

AVALIAÇÃO DO POTENCIAL PROBIÓTICO DE LEVEDURAS INDÍGENAS

LARYSSA VITÓRIA GOMES DA SILVA^{1,2*}, ANA VITÓRIA BÖNEMANN²,
GABRIEL DO AMARAL MINUSSI^{2,3}, SÉRGIO LUIZ ALVES JR^{2,4}

1 Introdução

A busca por microrganismos com potencial probiótico tem se intensificado devido ao crescente interesse em suas aplicações biotecnológicas e funcionais (Fijan, 2023). Nesse contexto, as leveduras vêm despertando interesse científico por suas características fisiológicas e potencial de aplicação como probióticos (Shruthi et al., 2022). Entre as leveduras de interesse biotecnológico, destacam-se as produtoras de compostos bioativos, como os carotenoides, reconhecidos por sua atividade antioxidante (Maoka, 2019). Além disso, a resistência às condições adversas do trato gastrointestinal é um dos principais critérios para a seleção de microrganismos com potencial probiótico, tornando fundamental a avaliação dessas características para a identificação de linhagens promissoras para aplicações biotecnológicas (Gomaa, 2020; Tullio, 2024).

2 Objetivos

O presente trabalho teve como objetivo avaliar o potencial probiótico de leveduras por meio da análise e seleção de linhagens resistentes a condições de estresse semelhantes às do trato gastrointestinal humano.

3 Metodologia

A linhagem *Rhodotorula mucilaginosa* CHAP-208 (Tadioto et al., 2026) foi submetida a pré-inóculo em meio YPDA (1% extrato de levedura, 2% peptona, 2% glicose e 2% ágar) com incubação por 48 h a 30°C. Posteriormente, foram avaliadas 9 formulações de YPD em frascos Erlenmeyer de 250 mL, contendo 50 mL de meio, sob 30°C e 145 rpm por 48 h. As condições experimentais corresponderam às seguintes concentrações de extrato de levedura, peptona e glicose, respectivamente: C1: 0,1% + 0,2% + 1%; C2: 0,5% + 1% + 1%; C3: 1% +

1 Graduanda em Enfermagem, UFFS, *campus* Chapecó, contato: laryssa.dasilva@estudante.uffs.edu.br

2 Laboratório de Bioquímica de Leveduras (LabBioLev), Grupo de Pesquisa em Microbiologia Aplicada (GPMA), *Campus* Chapecó, UFFS, Chapecó/SC.

3 Doutorando em Biotecnologia e Biociências, UFSC, *campus* Florianópolis-SC.

4 Doutor em Biotecnologia, Universidade de São Paulo (USP), **Orientador(a)**.

2% + 1%; C4: 0,1% + 0,2% + 5%; C5: 0,5% + 1% + 5%; C6: 1% + 2% + 5%; C7: 0,1% + 0,2% + 10%; C8: 0,5% + 1% + 10%; e C9: 1% + 2% + 10%. O crescimento foi avaliado em 0, 24 e 48 h por espectrofotometria a 570 nm. Ao final, as células foram separadas por centrifugação (9.000 rpm, 5 min) e armazenadas a -20°C. Das condições avaliadas, somente C2, C5, C6 e C8 seguiram para a extração e determinação da concentração de carotenoides totais (TCC), conforme metodologia adaptada de Pham et al. (2024). As amostras foram analisadas por espectrofotometria no comprimento de onda de 454 nm. A determinação de carotenoides totais foi calculada através da equação 1.

$$TCC (\mu g/g) = \frac{A \cdot V \cdot 10^6}{A_{1cm}^{1\%} \cdot P \cdot 100} \quad \text{Equação (1)}$$

No qual: A = Absorbância da amostra; $A_{1cm}^{1\%} = 2620$ representa a extinção no comprimento de onda de 454 nm no etanol na cubeta na concentração de 1%, em uma cubeta num caminho óptico de 1cm; P = Estimativa de peso seco da amostra (g); V = Volume da amostra (mL); TCC = Teor de carotenoides totais (μg/g).

Adicionalmente, outras linhagens da coleção do grupo de pesquisa (vide Tabela 1) foram avaliadas quanto à tolerância a diferentes condições de pH. Para isso, inicialmente as cepas foram pré-cultivadas em frascos Erlenmeyers de 50 mL contendo 10 mL de YPD (1% extrato de levedura, 2% peptona e 2% glicose), a 30°C e 145 rpm por 48 h. Em seguida, foram realizados ensaios em microplacas de 96 poços, contendo 1 μL do cultivo e 100 μL de YPD, com diferentes valores de pH: 5,0; 3,0; 2,5 e 2,0. As análises foram realizadas em triplicata, com monitoramento do crescimento por 24 h em leitor de microplacas (Varioskan, Thermo Scientific), a 30 °C, com agitação contínua de 180 rpm e leitura turbidimétrica a 600 nm (DO600). Os dados foram utilizados para medir o incremento de biomassa celular (ΔDO).

Tabela 1. Leveduras da coleção do LabBioLev utilizadas no presente estudo.

Espécies	Códigos das linhagens	Fontes do isolamento das leveduras
<i>Rhodotorula mucilaginosa</i>	CHAP-208	
<i>Aureobasidium leucospermi</i>	CHAP-211, CHAP-214, CHAP-215, CHAP-220, CHAP-221	Flores de <i>Senna macranthera</i>
<i>Aureobasidium</i> sp.	CHAP-213, CHAP-222	
<i>Papiliotrema rajasthanensis</i>	CHAP-216	
<i>Papiliotrema rajasthanensis</i>	CHAP-223	Besouros <i>Astylus</i>

<i>Tremella</i> sp.	CHAP-224	
<i>Papiliotrema</i> sp.	CHAP-225, CHAP-226, CHAP-227, CHAP-229, CHAP-230, CHAP-231, CHAP-232, CHAP-233, CHAP-235	
<i>Papiliotrema aspenensis</i>	CHAP-234, CHAP-241	<i>variegatus</i>
<i>Papiliotrema flavescens</i>	CHAP-236	
<i>Kurtzmaniella quercitrusa</i>	CHAP-237, CHAP-238, CHAP-240	
<i>Papiliotrema siamensis</i>	CHAP-239	
<i>Meyerozyma caribbica</i>	CHAP-242, CHAP-244, CHAP-245, CHAP-246, CHAP-247, CHAP-248	Abelhas <i>Scaptotrigona</i> <i>postica</i> e <i>Tetragonisca</i> <i>angustula</i>
<i>Meyerozyma carpophila</i>	CHAP-243	

4 Resultados e Discussão

Os resultados obtidos possibilitaram a identificação de condições de cultivo mais favoráveis para a produção de carotenoides pela linhagem *R. mucilaginosa* CHAP-208 (Figura 1). A otimização do cultivo demonstrou que a C8 favoreceu o maior crescimento celular, enquanto a C6 apresentou maior produção de carotenoides totais, indicando que a formação de biomassa não está diretamente relacionada à síntese de carotenoides, conforme observado em estudos com leveduras do gênero *Rhodotorula*, nos quais a composição do meio exerceu influência de forma distinta sobre esses parâmetros (Maldonado *et al.*, 2012). Esses dados, portanto, demonstram potencial biotecnológico em relação à produção de carotenoides pela linhagem CHAP-208.

A partir disso, essa levedura foi submetida a testes de tolerância a ambientes ácidos, no intuito de avaliar sua resistência a condições semelhantes às encontradas no trato gastrointestinal humano, especialmente no estômago. Contudo, como pode ser visto na Figura 2, a levedura *R. mucilaginosa* CHAP-208 apresentou baixo desempenho comparado ao apresentado pela linhagem controle (o probiótico comercial *Saccharomyces boulardii* Floratil). Assim sendo, outras linhagens da coleção do grupo de pesquisa foram testadas para prospectar novas leveduras com potencial probiótico. Nessa avaliação, as linhagens *A. leucospermi* CHAP-214, *Tremella* sp. CHAP-224, *M. caribbica* CHAP-244 e *M. caribbica* CHAP-246 apresentaram tolerância a condições ácidas, com incrementos de biomassa superiores ao observado para a cepa controle, destacando-se como candidatas para futuros estudos em novas condições simuladas do trato gastrointestinal e aplicações relacionadas ao potencial probiótico.

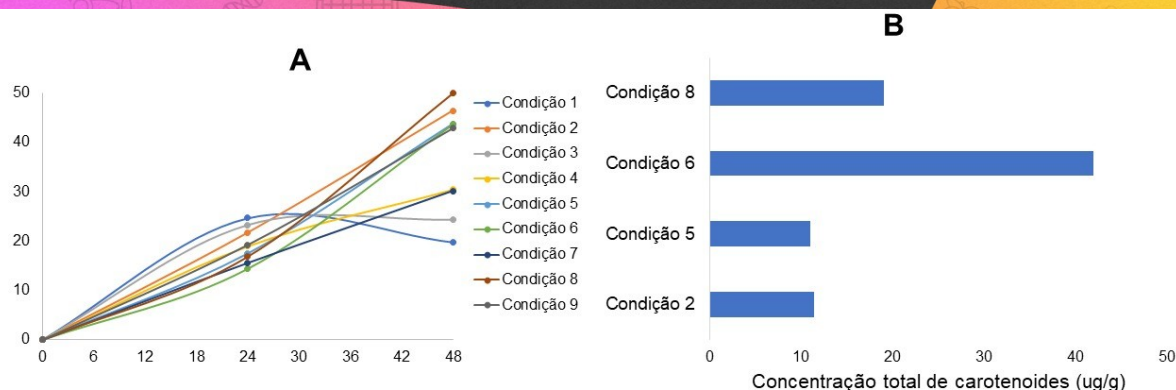


Figura 1. (A) Crescimento celular da linhagem CHAP-208 em 9 formulações do meio YPD, sendo elas C1, 0,1% de extrato de levedura + 0,2% de peptona + 1% de glicose; C2, 0,5% + 1% + 1%; C3, 1% + 2% + 1%; C4, 0,1% + 0,2% + 5%; C5, 0,5% + 1% + 5%; C6, 1% + 2% + 5%; C7, 0,1% + 0,2% + 10%; C8, 0,5% + 1% + 10%; e C9, 1% + 2% + 10%, respectivamente para extrato de levedura, peptona e glicose. O crescimento celular foi determinado por espectrofotometria a 570 nm nos tempos de 0, 24 e 48 h. **(B)** Concentração total de carotenoides produzidos pela linhagem CHAP-208 nas condições de cultivo selecionadas para avanço dos testes a partir do comportamento das 9 condições, determinada por espectrofotometria a 454 nm e expressa em µg/g.

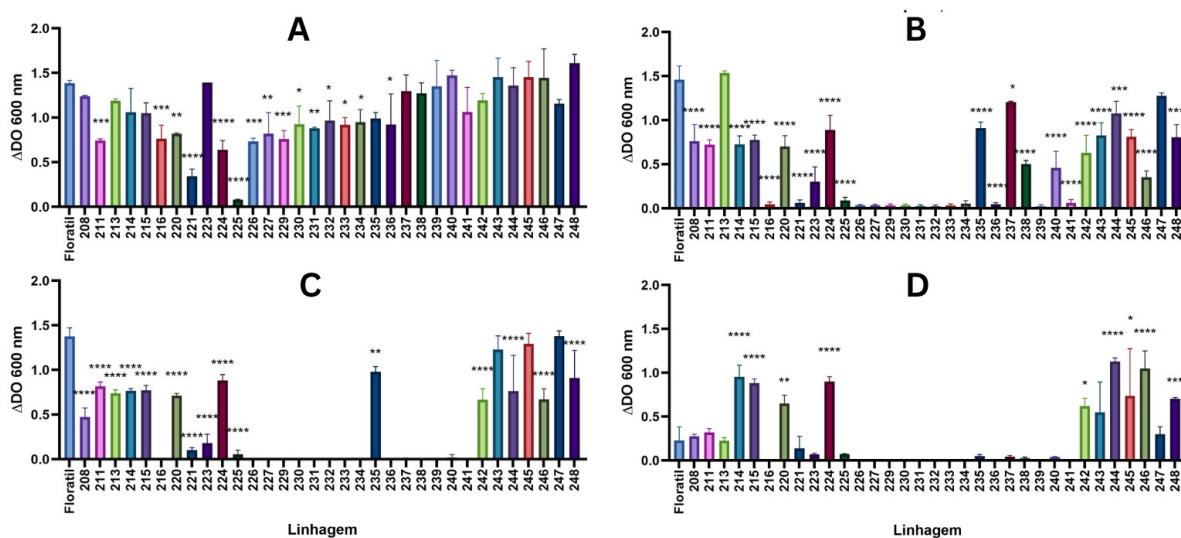


Figura 2. Incremento de biomassa estimado em densidade óptica (ΔDO) das linhagens de levedura cultivadas em meio YPD com pH 5,0 (A), 3,0 (B), 2,5 (C) e 2,0 (D). As barras representam a média $\pm$ desvio-padrão de três repetições ($n = 3$). As diferenças estatísticas foram avaliadas por ANOVA, seguida do teste de Dunnett, utilizando a cepa probiótica comercial Floratil como controle. Os asteriscos indicam diferenças significativas em relação à cepa controle: * ($p < 0,05$), ** ($p < 0,01$), *** ($p < 0,001$) e **** ($p < 0,0001$).

5 Conclusão

Os resultados obtidos evidenciam o potencial biotecnológico das leveduras avaliadas, destacando a CHAP-208 como uma linhagem promissora pela capacidade de produção de carotenoides com atividade antioxidante. Apesar da baixa resistência em condições ácidas limitar sua aplicação como probiótico, essa característica indica a necessidade de novas investigações quanto às suas possibilidades de aplicação. Além disso, a triagem de novas

linhagens em microescala possibilitou a identificação de cepas com maior tolerância a ambientes ácidos, ampliando as perspectivas para futuras aplicações como microrganismos de interesse probiótico e/ou biotecnológico.

Referências Bibliográficas

- FIJAN, S. Probiotics and Their Antimicrobial Effect. **Microorganisms**, v. 11, n. 2, p. 528, 2023. DOI: 10.3390/microorganisms11020528.
- GOMAA, E. Z. Human gut microbiota/microbiome in health and diseases: a review. **Antonie van Leeuwenhoek**, [s.l.], v. 113, n. 12, p. 2019-2040, 2020. DOI: 10.1007/s10482-020-01474-7.
- PHAM, K. D.; DANG, T. N. D.; TRAN, V. H. Effect of Extraction Conditions on Carotenoids from *Rhodotorula mucilaginosa*. **Journal of Technical Education**, v. 19, n. 3, p. 32-39, 2024. DOI: 10.54644/jte.2024.1574.
- MALDONADE, I. R. et al. Statistical optimisation of cell growth and carotenoid production by *Rhodotorula mucilaginosa*. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 43, n. 1, p. 109-115, 2012. DOI: 10.1590/S1517-83822012000100012.
- MAOKA, T. Carotenoids as natural functional pigments. **Journal of Natural Medicines**, v. 74, n. 1, p. 1-16, 2020. DOI: 10.1007/s11418-019-01364-x.
- SHRUTHI, B. et al. Exploring biotechnological and functional characteristics of probiotic yeasts: A review. **Biotechnology Reports**, v. 34, e00716, 2022. DOI: 10.1016/j.btre.2022.e00716.
- TADIOTO, V. et al. Prospecting Bioactive Potential and Phenolic Compounds in Brazilian Yeast Strains. **Current Microbiology**, v. 83, p. 77, 2026. DOI: 10.1007/s00284-025-04668-2.
- TULLIO, V. Probiotic Yeasts: A Developing Reality? **Journal of Fungi**, v. 10, n. 7, p. 489, 2024. DOI: 10.3390/jof10070489.

Palavras-chave: leveduras probióticas; carotenoides; crescimento celular; tolerância ácida; potencial biotecnológico.

Nº de Registro no sistema Prisma: PES-2025-0274

Financiamento:

