



Avaliação da biomassa produzida a partir de fermentação por *Yarrowia lipolytica* de resíduo agroindustrial de mandioca (*Manihot esculenta*) em distintas concentrações de glicose

Thiago Bergler Bitencourt^{a*}, Danieli Natali Konopka^a, Fernanda Arpini Souza^a,
Vanessa Gomes da Silva^a, Luísa Helena Cazarolli^a

^a Universidade Federal da Fronteira Sul, Brasil

* Autor correspondente (bitencourt@uffs.edu.br)

INFO

Keywords

yeasts
bioprocesses
reuse
protein
lipids

Palavras-chaves

leveduras
bioprocessos
reaproveitamento
proteína
lipídios

ABSTRACT

Evaluation of biomass produced from fermentation by Yarrowia lipolytica of cassava agroindustrial residue (Manihot esculenta) in different glucose concentrations.

Considering the high potential of Brazil for agricultural production, as well as the growing demand for research in the microbial area, yeasts such as *Yarrowia lipolytica* (YL) have been used in bioconversion processes that can bring nutritional value to the production of several products with greater value aggregate in the animal food supplement industry. In this work, three different strains of yeast YL (QU31, QU69 and QU123) were used to evaluate the production of proteins and lipids under different concentrations of glucose (0, 4, 8 and 12%) using cassava peel (*Manihot esculenta*) as a source of carbon and urea as a source of nitrogen. The use of cassava peel as a carbon source for fermentation with YL proved to be advantageous, since initially the residue had 1.66% of lipids and after the process it showed a gain of up to 1839.5%, while for protein it presented increments that varied from 234.04 to 1674.46%. In the vast majority of cases, the increase in the glucose content in the culture medium promoted a decrease in the levels of lipids and proteins.

RESUMO

A cultura da mandioca apresenta alta relevância socioeconômica para o Brasil. Entretanto, na região Oeste Considerando o elevado potencial do Brasil para a produção agrícola, bem como a crescente demanda por pesquisas na área microbiana, tem se utilizado leveduras como a *Yarrowia lipolytica* (YL) em processos de bioconversão que possam trazer valorização nutricional para produção de diversos produtos com maior valor agregado na indústria de suplementos alimentares de uso animal. Neste trabalho foram utilizadas três cepas diferentes da levedura YL (QU31, QU69 e QU123) para avaliar a produção de proteínas e lipídeos sob diferentes concentrações de glicose (0, 4, 8 e 12%) utilizando casca de mandioca (*Manihot esculenta*) como fonte de carbono e ureia como fonte de nitrogênio. O uso da casca de mandioca como fonte de carbono para fermentação com YL se mostrou vantajoso, visto que inicialmente o resíduo possuía 1,66% de lipídios e após o processo apresentou ganho de até 1839,5%, enquanto para proteína apresentou incrementos que variaram de 234,04 até 1674,46%. Na ampla maioria dos casos o aumento do teor de glicose no meio de cultura promoveu diminuição nos teores de lipídeos e proteínas.

Received 20 October 2020; Received in revised from 03 February 2021; Accepted 26 April 2021



INTRODUÇÃO

O Brasil é um dos principais produtores de alimentos do mundo segundo a Organização das Nações Unidas para a Alimentação e Agricultura (FAO), porém, ainda enfrenta a realidade do desperdício em todas as etapas da cadeia. Segundo EMPRAPA, (2005) e Suwannarat et al. (2015), os ramos agroindustriais e de alimentos são responsáveis por produzirem elevadas quantidades de resíduos que acabam representando grandes problemas de descarte final e que necessitam de contínuas pesquisas para a valorização nutricional e orgânica desses materiais.

Atualmente há um forte consenso quanto à minimização e recuperação de resíduos, ao contrário do que era realizado no passado, quando resíduos eram dispostos em aterros sanitários ou empregados sem tratamento para ração animal ou adubo. O aproveitamento de subprodutos e bioconversão de tais resíduos são cada vez mais difundidos e necessários para as cadeias agroindustriais, em especial na indústria de suplementos para ração animal.(EMBRAPA, 2005).

A mandioca (*Manihot esculenta*) é uma planta que é a base da alimentação brasileira. A produção brasileira de raiz de mandioca pode chegar a 19 milhões de toneladas para o ano de 2020, cultivadas numa área de 1,36 milhão de hectares, representando uma produtividade de 14,75 t/há (CONAB, 2020)

As leveduras são um grupo de micro-organismos eucarióticos capazes de reproduzir-se de forma rápida em ambientes líquidos, sendo que alguns indivíduos destes grupos ainda são capazes de sintetizar lipases, dentre eles a *Yarrowia* (Zieniuk e Fabiszewska, 2019)

Yarrowia lipolytica (YL) é classificado como fungo estritamente aeróbico e oleaginoso, não patogênico e pertencente à classe dos ascomicetos. Esses micro-organismos unicelulares se adaptam muito facilmente a substratos hidrofóbicos (Miller e Alper, 2019). Difere-se das demais leveduras por sua grande capacidade de secretar consideráveis quantidades de ácidos orgânicos, tais como ácido cítrico e pirúvico, além de secretar enzimas como lipases e proteases (Oliveira, 2014).

Sabido do grande potencial do Brasil para a produção agrícola e sua elevada geração de resíduos ou subprodutos agroindustriais, sugere-se como fonte de redução de potenciais poluentes o uso da fermentação de resíduos, como por exemplo, a casca de mandioca, que se apresenta como uma tecnologia capaz de propor caminhos alternativos para os resíduos gerados, diminuindo possíveis problemas ambientais, bem como, agregando valor a essas matérias-primas (EMBRAPA, 2005).

Considerando o exposto, este trabalho teve o objetivo de avaliar a composição nutricional em termos de teor percentual (%) de lipídeos, proteína, cinzas e açúcares redutores da biomassa produzida por três diferentes linhagens da levedura YL (QU31, QU69 e QU123) em crescentes concentrações de glicose (0, 4, 8 e 12%) e fermentadas durante nove dias, tendo como substrato casca de mandioca. A determinação dos parâmetros de desenvolvimento e secreção de subprodutos poderá servir como base para futuras utilizações desta levedura em processos biotecnológicos industriais.

MATERIAL E MÉTODOS

Todos os reagentes e solventes utilizados nestes estudos foram de grau P.A. e utilizados sem purificação prévia. As cepas de YL QU69, QU31 e QU123 foram gentilmente cedidas pela Professora Patrícia Valente (Departamento de Microbiologia, Imunologia e Parasitologia – UFRGS - RS – Brasil). As cascas de mandioca (*Manihot esculenta*) foram gentilmente cedidas por produtores rurais da cidade de Laranjeiras do Sul – PR, Brasil e posteriormente tratadas. O espectro de absorção máxima da levedura foi determinado utilizando um leitor de microplacas Modelo Thermo Multiskan GO. A manipulação da levedura foi realizada em capela de fluxo laminar modelo Bioseg 12 Classe II tipo A1.

Preparo do inóculo e fermentação

Para realizar o preparo do inóculo, primeiramente foi preparado ágar GYP, conforme descrito por Csutak et al. (2015) contendo glicose 2%, peptona 1%, extrato de levedura 0,5% e ágar 2%. A levedura foi isolada por esgotamento e incubada a 28°C por 48 horas (estufa Ethik Technology, 4410-5NDRE).

Após o período de incubação (48h), algumas colônias foram transferidas para tubos de ensaio contendo 10 mL de solução salina 0,85% e então realizada leitura da densidade óptica a 500 nm a fim de se obter absorbância de 0,115, o qual corresponde a $2,1 \times 10^6$ UFC/mL.

Os resíduos de mandioca foram previamente secos a 50°C por 24 horas, triturados em moinho de rotor martelo (Fortinox STAR FT53) e peneirados em peneiras de 6-8 mesh, estocados em frascos de vidro com tampa em temperatura ambiente.

Para o processo de fermentação foram utilizados frascos erlenmeyer com capacidade de 250 mL contendo 5% de casca de mandioca como fonte de carbono e 100 mL do meio de suplementação, onde estes foram autoclavados (1210C por 15 minutos) e

após resfriamento até temperatura ambiente foram adicionados 2 mL da suspensão de células da levedura previamente padronizada. Dividiu-se ainda as fermentações em quatro concentrações diferentes de glicose, sendo, 0%, 4%, 8% e 12%. Os frascos foram incubados em agitador orbital de bancada tipo Shaker (Solab S-222) a 80 rpm durante 9 dias a 35 °C. O meio de suplementação mineral descrito por Santos et al. (2013) com modificações, foi composto de 1% de uréia (CH₄N₂O), 0,1% de fosfato de potássio monobásico (KH₂PO₄) e 0,05% de sulfato de magnésio (MgSO₄).

Métodos analíticos

Após o processo de bioconversão, a biomassa obtida foi congelada e submetida ao processo de liofilização (Liotop L101) para análises posteriores. Foram realizadas análises de proteínas, lipídios totais, cinzas e açúcares redutores (DNS) tanto no resíduo *in natura* quanto na biomassa liofilizada obtida da fermentação com as diferentes linhagens para fins de comparação.

A análise do teor (%) de lipídios totais foi realizada através da metodologia descrita por Bligh-Dyer (1959) com modificações. Para determinação do teor (%) de proteínas totais foi

utilizada metodologia descrita por Kjeldahl (AOAC, 1990) com modificações. O teor de cinzas foi determinado segundo procedimento (AOAC, 1990) e a determinação de açúcares redutores pelo método DNS (Santos et al., 2017).

As análises foram realizadas em triplicata e os resultados apresentados correspondem a média aritmética \pm o desvio padrão. Foi aplicada análise de variância ANOVA $p > 0,05$.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados apresentados pela biomassa produzida com cada uma das três linhagens de YL submetidas ao processo de bioconversão com casca de mandioca como fonte de carbono sob diferentes concentrações de glicose são apresentadas a seguir.

Avaliação dos teores de lipídios das biomassas obtidas em diferentes linhagens

O teor de lipídios obtidos na casca de mandioca *in natura* foi de $1,7 \pm 0,1$ %. Na tabela 1 estão expressos os resultados quanto ao teor de lipídios na biomassa produzida pelas diferentes linhagens em função da concentração de glicose empregada no meio.

Tabela 1 - Teor de lipídios obtidos nas biomassas produzidas pelas diferentes linhagens em função do teor de glicose (%).*

Linhagem	Glicose adicionada (%)	Teor de Lipídios (%)
QU31	0	20,4 ^a \pm 0,5
	4	22,6 ^a \pm 0,3
	8	11,4 ^a \pm 1,0
	12	8,4 ^a \pm 0,7
QU69	0	4,4 ^a \pm 2,0
	4	3,3 ^a \pm 0,9
	8	6,6 ^a \pm 1,9
	12	2,8 ^a \pm 0,8
QU123	0	31,1 ^a \pm 1,4
	4	27,1 ^a \pm 0,9
	8	25,0 ^a \pm 1,7
	12	17,1 ^a \pm 1,2

**Resultados seguidos de letras iguais indicam que não houve diferença significativa ($p > 0,05$).

Como pôde ser observado na Tabela 1, a utilização das três cepas promoveu de maneira geral aumento do conteúdo de lipídios da biomassa fermentada quando comparados com o resíduo original da casca de mandioca, destacando-se as cepas QU31 e QU123 com maiores obtenções de lipídeos, indicando que a levedura foi capaz de utilizar este substrato como fonte de carbono. Utilizando a QU69 o

incremento lipídico não foi tão evidente se comparado com o teor do substrato.

Diversos estudos têm demonstrado que o acúmulo de lipídios pela YL é influenciado, dentre outros fatores, pela composição do meio de cultivo. Quando há fonte de carbono em excesso, este é assimilado e metabolizado principalmente via ciclo de Krebs. A inibição da atividade da isocitrato

desidrogenase no Ciclo de Krebs leva ao acúmulo de citrato que migra para o citosol, onde sofre ação da ATP citrato liase liberando acetil CoA e oxalacetato. Esta acetil CoA juntamente com o fornecimento contínuo de malonil CoA por ação da acetil CoA carboxilase e NADPHa partir da via das pentoses servem como precursores para a síntese de ácidos graxos que posteriormente serão incorporados em triacilgliceróis e armazenados nas partículas lipídicas intracelulares (Beopoulos et al., 2009; Zhang et al., 2016; Galvez-Lopes et al., 2019).

No presente estudo, quando se analisa a influência da concentração de glicose no meio observou-se que nas concentrações mais altas de glicose (8 e 12% para a QU31; 12% para QU123) ocorreu uma redução do conteúdo de lipídios totais. Este resultado é corroborado por estudos onde o cultivo de *Y. lipolytica* (W29) em presença de 2% de glicose apresentou menor volume das partículas lipídicas após 24 h de incubação quando comparado ao meio de cultivo contendo ácido oleico 0,5%, indicando que a fonte de carbono influencia na capacidade de acumular lipídios da levedura (Athenstaedt et al., 2006). Mais recentemente, Workman e colaboradores (2013) observaram que a *Y. lipolytica* apresenta maiores taxas de crescimento e acúmulo de lipídios quando cultivada em glicerol comparativamente à glicose. Este efeito pode estar relacionado à

expressão dos genes e à presença dos transportadores de glicose e glicerol na membrana e consequentemente a disponibilidade intracelular dos mesmos, ao fato de que os carbonos do glicerol são mais reduzidos e fornecem maior quantidade de energia livre quando oxidado ou ainda a um efeito catabólico repressor da glicose (Gancedo, 1998; Kayikci e Nielsen, 2015).

Com base nos dados da literatura, os resultados obtidos quanto ao teor de lipídios totais sugerem que a presença de altas concentrações de glicose possam estar exercendo um efeito regulador do metabolismo de lipídios seja de forma direta, na atividade de enzimas envolvidas no ciclo de Krebs, via das pentoses-fosfato ou na síntese de ácidos graxos e triacilgliceróis, ou de forma indireta na regulação da expressão gênica de enzimas reguladoras do metabolismo energético.

Avaliação dos teores de proteína das biomassas obtidas em diferentes linhagens

O teor proteico obtido na casca de mandioca *in natura* foi de $4,7 \pm 0,4$ %. Na tabela 2 são apresentados os resultados quanto ao teor de proteínas na biomassa produzida pelas diferentes linhagens em função da concentração de glicose empregada no meio.

Tabela 2 - Teor proteico na biomassa produzida pelas diferentes linhagens em função da glicose adicionada.*

Linhagem	Glicose adicionada (%)	Teor de proteínas (%)	Incremento (%)
QU31	0	$78,7^a \pm 3,0$	1674,46
	4	$46,0^a \pm 4,4$	978,72
	8	$34,1^a \pm 0,5$	725,53
	12	$23,6^a \pm 1,8$	502,12
QU69	0	$16,5^a \pm 0,9$	351,06
	4	$30,3^a \pm 2,6$	644,68
	8	$25,7^a \pm 0,7$	546,80
	12	$11,0^a \pm 0,5$	234,04
QU123	0	$33,9^a \pm 1,5$	721,27
	4	$27,3^a \pm 2,1$	580,85
	8	$31,3^a \pm 0,8$	665,95
	12	$24,1^a \pm 5,8$	512,76

*Resultados seguidos de letras iguais indicam que não houve diferença significativa ($p > 0,05$).

A produção de proteínas pelas diferentes linhagens se mostrou eficaz em todas as concentrações de glicose quando comparada a quantidade de proteína presente na casca *in natura* que foi de $4,69\% \pm 0,41$ tendo assim um incremento que variou de 234,04 a 1674,46%. Das 3 cepas utilizadas, a QU31 foi a que apresentou os maiores teores de proteína variando entre 23,6-78,7%. Ao compararmos o teor proteico do resíduo da casca de mandioca com as

biomassas obtidas, pode-se observar ganho no valor proteico, tornando a biomassa um substrato que poderá ser usado futuramente para incremento proteico em ração animal e futuras pesquisas em suplementação nutricional.

Por outro lado, como pode ser observado na Tabela 2, que com o aumento da concentração de glicose no meio de cultivo promoveu redução nos teores proteicos para as 3 cepas de *Y. lipolytica*. O

uso da glicose como fonte de carbono em condições não limitantes, permite que parte desta glicose seja metabolizada pela via glicolítica formando piruvato que é convertido em acetil CoA e direcionado ao ciclo de Krebs para produção de energia e fornecimento de intermediários metabólicos (Pilkur; e Compagno, 2014). Dentre esses intermediários, o alfa-cetoglutarato desempenha papel importante relacionando a glicose e a síntese de aminoácidos e proteínas. A enzima glutamato desidrogenase atua sobre o alfa-cetoglutarato fixando amônia e formando glutamato, aminoácido que serve como doador de grupos amino para a síntese dos demais aminoácidos. Desta forma, pode ocorrer um aumento da disponibilidade de aminoácidos na célula e conseqüentemente um aumento na síntese de proteínas, sendo que a atividade das enzimas está diretamente relacionada ao ciclo de crescimento do fungo (Thomulka e Moat, 1972; Santos et al., 2013; Chubukov et al., 2014, Carsanba et al., 2020).

A redução dos teores proteicos à medida que as concentrações de glicose no meio de cultivo aumentaram neste trabalho pode estar relacionado a um efeito de estresse osmótico ou ainda a um efeito catabólico repressor da glicose sobre as rotas

metabólicas de aminoácidos e proteínas (Varela e Majer, 1996; Gancedo, 1998; Meijer et al. 1998; Hohmann, 2002; Kayikci e Nielsen, 2015). Ainda, devido ao tempo de incubação da levedura, pode ter ocorrido limitação de algum nutriente no meio de cultivo e nestas situações a levedura interrompe a proliferação celular, mas continua absorvendo e utilizando a fonte de carbono, no caso a glicose (Santos et al., 2013; Beopoulos et al., 2009a; Workman et al., 2013).

Avaliação do teor de cinzas e consumo de glicose

Os resultados obtidos na análise de teor de cinzas da biomassa são apresentados na tabela 3. Os dados demonstram que não foram observadas variações significativas quanto ao teor de cinzas das biomassas das 3 cepas de leveduras ao final do período de incubação quando comparadas ao resíduo original da casca de mandioca ($2,86\% \pm 0,002$). Ainda assim, a presença de diferentes concentrações de glicose no meio de cultivo também não influenciou significativamente no teor de cinzas das biomassas produzidas pelas 3 cepas de *Y. lipolytica*.

Tabela 3 - Teor de cinzas e consumo de glicose durante a fermentação.*

Linhagem	Glicose adicionada (%)	Teor de cinzas (%)	Consumo de Glicose (%)
QU31	0	$2,5^a \pm 1,4$	84,3
	4	$0,6^a \pm 0,1$	96,5
	8	$2,4^a \pm 0,0$	96,0
	12	$3,7^a \pm 0,0$	90,8
QU69	0	$2,6^a \pm 0,4$	84,3
	4	$4,5^a \pm 2,3$	93,9
	8	$5,7^a \pm 1,1$	93,7
	12	$2,2^a \pm 0,3$	83,9
QU123	0	$1,8^a \pm 0,9$	84,3
	4	$2,1^a \pm 0,2$	89,0
	8	$2,4^a \pm 0,0$	87,1
	12	$1,3^a \pm 0,3$	90,6

*Resultados seguidos de letras iguais indicam que não houve diferença significativa ($p > 0,05$).

A capacidade de crescimento dos fungos está diretamente relacionada à disponibilidade de nutrientes em concentrações adequadas nos meios de cultivo (Kampen, 2007) A *Y. lipolytica* se destaca pela sua habilidade de crescer utilizando como fonte de carbono diferentes tipos de substrato como substâncias hidrofóbicas e/ou carboidratos convertendo-os em energia ou em produtos de interesse como enzimas, lipídios, proteínas dentre outros (Spagnuolo et al., 2018). A fim de verificar se a presença de diferentes concentrações de glicose no meio de cultivo influenciaria a capacidade das cepas de *Y. lipolytica* utilizarem o resíduo de casca de mandioca como

fonte de nutrientes, foi avaliado o consumo de glicose bem como o conteúdo de carboidratos totais da biomassa produzida pela levedura. Como pode ser observado na Tabela 3, todas as cepas de levedura consumiram eficientemente a glicose presente no meio de incubação (consumo médio acima de 80%) e apresentaram aumentos no conteúdo de carboidratos totais em presença de concentrações crescentes de glicose.

A glicose é um dos principais carboidratos utilizados como fonte de energia pelos micro-organismos e uma vez transportada para o interior das células pode ser metabolizada através da via

glicolítica e ciclo de Krebs, via pentoses fosfato ou ainda ser utilizada para síntese de oligo e polissacarídeos (Christen e Sauer, 2011; Pilkur e Compagno, 2014). Sob determinadas condições em especial quando há fatores limitantes no meio de cultivo, a glicose fornecida como fonte de carbono continua a ser absorvida, no entanto ela é direcionada principalmente para a síntese de lipídios e de polissacarídeos como glicogênio, mananas e glucanos (Parrou et al., 1999; Beopoulos et al., 2009ab). Além da função energética e de reserva, a glicose também pode desempenhar uma função de regulação metabólica influenciando a atividade de diferentes enzimas bem como a sua expressão gênica através da regulação de vias de sinalização e fatores de transcrição nucleares (Magasanik, 1961; Westergaard et al., 2007; Kayikci e Nielsen, 2015) podendo resultar na ativação ou inibição de rotas metabólicas específicas nos fungos. No presente trabalho, os resultados parecem indicar um efeito combinado da glicose, servindo como fonte de carbono para produção de energia e síntese e armazenamento de biomoléculas.

CONCLUSÕES

A partir dos resultados do presente trabalho pode-se concluir que a levedura *Yarrowia lipolytica* é efetiva no processo de valorização nutricional de resíduos de casca de mandioca nas condições supracitadas, tendo-se observado um aumento do conteúdo de lipídios e proteínas na biomassa formada. No entanto, a presença de elevadas concentrações de glicose no meio de incubação promoveu reduções dos conteúdos de lipídios e proteínas, provavelmente devido ao envolvimento de efeitos de limitação de nutrientes ao longo do tempo de incubação, estresse osmótico ou ainda efeitos catabólicos repressores da glicose presente no meio.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Association Of Official Analytical Chemists– AOAC. *Official Methods of Analysis*. 15.ed. Arlington, Virginia: 1117p.1990.
- Athenstaedt K, Jolivet P, Boulard C, Zivy M, Negroni L, Nicaud, J, Chardot T, Lipid particle composition of the yeast *Yarrowia lipolytica* depends on the carbon source. *Proteomics*, [s.l.], v.6, n.5, p.1450-1459, mar. 2006. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1002/pmic.200500339>
- Beopoulos A, Cescut J, Haddouche R, Uribelarra J, Molina-Jouve C, Nicaud J, *Yarrowia lipolytica* as a model for bio-oil production. *Progress In Lipid Research*, [s.l.], v.48, n.6, p.375-387, nov. 2009. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.plipres.2009.08.005>
- Beopoulos A, Chardot T, Nicaud J. *Yarrowia lipolytica*: A model and a tool to understand the mechanisms implicated in lipid accumulation. *Biochimie*, v91, n6, p692-696, jun. 2009. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.biochi.2009.02.004>
- Bligh, EG, Dyer WJ. A rapid method of total lipid extraction and purification. *Canadian Journal Biochemistry Physiological*, Ottawa, v.27, n.8, p.911-917, 1959.
- Carsanba E, Papanikolaou S, Fickers P, Erten H. Lipids by *Yarrowia lipolytica* strains cultivated on glucose in batch cultures. *Microorganisms*. v.8, n.7, p.1054, 2020. <https://doi.org/10.3390/microorganisms8071054>
- Christen S, Sauer U. Intracellular characterization of aerobic glucose metabolism in seven yeast species by ¹³C flux analysis and metabolomics. *Fems Yeast Research*, v.11, n.3, p.263-272, 14 jan. 2011. Oxford University Press (OUP). <http://dx.doi.org/10.1111/j.1567-1364.2010.00713.x>
- Chubukov V, Gerosa L, Kochanowski K, Sauer U, Coordination of microbial metabolism. *Nature Reviews Microbiology*, v.12, n.5, p.327-340, 24 mar. 2014. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1038/nrmicro3238>
- CONAB, Companhia Nacional de abastecimento, 2020, disponível em <http://www.conab.gov.br>. Acesso em 10 de março de 2021.
- Csutak O, Corbu V, Stoica I, Ionescu R, Vassu T, Biotechnological applications of *Yarrowia lipolytica* CMGB32. *Agriculture And Agricultural Science Procedia*, v.6, p.545-553, 2015. <http://doi: 10.1016/j.aaspro.2015.08.083>
- Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária – Embrapa Mandioca E Fruticultura. 2006. Disponível em: <http://www.cnpmf.embrapa.br/index.php?p=pesquisa-culturas_pesquisadas_mandioca.php&menu=2> Acesso em: 10 de março de 2021.
- FAO - Organização das Nações Unidas para Alimentação e Agricultura. Corporate Document Repository. Crop Prospects and Food Situation – n.º.4, 2008.
- Gálvez-López D, Chávez-Melendez B, Vázquez-Ovando A, Rosas-Quijano R, The metabolism and genetic regulation of lipids in the oleaginous yeast *Yarrowia lipolytica*. *Brazilian Journal of Microbiology*, v.50, n.1, p.23-31, 29 nov. 2018. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1007/s42770-018-0004-7>
- Gancedo JM. The early steps of glucose signaling in yeast. *FEMS Microbiological Reviews*, v.32, p.673-704, Madrid, Spain, 2008. <http://doi:10.1111/j.1574-6976.2008.00117.x>
- Hohmann S, Osmotic stress signaling and osmo adaptation in yeasts. *Microbiology And Molecular Biology Reviews*, Göteborg, Sweden, p.300-372, June. 2002. <http://doi: 10.1128/mmbr.66.2.300-372.2002>
- Kampen, WH. Nutritional requirements in fermentation processes, Cap. 4, In: VOGEL, C, Todaro, CM. *Fermentation and Biochemical Engineering Handbook: Principles, Process Design and Equipment 2nd Edition*, 2007.
- Kayikci Ö, Nielsen J. Glucose repression in *Saccharomyces cerevisiae*. *Fems Yeast Research*, v.15, n.6, p.16-36, 22 jul. 2015. Oxford University Press (OUP). <http://dx.doi.org/10.1093/femsyr/fov068>

- Magasanik B. Catabolite Repression. Cold Spring Harb Symp Quant Biol, Massachusetts, v.26, p.249-256, 1961.
- Meijer, MMC. et al. Glucose Repression in *Saccharomyces cerevisiae* is related to the glucose concentration rather than the glucose flux. Journal Of Biological Chemistry, [s.l.], v. 273, n. 37, p.24102-24107, 11 set. 1998. American Society for Biochemistry & Molecular Biology (ASBMB). <http://dx.doi.org/10.1074/jbc.273.37.24102>
- Miller K, Alper HS. *Yarrowia lipolytica*: more than an oleaginous workhorse. Applied Microbiology and Biotechnology, v.103, p.9251-9262 (2019). <https://doi.org/10.1007/s00253-019-10200-x>
- Oliveira PHS. Análise fisiológica e cinética do crescimento da levedura oleaginosa *Yarrowia lipolytica* IMUFRJ 50682 em diferentes fontes de carbono, São Paulo, 2014. <http://10.11606/D.3.2014.tde-26082015-114653>
- Parrou J, Enjalbert B, Plourde L, Bauche A, Gonzalez B, François J, Dynamic responses of reserve carbohydrate metabolism under carbon and nitrogen limitations in *Saccharomyces cerevisiae*. Yeast, Toulouse Cedex, v.15, p.191-203, 1999. [http://https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1097-0061\(199902\)15:3<191::AID-YEA358>3.0.CO;2-O](http://https://doi.org/10.1002/(SICI)1097-0061(199902)15:3<191::AID-YEA358>3.0.CO;2-O)
- Pitkur J, Compagno C, Molecular mechanisms in yeast carbon metabolism. molecular mechanisms in yeast carbon metabolism, p.1-328, 2014. Springer Berlin Heidelberg. <http://dx.doi.org/10.1007/978-3-642-55013-3>
- Santos Cordeiro CC, Lima, JMM, Lima BF, Correia M A B, Andrade Silva NR, Sá Muniz MC, Souza DG, Rocha Moura, CM, Lima JMM, Alves Da Silva CA. Detecção de lipase por cepa de *Rhizopus arrhizus* var. arrhizus. In: CO-NICBIO / CONBIO / SIMCBIO, 2013, Recife - PE. Resumos Expandidos. Recife, v.2, p.1-11, 2013.
- Santos EFS, Schautz LCA, Cardoso CAL, Ernandes JR, Batis-tote M. The effect of the structural complexity of the carbon and nitrogen source in the fermentative performance of industrial. Ciência e Natura, Santa Maria, v.35 n.2, p.009-014, dez. 2013.
- Spagnuolo M, Hussain MS, Gambill L, Blenner M. Alternative substrate metabolism in *Yarrowia lipolytica*. Frontiers In Microbiology, v.9, p.9-1077, 25 maio 2018. Frontiers Media SA. <http://dx.doi.org/10.3389/fmicb.2018.01077>.
- Suwannarat J, Ritchie RJ. Anaerobic digestion of food waste using yeast. Waste Management, v.42 p.61-66, 2015. <https://doi.org/10.1016/j.wasman.2015.04.028>
- Thomulka KW, Moat, AG. Inorganic nitrogen assimilation in yeasts: alteration in enzyme activities associated with changes in cultural conditions and growth phase. Journal Of Bacteriology, U.S.A, v.109, n.1, p.25-33, Jan. 1972.
- Varela, JCS, Mager WH. Response of *Saccharomyces cerevisiae* to changes in internal osmolarity. Microbiology, Amsterdam, v.142, p.721-731, 1996.
- Westergaard SL, Oliveira AP, Bro C, Olsson L, Nielsen J. A systems biology approach to study glucose repression in the yeast *Saccharomyces cerevisiae*. Biotechnology And Bioengineering, v.96, n.1, p.134-145, 1 jan. 2007. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1002/bit.21135>
- Workman M, Holt P, Thykaer Jette. Comparing cellular performance of *Yarrowia lipolytica* during growth on glucose and glycerol in submerged cultivations. AMB Express, v.3, n.58, p.1-9, 2013. [http:// DOI: 10.1186/2191-0855-3-58](http://DOI:10.1186/2191-0855-3-58)
- Zhang H, Wu C, Wu Q, Dai J, Song Y. Metabolic flux analysis of lipid biosynthesis in the yeast *Yarrowia lipolytica* Using ¹³C-Labeled Glucose and Gas Chromatography-Mass Spectrometry. PLoS ONE 11(7): e0159187, 2016. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0159187>
- Zieniuk B, Fabiszewska A. *Yarrowia lipolytica*: a beneficial yeast in biotechnology as a rare opportunistic fungal pathogen: a minireview. World J Microbiol Biotechnol. 2019; v.35, n.1, 2019. [http://doi: 10.1007/s11274-018-2583-8](http://doi:10.1007/s11274-018-2583-8)