

RESSALVA

Atendendo solicitação da autora, o texto completo desta dissertação será disponibilizado somente a partir de 26/08/2025.

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA - UNESP
Instituto de Biociências, Campus São José do Rio Preto

Catarina Artagoitia da Silva

**OBTENÇÃO DE BIOMASSA DE *Rhizopus sp* LBBIO-01 EM MELAÇO DE CANA DE
AÇÚCAR SUBPRODUTO DA INDÚSTRIA SUCRO-ALCOOLEIRA**

São José do Rio Preto

2025



Catarina Artagoitia da Silva

**OBTENÇÃO DE BIOMASSA DE *Rhizopus sp* LBBIO-01 EM MELAÇO DE CANA DE
AÇÚCAR SUBPRODUTO DA INDÚSTRIA SUCRO-ALCOOLEIRA**

Dissertação de Mestrado apresentada à
Universidade Estadual Paulista (UNESP),
Instituto de Biociências, Campus SJ Rio Preto,
para obtenção do título de Mestre em
Microbiologia.

Orientador(a): Prof^a. Dr^a. Valéria Marta
Gomes do Nascimento

São José do Rio Preto

2025

A784o	<p>Artagoitia da Silva, Catarina</p> <p>Obtenção de Biomassa de <i>Rhizopus</i> sp LBBIO-01 em melaço de cana de açúcar subproduto da indústria sucro-alcooleira / Catarina Artagoitia da Silva.</p> <p>-- São José do Rio Preto, 2025</p> <p>75 p. : il., tabs., fotos</p> <p>Dissertação (mestrado profissional) - Universidade Estadual Paulista (UNESP), Instituto de Biociências Letras e Ciências Exatas, São José do Rio Preto</p> <p>Orientadora: Valéria Marta Gomes do Nascimento</p> <p>1. Sustentabilidade. 2. Fermentação. 3. Subproduto agroindustrial. 4. Nitrogênio. I. Título.</p>
-------	---

IMPACTO POTENCIAL DESTA PESQUISA

A otimização do cultivo de microrganismos tem recebido grande destaque, principalmente, devido às diversas descobertas de propriedades imunológicas destes e de seus biocompostos. Sabendo disso, tem se interesse tanto comercial quanto social em melhorar a sua produção, buscando o avanço científico e qualidade de vida da população em âmbito mundial, uma vez que, há também a valorização da medicina fundamentada em produtos naturais e da biotecnologia industrial que buscam soluções revolucionárias para crises globais. Buscar métodos utilizando como recurso subprodutos agroindustriais como o melaço, que barateiam e otimizam a produção, contribui cientificamente para o avanço da sustentabilidade e valorização desse Reino (Fungi) que é ainda pouco conhecido e possui tantos fatores que podem mudar o rumo das pesquisas atuais.

POTENTIAL IMPACT OF THIS RESEARCH

The optimization of the cultivation of microorganisms has received great attention, mainly due to the various discoveries of immunological properties of these and their biocompounds. Knowing this, there is both a commercial and social interest in improving its production, seeking scientific advancement and quality of life for the population worldwide, since there is also the appreciation of medicine based on natural products and industrial biotechnology that seek revolutionary solutions to global crises. Searching methods using agro-industrial by-products such as molasses as a resource, which make production cheaper and optimize, contributes scientifically to the advancement of sustainability and appreciation of this Kingdom (Fungi) which is still little known and has so many factors that can change the direction of current research.

Catarina Artagoitia da Silva

**OBTENÇÃO DE BIOMASSA DE *Rhizopus sp* LBBIO-01 EM MELAÇO DE CANA DE
AÇÚCAR SUBPRODUTO DA INDÚSTRIA SUCRO-ALCOOLEIRA**

Dissertação de Mestrado apresentada à Universidade Estadual Paulista (UNESP), Instituto de Biociências, Campus SJ Rio Preto, para obtenção do título de Mestre em Microbiologia.

Data da defesa: 26/02/2025.

Banca Examinadora:

Prof^a. Dr^a. Valéria Marta Gomes do Nascimento
Instituto de Biociências, Campus SJ Rio Preto

Prof^a. Dr^a. Alessandra Machado Baron
Universidade Tecnológica Federal do Paraná

Prof^a. Dr^a. Bruna Escaramboni
Universidade Estadual Paulista - Campus Assis

Dedico este trabalho à minha família e ao
avanço da ciência voltada aos microrganismos.

AGRADECIMENTOS

Para a realização e finalização deste trabalho pude contar com pessoas extraordinárias que somaram de forma única em cada etapa dessa formação acadêmica.

Primeiro um agradecimento à minha orientadora, Valéria, por me acolher no final da graduação e por todo o conhecimento compartilhado até o momento.

À minha mãe Marina, meu pai Roberto e minha irmã Rebeca, pela confiança e força fornecidas durante todos esses anos dedicados à profissão.

Aos meus amigos Amanda, Caroline, Gabriel, João Guilherme e João Carlos, que estiveram comigo em muitos momentos difíceis e sempre depositaram uma palavra de conforto.

Ao meu namorado Lucas, pelo apoio e confiança.

Às doutoras Alessandra e Bruna por terem aceitado e disponibilizado seu tempo para participar da defesa desta dissertação.

Para finalizar, ao professor e profissional de laboratório, Bruno Henrique, que me auxiliou em muitos momentos de dúvidas na execução de processos laboratoriais.

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

“O que te faz especial não é o ‘sim’ que você
ouve, o que te faz especial é o ‘não’ que você
fala”

(Djonga, Tasha & Tracie- até a sua alma, 2022).

RESUMO

Algumas espécies de *Rhizopus sp.* podem ser matéria-prima na produção de substâncias GRAS (generally recognized as safe) por serem considerados seguros e, portanto, podem ser utilizados como aditivos alimentares. Por esta mesma razão, *Rhizopus sp.* são utilizados para enriquecimento proteico em alimentos e atividade antioxidante, produção de enzimas, polissacarídeos, aminoácidos e ácidos graxos essenciais. Entretanto, as condições de produção precisam ser estudadas para que a obtenção de biomassa de *Rhizopus sp.* em escala industrial tenha custo-benefício adequado às aplicações biotecnológicas. Para isso, é de suma importância a aplicação de subprodutos agroindustriais, ricos em nutrientes e de baixo custo, como insumo no bioprocessamento. O presente trabalho teve como objetivo a obtenção de biomassa de *Rhizopus sp.* LBBIO-01 em subproduto agroindustrial - melaço de caldo de cana de açúcar, visando aplicação biotecnológica do micélio fúngico. Os microrganismos foram cultivados em frascos Erlenmeyers de 250 mL contendo 50 mL de meio de cultura, sob agitação de 180 rpm a 30 °C. Foi utilizado como meio de cultura padrão saís de Vogel e variáveis, sacarose ou melaço de cana de açúcar. Os cultivos foram acompanhados pela medida de biomassa (gravimetria), açúcar redutor (método do ácido-3,5dinitrosalicílico), açúcar redutor total e açúcar total (método Fenol-Sulfúrico), proteínas (métodos de Bradford) e pH (pHmetro). Nos cultivos em meio sólido em placas de Petri, com sacarose ou melaço (1 a 10 g/L), observou-se que com melaço houve preenchimento da área total da placa em 30 h (6 horas a menos do que com sacarose), mesmo na menor concentração (1g/L). Em fermentação submersa obteve-se o máximo de biomassa de 5,5 g/L em 60 h de cultivo utilizando melaço 50 g/L e 2,8 g/L em 36 h, com sacarose. Nos cultivos com melaço, a fase exponencial de crescimento foi observada até 24 h de cultivo, com velocidade específica de crescimento de 0,177 g/Lh⁻¹. Utilizando sacarose, observou-se fase exponencial até 36 h e velocidade específica de crescimento de 0,092 g/Lh⁻¹. Calculando-se o rendimento da produção de biomassa (g biomassa/g açúcar) em 24 h de cultivo, obteve-se 0,0742 g/g; 0,26 g/g e 0,52 g/g em melaço a 10, 25 e 50 g/L, respectivamente. Observou-se maior crescimento da biomassa utilizando sulfato de amônio e extrato de levedura com 8 g/L em horários diferentes, porém se encontra desvantagens em trabalhar com esses meios em maior escala. Cultivos em escala aumentada em 4 vezes resultaram na mesma produção de biomassa e no mesmo aspecto morfológico das hifas. Pôde-se concluir que quanto maior a concentração de melaço, maior a velocidade de crescimento e que fontes inorgânicas de nitrogênio, como nitrato de amônio, podem desempenhar melhor produtividade de crescimento, assim como, baratear o cultivo fúngico em larga escala.

Palavras-chave: Sustentabilidade; fermentação; subproduto agroindustrial; nitrogênio.

ABSTRACT

Some species of *Rhizopus sp.* can be used as raw materials in the production of GRAS (generally recognized as safe) substances because they are considered safe and, therefore, can be used as food additives. For this same reason, *Rhizopus sp.* are used for protein enrichment in foods and antioxidant activity, production of enzymes, polysaccharides, amino acids and essential fatty acids. However, production conditions need to be studied so that obtaining *Rhizopus sp.* biomass on an industrial scale has a cost-benefit ratio suitable for biotechnological applications. For this, it is extremely important to apply agro-industrial by-products, rich in nutrients and low cost, as input in the bioprocess. The present study aimed to obtain *Rhizopus sp.* LBBIO-BL01 biomass from an agro-industrial by-product - sugarcane juice molasses, aiming at the biotechnological application of the fungal mycelium. The microorganisms were cultivated in 250 mL Erlenmeyer flasks containing 50 mL of culture medium, under agitation of 180 rpm at 30 °C. Vogel's and variable salts, sucrose or sugar cane molasses were used as standard culture medium. The cultures were monitored by measuring biomass (gravimetry), reducing sugar (3,5-dinitrosalicylic acid method), total reducing sugar and total sugar (phenol-sulfuric method), proteins (Bradford methods) and pH (pH meter). In the cultures in solid medium in Petri dishes, with sucrose or molasses (1 to 10 g/L), it was observed that with molasses there was filling of the total area of the plate in 30 h (6 hours less than with sucrose), even at the lowest concentration (1 g/L). In submerged fermentation, the maximum biomass of 5.5 g/L was obtained in 60 h of culture using 50 g/L molasses and 2.8 g/L in 36 h, with sucrose. In the cultures with molasses, the exponential growth phase was observed up to 24 h of culture, with a specific growth rate of 0.177 g/Lh⁻¹. Using sucrose, an exponential phase was observed up to 36 h and a specific growth rate of 0.092 g/Lh⁻¹. Calculating the biomass production yield (g biomass/g sugar) in 24 h of cultivation, 0.0742 g/g; 0.26 g/g and 0.52 g/g were obtained in molasses at 10, 25 and 50 g/L, respectively. Greater biomass growth was observed using ammonium sulfate and yeast extract with 8 g/L at different times, but there are disadvantages in working with these media on a larger scale. Cultivations on a 4-fold increased scale resulted in the same biomass production and the same morphological aspect of the hyphae. It was concluded that the higher the molasses concentration, the higher the growth speed and that inorganic nitrogen sources, such as ammonium nitrate, can improve growth productivity, as well as reduce the cost of large-scale fungal cultivation.

Keywords: Sustainability; fermentation; agro-industrial byproduct; nitrogen.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 –Representação esquemática: ciclo de vida e reprodução do gênero <i>Rhizopus sp.</i>	19
Figura 2 – Proposta de estrutura de EPS secretado por <i>R. nigricans</i> .	20
Figura 3 – A) Erlenmeyers preparados para cultivo dentro do fluxo laminar recebendo luz UV. (B) e (C) Crescimento micelial em meio líquido em 12 h de crescimento.	28
Figura 4 – Imagem de crescimento micelial de <i>Rhizopus sp</i> LBBIO-01 em meio sólido contendo melaço de cana de açúcar, 30 °C, 72 h, aquisição em lupa Biotika com aumento de 7 vezes.	31
Figura 5 – Corpo de frutificação de <i>Rhizopus sp</i> , com presença de dispersão de esporos. Condição de análise: microscópio óptico Olympus CX41, coloração com azul de lactofenol, aumento de 40x.	32
Figura 6 – Crescimento de <i>Rhizopus sp</i> em meio sólido de melaço a 1 g/L e sais de Vogel, preenchendo a placa com 36 h de cultivo. Aquisição em lupa Biotika com aumento de 7 vezes.	35
Figura 7 – Média de crescimento do halo micelial em centímetros de <i>Rhizopus sp</i> em meio sólido de sacarose e melaço a 1, 5, 10 g/L e sais de Vogel	36
Figura 8 – Média de crescimento do halo micelial em centímetros de <i>Fusarium sp. sp</i> em meio sólido de sacarose e melaço a 1, 5, 10 g/L e sais de Vogel.	36
Figura 9 – Registros fotográficos do crescimento de <i>Rhizopus sp</i> LBBIO-01 e <i>Fusarium sp</i> LBBIO-03 em meio de cultivo sólido contendo sais de Vogel e sacarose.	37
Figura 10 – Registros fotográficos do crescimento de <i>Rhizopus sp</i> em meio de cultivo sólido contendo sais de Vogel e melaço	39
Figura 11– Produtividade do crescimento micelial de <i>Rhizopus sp</i> LBBIO-01 em meio sólido contendo sais de Vogel, sacarose ou melaço de caldo de cana de açúcar.	42
Figura 12 – Produtividade do crescimento micelial de <i>Fusarium sp</i> LBBIO-03 em meio sólido contendo sais mínimos de Vogel, sacarose ou melaço de caldo de cana de açúcar.	43
Figura 13 – Crescimento celular em cultivos de <i>Rhizopus sp</i> LBBIO-01 utilizando sacarose (■) ou melaço (●) como fonte de carbono	44
Figura 14 –Determinação de pH em cultivos de <i>Rhizopus sp</i> LBBIO-	45

BL01 utilizando sacarose (■) ou melaço (●) como fonte de carbono

Figura 15 – Determinação de açúcar redutor em cultivos de <i>Rhizopus sp</i> LBBIO-BL01 utilizando sacarose (■) ou melaço (●) como fonte de carbono	46
Figura 16 – Amostra micelial de 25 g/L de sacarose, 10, 25 e 50 g/L de melaço respectivamente, coletadas em 24 horas de cultivo	47
Figura 17 – Imagens microscópicas de micélio de <i>Rhizopus sp.</i> LBBIO-01 em fermentação submersa.	48
Figura 18– Determinação de crescimento celular em cultivos de <i>Rhizopus sp.</i> LBBIO-01 utilizando melaço 10 g/L (■), 25 g/L (●) ou 50 g/L (▲) e sacarose 25 g/L (▼) como fonte de carbono	49
Figura 19 – Determinação de açúcar redutor em cultivos de <i>Rhizopus sp</i> LBBIO-BL01 utilizando melaço 10 g/L (■) ou melaço 25 g/L (●) melaço 50 g/L (▲) e sacarose 25 g/L (▼) como fonte de carbono	50
Figura 20 – Determinação de pH em cultivos de <i>Rhizopus sp.</i> LBBIO-01 utilizando melaço 10 g/L (■), 25 g/L (●) ou 50 g/L (▲) e sacarose 25 g/L (▼) como fonte de carbono	51
Figura 21 – Determinação de proteínas em cultivos de <i>Rhizopus sp.</i> LBBIO-01 utilizando melaço 10 g/L (■), 25 g/L (●) ou 50 g/L (▲) e sacarose 25 g/L (▼) como fonte de carbono	52
Figura 22 – (A) Biomassa recolhida em 24 h de cultivo: (1) sulfato de amônio, (2) extrato de levedura, (3) ureia. (B) Biomassa e caldo fermentado recolhidos em 48 h: (3) ureia, (1) sulfato de amônio e (3) extrato de levedura.	53
Figura 23 – Crescimento celular em cultivos de <i>Rhizopus sp</i> LBBIO-01 utilizando melaço como fonte de carbono e sulfato de amônio (■) ureia (●) extrato de levedura (▲) e nitrato de amônio (▼) como fonte de nitrogênio	54
Figura 24 – Determinação de açúcar redutor em cultivos de <i>Rhizopus sp.</i> LBBIO-01 utilizando melaço como fonte de carbono e sulfato de amônio (■) ureia (●) extrato de levedura (▲) e nitrato de amônio (▼) como fonte de nitrogênio	55
Figura 25 – Determinação de pH em cultivos de <i>Rhizopus sp.</i> LBBIO-01 utilizando melaço como fonte de carbono e nitrato de amônio (■) sulfato de amônio (●) ureia (▲) e extrato de levedura (▼) como fonte de nitrogênio.	56
Figura 26 –Determinação de proteínas em cultivos de <i>Rhizopus sp.</i> LBBIO-01 utilizando melaço como fonte de carbono e nitrato de amônio	57

(■) sulfato de amônio (●) ureia (▲) e extrato de levedura (▼) como fonte de nitrogênio

Figura 27 – Imagens do micélio de *Rhizopus* sp cultivado em meio de sais mínimos de Vogel e melaço 50 g/L. Condições de análise: Microscópio ótico Olympus CX41, aumento de 40x, corante azul de lactofenol

58

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Composição química dos lotes de melaço de cana de açúcar.	33
Tabela 2 – Análise química melaço L2 realizada pela empresa Agrolab - Laboratório de Análises Agropecuárias Ltda.	34
Tabela 3 – Velocidade específica de crescimento μ (cm/h) na fase exponencial	41
Tabela 4 – Análise morfológica do micélio e conídios de <i>Rhizopus sp.</i> LBBIO-01. Condição de análise: Microscópio Leica modelo DmLS, Câmera Moticam 2300 3 M, aumento de 400 x. Cultivos em frascos de 2000 mL.	59
Tabela 5 – Cultivo de <i>Rhizopus sp</i> LBBIO-01 em meio com sais mínimos de Vogel, melaço de cana de açúcar 50 g/L e nitrato de amônio como fonte de nitrogênio, em frascos de diferentes dimensões.	60
Tabela 6 – Análise química da biomassa de <i>Rhizopus sp</i> LBBIO-01 obtida em fermentação submersa com meio de cultura contendo sais mínimos de Vogel e melaço de cana de açúcar 50 g/L.	61
Tabela 7 – Composição em Carbono (%) de diferentes materiais orgânicos relacionados na literatura	68
Tabela 8 – Composição em Nitrogênio (%) de diferentes materiais orgânicos relacionados à literatura.	69

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

LBBIO	Identificação de cepas do laboratório de Bioquímica UNESP-Assis
ODS	Objetivos de Desenvolvimento Sustentável
h	Abreviatura para “horas”
EPS	Exopolissacarídeo
SPC	<i>Single Cells Protein</i>
EAA	Aminoácidos essenciais
VGA	Vogel, glicose e ágar
SMV	Sais mínimos de Vogel
PDA	<i>Potato dextrose agar</i>
TFPS	Polissacarídeos de <i>T. fuciformis</i>
DNS	Ácido-3,5dinitrosalicílico
MRS	Ágar De Man, Rogosa e Sharpe
BRIX	Escala numérica que mede a quantidade de sólidos solúveis em uma solução de sacarose.

LISTA DE SÍMBOLOS

g	Unidade de medida grama
g/L	Unidade de medida que indica a concentração em gramas de massa em um litro de solução
mL	Unidade de medida miligrama
mg/mL	Unidade de medida que indica a concentração em miligramas de massa em um mililitro de solução
KDa	Unidade de medida que indica a massa molecular de moléculas biológicas
°C	Unidade de medida da temperatura na escala Celsius
cm	Unidade de medida de comprimento, centímetros
p/v	% peso/volume, massa em g de soluto por 100 mL de solução
p/p	% peso/peso, massa em g de soluto por 100 g de solução
μ	Unidade de medida de velocidade específica de crescimento

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	17
1.1	CARACTERIZAÇÃO DE FUNGOS FILAMENTOSOS E GÊNERO <i>Rhizopus</i> sp	18
1.1.1	Fungos filamentosos	18
1.1.2	<i>Rhizopus</i> sp.	19
2.	POTENCIAIS APLICAÇÕES DA BIOMASSA DE FUNGOS DO GÊNERO <i>RHIZOPUS</i>	21
3.	MELAÇO: INTRODUÇÃO, CARACTERIZAÇÃO, COMPOSIÇÃO	23
4.	OBJETIVO	25
5.	MATERIAIS E MÉTODOS	26
5.1	MICRORGANISMOS	26
5.2	OBTENÇÃO DO MELAÇO DE CANA DE AÇÚCAR (<i>Saccharum officinarum</i>)	26
5.3	CONDIÇÕES DE CULTIVO PARA OBTENÇÃO DE BIOMASSA	27
5.3.1	Cultivo em meio sólido	27
5.3.2	Fermentação submersa	27
5.3.2.1	<i>Preparo do inóculo</i>	27
5.3.2.2	<i>Cultivos em frascos agitados</i>	27
5.3.3	Cálculos de parâmetros de produção	29
5.4	MÉTODOS ANALÍTICOS	29
5.4.1	Determinação de biomassa	29
5.4.2	Determinação de Açúcar redutor, Açúcar redutor total e Açúcar total	29
5.4.3	Determinação de proteínas	30
5.4.4	Determinação de pH	30
5.5	ANÁLISE QUÍMICA DA BIOMASSA	30
5.6	ANÁLISE DOS RESULTADOS	30
6.	RESULTADOS	31
6.1	IDENTIFICAÇÃO DO MICRORGANISMO	31
6.2	ANÁLISES QUÍMICAS DO MELAÇO DE CANA DE AÇÚCAR	32
6.3	DETERMINAÇÃO DA VELOCIDADE ESPECÍFICA DE CRESCIMENTO EM MEIO SÓLIDO CONTENDO MELAÇO DE CANA DE AÇÚCAR OU SACAROSE	34
6.4	OBTENÇÃO DE BIOMASSA DE <i>Rhizopus</i> sp LBBIO-01 EM FERMENTAÇÃO SUBMERSA COMPARANDO MELAÇO DE CANA DE AÇÚCAR E SACAROSE COMO FONTE DE CARBONO	43
6.4.1	Determinação da biomassa	43
6.4.2	Determinação de pH	45
6.4.3	Determinação de açúcar redutor	45
6.4.4	Determinação de proteínas	46
6.5	EFEITO DA CONCENTRAÇÃO DE MELAÇO NA OBTENÇÃO DE	

	BIOMASSA DE <i>Rhizopus</i> sp. LBBIO-01	46
6.5.1	Análise morfológica	47
6.5.2	Determinação da biomassa	48
6.5.3	Determinação de açúcar redutor e açúcar redutor total	49
6.5.4	Determinação de pH	50
6.5.5	Determinação de proteínas	51
6.6	EFEITO DA FONTE DE NITROGÊNIO NA OBTENÇÃO DE BIOMASSA DE <i>Rhizopus</i> sp LBBIO-01	52
6.6.1	Determinação de biomassa	53
6.6.2	Determinação de açúcar redutor e açúcar redutor total	55
6.6.3	Determinação de pH	55
6.6.4	Determinação de proteínas	56
6.7	PRODUÇÃO DE BIOMASSA DE <i>Rhizopus</i> sp LBBIO-01 EM MELAÇO E SAIS DE VOGEL EM ESCALA AUMENTADA	57
6.7.1	Análise morfológica	57
6.7.2	Parâmetros de produção	59
6.8	ANÁLISE QUÍMICA DA BIOMASSA DE <i>Rhizopus</i> sp LBBIO-01 OBTDA EM FERMENTAÇÃO SUBMERSA	60
7.	DISCUSSÃO DOS RESULTADOS	62
7.1	UTILIZAÇÃO DE MELAÇO DE CANA DE AÇÚCAR PARA OBTENÇÃO DE BIOMASSA DE <i>Rhizopus</i> sp LBBIO-01	62
7.2	EFEITO DA FONTE DE NITROGÊNIO NA OBTENÇÃO DE BIOMASSA DE <i>Rhizopus</i> sp LBBIO-01	65
7.3	OBTENÇÃO DE BIOMASSA DE <i>Rhizopus</i> sp LBBIO-01 EM ESCALA AUMENTADA	67
7.4	COMPOSIÇÃO QUÍMICA DO MICÉLIO DE <i>Rhizopus</i> sp LBBIO-01.	67
8.	CONCLUSÕES	70
8.1	EFICIÊNCIA DO MELAÇO COMO FONTE DE CARBONO	70
8.2	EFICIÊNCIA DAS FONTES DE NITROGÊNIO	70
8.3	DIFERENÇAS NO PERFIL DE CRESCIMENTO CELULAR	70
8.4	PRODUTIVIDADE E CONSUMO DE CARBONO	70
8.5	IMPACTO NO pH DO MEIO DE CULTURA	71
8.6	PERSPECTIVAS PARA APLICAÇÕES INDUSTRIAIS	71
8.7	PESQUISAS FUTURAS	71
	REFERÊNCIAS	72

1. INTRODUÇÃO

Pertencente ao Reino Fungi, Filo Zygomycota, Classe Zygomycetes, Ordem Mucolares e Família Mucolaceae, o gênero *Rhizopus* (EHRENBERG, 1821) (Figura 1) é comumente encontrado na decomposição de vegetais, no solo e excrementos de animais (PIDOPLICHKO e MIL'KO, 1971). Mesmo sendo patógeno em plantações, o gênero tem considerável relevância às atividades humanas quando utilizado na fabricação de alimentos produzindo enzimas para biofermentação, se tornando alvo em pesquisas de biologia molecular e celular de fungos (MUSZEWSKA; PAWŁOWSKA; KRZYŚCIAK, 2014).

Algumas espécies de *Rhizopus sp.* podem ser matéria-prima na produção de substâncias GRAS (*generally recognized as safe*) por serem considerados seguros e, portanto, podem ser utilizados como aditivos alimentares. Por esta mesma razão, os *Rhizopus sp.* são utilizados para enriquecimento proteico em alimentos e atividade antioxidante (*R. stolonifer*), outros podem apresentar alta aplicação, tanto na produção de alimentos quanto na alta variedade de produção de enzimas (*R. oryzae*) e também, controle microbiológico (MIYAOKA, 2012). As espécies de *R. oryzae* e *R. oligosporus* são utilizadas na fabricação de alimentos, como produção de tempeh e tofu, que são produtos fermentados feitos a partir de grãos. Além disso, na Ásia, são utilizadas na produção de bebidas alcoólicas. Algumas aplicações menos comuns incluem produção de biopolímeros, bioemulsificantes e biossurfactantes (MIYAOKA, 2012).

Sabendo disso, este trabalho busca a otimização de cultivo do microrganismo *Rhizopus sp* com foco na produção e utilização biotecnológica de biocompostos produzidos pelo seu micélio. Para isso se determina alguns parâmetros de crescimento em diferentes concentrações de carbono disponíveis e diferentes fontes de nitrogênio, aliados no melhoramento do crescimento microbiano.

Como fonte de nitrogênio, se propõe utilização de fontes inorgânicas de nitrogênio como nitrato de amônio e sulfato de amônio que barateia o processo fermentativo, assim como, utilização de fontes orgânicas como ureia e extrato de levedura que proporcionam quantificação nutricional ao processo.

O melaço utilizado no presente estudo é obtido como subproduto durante o processo industrial para produção de açúcar de mesa a partir da extração do caldo da cana de açúcar (*Saccharum officinarum*). Se propõe uso do melaço no processo fermentativo visando redução de custo para a viabilidade do bioprocessamento, já que a utilização de subprodutos está associada aos conceitos de Ecologia e Sustentabilidade Industrial, onde se tem interesse principal em

evitar a poluição ambiental, minimizando o descarte na natureza, em contrapartida, reduzindo a busca por matérias primas quando um subproduto de um processo é reutilizado como matéria prima em outro (BUENO, 2016).

O aproveitamento de subprodutos agroindustriais em laboratório promove práticas mais sustentáveis vinculadas à ODS (Objetivos de Desenvolvimento Sustentável), com foco em prevenir o desperdício, promover a renovação e o bom uso de recursos. Assim, segundo a Secretaria de Meio Ambiente (2025), contribui-se para valorização desses resíduos e a economia circular e corroborando com o ODS 12 (Consumo e Produção Responsáveis), ao diminuir os impactos ambientais incentivando o reaproveitamento. Para além, essa abordagem também pode resultar em novas soluções para a indústria, como biocombustíveis, alimentos mais nutritivos ou materiais ecológicos, apoiando ainda os ODS 2 (Fome Zero e Agricultura Sustentável), 9 (Indústria, Inovação e Infraestrutura) e 13 (Ação Contra a Mudança Climática).

1.1 CARACTERIZAÇÃO DE FUNGOS FILAMENTOSOS E GÊNERO *Rhizopus* sp.

1.1.1 Fungos filamentosos

Organismos eucariontes, os fungos podem ser classificados como unicelulares (leveduras), ou multicelulares (por ex. fungos filamentosos). Um fungo unicelular é constituído de uma única célula, maior que uma bactéria, de formato oval. Já um fungo multicelular, é capaz de produzir estruturas denominadas de micélios ou hifas. Assim como as plantas, os fungos possuem parede celular em sua estrutura, a qual é composta por substâncias como quitina, celulose e glicana, caracterizando sua rigidez (TORTORA *et al.*, 2017).

Os fungos filamentosos podem possuir reprodução sexuada através da fusão de gametas e esporos sexuais, ou, reprodução assexuada por esporos assexuais encontrados em hifas aéreas. A germinação dos esporos, pelo inchaço dos tubos germinativos, é intrinsecamente dependente da otimização de cultivo em melhor temperatura, pH, fonte carbono, fonte de nitrogênio etc. (MIYAOKA, 2012).

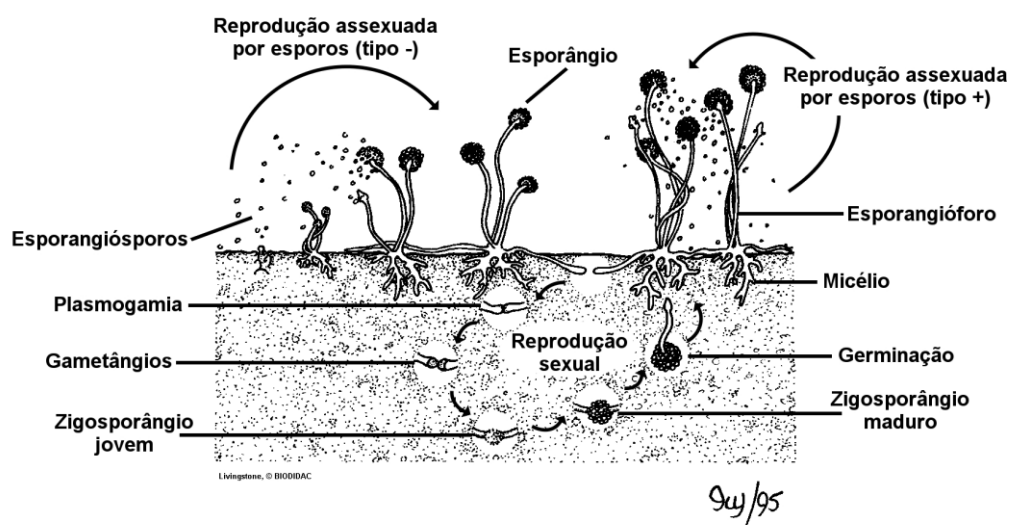
Os microrganismos desse reino compreendem importante função no meio ambiente operando como decompositores de matéria orgânica, absorvendo nutrientes do solo, madeira ou outros substratos, assim como, atuando em simbiose com plantas, como as micorrizas, participando do ciclo do nitrogênio, um nutriente tão essencial para a vida (TORTORA *et al.*,

2017). Também estão presentes na produção de medicamentos, como penicilina (MIYAOKA, 2012)

1.1.2 *Rhizopus sp.*

Em análise filogenética Liu *et al.* (2024) revelou que o gênero *Rhizopus* é construído por três clados principais: *R. microsporus* a espécie basal, com *R. stolonifer* como sua linhagem irmã, e duas espécies próximas: *R. arrhizus* e *R. delemar*. Já Miyaoka (2012) destaca *Rhizopus oligosporus*, *Rhizopus arrhizus*, *Rhizopus circicans*, *Rhizopus delemar*, *Rhizopus oryzae*, *Rhizopus microsporus*, *Rhizopus formosa*, e *Rhizopus stolonifer* como as principais espécies desse gênero. Características micromorfológicas dos esporângios, esporangiósporos e esporangióforos, assim como a presença ou ausência de zigósporos podem diferenciar as espécies.

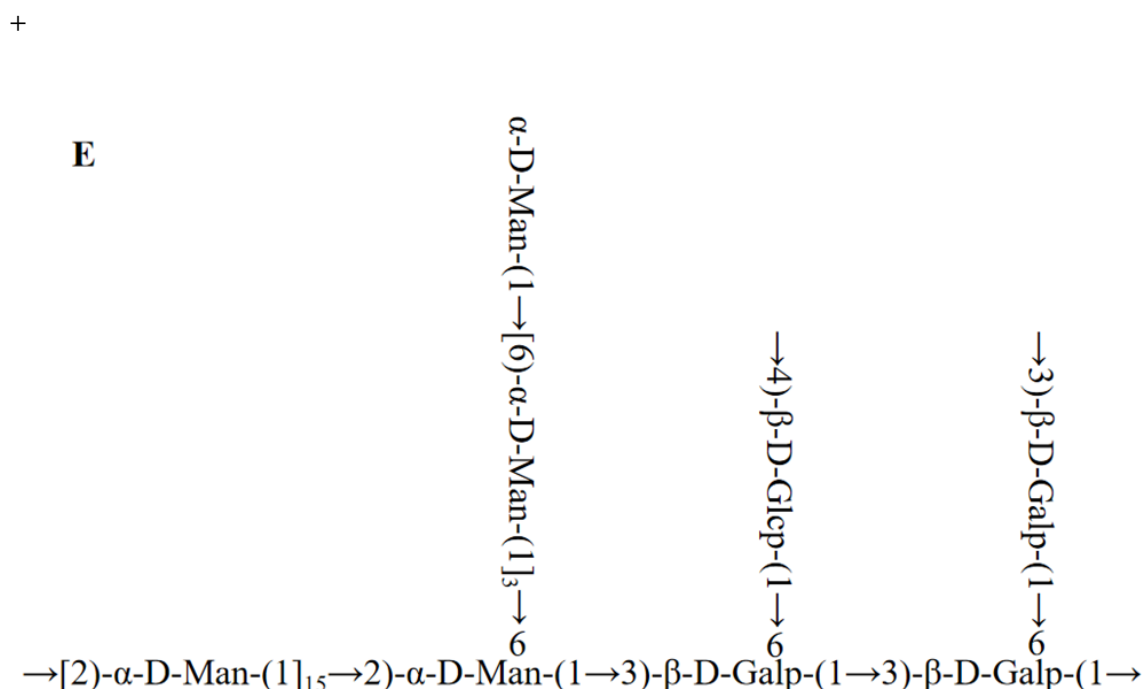
Figura 1: Representação esquemática: ciclo de vida e reprodução do gênero *Rhizopus sp.*



Fonte: Casa das Ciências, 2014.

Dentro do gênero *Rhizopus*, a espécie *R. nigricans* tem sido estudada quanto à produção de exopolissacarídeo (EPS). Yu *et al.* (2016), descreveu a estrutura de um EPS, denominado EPS1-1, trata-se de um heteropolissacarídeo contendo os monossacarídeos glicose, manose, galactose e frutose na razão molar 5,89: 3,64 : 3,20 : 1,00. Li *et al.* (2022) caracterizam um segundo EPS, denominado EPS2-1, um heteropolissacarídeo composto de manose (Man), galactose (Gal), glicose (Glc), arabinose (Ara) e Fucose (Fuc), com massa molar de 32,803 kDa. Uma proposta estrutural do EPS2-1 está na figura 2.

Figura 2: Proposta de estrutura de EPS secretado por *R. nigricans*.



Fonte: Li *et al.* (2022).

Sobre o EPS1-1, verificou-se potencial para imunoterapia ou adjuvante no tratamento de câncer colorretal (YU *et al.*, 2018) (a). Yan *et al.* (2022) relatou inibição de células tumorais relacionadas a câncer de fígado. Yu *et al.* (2018) (b) verificou que o EPS1-1 poderia suprimir a metástase *in vitro* e *in vivo*, inibindo a invasão e a angiogênese, o que fornece aplicação potencial contra a metástase do câncer colorretal. Por outro lado, Li *et al.* (2022) encontrou evidências de atividade antioxidante, potencial imunomodulatório e anticâncer em relação ao EPS2-1.

Chen *et al.* (2013) extraiu, purificou e analisou polissacarídeos de micélio de *R. nigricans*. Os autores descreveram um polissacarídeo composto de manose, ramnose, ácido glicurônico, glicose, galactose e fucose na razão molar de 5,1 : 1,0 : 1,6 : 92,2 : 1,3 : 2,3.

A cepa de *Rhizopus* sp. LBBIO-01 do presente trabalho tem sido estudada pelo grupo de pesquisa do Laboratório de Bioquímica e Bioprocessos da UNESP- Campus Assis. Silva *et al.* (2023) cultivaram *Rhizopus* sp em soro de leite para obtenção de biomassa com valor alimentar animal. Os autores obtiveram 6 g/L de biomassa em 24 h de cultivo (29 °C e 180 rpm de agitação) e velocidade específica de crescimento de 0,0137 g/h.

8. CONCLUSÕES

8.1 EFICIÊNCIA DO MELAÇO COMO FONTE DE CARBONO

Os resultados deste estudo demonstraram claramente a superioridade do melaço de cana de açúcar em comparação com a sacarose como fonte de carbono para o cultivo de *Rhizopus sp* LBBIO-01. O cultivo em diferentes concentrações de melaço revelou, então, melhor desempenho no crescimento celular, atingindo 6,98 g/L em 50 g/L de melaço e sais de Vogel com nitrato de amônio, enquanto o máximo de 2,8 g/L em 50 g/L de sacarose e sais de Vogel com nitrato de amônio. Os resultados de concentrações mais baixas de melaço (10 e 25 g/L) por mais que tenham apresentado bons resultados demonstraram que quanto maior a disponibilidade de açúcar, maior a obtenção de biomassa fúngica.

8.2 EFICIÊNCIA DAS FONTES DE NITROGÊNIO

O fungo filamentosso *Rhizopus sp* LBBIO-01 apresentou presença de apenas 4,5% de nitrogênio em sua biomassa, sugerindo necessidade de adição de fontes de nitrogênio inorgânicas ao meio de cultivo, uma vez que apresentam menor custo e resultados satisfatórios neste experimento. O meio sais de Vogel com formulação original, contendo nitrato de amônio, foi destacado apresentando resultados mais satisfatórios voltados ao objetivo deste experimento.

8.3 DIFERENÇAS NO PERFIL DE CRESCIMENTO CELULAR

A análise do crescimento celular revelou diferenças marcantes no perfil de crescimento entre os cultivos com melaço e sacarose. Enquanto os cultivos com melaço apresentaram uma fase exponencial de crescimento prolongada, observada até 12 horas de cultivo, com uma velocidade específica de crescimento substancialmente maior (0,328 g/Lh-1), os cultivos com sacarose atingiram sua fase exponencial até 36 horas, com uma velocidade específica de crescimento significativamente menor (0,074 g/Lh-1).

8.4 PRODUTIVIDADE E CONSUMO DE CARBONO

Os cultivos com melaço também demonstraram uma produtividade muito maior, especialmente nas primeiras 6 horas de cultivo, onde os valores foram aproximadamente 3 vezes maiores em comparação com os cultivos com sacarose. Além disso, a rápida utilização dos carboidratos disponíveis, conforme evidenciado pela determinação do teor de açúcar

reduzidor, sugere que a falta de fonte de carbono pode ter limitado o crescimento dos microrganismos.

8.5 IMPACTO NO pH DO MEIO DE CULTURA

O uso de melaço também teve um impacto no pH do meio de cultura, mantendo-o mais ácido em comparação com os cultivos utilizando sacarose, o que pode ter implicações importantes na estabilidade do meio ao longo do tempo.

8.6 PERSPECTIVAS PARA APLICAÇÕES INDUSTRIAIS

Os resultados obtidos neste estudo fornecem *insights* valiosos para o desenvolvimento de estratégias de cultivo visando a produção eficiente de biomassa fúngica. Dessa forma, esses achados têm potencial aplicação em diversos setores industriais, incluindo a produção de ingredientes alimentícios e biocombustíveis, contribuindo assim para o avanço do conhecimento na área de bioprocessos. Sabendo que as proporções dos componentes do melaço variam conforme o método de produção e a qualidade da matéria-prima, entende-se que a conjugação da sua rica composição química favoreceu a atividade microbiana e pode ser utilizada em experimentos fermentativos a fim de promover a sustentabilidade e novas descobertas na área de crescimento microbiano.

8.7 PESQUISAS FUTURAS

Sabendo que muitas questões ainda precisam ser respondidas, propõe-se como próximos passos: Identificação da espécie; investigação do perfil de açúcares totais; adição e análise de meios tamponados aos experimentos; revisão e análises da produção e das características enzimáticas do microrganismo; análise e caracterização da produção de polissacarídeos.

REFERÊNCIAS

- BHANJA, S. K., et al. 2012. Isolation and characterization of the immunostimulating β -glucans of an edible mushroom *Termitomyces robustus* var. **Carbohydrate research**, v. 357, p. 83–89, 1ago.
- BRADFORD, M. M. 1976. A rapid sensitive method for a quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. **Analytical Biochemistry**, v. 72, p. 248-254.
- BRANDI, J. 28 out. 2011. Chemical Modification of *Botryosphaeran*: Structural Characterization and Anticoagulant Activity of a Water-Soluble Sulfonated (1 $\rightarrow$ 3)(1 $\rightarrow$ 6)- β -D-Glucan. **Journal of Microbiology and Biotechnology**, v. 21, n. 10, p. 1036–1042.
- BRANETT, L., H. HUNTER, B. B. 1998, Illustrated Genera of Imperfect Fungi **Amer Phytopathological Society**, v.4, [s. l.].
- BUENO, Y. C. Biomassa do fungo *Lasioidiplodia theobromae*: Composição química e utilização como nutriente para bioprocesso. 2016. 58 f. Orientador: Prof^a. Dr^a. Valéria Marta Gomes do Nascimento. Dissertação (Mestrado em Microbiologia Aplicada) - Universidade Estadual Paulista, Instituto de Biociências de Rio Claro, 2016.
- CHEN G., et al. 2013. Polysaccharides from *Rhizopus nigricans* mycelia induced apoptosis and G2/M arrest in BGC-823 cells **Carbohydrate Polymers** v. 97, p. 800– 808.
- DUBOIS, M., et al. 1956, Colorimetric Method form Determination of Sugars and Related Substances. **Nature**, v. 28, n. 3, p. 350 356.
- EHRENBERG 1821, *Rhizopus* C.G, **Interin Register of Marine and Nonmarine Genera**,. Disponível em: <https://www.irmng.org/aphia.php?p=taxdetails&id=1307594>. Acesso em: 10 mar 2025
- EMBRAPA et al. MANUAL DE CALAGEM E ADUBAÇÃO DO ESTADO DO RIO DE JANEIRO. 1. ed. Brasília, DF: Editora Universidade Rural, 2013.
- FELTRIN, Valdemar P. et al. Produção de *Lactobacillus plantarum* em melaço de cana-de-açúcar. **Brazilian Archives Of Biology And Technology**, [S.L.], v. 43, n. 1, p. 119-124, 2000. FapUNIFESP (SciELO). <http://dx.doi.org/10.1590/s1516-89132000000100015>. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/babt/a/sw3bhRrf3GMbhNLGPRJvmCs>. Acesso em: 16 jan. 2025.
- FIGURA 1: Casa das Ciências, *Fungos Zygomycota*, Ilustração, 2014. Disponível em: <https://www.casadasciencias.org/imagem/7692>. Acesso em: 05 dez. 2024.
- FURLAN, Orozimbo *et al.* Pilot scale production of high-content mycoprotein using *Rhizopus microsporus* var. *oligosporus* by submerged fermentation and agro-industrial by-products. **Bioresource Technology**, [S.L.], v. 413, p. 131515, dez. 2024. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.biortech.2024.131515>. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0960852424012197?via%3Dihub>. Acesso em: 05 jan. 2025.

GORIN, P. A. J.; SPENCER, J. F. T. 1968. Structural chemistry of fungal polysaccharides. **Advances in Carbohydrate Chemistry**, v. 23, p. 367–417.

HARNACK, U., et al. 2009. Oral administration of a soluble 1-3, 1-6 beta-glucan during prophylactic survivin peptide vaccination diminishes growth of a B cell lymphoma in mice. **International immunopharmacology**, v. 9, n. 11, p. 1298–303.

JAIMES, B. J. H. Produção de ácido acrílico de fonte renovável a partir do ácido láctico por fermentação do melaço de cana de açúcar. [s.n.]. Orientador: Prof^a. Dr^a. Maria Regina Wolf Maciel. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química) - Universidade Estadual de Campinas, Faculdade de Engenharia Química, 2013.

LIMA, M. C. et al, 2017. Produção simultânea de biomassa e lipídeos utilizando meios contendo resíduos agroindustriais por *Mucor subtilissimus* (UCP/WFCC 1262), *Cunninghamella echinulata* (UCP/WFCC 1299) e *Rhizopus microsporus* (UCP/WFCC 1304) isolados do solo da Caatinga de Pernambuco. **ENGEVISTA**, v. 19, n.5, p. 1417-1430.

LI, YUJIA, et al. 2023. Changhua. Production of Tetramethylpyrazine from Cane Molasses by *Bacillus* sp. TTMP20. **Molecules**, [S.L.], v. 28, n. 6, p. 2640, MDPI AG. <http://dx.doi.org/10.3390/molecules28062640>. Disponível em: <https://www.mdpi.com/1420-3049/28/6/2640>. Acesso em: 17 jan. 2025

LI Z. et al. 2022. Separation and Structural Characterization of a Novel Exopolysaccharide from *Rhizopus nigricans*. **Molecules**, v. 27, p.7756.

LIU, QIANQIAN et al. *Rhizopus stolonifer* and related control strategies in postharvest fruit: a review. **Heliyon**, [S.L.], v. 10, n. 8, p. 29522, abr. 2024. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.heliyon.2024.e29522>. Disponível em: <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC11031825/>. Acesso em: 4 nov. 2024.

MAJI, P. K. et al. 2012. Structural characterization and study of immunoenhancing properties of a glucan isolated from a hybrid mushroom of *Pleurotus florida* and *Lentinula edodes*. **Carbohydrate Research**, v. 358, p. 110–115.

MATEI, G. M. et al. 2017. Invertase Production by Fungi, Characterization of Enzyme Activity and Kinetic Parameters. **Revista de Chimie** v. 68. p. 2205-2208.

MELLAÇO DE CANA, Comercio de Melaço de Cana ECL Eireli, 2025. Disponível em: <https://mellacodecana.com.br/melaco-de-cana-liquido/>. Acesso em: 10 mar. 2025.

MILLER, G. L. 1959. Use of Dinitrosalicylic Acid Reagent for Determination of Reducing Sugar. **Analytical Chemistry**, v. 31, n. III, p. 426–428.

MIYAOKA, M. F. 2012. Avaliação do potencial dos fungos do gênero *Rhizopus* spp. na produção de substâncias bioativas com ação antioxidante utilizando diferentes substratos. Orientador: Prof. Dr. Carlos Ricardo Soccol. 2012. Dissertação de Mestrado (Mestrado em Engenharia de Bioprocessos e Biotecnologia) - Universidade Federal do Paraná, Curitiba.

MUSZEWSKA, A.; PAWŁOWSKA, J.; KRZYŚCIAK, P.. Biology, systematics, and clinical manifestations of Zygomycota infections. **European Journal Of Clinical Microbiology & Infectious Diseases**, [S.L.], v. 33, n. 8, p. 1273-1287, 11 mar. 2014. Springer Science and

- Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1007/s10096-014-2076-0>. Disponível em: <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC4077243/>. Acesso em: 23 jan. 2025.
- NAFADY, N. A., et al. 2016. Enrichment of β -carotenene production by *Fusarium camptoceras* grown on sugarcane molasse using statistical approach. **International Journal of Advanced Biotechnology and Research (IJBR)** v.7, n.3, p. 1186-1203
- OLIVEIRA, M. R. B. et al. 2019. Produção de etanol a partir do melaço de cana. **Revista de estudos ambientais** doi: 10.7867/1983-1501.2019v21n1p. v.21, n. 1, p.38- 45.
- OLIVEIRA, K.S.M. et al. 2015. (1 $\rightarrow$ 6)- and (1 $\rightarrow$ 3)(1 $\rightarrow$ 6)- β -glucans from *Lasiodiplodia theobromae* MMBJ: Structural characterization and pro-inflammatory activity. **Carbohydrate Polymers**, v.133 p. 539–546.
- PALMONARI, A., et al. 2020. Short communication: Characterization of molasses chemical composition. **Journal Dairy Science**. v. 103, n. 7, p.6244-6249.
- PEREIRA, L. T. C., LEMOS, J. L. S. 2004, Degradação de hidrocarbonetos de petróleo por *Aspergillus niger* e *Penicillium corylophilum*, , **Mineralis - Cetem**, Revista online, [s. l.]. Disponível em: <http://mineralis.cetem.gov.br/bitstream/cetem/796/1/22Artigo%20JIC%202004%20Lucas%20Tupi%20e%20Judith%20Liliana.pdf>. Acesso em: 15 jan 2025.
- PIDOPLICHKO N. M., MIL'KO A. A., 1971. **Atlas of Mucoralean Fungi**, Naukova Dumka, Kyiv.
- REGAND, A. et al. 2011. The molecular weight, solubility and viscosity of oat beta-glucan affect human glycemic response by modifying starch digestibility. **Food Chemistry**, v. 129, n. 2, p. 297–304.
- SANDOVAL, Juan F. *et al.* Improved nutritional value of surplus bread and perennial ryegrass via solid-state fermentation with *Rhizopus oligosporus*. **Npj Science Of Food**, [S.L.], v. 8, n. 1, p. 95, 16 nov. 2024. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1038/s41538-024-00338-y>. Disponível em: <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC11569167/#Sec1>. Acesso em: 05 jan. 2025.
- SECRETARIA DO MEIO AMBIENTE, Infraestrutura e Logística, **Portal de Educação Ambiental**, 2025. Disponível em: <https://semil.sp.gov.br/educacaoambiental/2023/09/o-que-sao-os-ods-e-o-que-voce-tem-a-ver-com-isso/> Acesso em 10 mar. 2025
- SILVA, C.F.R., NASCIMENTO, I.V., NASCIMENTO, V.M.G.2023. Production of *Rhizopus* sp biomass using whey. **Congresso da Sociedade Brasileira de Microbiologia**, Foz do Iguaçu, PR.
- SMIDERLE, F. et al. 2013. *Agaricus bisporus* and *Agaricus brasiliensis* (1 $\rightarrow$ 6)- β -D-glucans show immunostimulatory activity on human THP-1 derived macrophages. **Carbohydrate polymers**, v. 94, n. 1, p. 91–99.
- SMIDERLE, F. R. et al. 2011. Polysaccharides from *Agaricus bisporus* and *Agaricus brasiliensis* show similarities in their structures and their immunomodulatory effects on human monocytic THP-1 cells. **BMC Complementary and Alternative Medicine**, v. 11, n.1.

- SYNYTSYA, A.; NOVÁK, M. 2013 Structural diversity of fungal glucans. **Carbohydrate polymers**, v. 92, n. 1, p. 792–809.
- TORTORA, G.J.; FUNKE, B.R.; CASE, C.L. **Microbiologia**, 12^a Ed. Artmed, 2017
- UIJANIA, V.K.; QURESHI, K.; SEVAK, C. 2022. **Single Cell Protein**. Just Agriculture: multidisciplinary e-Newsletter, [s. l.], v. 2, ed. 10, p. 1-11
- VOGEL, H. J. 1956. A convenient growth medium for *Neurospora crassa* (medium N). **Microbial Genetic Bulletin**, v.13, p.42-43,
- YAN H. et al. 2022. Extracellular polysaccharide from *Rhizopus nigricans* Inhibits Hepatocellular Carcinoma via miR-494-3p/TRIM36 Axis and Cyclin E Ubiquitination **Journal of Clinical and Translational Hepatology**, v.10, p.608–619.
- YANG Y. et al. 2021. Value added immunoregulatory polysaccharides of *Hericium erinaceus* and their effect on the gut microbiota. **Carbohydrate Polymers**, v. 262, p.117668.
- YU, C. et al. 2024 Efficiente conversion of cane molasses into *Tremella fuciformis* polysaccharides with enhanced bioactivity through repeat batch culture. **International Journal of Biological Macromolecules**. v. 264, n.130536.
- YU W. et al. 2016. Purification, partial characterization and antitumor effect of an exopolysaccharide from *Rhizopus nigricans* **International Journal of Biological Macromolecules**, v.82 p.299–307.
- YU Z. et al. 2018. Beneficial effects of extracellular polysaccharide from *Rhizopus nigricans* on the intestinal immunity of colorectal cancer mice **International Journal of Biological Macromolecules**, v.115, p.718–726.
- YU Z. et al. 2018. Polysaccharide from *Rhizopus nigricans* inhibits the invasion and metastasis of colorectal cancer **Biomedicine & Pharmacotherapy**, v. 103, p.738–745.