

PRODUÇÃO E APLICAÇÃO DE FUNGOS ENDOFÍTICOS PARA PRODUÇÃO DE PIGMENTOS

Julia Pereira Sampaio¹, Silmara Almeida de Carvalho².

RESUMO

Depois de passar dois anos em período pandêmico devido ao covid-19, foi possível obter adaptações ao sistema presencial. No estudo anterior (2020/2021) já foi possível observar o potencial envolvendo o isolado 49 na produção de pigmento na cor vermelha. O objetivo deste trabalho é de produção e aplicação do fungo endofítico na produção de pigmentos. A manutenção e seleção para melhor replicação da cepa foi um dos desafios deste trabalho, após esta etapa foi possível dar andamento ao trabalho, logo executando as outras etapas de fermentação e extração do pigmento. Obtivemos resultados espectrofotométricos de ausência de cor na parte orgânica responsável pela extração por solvente acetato de etila. Os resultados obtidos foram satisfatórios para a produção do pigmento vermelho através dos fungos endofíticos, destacando a cepa 49 e sua fonte de carbono soro de queijo.

Palavras-Chave: Biotecnologia; espectrofotometria; pigmentos naturais.

Title: PRODUCTION AND APPLICATION OF ENDOPHYTIC FUNGI FOR PIGMENT PRODUCTION

ABSTRACT

After spending two years in the pandemic period due to covid-19, it was possible to obtain adaptations to the face-to-face system. In the previous study (2020/2021) it was already possible to observe the potential involving isolate 49 in the production of pigment in red color. The objective of this work is to produce and apply the endophilic fungus in pigment production. The maintenance and selection for better replication of the strain was one of the challenges of this work, after this stage it was possible to progress the work, soon performing the other stages of fermentation and extraction of the pigment. We obtained spectrophotometric results of color absence in the organic part responsible for the extraction by ethyl acetate solvent. The results obtained were satisfactory for the production of red pigment through endophytic fungi, highlighting strain 49 and its carbon source cheese serum.

Keywords: Biotechnology; natural pigments; spectrophotometry.

INTRODUÇÃO

O setor alimentar vem desenvolvendo técnicas que permitam substituir os corantes artificiais por alternativas naturais de forma eficaz, que além da sua função de melhorar as características sensoriais dos produtos alimentares, são também benéficos para a saúde do consumidor (Cortez et al., 2017).

Uma via alternativa para a produção dos corantes alimentares naturais é a aplicação de processos biotecnológicos empregando microrganismos. Apesar da disponibilidade de grande variedade de pigmentos provenientes de frutas e legumes, há um interesse, cada vez maior, por pigmentos microbianos devido a razões como caráter natural e segurança para uso; produção independente de estações do ano e das condições geográficas; processo controlável e previsível rendimento, não estando



Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado da Bahia (FAPESB)
Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia – UESB.

¹Julia Pereira Sampaio Graduada em Eng. de Alimentos–UESB julinhapsampaio24@gmail.com

²Profª. Dra. Silmara Almeida de Carvalho –UESB scarvalho@uesb.edu.br

sujeitos a intempéries da natureza como, por exemplo, na produção de cochonilha (AZEVEDO, 2014).

A produção de pigmentos ocorre durante o processo fermentativo é influenciada pelos fatores físicos e também pela composição nutricional do meio (PISAREVA & KUJUMDZIEVA, 2010; PURWADARIA et al., 2010). Muitos metabólitos secundários são produzidos em resposta às condições adversas do ambiente, por isso altas concentrações de glicose podem reprimir a produção de pigmentos (MARCOLETA et al., 2011; RUIZ et al., 2010). As fontes de carbono e nitrogênio influenciam no crescimento do fungo, no tipo de pigmento produzido e no rendimento da substância desejada (PISAREVA & KUJUMDZIEVA, 2010; RUIZ et al., 2010). O carbono é necessário ao metabolismo celular para a obtenção de energia e está relacionado à formação de biomassa (CHATTERJEE et al., 2009).

Portanto, alternativas para melhorar a produção em larga escala do pigmento fúngico, como o estudo das fontes de carbono e nitrogênio de meios de cultivo, podem diminuir os custos e aumentar o rendimento, melhorando a viabilidade da produção industrial (MAPARI et al., 2010).

MATERIAL E MÉTODOS

A escolha da cepa 49 foi devido ao trabalho realizado posteriormente utilizando dados de pesquisas anteriores que apresentaram potencial para a produção de pigmento vermelho, na pesquisa de iniciação científica da Júlia Pereira Sampaio (2020-2021). A manutenção da cepa 49 foi realizada em tubos inclinados contendo meio PDA em temperatura ambiente por 7 dias, sendo realizada em triplicata.

A metodologia adotada para produção de pigmentos foi de acordo com Silva (2019), com adaptações. Após a manutenção das cepas cultivadas em tubos de ensaio contendo PDA, foi realizada a suspensão de esporos. Para a suspensão foi realizada uma raspagem superficial de da biomassa do isolado 49 com o auxílio da água destilada estéril para retirada dos esporos e transferida para um erlenmeyer de 250mL com 50 mL de água estéril, formando assim a suspensão.

Para a fermentação foi utilizada do meio Czapek para triplicata de cada amostra (150mL), enriquecido com: 0,45g de Nitrito de sódio, 0,15g de fosfato de potássio, 0,075g de sulfato de magnésio, 0,075g de cloreto de potássio e 0,003g de sulfato de ferro II. Utilizou-se as fontes de carbono para sacarose, lactose e soro de queijo. Os erlenmeyers foram incubados à temperatura ambiente por 25 dias e mantidos em um local escuro. Após o tempo de fermentação, foi realizada a filtração a vácuo onde separa-se a biomassa e o meio líquido.

A extração foi realizada utilizando 30 mL do solvente acetato de etila (AcOEt) com 50mL de extrato bruto, em funil de separação ambos, com agitação por 5 min, repetidos 3 vezes com o tempo de intervalo de agitação de 10 min. Após o extrato obtido em AcoEt foi realizada uma varredura em espectrofotômetro (Shimadzu, Kyoto, Japão) na região do visível entre 350 nm a 700 nm.

RESULTADO E DISCUSSÃO

Para a análise de biomassa formada no processo fermentativo foi possível observar que em meios de cultura com fontes de carbono a partir de reagentes P.A. houve uma produção maior de biomassa, sendo o meio de cultivo com lactose a maior relação de biomassa produzida em 50mL de meio cultivado-2,03 g; seguido o meio de cultivo com sacarose produzindo em 50mL de meio cultivado- 1,64 g e com menor produção de biomassa por parte do meio de cultivo utilizando o soro de queijo- 0,66 g.

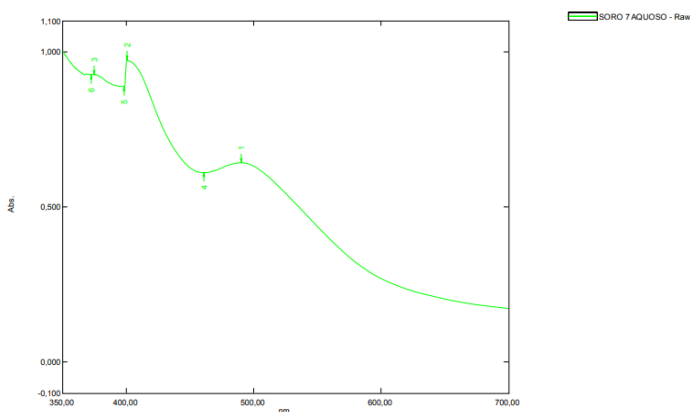
Já na análise visual do material após cultivado (Figura 1) foi possível observar que as amostras utilizando fonte de carbono a sacarose e lactose não conseguiram potencializar a produção do isolado 49 na produção de seu pigmento, porém a utilização do soro de queijo teve uma excelente produção visual da sua cor vermelha. No processo de extração do pigmento presente na parte aquosa utilizando o soro de queijo como fonte de carbono, o acetato de etila não conseguiu realizar a retirada do pigmento vermelho, a mesma tendência apontada pelo espectro de absorbância (Figura 2).

FIGURA 1. Processo fermentativo com diferentes fontes de carbono e extração utilizando acetato de etila (separação das fases).

FONTES DE CARBONO	PROCESSO FERMENTATIVO		PROCESSO DE EXTRAÇÃO	
	BIOMASSA (25 dias)	SOLUÇÃO FILTRADA	PARTE AQUOSA	PARTE ORGÂNICA
Sacarose				
Lactose				
Soro de queijo				

Observa-se na figura 1. A amostra utilizando a sacarose como fonte de carbono realizou-se análise em espectrofotometria com a faixa de absorbância entre 350 nm a 700 nm confirmou a ausência de cor, logo o solvente não conseguiu extrair da parte aquosa o seu pigmento. Baseado nos resultados das amostras visíveis utilizando lactose e soro de queijo como fonte de carbono apresentaram uma turbidez excessiva na sua parte orgânica, que impossibilitou a leitura em espectrofotômetro na mesma faixa de absorbância.

FIGURA 2. Curva de absorbância da parte aquosa produzida pela cepa 49.



Executou-se a análise de espectrofotometria na amostra de soro de queijo como fonte de carbono, onde foi possível observar o pigmento presente na parte aquosa na figura 1, logo essa análise foi possível observar que o solvente utilizado na extração ou o método não foi correto para extrair o pigmento vermelho da solução.

CONCLUSÃO

Diante dos resultados obtidos foi possível observar um melhor potencial existente na cepa 49 para produção do pigmento vermelho, com a utilização do soro de queijo como fonte de carbono. Convém a modificar o seu processo de extração para um solvente com polaridade de melhor afinidade para extrair esse pigmento da sua fase aquosa.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. AZEVEDO, João Lúcio. Endophytic fungi from Brazilian tropical hosts and their biotechnological applications. In: Microbial diversity and biotechnology in food security. **Springer**, New Delhi, 2014. p. 17-22;
2. CHATTERJEE, S; MAITY, S; CHATTOPADHYAY, P; SARKAR, A; LASKAR, S; KUMAR SEN, S. Characterization of red pigment from *Monascus* in submerged culture red pigment from *Monascus Purpureus*. **Journal of Applied Sciences Research**, v. 5, n. 12, p. 2102-2108, 2009;
3. CORTEZ, R., Luna-Vital, D.A., Margulis, D., & Gonzalez de Mejia, E. (2017). Natural Pigments: Stabilization Methods of Anthocyanins for Food Applications. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 16, 180–198;
4. MAPARI, S; THRANE, U; MEYER, A. Fungal polyketide azaphilone pigments as future natural food colorants? **Trends in Biotechnology**, v. 28, n. 6, p. 300- 307, 2010;
5. MARCOLETA, A; NIKLITSCHKEK, M; WOZNIAK, A; LOZANO, C; ALCAÍNO, J; BAEZA, M; CIFUENTES, V. —Glucose and ethanol-dependent transcriptional regulation of the astaxanthin biosynthesis pathway in *Xanthophyllomyces dendrorhous*ll. **BMC Microbiology**, p. 1-11, v. 190, 2011;
6. PISAREVA, E; KUJUMDZIEVA, A. Influence of carbon and nitrogen sources on growth and pigment production by *Monascus Pilosus* C1 strain. **Biotechnology & Biotechnoogical Equipment**, special edition/online, p. 501- 506, 2010;
7. PURWADARIA, T; GUNAWAN, L; GUNAWAN, A. The production of nata colored by *Monascus purpureus* J1 pigments as functional food. **Microbiology Indonesia**, v. 4, n. 1, p. 6-10, 2010;
8. SILVA, Luciana Amaral de Faria. BIOPROSPECÇÃO DE FUNGOS ENDOFÍTICOS ISOLADOS DE VIDEIRAS (*Vitis Vinifera*) COM POTENCIAL PARA PRODUÇÃO DE PIGMENTOS. Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia, Itapetinga, 2019. Disponível em:<http://www2.uesb.br/ppg/ppgecal/wp-content/uploads/2019/12/LUCIANA-AMARAL-DE-FARIA-SILVA.pdf>. Acesso em: 28 set. 2022;
9. SKOOG, D.A. et al. Fundamentos de química analítica. 8. ed. São Paulo: Cengage Learning, 2005. 1124p.

AGRADECIMENTOS

Agradecemos a agência de fomento FAPESB pela bolsa de iniciação científica e a Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia ao apoio para realização das atividades.



Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado da Bahia (FAPESB)
Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia – UESB.

¹Julia Pereira Sampaio Graduanda em Eng. de Alimentos–UESB julinhapsampaio24@gmail.com

²Profª. Dra. Silmara Almeida de Carvalho –UESB scarvalho@uesb.edu.br