

Deise Michele Tichota, Fernanda Cortez Lopes, Alessandro Oliveira Rios,
Adriano Brandelli

Universidade Federal do Rio Grande do Sul - Instituto de Ciência e Tecnologia de Alimentos -

Avenida Bento Gonçalves, 9500 Bloco I - Porto Alegre - RS

INTRODUÇÃO

Monascus é um fungo filamentososo que produz pigmentos que são tradicionalmente utilizados nos países orientais asiáticos. Há um grande interesse mundial no desenvolvimento de processos para produção de pigmentos de origem natural, devido a sérios problemas de segurança de muitos corantes sintéticos, que têm sido utilizados industrialmente. Pigmentos microbianos são uma alternativa promissora em relação aos de origem animal ou vegetal, pois não apresentam problema de sazonalidade e mostram grande produtividade. A análise da produção de pigmentos de *Monascus* é geralmente feita pela medida da absorbância do pigmento nas faixas próximas a 400, 470 e 500 nm para pigmentos amarelos, alaranjados e vermelhos respectivamente. Na figura 1 está demonstrada a macromorfologia de *Monascus purpureus*.



Figura 1. Macromorfologia de *Monascus purpureus* em ágar batata.

OBJETIVOS

- Padronização de técnicas para confirmação da espécie por biologia molecular;
- Testar diferentes resíduos agroindustriais como meio de cultura apropriados para a produção de pigmentos;
- Análise em espectrofotômetro da coloração proporcionada pelos meios.

MATERIAIS E MÉTODOS

Identificação do fungo por Biologia Molecular

A extração de DNA foi realizada de acordo com Casali *et al.*, 2003 com modificações e a PCR foi adaptada de Horisawa *et al.*, 2009; foram utilizados primers universais ITS 1 (senso) e ITS 4 (anti-senso). O fluxograma está representado na figura 2.

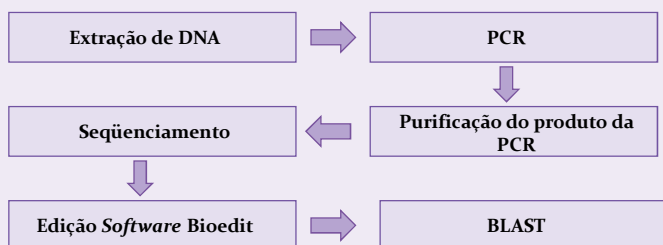


Figura 2. Fluxograma de identificação do fungo por Biologia Molecular.

Meios de cultura

O fungo foi cultivado por fermentação submersa nos meios contendo os resíduos: farelo de soja, casca de arroz, resíduo de uva, soro de queijo, pêlo de porco, pena de frango, farinha de peixe, proteína de soja, farinha de pena e bagaço de cana todos na concentração de 1%, além do meio caldo batata. Foram utilizados 10^6 esporos por mL, o cultivo foi realizado por 7 dias, a 120 rpm e 30°C.

Análise da produção de pigmentos

A produção de pigmentos extracelulares foi avaliada, utilizando-se de leitura em espectrofotômetro nos comprimentos de onda de 400, 470 e 500 nm.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Identificação do fungo por Biologia Molecular

Está sendo realizada a identificação molecular do fungo, sendo que obtivemos como resultados parciais 100 % de identidade para *Monascus purpureus*, bem como para *Monascus ruber*. Dessa forma, novos seqüenciamentos serão necessários para identificar a espécie deste fungo, afim de obtermos seqüências maiores e de melhor qualidade, além da utilização de outros primers como calmodulina e β - tubulina.

Análise dos pigmentos

Foi preparado um branco com o meio de cultura autoclavado e após foi realizada a leitura em espectrofotômetro. Houve a produção de pigmentos nos meios: proteína de soja, caldo batata, farelo de soja, casca de arroz, bagaço de cana e soro de queijo. Sendo que a maior produção de pigmentos vermelhos ocorreu no meio proteína de soja, com A_{300}/A_{400} de 1,02, já a maior produção de pigmentos amarelos ocorreu no meio caldo batata com A_{500}/A_{400} de 0,64. As diferentes tonalidades ocorreram provavelmente devido às diferentes composições do meio de cultura.

Tabela 1. Absorbância dos pigmentos produzidos em diferentes meios.

Meio de Cultura	A_{500}/A_{400}
Farelo de Soja	0,69
Casca de Arroz	0,51
Soro de Queijo	0,70
Proteína de Soja	1,02
Caldo Batata	0,64
Bagaço de cana	0,76

CONCLUSÕES E PERSPECTIVAS

- É necessário realizar novos seqüenciamentos para identificar o fungo;
- O fungo produziu pigmentos em alguns meios testados, entre eles o meio proteína de soja, casca de arroz, soro de queijo, farelo de soja, bagaço de cana e caldo batata;
- Estudos posteriores de extração de pigmentos intracelulares, quantificação e identificação de pigmentos por HPLC e análise da produção de citrulina serão realizados utilizando como meio de cultivo proteína de soja. Além disso, será realizada otimização da produção dos pigmentos por metodologia de superfície de resposta.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Kim, C.; Jung, H.; Kim, Y.O.; Shin, C.S. Antimicrobial activities of amino acid derivatives of *monascus* pigments. *FEMS Microbiol Lett* 117-124 (2006).
- Cho, Y.J.; Hwang, H.J.; Kim, S.W.; Song, C.H.; Yun, J.W. Effect of carbon source and aeration rate on broth rheology and fungal morphology during red pigment production by *Paecilomyces sinclairii* in a batch bioreactor. *Journal of Biotechnology* 95 (2002) 13-23
- Carvalho J. C., (2004), Desenvolvimento de bioprocesso para a produção de pigmentos a partir de *Monascus* por fermentação em substrato sólido. Tese (Doutorado), UFPR, Brasil.
- Meinicke, R.M. Estudo da produção de pigmentos por *Monascus ruber* CCT 3802 utilizando glicerol como substrato em cultivo submerso. Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Alimentos da UFSC. (2008)