

SELEÇÃO E APLICAÇÃO DE FUNGOS ENDOFÍTICOS NA PRODUÇÃO DE PIGMENTOS

Tawana Silva Santos¹, Silmara Almeida de Carvalho²

RESUMO

Os pigmentos são substâncias de grande aplicabilidade industrial, sendo a produção sintética destes a mais comum. Entretanto o uso dos corantes naturais tem crescido em utilização devido às suas características essenciais, como maior estabilidade quando submetidos a valores diferentes de temperaturas e pH, rendimento controlado e previsível e maior aceitação pelo público. Sendo assim, o presente projeto visa avaliar a produção de pigmentos por fungo filamentosos endofítico, extraído a partir do solvente orgânico acetato de etila. A cepa 43 foi selecionada para produção de pigmento e caracterizada por espectroscopia UV-Vis. O isolado analisado demonstrou potencial na produção de pigmentos, porém, faz-se necessária a aplicação de novos testes para avaliação do aumento da capacidade de extração por meio da utilização de um novo solvente ou método, visando uma maior eficácia na obtenção deste pigmento amarelo.

PALAVRA-CHAVE: Corantes; Espectroscopia; Extração.

SELECTION AND APPLICATION OF ENDOPHYTIC FUNGI FOR PIGMENT PRODUCTION

ABSTRACT

Pigments are substances of great industrial applicability, being the synthetic production of these the most common. However, the use of natural dyes has grown in use due to their essential characteristics, such as greater stability when subjected to different values of temperatures and pH, controlled and predictable yield and greater acceptance by the public. Therefore, the present project aims to evaluate the production of pigments by endophytic filamentous fungus, extracted from the organic solvent ethyl acetate. Strain 43 was selected for pigment production and characterized by UV-Vis spectroscopy. The analyzed isolate showed potential in the production of pigments, however, it is necessary to apply new tests to evaluate the increase in the extraction capacity through the use of a new solvent or method, aiming at greater efficiency in obtaining this yellow pigment.

KEYWORDS: Dyes; Spectroscopy; Extraction.

INTRODUÇÃO:

Os fungos endofíticos são microrganismos filamentosos que habitam nos tecidos internos das plantas, sem causar nenhum dano aparente. Esses fungos compõem o grupo microbiano com maior número de espécies, sendo bastante variáveis quanto à morfologia e aos atributos fisiológicos e bioquímicos. Essa diversidade tem permitido a exploração de algumas linhagens fúngicas devido à sua potencialidade em produzir metabólitos secundários diversos. Dentre estes, os fungos do gênero *Monascus* destacam-se pela habilidade de produzir pigmentos amarelos, laranjas e vermelhos (SILVA et al., 2021).

Na indústria de alimentos, a cor é um atributo sensorial muito relevante. Por isso, os corantes são importantes, pois têm a finalidade de manter, estabilizar ou melhorar o aspecto visual do alimento, aumentando assim a aceitabilidade do consumidor. Visto isso, o emprego de fungos filamentosos na produção de pigmentos naturais surgiu como uma alternativa mais viável frente ao uso dos corantes sintéticos, uma vez que muitos corantes artificiais estão sendo prejudiciais à saúde e ao meio ambiente, sendo associados a toxicidade e efeitos carcinogênicos (ANASTÁCIO et al., 2016).



Bolsa de Iniciação Científica - UESB

Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia- UESB

Graduanda em Engenharia de Alimentos – UESB tawanasilva01@gmail.com

Docente: Dra. Silmara Almeida de Carvalho – UESB scarvalho@uesb.edu.br

Os corantes obtidos a partir de microrganismos têm ganhado atenção nas indústrias de alimentos pois seus pigmentos apresentam maior estabilidade quando submetidos a valores diferentes de temperaturas e pH, rendimento controlado e previsível, além de serem obtidos por processamento fermentativo, que é inerentemente o mais rápido e produtivo método de produção em pigmentos, usando condições de cultivo otimizadas e sem causar danos ambientais (DUFOSSE 2014).

Portanto, o presente trabalho tem como objetivo avaliar a produção de pigmentos por fungo filamentosso endofítico, extraído a partir do solvente orgânico acetato de etila.

MATERIAL E MÉTODOS:

- **Obtenção do Fungo:** O microrganismo selecionado para realização dos experimentos foi o isolado 43, obtido da Coleção do Laboratório de Química Ambiental e Biotecnologia (LQABio) do CEPEQ, da Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia (UESB), campus de Itapetinga-Ba.

- **Produção de Pigmento:** O cultivo do microrganismo visando a produção do pigmento de interesse foi realizado em duas etapas, sendo a primeira: a preparação do inóculo e a segunda: o cultivo a partir da fermentação submersa. Inicialmente, o microrganismo mantido sob óleo mineral foi repicado para tubos de ensaios estéreis contendo meio PDA (Ágar Batat Dextrose- Potato Dextrose Agar) e incubados à temperatura ambiente por 7 dias longe do abrigo da luz. Após o crescimento foi preparado uma suspensão de esporos.

A fermentação submersa ocorreu em frascos de Erlenmeyer de 250mL, contendo 150 mL de meio czapeck (0,45g NaNO₃, 0,15g K₂HPO₄, 0,075g MgSO₄.7H₂O, 0,075g KCl, 0,003g FeSO₄.7H₂O, 4,5g g/L sacarose/lactose). O meio foi submetido ao tratamento térmico de 121°C por 15 minutos. Em seguida foi coletado 10 mL da suspensão de esporos e inoculado nos frascos contendo o meio, sendo incubados durante 25 dias em temperatura ambiente, sem a presença de luz. Após esse período, foi realizada a filtração a vácuo para obtenção do extrato bruto final e separação da biomassa.

- **Extração:** O extrato bruto obtido foi transferido para o funil de separação, sendo adicionado ao filtrado 50 mL do solvente orgânico acetato de etila 30mL para extração. A mistura foi então agitada manualmente durante 5 minutos com intervalos de 10 minutos a cada agitação, vale ressaltar que esse procedimento foi realizado três vezes, obtendo assim a fase orgânica e aquosa. A produção de pigmento no experimento foi estimada através de observação visual e leitura da absorbância por espectrofotometria Uv-Vis. Toda a análise foi feita em triplicata.

RESULTADOS E DISCUSSÃO:

O isolado 43 de fungo endofítico foi cultivado em um meio de cultura padrão de Czapeck variando duas fontes de carbono – sacarose e lactose. Na Figura 1 apresenta-se imagens do (A) meio de cultivo inicial denominado dia zero, (B) meio de cultivo após 25 dias de desenvolvimento do isolado 43 com pigmentação do meio e do micélio, (C) meio de cultivo filtrado e adicionado solvente acetato de etila para extração e (D) tentativa de extração do pigmento produzido.



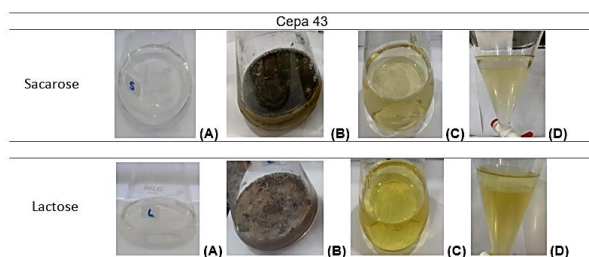


FIGURA 1: (A) e (B) - Meio líquido com inoculação do isolado 43 antes (A) E depois de 25 dias (B); (C) - Extrato bruto obtido após a filtração; (D) - Extração com solvente acetato de etila.

Após o período de 25 dias de fermentação do isolado 43 nas duas fontes de carbono supracitadas, observou-se visualmente a produção de pigmento, sinalizada pela diferenciação entre a coloração do meio no início do período de inoculação (Figura A) e o extrato bruto obtido após 25 dias de fermentação e filtração à vácuo (Figura C). Em relação às fontes de carbono, visualiza-se coloração mais intensa no meio contendo lactose. Mesmo resultado foi observado por Silva (2019), onde o uso de lactose no meio de cultivo como fonte de carbono, proporcionou um aumento de sete vezes na extração do pigmento em relação ao alcançado com a sacarose.

A fim de confirmar a eficiência da extração dos pigmentos do isolado em análise, realizou-se varredura de absorvância em espectrofotômetro (Shimadzu, Kyoto, Japão) na região do visível variando de 350 nm a 700nm. A Figura 2 abaixo mostra o resultado da varredura obtido.

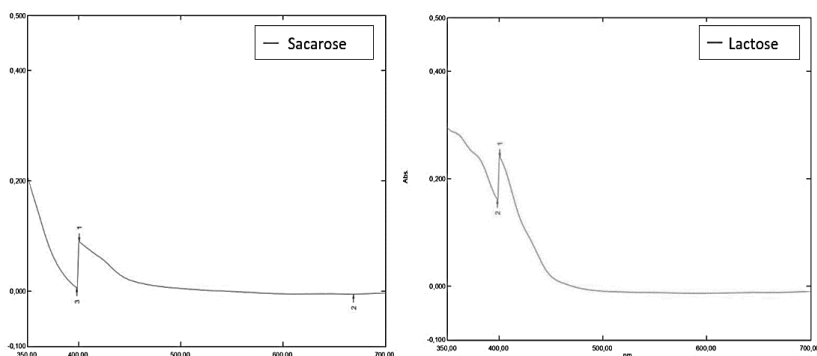


FIGURA 2 – Espectro de varredura dos meios de inoculação da cepa 43.

A cor de um pigmento está associada à absorção ou reflexão da luz em comprimento de onda determinado. O pigmento absorve certa parte do espectro e a cor complementar é refletida. Nos casos onde o pigmento extraído é amarelo, irá ser absorvida mais fortemente a cor azul, apresentando máxima absorção em comprimento de onda próximo a (465-482nm) (SOUZA, 2015). Este comportamento não foi observado no espectro da cepa em questão, para as duas fontes de carbono onde a mesma foi inoculada. Isso pode ser confirmado através das varreduras (Figura 2), a partir delas não foram observados picos de absorção em faixa de comprimento de onda que caracteriza a cor amarela.

Quanto ao solvente utilizado – acetato de etila – este caracteriza-se por ser o mais volátil entre os solventes, e portanto, mais fácil de ser removido. Ademais, é reconhecido como o melhor solvente para extração dos compostos majoritários de pigmentos de acordo com a polaridade (Venkatachalam et al., 2018). Visto isso, observa-se ligeiramente na Figura 1 a visualização do pigmento amarelo na fração orgânica, contudo não foi conclusiva a extração do pigmento produzido pois não houve absorção desse pigmento durante a análise no espectrofotômetro UV-Vis.

CONCLUSÃO:

O isolado 43 demonstrou potencial na produção de pigmentos, no entanto não foi possível observar o seu perfil no espectro de absorção. Sendo assim, torna-se necessária a aplicação de novos testes para avaliação do aumento da capacidade de extração por meio da utilização de um novo solvente ou método, visando uma maior eficácia na obtenção deste pigmento amarelo.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS:

1. ANASTÁCIO, B. L., OLIVEIRA, DA, DELMASCHIO, CR, ANTUNES, LMG, & CHEQUER, FMD (2016). Corantes alimentares amaranth, eritrosina B e tartrazina, e seus possíveis efeitos maléficos à saúde humana. *Revista de Ciências Farmacêuticas Aplicadas*.
2. DUFOSSÉ, L. et al. Filamentous fungi are large-scale producers of pigments and colorants for the food industry. *Current Opinion in Biotechnology*, v.26, 56–61, 2014.
3. SILVA, T. T. DA, SILVA, J. R. DA, QUEIROZ, A. E. S. DE F., & RIBEIRO, D. S. (2021). Estudo comparativo entre espécies de *Monascus* para produção de pigmentos naturais utilizando resíduo agroindustrial como substrato. *Research, Society and Development*, v. 10, n. 11, e315101119558. DOI: <http://dx.doi.org/10.33448/rsd-v10i11.19558>
4. SILVA, Luciana Amaral de Faria. Bioprospecção de fungos endófitos isolados de videiras (*Vitis Vinífera*) com potencial para produção de pigmentos. ITAPETINGA: Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia, 2019.
5. SOUZA, P.N.C. Bioprospecção de fungos filamentosos isolados de cavernas brasileiras produtores de pigmento. 2015. 88f. Tese (Doutorado em Microbiologia Agrícola) - Universidade Federal de Lavras. Lavras, 2015.
6. VENKATACHALAM, M.; MAGALON, H.; DUFOSSÉ, L.; FOUILLAUD, M. Production of pigments from the tropical marine-derived fungi *Talaromyces albobiverticillius*: New resources for natural red-colored metabolites. *Journal of Food Composition and Analysis*, v.70, p.35- 48, 2018.

AGRADECIMENTOS

Agradecemos a agência de fomento Universidade Estadual Do Sudoeste Da Bahia (UESB) pela bolsa de iniciação científica e apoio da realização das atividades.

