

Producción de carotenoides a partir de *Rhodotorula*: una revisión

Nayra Ochoa-Viñals y Evelyn Faife-Pérez

Instituto Cubano de Investigaciones de los Derivados de la Caña de Azúcar (ICIDCA).

Vía Blanca No. 804 y Carretera Central, La Habana, Cuba.

nayra.ochoa@icidca.azcuba.cu

evelyn.faife@icidca.azcuba.cu

RESUMEN

Rhodotorula pertenece al grupo de las levaduras productoras de pigmentos, tales como β -caroteno, γ -caroteno, toruleno y torularhodina. Los carotenoides tienen grandes aplicaciones en la industria de los alimentos y piensos, así como en los productos para la salud y los cosméticos, estos han generado un valor en el mercado que se espera que alcance más de 2 mil millones para 2022. Debido a la creciente demanda y a la preocupación por la seguridad alimentaria, se ha incrementado la búsqueda de estrategias de producción de carotenoides de origen natural, favoreciendo la fermentación microbiana. Esta revisión resume las propiedades biológicas de los carotenoides y los diferentes métodos de ingeniería metabólica aplicados para mejorar la producción de estos pigmentos a partir de *Rhodotorula*. Los enfoques prácticos para mejorar los rendimientos de carotenoides han sido facilitados por los avances en el trabajo de mejoramiento genético de las cepas, así como en la optimización de medios y condiciones de fermentación

Palabras clave: *Rhodotorula*, levaduras oleaginosas, carotenoides, β -Caroteno.

ABSTRACT

Rhodotorula is a group of pigment-producing yeasts well known for its intracellular biosynthesis of carotenoids such as β -carotene, γ -carotene, torulene and torularhodin. The great potential of carotenoids in applications in food and feed as well as in health products and cosmetics has generated a market value expected to reach over \$2.0 billion by 2022. Due to growing public concern over food safety, the demand for natural carotenoids is rising, and this trend significantly encourages the use of microbial fermentation for natural carotenoid production. This review covers the biological properties of carotenoids and the most recent findings on the carotenoid biosynthetic pathway, as well as strategies for the metabolic engineering methods for the enhancement of carotenoid production by *Rhodotorula*. The practical approaches to improving carotenoid yields, which have been facilitated by advancements in strain work as well as the optimization of media and fermentation conditions, were summarized respectively.

Key words: *Rhodotorula*, oleaginous yeast, carotenoids, β -Carotene.

INTRODUCCIÓN

Rhodotorula es un género de levadura unicelular pigmentada, que pertenece al *phylum Basidiomycota*, familia *Cryptococcaceae*, subfamilia *Rhodotorulodae* (1). Se han informado 164 especies del género *Rhodotorula*, incluidas *R. glutinis*, *R. toruloides*, *R. mucilaginoso*, *R. graminis*, entre otras variedades. Son levaduras saprofitas ubicuas y pueden encontrarse en diferentes hábitats, tales como aire, tierra y estiércol, así como en los cuerpos de animales, plantas y algunos organismos inferiores. Las células de *Rhodotorula* son polifiléticas, con apariencia subglobosa, ovoide, elipsoidal y alargadas. La reproducción es asexual y, generalmente, ocurre a través de brotes multilaterales (2).

Una de las características más notables de *Rhodotorula* es la biosíntesis de carotenoides de forma natural. El 90 % de los carotenoides producidos son torularhodina, toruleno, γ -caroteno y β -caroteno (3). En la tabla 1 se muestran algunos ejemplos. Este género tiene la capacidad de producir altas concentraciones de lípidos (que se acumulan en condiciones limitantes de nutrientes, como un mecanismo de almacenamiento de carbono) y de enzimas importantes. Estos productos son fundamentales para la industria: los lípidos y compuestos derivados de lípidos, que son buenos sustitutos del petróleo en la producción de combustibles y productos químicos, las altas actividades enzimáticas de la L-fenilalanina amoniaco-liasa y la D-aminoácido oxidasa hacen a esta levadura necesaria para la industria químico-farmacéutica (4).

Los carotenoides han sido reconocidos en todo el mundo como aditivos alimentarios y suplementos nutricionales, por sus funciones biológicas, tales como: el efecto antioxidante, la mejora de la respuesta inmune, los efectos preventivos contra enfermedades cardiovasculares, enfermedades oculares y cáncer, respectivamente (5,6).

Hoy en día, los carotenoides son usados como aditivo alimentario en EE.UU, Australia y Nueva Zelanda. Estadísticamente, el mercado global de carotenoides alcanzó los 1.5 mil millones en el 2017 y deberá incrementarse hasta los 2.0 mil millones para el 2022, con un aumento de 5.7 % durante este período (7). Actualmente, más del 90 % de los carotenoides comerciales son producidos por síntesis química; sin embargo, la producción a partir de levadura es natural y orgánica, además de las ventajas adicionales como el tiempo de producción más corto, amigable con el medioambiente y fácil escalado en los procesos de fermentación.

Tabla 1. Comparación de la capacidad de diferentes microorganismos para producir carotenos

|  | Microorganismo | Sustrato | Carotenoides mg/g peso seco celular | Carotenoides mg/L | Ref. |
|---|---------------------------------|----------|-------------------------------------|-------------------|------|
| | <i>Rhodotorula glutinis</i> | Glucosa | 0.11 | 0.63 | (3) |
| | <i>Rhodotorula graminis</i> | Glucosa | 0.16 | 1.47 | (3) |
| | <i>Rhodotorula toruloides</i> | Glucosa | 0.12 | 1.31 | (3) |
| | <i>Rhodotorula toruloides</i> | Glucosa | 0.28 | 27.5 | (48) |
| Suspensión celular de <i>R. toruloides</i> , el color naranja-rosa está asociado con los carotenoides producidos. | <i>Rhodotorula paludigenum</i> | Glucosa | 0.40 | 2.99 | (47) |
| | <i>Rhodotorula roseus</i> | Glucosa | 0.08 | 0.63 | (3) |
| | <i>Rhodotorula salmonicolor</i> | Glucosa | 0.35 | 0.61 | (3) |
| | <i>Rhodotorula rhodozyma</i> | Glucosa | 0.21 | 1.48 | (46) |

La biomasa de *Rhodotorula* puede ser usada como fuente proteica de alta calidad y como un valioso aditivo para piensos animales. Este género tiene la capacidad de crecer a diferentes temperaturas y pH (8). Utiliza diversas fuentes de carbono y energía, por ejemplo, monosacáridos que incluyen hexosas y pentosas; oligosacáridos tales como sacarosa, maltosa, celobiosa, trehalosa, rafinosa y melezitosa; alcoholes como etanol, glicerol, manitol y sorbitol; ácidos orgánicos como acetato, lactato, succinato, citrato y ácidos grasos de cadena larga, así como ácido D-galacturónico (9). Se han demostrado la robustez de *Rhodotorula* en términos de resistencia contra inhibidores derivados de la biomasa lignocelulósica (10,11) y la efectividad con varias fuentes de nitrógeno tales como el amonio, nitrato, cadaverina, aminoácidos y péptidos pequeños (12).

A pesar que las potencialidades biotecnológicas de este microorganismo fueron descubiertas desde la década de 1950, la mayoría de los trabajos para el desarrollo de bioprocesos y aplicaciones se han llevado a cabo en la última década, que coincide con la primera publicación de su secuencia genómica, seguida de la generación de herramientas genéticas.

Esta revisión presenta el *Rhodotorula* como un microorganismo industrial emergente, empleado para la producción de una gran variedad de productos relevantes para la industria, entre los cuales se encuentran los carotenoides, por lo que en este estudio se revisaron las vías de biosíntesis de los carotenoides por *Rhodotorula* y las estrategias para su producción.

Vía de biosíntesis de los carotenoides en *Rhodotorula*

Se han estudiado las vías biosintéticas de los carotenoides en un grupo de especies del *Rhodotorula*, se ha demostrado que *R. minuta*, *R. glutinis*, *R. graminis*, *R. mucilaginosa* y *Rhodotorula* sp poseen perfiles de carotenoides analógicos con los β -caroteno, γ -caroteno, toruleno y torularhodina, que representan los principales carotenoides en todas estas especies. Estos enfoques permitieron llegar a la conclusión de que el género *Rhodotorula* posee una vía biosintética de carotenoides idéntica o conservada (figura 1) (13).

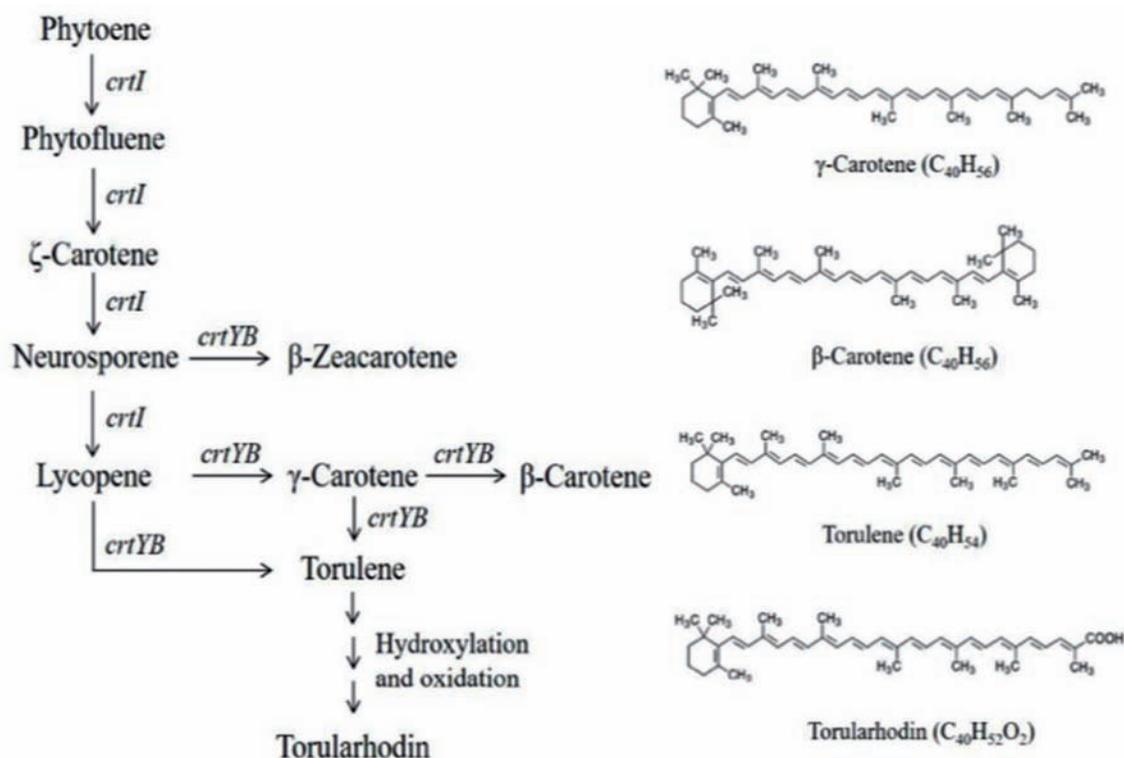


Figura 1. Vía biosintética de los carotenoides en especies del *Rhodotorula*, elaborada por Tang *et al.* (13).

Se ha descrito que esta ruta metabólica sigue una cascada de condensaciones consecutivas de unidades isoprenoides en fitoeno, el primer carotenoide incoloro de la vía. El fitoeno se deshidrogena continuamente y el doble enlace conjugado se extiende hasta la formación en licopeno.

Existen dos rutas de ciclación independientes que conducen a dos vías, una los γ -caroteno o toruleno como producto intermedio, que puede convertirse, además, en β -caroteno y torularhodina, respectivamente.

Principales carotenoides y su fisiología en *Rhodotorula*

β-caroteno y *γ*-caroteno

El β -caroteno es uno de los pigmentos más conocidos, por haber sido ampliamente utilizado en medicamentos, productos para la salud, aditivos alimentarios, cosméticos, aditivos para piensos y

otros productos en otras industrias. También ha sido aprobado como aditivo alimentario y alimenticio por sus funciones duales como colorante y por su uso nutritivo, en más de 50 países.

Estructuralmente, el β -caroteno es un caroteno liposoluble de color amarillo-anaranjado, con 11 dobles enlaces conjugados y 2 grupos retinilos (anillo de β -ionona). Es este gran número de dobles enlaces lo que se une a su cadena y anillos de polieno, que lo hace propenso a ser oxidado por los radicales libres. Y esta propiedad le otorga una alta actividad antioxidante y permite sus amplias aplicaciones como alimentos y piensos (13). Para fines médicos y en la salud, el β -caroteno se ha prescrito por vía oral para la prevención de cáncer, tumores y enfermedades cardiovasculares. Dentro de los pigmentos de las cepas del *Rhodotorula*, el β -caroteno representa, aproximadamente, el 70 % de los carotenoides totales (14).

El γ -caroteno es el isómero del β -caroteno, estructuralmente contiene 11 dobles enlaces conjugados, un doble enlace no conjugado y un grupo retinilo. Funcionalmente, γ -caroteno tiene actividad de vitamina A (aunque menos que β -caroteno), gracias a su único grupo retinilo (15). Se forma por ciclación de licopeno, a través de la reacción enzimática catalizada por licopeno ϵ -ciclase.

Toruleno y Torularhodina

El torularhodina se aisló por primera vez en la década de 1930, a partir del *Rhodotorula* (16). Bonner *et al.* informaron el descubrimiento de toruleno de *R. rubray*, lograron la sobreproducción de este metabolito (equivalente al 76 % de los carotenoides totales) aplicando un mutante de *R. rubra* (17). No fue hasta la década de 1990 que el toruleno y torularhodina fueron considerados como sustancias potencialmente valiosas (18).

El toruleno se deriva de la sustracción de 2H de γ -caroteno, con la formación de un doble enlace extra en el carbono 13C; es decir, 13 dobles enlaces, mientras que se forma la torularhodina del toruleno, mediante la sustitución de un grupo metilo con un grupo carboxilo (14 dobles enlaces). Ambos carotenoides contienen anillos con la estructura de β -ionona, que es el esqueleto de la vitamina, ambos pueden ser posibles precursores de la vitamina A. En comparación con el β -caroteno, el toruleno y la torularhodina han demostrado mayor actividad antioxidante, gracias a la existencia de un doble enlace conjugado en el carbono 13C (19). Este doble enlace extra dotó a la torularhodina de una mayor capacidad para eliminar los radicales de peróxido de hidrógeno y una mayor resistencia a la degradación del sustrato, en comparación con el de β -caroteno (20).

Además de la actividad antioxidante, se han demostrado propiedades anticancerígenas *in vivo* de dos carotenoides. En los experimentos de actividad anticancerígena en comparación con el licopeno, tanto el toruleno como la torularhodina inhibieron el crecimiento del cáncer de próstata de forma más significativa, por la inducción de la apoptosis en células tumorales (21). Además, se confirmó que ambos incrementaron la actividad protectora en las células del estroma prostático, por daño por estrés oxidativo (22). La actividad antimicrobiana de estos dos carotenoides también ha sido informada. Se ha demostrado su empleo en la prevención de infecciones, particularmente en implantes, productos y preparaciones médicas que requieren productos naturales antimicrobianos. Además, la torularhodina es uno de los pocos carotenoides con función de ácido carboxílico.

Estrategias para mejorar la producción de carotenoides por *Rhodotorula*

Búsqueda de cepas nativas productoras de carotenoides

Varios grupos de investigadores se han enfocado en la búsqueda para satisfacer la creciente demanda de carotenoides naturales, el desarrollo y la utilización de cepas carotenoides de alto rendimiento. Hasta ahora *Phaffiarhodozyma*, la levadura pigmentada más utilizada para la producción de carotenos a gran escala, por ejemplo, astaxantina.

El *Rhodotorula* se ha evaluado para la producción de carotenoides, particularmente para la producción de mezclas de carotenoides en mayores cantidades. Por ejemplo, una cepa nativa de *R. mucilaginosa* CRUB 0138, fue aislada en el lago patagónico de gran altitud Toncek, la cual produce carotenoides a una concentración de $234 \pm 7 \mu\text{g/g}$, después de 4 días de incubación, cuando la concentración inicial de glucosa se ajustó al 1 % (23). Se logró un rendimiento de carotenoides de 33.2 mg/g, a partir de *R. glutinis*, cepa aislada de las aguas residuales de refinería, cuando se cultivó en un medio que contenía lactosa de suero como fuente de carbono y nitrógeno (24). La levadura *Rhodotorula* sp cepa KF-104 aislada a partir de residuo vegetal, produce una mezcla de carotenoides, tales como los β -caroteno, γ -caroteno, toruleno y torularhodina, respectivamente (25).

Evaluación de las condiciones de cultivo para la producción de carotenoides

Varios estudios han tratado de mejorar la producción de carotenoides en *Rhodotorula* mediante la optimización de condiciones de cultivo. Se ha evaluado el efecto del pH del medio de cultivo sobre la producción de carotenoides y lípidos por *R. toruloides*, con uso de citometría de flujo. Se ha demostrado que el pH óptimo para la producción de biomasa y lípidos es de 4, mientras que el pH óptimo para los carotenoides es de 5 (26).

Días *et al.* (27) informaron que el cultivo por lotes con alimentación controlada por pH era una estrategia para aumentar la producción de carotenoides (0.29 g/Lh) (27). Otro trabajo analizó la importancia de los componentes del medio de cultivo sobre la producción de lípidos y caroteno, por la metodología de superficie de respuestas y observó un aumento del 10 % (p/v) en la producción de carotenoides (28).

La biosíntesis y la acumulación de carotenoides también pueden ser regulados por la incidencia de la luz, más específicamente por la fotoinducción, que puede mejorar los rendimientos de carotenoides al promover el crecimiento y la densidad celular, así como elevar la actividad de las enzimas involucradas en la biosíntesis de carotenoides. Zhang *et al.* (29) informaron que la irradiación causaba mejoras significativas de la biomasa y producción de carotenoides de *R. glutinis* (29). En general, la oxidación inducida por la luz o los daños por la radiación, puede limitar el crecimiento de algunas especies, particularmente aquellos microorganismos que carecen de una adecuada producción de las sustancias fotoprotectoras intracelulares. Sakaki *et al.* (30) demostraron la mejora del rendimiento de carotenoides facilitada por la luz blanca débil, ya que se produjo un aumento de 180 % de torularhodina y 14 % de β -caroteno, a partir de *R. glutinis* (30).

La temperatura es otro factor importante que afecta la biosíntesis de carotenoides, puede afectar la propagación de cepas productoras de carotenoides e influye en su proporción. Se ha descrito que las concentraciones relativas de carotenoides producidos por *R. glutinis* son diferentes cuando se han cultivado a 4 °C y a 25 °C (31). Se encontró que a 25 °C, toruleno y torularhodina representaron aproximadamente, el 30 % de los carotenoides totales respectivamente, mientras que a 5 °C, la proporción de β -caroteno aumentó a un 64 %, en contraste con el contenido de los otros dos carotenoides disminuyó significativamente (31). Buzzini y Martini destacaron que en *R. glutinis*, a temperatura más baja (25 °C), se favoreció la síntesis de β -caroteno y toruleno, mientras que a mayores temperaturas (30 ~ 35°) se incrementó la producción de torularhodina (32).

Se ha demostrado que muchos iones metálicos (Ba_2^+ , Fe_2^+ , Mg_2^+ , Ca_2^+ , Zn_2^+ y Co_2^+) son capaces de afectar la carotenogénesis del *Rhodotorula*, posiblemente porque la actividad de las enzimas en las vías de biosíntesis es regulada por estos cationes. Buzzini *et al.* señalaron que los iones metálicos podrían afectar selectivamente el perfil de carotenoides de *R. graminis* DBVPG 7021, y se demostró que Al_3^+ y el Zn_2^+ promovieron la producción de β -caroteno y γ -caroteno, mientras que Zn_2^+ y Mn_2^+ inhibieron la producción de toruleno y torularhodina (33).

Además, la composición de solventes exógenos, químicos o agentes naturales pueden afectar los carotenoides de diversas maneras. Kim *et al.* informaron que el contenido de β -caroteno en

R. glutinis aumentó en un 35 % cuando se añadió fenol a los medios de cultivo y, en contraste, se observó una disminución en torularhodina cuando la concentración de fenol fue elevada (34). Squina y Mercadante evaluaron la adición de 5 μmol de difenilamina en el cultivo de *R. rubra* y *R. glutinis*, logrando un incremento de los carotenoides, sin embargo provocó disminución significativa de la relación de torularhodina/ toruleno. Es de destacar que para ambas cepas, la acumulación de β -caroteno se favoreció al aumentar la suplementación de difenilamina (a una concentración mayor de 10 μmol). La biosíntesis de carotenoides se inicia en la fase de logaritmo tardío y en la fase de estacionaria, típico del metabolismo de los metabolitos secundarios (35).

Mejora de la síntesis de carotenoides por mutagénesis

La mutagénesis físico-química o de inserción para mejorar la producción de carotenoides ha sido menos estudiada. Las mutagénesis físico-química, tal como la mutagénesis por plasma a temperatura ambiente (ARTP) y nitrosoguanidina (NTG), se han aplicado para seleccionar la cepa mutante, basada en el color de la colonia; por ejemplo, se logró producir 0.75 mg de carotenoides/g en condiciones de limitación de nitrógeno (36). Lin *et al.* modificaron el perfil de producción de carotenoides, al crear una biblioteca de mutantes de inserción por transformación mediada por *Agrobacterium tumefaciens* (ATMT). Los tres mutantes seleccionados por cambio de color mostraron un aumento de 2.4 veces los carotenos, un aumento de nueve veces en toruleno, y un aumento de 1.7 veces en β -caroteno (37).

Tabla 2. Producción de carotenoides por diferentes cepas de *Rhodotorula*, tratadas por varios métodos de mutagénesis

| Microorganismo | Mutagénesis | Carotenoides | Control | | Tratamiento | | Ref. |
|------------------------------|--|--------------------|---------|------|-------------|--------|------|
| | | | mg/g | mg/L | mg/g | mg/L | |
| <i>R. glutinis</i> NCIM 3353 | Radiación UV | Total de carotenos | 0.12 | 2.2 | 2.9 | 33 | (43) |
| <i>R. rubra</i> GED8 | NTG | Total de carotenos | 0.187 | 2.67 | 0.64 | 8.12 | (46) |
| <i>R. glutinis</i> RG6 | Alta presión hidrostática (HHP) | β -caroteno | - | 6.34 | - | 10.01 | (44) |
| <i>R. glutinis</i> NR-98 | Ultra alta presión /baja energía del ion nitrógeno | β -caroteno | - | 6.03 | - | 17.36 | (46) |
| <i>R. acheniorum</i> | UV, etil metano sulfonato (EMS), y NTG | β -caroteno | 2.31 | 40.6 | 10.69 | 262.12 | (47) |

Bhosale *et al.* obtuvieron un mutante de *R. glutinis* NCIM3353 mediante radiación UV, con el cual se incrementó el rendimiento de producción de β -caroteno en 120 veces en comparación con el de la cepa nativa (38). Del mismo modo, Wang *et al.* lograron aumentar el rendimiento en un 57.89 % de β -caroteno en *R. glutinis* cepa mutante RG6p, mediante el uso de cinco ciclos repetidos de alta presión hidrostática (39). Se mejoró significativamente el rendimiento de carotenoides en *R. mucilaginoso* cepa RM-1, mediante la mutagénesis, utilizando la implantación del ion N^+ con 10 keV y $2,0 \times 10 \text{ ion}^{14}/\text{cm}^2$ (40). Se logró aumentar en 3 veces la biosíntesis de carotenoides por la combinación de diferentes estrategias de mutagénesis, a través de UV, EMS y NTG (41). Se evaluó en *R. glutinis* el efecto de diversos métodos de mutagénesis, y se evidenció que la irradiación de UV mejoró la producción de pigmentos en comparación con la mutagénesis con ázida de sodio (42).

La ingeniería metabólica se ha utilizado para cultivar y separar carotenoides, normalmente acumulados dentro de las células de cultivos de *R. toruloides*. Lee *et al.* declararon que el transportador de membrana de resistencia a fármacos pleiotrópicos PDR10 de *Saccharomyces cerevisiae*, permitió la exportación de carotenoides al medio de cultivo y la separación de lípidos intracelulares (43).

La aplicación de nuevas herramientas biológicas para modificar las rutas de los carotenoides de *R. toruloides* pudieran aumentar la producción de este metabolito.

Empleo de sustratos de bajo costo para la producción de carotenoides

El costo de los componentes de los medios es un tema crucial en cualquier proceso biotecnológico. El precio de las fuentes de carbono y nitrógeno pueden representar hasta el 70–85 % del costo total del bioproceso. Por lo tanto, el empleo de fuentes de carbonos baratas pudieran hacer, en principio, un proceso económicamente factible (44).

La levadura *R. toruloides* puede crecer, naturalmente, en una amplia gama de fuentes de carbono y presenta una buena tolerancia a compuestos inhibidores encontrados en sustratos no refinados, tales como los materiales lignocelulósicos y los residuales de destilería del alcohol (45). Para la producción de carotenoides por fermentación de *Rhodotorula*, la forma más económica de la reducción de costos es utilizar materias primas agroindustriales y subproductos, en lugar de usar componentes definidos como se encuentran en medios comerciales (46). La tabla 3 resume los ejemplos de producción de carotenoides con materias primas de bajo costo. Como se muestra, la producción de carotenoides depende de los componentes de medios, tales como las fuentes de carbono y nitrógeno y la proporción de minerales y otros componentes. Un aumento en el rendimiento puede lograrse, simplemente, mediante la optimización de los medios de cultivo.

Tabla 3. Producción de carotenoides por diferentes cepas de *Rhodotorula*, cultivada en sustratos de bajo costo

| Microorganismo | Sustratos | Carotenoides | Control | | Tratamiento | | Ref. |
|-----------------------------------|-------------------------------|-------------------|---------|-------|-------------|-------|------|
| | | | mg/g | mg/L | mg/g | mg/L | |
| <i>R. glutinis</i> CCY20-2-26 | Suero | β -caroteno | 0.48 | 17.93 | 1.03 | 45.68 | (48) |
| <i>R. glutinis</i> ATCC 4054 | Salvado de arroz | β -caroteno | 1.23 | - | 3.2 | - | (49) |
| <i>R. glutinis</i> MT-5 | Residuales de plumas de pollo | Carotenos totales | 5.76 | 60 | 6.47 | 92 | (50) |
| <i>R. mucilaginosa</i> CCY20-7-31 | Papa | β -caroteno | 0.16 | 4.31 | 1.86 | 55.91 | (51) |
| <i>R. mucilaginosa</i> NRRL-2502 | Aceite de algodón | Carotenos totales | - | 39.5 | - | 57.6 | (52) |
| <i>R. aurantiaca</i> | Residuales de glicerol | β -caroteno | 0.34 | - | 1.08 | - | (53) |
| <i>R. glutinis</i> | Melazas | Carotenos totales | 4.5 | - | - | - | (54) |

Existe un interés, tanto académico como industrial, en las investigaciones relacionadas con las levaduras *Rhodotorula*, esta combinación puede brindarnos un salto importante en las aplicaciones biotecnológicas. El desarrollo de herramientas para su ingeniería, está generando una gran expansión del número de laboratorios, en todo el mundo, que usan *Rhodotorula*.

CONCLUSIONES

Rhodotorula es bien conocido por sus potencialidades, en la producción de carotenoides, estos compuestos no solo sirven como excelentes colorantes, sino también se presentan como un grupo de productos naturales utilizados en múltiples aplicaciones. Estos han sido empleados en alimentos, medicinas, productos de salud, cosméticos y aditivos para piensos. El crecimiento poblacional y la

preocupación por la seguridad alimentaria instan al suministro de carotenoides de origen natural, y la producción de carotenos por fermentación microbiana sobre otras opciones, a pesar de que no es aún la vía más rentable.

Elaborar estrategias para la producción de carotenoides, a partir de *Rhodotorula*, es una realidad, debido a la disponibilidad y potencialidad de las herramientas de ingeniería genética y metabólica. Además de la experiencia y el desarrollo industrial, a base de los sistemas con levaduras.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Hawksworth, DL, Kirk PM, Sutton BC, Pegler DN. 1996. Ainsworth & Bisby's dictionary of the fungi. Revista Do Instituto De Medicina Tropical De São Paulo 38: 17-19.
2. Kurtzman CP. 2011. The Yeasts, a Taxonomic Study, pp. 233-234. 5th Ed. Taylor & Francis, London.
3. Buzzini P, Innocenti M, Turchetti B, Libkind D, Van BM, Mulinacci N. 2007. Carotenoid profiles of yeasts belonging to the genera *Rhodotorula*, *Rhodosporidium*, *Sporobolomyces*, and *Sporidiobolus*. Can. J. Microbiol. 53: 1024-1031.
4. Wirth F, Goldani LZ. 2012. Epidemiology of *Rhodotorula*: an emerging pathogen. Interdiscip. Perspect. Infect. Dis. 2012: 465717.
5. Passoth, V.; et al. 2017. Lipids of yeasts and filamentous fungi and their importance for biotechnology. In Biotechnology of Yeasts and Filamentous Fungi (Sibirny, A., ed.), pp. 149–204, Springer.
6. Prabhala RH, Braune LM, Garewal HS, Watson RR. 2010. Influence of beta-carotene on immune functions. Ann. NY Acad. Sci. 691: 262-263.
7. Hennekens CH. 1997. β -Carotene supplementation and cancer prevention. Nutrition 13: 697-699.
8. Libkind D, Sampaio JP. 2006. Yeast diversity in the extreme acidic environments of the Iberian Pyrite Belt. Microb Ecol. 52:552-63.
9. Jagtap SS, Rao CY. 2018. Production of D-arabitol from D-xylose by the oleaginous yeast *Rhodosporidium toruloides* IFO0880. Appl Microbiol Biotechnol. 102:143-51.
10. Hu C, Zhao X, Zhao J et al. 2009. Effects of biomass hydrolysis by-products on oleaginous yeast *Rhodosporidium toruloides*. Bioresour Technol. 100 :4843–7.
11. Nogué VS, Black BA, Kruger JS, et al. 2018. Integrated diesel production from lignocellulosic sugars via oleaginous yeast. Green Chem. 20:4349 –65.
12. Li Q, Kamal R, Wang Q et al. 2020. Lipid production from amino acid wastes by the oleaginous yeast *Rhodosporidium toruloides*. Energies; 13:1576.
13. Tang W, Wang Y, Zhang J, Cai Y, and He Z. 2019. Biosynthetic Pathway of Carotenoids in *Rhodotorula* and Strategies for Enhanced Their Production J. Microbiol. Biotechnol. 29(4), 507–517.
14. Landolfo S, Ianiri G, Camiolo S, Porceddu A, Mulas G, Chessa R, et al. 2018. CAR gene cluster and transcript levels of carotenogenic genes in *Rhodotorulamucilaginoso*. Microbiology 164: 78-87.
15. Kot AM, Błażej S, Gientka I, Kieliszek M, Bryś J. 2018. Torulene and torularhodin: “new” fungal carotenoids for industry? Microb. Cell. Fact. 17: 49.
16. Azmi Wamik TM, Kumari Priyanka. 2011. Production of a heat stable β -carotene with antioxidant activity by *Rhodotorula* sp. Int. Food Ferment. Technol. 1: 83-91.
17. Bonner J, Sandoval A, Tang YW, Zechmeister L. 1946. Changes in polyene synthesis induced by mutation in a red yeast. Arch. Biochem. 10: 113.

18. Razavi SH, Marc I. 2006. Effect of temperature and pH on the growth kinetics and carotenoid production by *Sporobolomyces ruberrimus* H110 using technical glycerol as carbon source. Iran. J. Chem. Chem. Eng. 25: 59-64.
19. Ungureanu C, Ferdes M. 2012. Evaluation of Antioxidant and Antimicrobial Activities of Torularhodin. Adv. Sci. Lett. 18: 50-53.
20. Sakaki H, Nochide H, Komemushi S, Miki W. 2002. Effect of active oxygen species on the productivity of torularhodin by *Rhodotorula glutinis* No.21. J. Biosci. Bioeng. 93: 338-340.
21. Du C, Li Y, Guo Y, Han M, Zhang W, Qian H. 2016. The suppression of torulene and torularhodin treatment on the growth of PC-3 xenograft prostate tumors. Biochem. Biophys. Res. Commun. 469: 1146-1152.
22. Chao D, Guo Y, Cheng Y, Mei H, Zhang W, He Q. 2017. Torulene and torularhodin, protects human prostate stromal cells from hydrogen peroxide-induced oxidative stress damage through the regulation of Bcl-2/Bax mediated apoptosis. Free Radic. Res. 51: 113-123.
23. Libkind D, Brizzio S, Van BM. 2004. *Rhodotorula mucilaginosa*, a carotenoid producing yeast strain from a Patagonian high altitude lake. Folia. Microbiol. 49: 19-25.
24. Aksu Z, Eren AT. 2007. Production of carotenoids by the isolated yeast of *Rhodotorula glutinis*. Biochem. Eng. J. 35: 107-113.
25. Tkačova J FK, Klempova T, et al. 2015. Screening of carotenoid producing *Rhodotorula* strains isolated from natural sources. Acta Chimica Slovaca 8: 34-38.
26. Freitas C, Nobre B, Gouveia L, Roseiro J, Reis A, da Silva TL. 2014. New at-line flow cytometric protocols for determining carotenoid content and cell viability during *Rhodospiridium toruloides* NCYC 921 batch growth. Process. Biochem. 49, 554-562.
27. Dias C, Silva C, Freitas C, Reis A, da Silva TL. 2016. Effect of medium pH on *Rhodospiridium toruloides* NCYC 921 carotenoid and lipid production evaluated by flow cytometry. Appl. Biochem. Biotechnol. 179, 776-787.
28. Singh G, Jawed A, Paul D, Bandyopadhyay KK, Kumari A, Haque S. 2016. Concomitant production of lipids and carotenoids in *Rhodospiridium toruloides* under osmotic stress using response surface methodology. Front. Microbiol. 7, 1686.
29. Zhang Z, Zhang X, Tan T. 2014. Lipid and carotenoid production by *Rhodotorula glutinis* under irradiation/high temperature and dark/low-temperature cultivation. Bioresour. Technol. 157: 149-153.
30. Sakaki H, Nakanishi T, Tada A, Miki W, Komemushi S. 2001. Activation of torularhodin production by *Rhodotorula glutinis* using weak white light irradiation. J. Biosci. Bioeng. 92: 294-297.
31. Bhosale P, Gadre RV. 2001. Production of β -carotene by a *Rhodotorula glutinis* mutant in sea water medium. Bioresour. Technol. 76: 53-55.
32. Buzzini P, Martini A. 2000. Production of carotenoids by strains of *Rhodotorula glutinis* cultured in raw materials of agro-industrial origin. Bioresour. Technol. 71: 41-44.
33. Buzzini P, Martini A, Gaetani M, Turchetti B, Pagnoni UM, Davoli P. 2005. Optimization of carotenoid production by *Rhodotorula graminis* DBVPG 7021 as a function of trace element concentration by means of response surface analysis. Enzyme. Microb. Technol. 36: 687-692.
34. Kim BK, Park PK, Chae HJ, Kim EY. 2004. Effect of phenol on β -carotene content in total carotenoids production in cultivation of *Rhodotorula glutinis*. Korean. J. Chem. Eng. 21: 689-692.
35. Squina FM, Mercadante AZ. 2010. Influence of nicotine and diphenylamine on the carotenoid composition of *Rhodotorula* strains. J. Food. Biochem. 29: 638-652.
36. Zhang, C. Shen H, Zhang X, Yu X, Wang H, Xiao Sh, Wang J, Zhao ZK. 2016. Combined mutagenesis of *Rhodospiridium toruloides* for improved production of carotenoids and lipids. Biotechnol. Lett. 38, 1733-1738.

37. Lin, X., Gao N, Liu S, Zhang S ,Song S , Ji Ch , Dong X ,Su Y ,Zhao Z K , Zhu B. 2017. Characterization the carotenoid productions and profiles of three *Rhodospiridium toruloides* mutants from *Agrobacterium tumefaciens*-mediated transformation. *Yeast* 34, 335–342.
38. Bhosale P, Gadre RV. 2010. Manipulation of temperature and illumination conditions for enhanced β -carotene production by mutant 32 of *Rhodotorula glutinis*. *Lett. Appl. Microbiol.* 34: 349-353.
39. Wang SL, Sun JS, Han BZ, Wu XZ. 2010. Optimization of beta-carotene production by *Rhodotorula glutinis* using high hydrostatic pressure and response surface methodology. *J. Food. Sci.* 72: 325-329.
40. Liu S, Li Q, Liu HL, Jia T, Xie DP. 2012. Mutation breeding of high-yield carotenoid producing *Rhodotorula mucilaginosa* by N⁺ implantation and optimization of solid-state fermentation conditions for carotenoid production. *Food Sci.* 23: 244-248.
41. Cong L, Chi Z, Li J, Wang X. 2007. Enhanced carotenoid production by a mutant of the marine yeast *Rhodotorula sp. hidai*. *J. Ocean. U. China.* 6: 66-71.
42. Yolmeh M, Khomeiri M. 2016. Using physical and chemical mutagens for enhanced carotenoid production from *Rhodotorula glutinis* (PTCC 5256). *Biocatal. Agric. Biotechnol.* 8:158-166.
43. Lee JJ, Chen L, Cao B, Chen NW. 2016. Engineering *Rhodospiridium toruloides* with a membrane transporter facilitates production and separation of carotenoids and lipids in a bi-phasic culture. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 100, 869–877.
44. Xiaozan D., Hongwei S., Qiang L., Kamal R., Qian W., Xue, Zhao ZK. 2019. Microbial Lipid Production from Corn Stover by the oleaginous yeast *Rhodospiridium toruloides* using the PreSSLP Process. *Energies*, 12:1053.
45. Valdés G, Teixeira RM, Aggelis G. 2020. Lignocellulosic Biomass as a Substrate for Oleaginous Microorganisms: A Review. *Appl. Sci.*, 10, 7698.
46. Qi F, Shen P, Hu R, Xue T, Jiang X, Qin L, Chen Y, Huang J. 2020. Carotenoids and lipid production from *Rhodospiridium toruloides* cultured in tea waste hydrolysate *Biotechnol Biofuels* 13:74.
47. Fang TJ, Cheng Y-S. 1993. Improvement of Astaxanthin production by *Phaffia rhodozyma* through mutation and optimization of culture conditions. *J. Ferment. Bioeng.* 75: 466-469.
48. Wang SL, Liu W, Wang HX, Lv CH. 2012. Ultra highpressure and ion implantation combined mutagenesis to improve the production of β -carotene from red yeast. *Adv. Mater. Res.* II 554-556: 1165-1169.
49. Marova I, Carnecka M, Halienova A, Certik M, Dvorakova T, Haronikova A. 2012. Use of several waste substrates for carotenoid-rich yeast biomass production. *J. Environ. Manage* 95: S338-S342.
50. Husseiny S.M., Abdelhafez A.A., Ali A.A., Sand H.M., Husseiny S.M., Abdelhafez A.A., *et al.* 2017. Optimization of β -carotene production from *Rhodotorula glutinis* ATCC 4054 growing on agro-industrial substrate using plackett-burman design. *P. Natl. A. Sci. India* 3: 1-10.
51. Taskin M, Sisman T, Erdal S, Kurbanoglu EB. 2011. Use of waste chicken feathers as peptone for production of carotenoids in submerged culture of *Rhodotorula glutinis* MT-5. *Eur. Food. Res. Technol.* 233: 657-665.
52. Aksu, Z; Eren, A.T. 2005. Carotenoids production by the yeast *Rhodotorula mucilaginosa*: use of agricultural wastes as a carbon source. *Process. Biochem.* 40: 2985-2991.
53. Petrik, S.; Marova, I.; Haronikova, A.; Kostovova, I.; Breierova, E. 2013. Production of biomass, carotenoid and other lipid metabolites by several red yeast strains cultivated on waste glycerol from biofuel production - a comparative screening study. *Ann. Microbiol.* 63: 1537-1551.
54. Lakshmidevi R, Ramakrishn B, Kumar S, Bhaskar S. 2021. Valorisation of molasses by oleaginous yeasts for single cell oil (SCO) and carotenoids production *Environmental Technology & Innovation.* 21.