8070687.

NEPA – Núcleo de Estudos e Pesquisas em Alimentação. **Tabela brasileira de composição de alimentos**. 4. ed. rev. e ampl. Campinas: NEPA-UNICAMP, 2011. 161 p.

NOGOY, Kim Margarette C.; SUN, Bin; SHIN, Sangeun; LEE, Yeonwoo; LI, Xiang Zi; CHOI, Seong Ho; PARK, Sungkwon. Fatty Acid Composition of Grain- and Grass-Fed Beef and Their Nutritional Value and Health Implication. **Food Science Of Animal Resources**, [S.L.], v. 42, n. 1, p. 18-33, 2022. DOI: 10.5851/kosfa.2021.e73.

NOVELLO, Daiana; FRANCESCHINI, Priscilla; QUINTILIANO, Daiana Aparecida. A IMPORTÂNCIA DOS ÁCIDOS GRAXOS ω -3 E ω -6 PARA A PREVENÇÃO DE DOENÇAS E NA SAÚDE HUMANA. **Salus-Guarapuava**, Paraná, v. 2, n. 1, p. 77-87, mar. 2008.

PAPANIKOLAOU, S.; AGGELIS, G. Lipids of oleaginous yeasts. Part II: Technology and potential applications. **European Journal of Lipid Science and Technology**, v. 113, p. 1052–1073, 2011.

PAPANIKOLAOU, Seraphim; CHEVALOT, Isabelle; KOMAITIS, Michael; MARC, Ivan; AGGELIS, George. Single cell oil production by *Yarrowia lipolytica* growing on an industrial derivative of animal fat in batch cultures. **Applied Microbiology And Biotechnology**, [S.L.], v. 58, n. 3, p. 308-312, 1 mar. 2002. DOI: 10.1007/s00253-001-0897-0.

PATEL, Alok; KARAGEORGOU, Dimitra; ROVA, Emma; KATAPODIS, Petros; ROVA, Ulrika; CHRISTAKOPOULOS, Paul; MATSAKAS, Leonidas. An Overview of Potential Oleaginous Microorganisms and Their Role in Biodiesel and Omega-3 Fatty Acid-Based Industries. **Microorganisms**, [S.L.], v. 8, n. 3, p. 434, 19 mar. 2020. DOI: 10.3390/microorganisms8030434.

PATRIGNANI, Francesca; IUCCI, Luciana; VALLICELLI, Melania; GUERZONI, M. Elisabetta; GARDINI, Fausto; LANCIOTTI, Rosalba. Role of surface-inoculated *Debaryomyces hansenii* and *Yarrowia lipolytica* strains in dried fermented sausage manufacture. Part 1: evaluation of their effects on microbial evolution, lipolytic and proteolytic patterns. **Meat Science**, [S.L.], v. 75, n. 4, p. 676-686, abr. 2007. DOI: 10.1016/j.meatsci.2006.09.017.

PEÑUELA-SIERRA, Lina; CASTAÑEDA-SERRANO, Roman; SANMIGUEL, R.A.. Ácidos graxos poliinsaturados e ácido linoléico conjugado na carne suína. Benefícios para a saúde humana: revisão. **Pubvet**, Maringá, v. 9, n. 7, p. 337-347, jul. 2015. Editora MV Valero. DOI: 10.22256/pubvet.v9n7.337-347.

PETERSON, Eric Charles; SIAO, Rowanne; CHUA, Gi Gi; BUSRAN, Coleen Toledo; PAVLOVIC, Renata; THONG, Aaron; HERMANSEN, Christian; SOFEO, Naazneen; KANAGASUNDARAM, Yoganathan; WEINGARTEN, Melanie. Single cell protein and oil production from solid cocoa fatty acid distillates co-fed ethanol. **Bioresource Technology**, [S.L.], v. 387, p. 129630, nov. 2023. DOI: 10.1016/j.biortech.2023.129630.

PHILIPPINI, Rafael Rodrigues; MARTINIANO, Sabrina Evelin; INGLE, Avinash P.; MARCELINO, Paulo Ricardo Franco; SILVA, Gilda Mariano; BARBOSA, Fernanda Gonçalves; SANTOS, Júlio César dos; SILVA, Silvio Silvério da. Agroindustrial Byproducts for the Generation of Biobased Products: alternatives for sustainable biorefineries. **Frontiers In Energy Research**, [S.L.], v. 8, n. 1, p. 1-23, 29 jul. 2020. DOI: 10.3389/fenrg.2020.00152.

QIN, Lei; LIU, Lu; ZENG, An-Ping; WEI, Dong. From low-cost substrates to Single Cell Oils synthesized by oleaginous yeasts. **Bioresource Technology**, [S.L.], v. 245, p. 1507-1519, dez. 2017. DOI: 10.1016/j.biortech.2017.05.163.

RAHMAT, Norhasyimi; ABDULLAH, Ahmad Zuhairi; MOHAMED, Abdul Rahman. Recent progress on innovative and potential technologies for glycerol transformation into fuel additives: a critical review. **Renewable And Sustainable Energy Reviews**, [S.L.], v. 14, n. 3, p. 987-1000, abr. 2010. DOI: 10.1016/j.rser.2009.11.010.

RAKICKA, Magdalena et al. Lipid production by the oleaginous yeast *Yarrowia lipolytica* using industrial by-products under different culture conditions. **Biotechnology For Biofuels**, [S.L.], v. 8, n. 1, p. 1-10, 25 jul. 2015. DOI: 10.1186/s13068-015-0286-z.

RATLEDGE, Colin; WYNN, James P.. The Biochemistry and Molecular Biology of Lipid Accumulation in Oleaginous Microorganisms. **Advances In Applied Microbiology**, [S.L.], p. 1-52, 2002. DOI: 10.1016/s0065-2164(02)51000-5.

REIHANI, S. Fatemeh S.; KHOSRAVI-DARANI, Kianoush. Influencing factors on single-cell protein production by submerged fermentation: a review. **Electronic Journal Of Biotechnology**, [S.L.], v. 37, p. 34-40, jan. 2019. DOI: 10.1016/j.ejbt.2018.11.005.

RIOS, Raquel Vallerio; PESSANHA, Meibel Durigan Ferreira; ALMEIDA, Poliana Fernandes de; VIANA, Clara Leonel; LANNES, Suzana Caetano da Silva. Application of fats in some food products. **Food Science and Technology**, Campinas, v. 34, n. 1, p. 3-15, jan./mar. 2014.

ROBLES-IGLESIAS, Raúl; NAVEIRA-PAZOS, Cecilia; FERNÁNDEZ-BLANCO, Carla; VEIGA, María C.; KENNES, Christian. Factors affecting the optimisation and scale-up of lipid accumulation in oleaginous yeasts for sustainable biofuels production. **Renewable And Sustainable Energy Reviews**, [S.L.], v. 171, p. 113043, jan. 2023. DOI: 10.1016/j.rser.2022.113043.

SACKS, Frank M.; LICHTENSTEIN, Alice H.; WU, Jason H. Y.; APPEL, Lawrence J.; CREAGER, Mark A.; KRIS-ETHERTON, Penny M.; MILLER, Michael; RIMM, Eric B.; RUDEL, Lawrence L.; ROBINSON, Jennifer G.; STONE, Neil J.; VAN HORN, Linda V. Dietary Fats and Cardiovascular Disease: A Presidential Advisory From the American Heart Association. **Circulation**, [S.L.], v. 136, n. 3, p. e1-e23, 2017. DOI: 10.1161/CIR.0000000000000510.

SALES, G. F. C.; CARVALHO, B. F.; SCHWAN, R. F.; PEREIRA, M. N.; ÁVILA, C. L. S.. Diversity and probiotic characterisation of yeast isolates in the bovine gastrointestinal tract. **Antonie van Leeuwenhoek**, [S.L.], v. 116, n. 11, p. 1123-1137, 31 ago. 2023. DOI: 10.1007/s10482-023-01865-6.

SHAHIDI, Fereidoon; HOSSAIN, Abul. Role of Lipids in Food Flavor Generation. **Molecules**, [S.L.], v. 27, n. 15, p. 5014, 6 ago. 2022. DOI: 10.3390/molecules27155014.

SHAIGANI, Pariya; AWAD, Dania; REDAI, Veronika; FUCHS, Monika; HAACK, Martina; MEHLMER, Norbert; BRUECK, Thomas. Oleaginous yeasts-substrate preference and lipid productivity: a view on the performance of microbial lipid producers. **Microbial Cell Factories**, [S.L.], v. 20, n. 1, art. 220, 2021. DOI: 10.1186/s12934-021-01710-3.

SILVA, Jonilson de Melo e; MARTINS, Luiza Helena da Silva; MOREIRA, Débora Kono Taketa; SILVA, Leonardo do Prado; BARBOSA, Paula de Paula Menezes; KOMESU, Andrea; FERREIRA, Nelson Rosa; OLIVEIRA, Johnatt Allan Rocha de. Microbial Lipid Based Biorefinery Concepts: a review of status and prospects. **Foods**, [S.L.], v. 12, n. 10, p. 2074, 22 maio 2023. DOI: 10.3390/foods12102074.

SINGH, Gunjan; SINHA, Sweta; KUMAR, Kukula K.; GAUR, Naseem A.; BANDYOPADHYAY, K.K.; PAUL, Debarati. High density cultivation of oleaginous yeast isolates in 'mandi' waste for enhanced lipid production using sugarcane molasses as feed. **Fuel**, [S.L.], v. 276, p. 118073, set. 2020. DOI: 10.1016/j.fuel.2020.118073.

SIRI-TARINO, Patty W.; SUN, Qi; HU, Frank B.; KRAUSS, Ronald M.. Saturated Fatty Acids and Risk of Coronary Heart Disease: modulation by replacement nutrients. **Current Atherosclerosis Reports**, [S.L.], v. 12, n. 6, p. 384-390, 14 ago. 2010. DOI: 10.1007/s11883-010-0131-6.

SITEPU, Irnayuli R. et al. Oleaginous yeasts for biodiesel: current and future trends in biology and production. **Biotechnology Advances**, [S.L.], v. 32, n. 7, p. 1336-1360, nov. 2014. DOI: 10.1016/j.biotechadv.2014.08.003.

SMITH, Stephen B. Marbling and Its Nutritional Impact on Risk Factors for Cardiovascular Disease. **Korean Journal For Food Science Of Animal Resources**, [S.L.], v. 36, n. 4, p. 435-444, 2016. DOI: 10.5851/kosfa.2016.36.4.435.

SOFEO, Naazneen; TOI, Min Gin; EE, En Qi Grace; NG, Jing Yang; BUSRAN, Coleen Toledo; LUKITO, Benedict Ryan; THONG, Aaron; HERMANSEN, Christian; PETERSON, Eric Charles; GLITSOS, Renata. Sustainable production of lipids from cocoa fatty acid distillate fermentation driven by adaptive evolution in *Yarrowia lipolytica*. **Bioresource Technology**, [S.L.], v. 394, p. 130302, fev. 2024. DOI: 10.1016/j.biortech.2024.130302.

SOHLBERG, Elina; SARLIN, Tuija; JUVONEN, Riikka. Fungal diversity on brewery filling hall surfaces and quality control samples. **Yeast**, [S. l.], v. 39, n. 1–2, p. 141–155, 2022. DOI: 10.1002/yea.3687.

SOUZA, K. S. T.; SCHWAN, R. F.; DIAS, D. R. Lipid and Citric Acid Production by Wild Yeasts Grown in Glycerol. **Journal of Microbiology and Biotechnology**, v. 24, n. 4, p. 497–506, 28 abr. 2014.

SOUZA, Karla Silva Teixeira; RAMOS, Cintia Lacerda; SCHWAN, Rosane Freitas; DIAS, Disney Ribeiro. Lipid production by yeasts grown on crude glycerol from biodiesel industry. **Preparative Biochemistry & Biotechnology**, [S.L.], v. 47, n. 4, p. 357–363, 12 jan. 2017. DOI: 10.1080/10826068.2016.1244689.

SPEROTTO, Raul Antonio (org.). Protocolos e métodos de análise em laboratórios de biotecnologia agroalimentar e de saúde humana. Lajeado: **Univates**, 2014. 329 p.

SZCZEPAŃSKA, Patrycja; HAPETA, Piotr; LAZAR, Zbigniew. Advances in production of high-value lipids by oleaginous yeasts. **Critical Reviews In Biotechnology**, [S.L.], v. 42, n. 1, p. 1–22, 18 maio 2021. DOI: 10.1080/07388551.2021.1922353.

TAN, H.W.; AZIZ, A.R. Abdul; AROUA, M.K.. Glycerol production and its applications as a raw material: a review. **Renewable And Sustainable Energy Reviews**, [S.L.], v. 27, p. 118–127, nov. 2013. DOI: 10.1016/j.rser.2013.06.035.

TILMAN, David; CLARK, Michael. Global diets link environmental sustainability and human health. **Nature**, [S.L.], v. 515, n. 7528, p. 518–522, nov. 2014. DOI: 10.1038/nature13959.

UEMURA, Hiroshi. Synthesis and production of unsaturated and polyunsaturated fatty acids in yeast: current state and perspectives. **Applied Microbiology And Biotechnology**, [S.L.], v. 95, n. 1, p. 1–12, 6 maio 2012. DOI: 10.1007/s00253-012-4105-1.

VALLI, Veronica et al. Sugar Cane and Sugar Beet Molasses, Antioxidant-rich Alternatives to Refined Sugar. **Journal Of Agricultural And Food Chemistry**, [S.L.], v. 60, n. 51, p. 12508–12515, 12 dez. 2012. DOI: 10.1021/jf304416d.

VALSTA, L.M.; TAPANAINEN, H.; MÄNNISTÖ, S.. Meat fats in nutrition. **Meat Science**, [S.L.], v. 70, n. 3, p. 525–530, jul. 2005. DOI: 10.1016/j.meatsci.2004.12.016.

VILA-CLARÀ, Gil; VILA-MARTÍ, Anna; VERGÉS-CANET, Laia; TORRES-MORENO, Miriam. Exploring the Role and Functionality of Ingredients in Plant-Based Meat Analogue Burgers: A Comprehensive Review. **Foods**, [S.L.], v. 13, n. 8, art. 1258, 2024. DOI: 10.3390/foods13081258.

WAHJUDI, Sekar Mayang W.; PETRZIK, Thomas; OUDENNE, Françoise; CALVO, Concepción Lera; BÜCHS, Jochen. Unraveling the potential and constraints associated with corn steep liquor as a nutrient source for industrial fermentations. **Biotechnology Progress**, [S.L.], v. 39, n. 6, p. 1-16, 27 ago. 2023. DOI: 10.1002/btpr.3386.

WANG, Qiong; ZHANG, Hui; JIN, Qingzhe; WANG, Xingguo. Effects of Dietary Linoleic Acid on Blood Lipid Profiles: A Systematic Review and Meta-Analysis of 40 Randomized Controlled Trials. **Foods**, [S.L.], v. 12, n. 11, art. 2129, 2023. DOI: 10.3390/foods12112129.

WHELAN, Jay; FRITSCHKE, Kevin. Linoleic acid. **Advances In Nutrition**, [S.L.], v. 4, n. 3, p. 311-312, 2013. DOI: 10.3945/an.113.003772.

WOOD, J. D.; RICHARDSON, R. I.; NUTE, G. R.; FISHER, A. V.; CAMPO, M. M.; KASAPIDOU, E.; SHEARD, P. R.; ENSER, M. Effects of fatty acids on meat quality: a review. **Meat Science**, v. 66, p. 21–32, 2003. DOI: 10.1016/S0309-1740(03)00022-6.

YUAN, Hua-Wei; TAN, Li; KIDA, Kenji; MORIMURA, Shigeru; SUN, Zhao-Yong; TANG, Yue-Qin. Potential for reduced water consumption in biorefining of lignocellulosic biomass to bioethanol and biogas. **Journal Of Bioscience And Bioengineering**, [S.L.], v. 131, n. 5, p. 461-468, maio 2021. DOI: 10.1016/j.jbiosc.2020.12.015.

ZHANG, Le; LEE, Jonathan T.e.; OK, Yong Sik; DAI, Yanjun; TONG, Yen Wah. Enhancing microbial lipids yield for biodiesel production by oleaginous yeast *Lipomyces starkeyi* fermentation: a review. **Bioresource Technology**, [S.L.], v. 344, p. 126294, jan. 2022. DOI: 10.1016/j.biortech.2021.126294.