

ACÚMULO DE LIPÍDIOS E PROTEÍNAS POR *Aspergillus niger* EM FERMENTAÇÃO EM ESTADO SÓLIDO

Cindiele K. Zen

Acadêmica do curso de Engenharia de Alimentos. Universidade de Passo Fundo

Email: cindielekarenzen@hotmail.com

Kelly Pelc da Silva

Acadêmica do curso de Engenharia de Alimentos. Universidade de Passo Fundo

Email: kellypelc@hotmail.com

Telma E. Bertolin

Professora/Pesquisadora do curso de Engenharia de Alimentos. Universidade de Passo Fundo

Luciane M. Colla

Professora/Pesquisadora do curso de Engenharia de Alimentos. Universidade de Passo Fundo

Resumo. Foi cultivado o fungo *Aspergillus niger* em fermentação em estado sólido com a utilização de resíduos agroindustriais com o objetivo de acumular lipídios e proteínas. Para a indução da síntese de lipídios e proteínas adicionou-se nos meios glicose, glicerol e sulfato ferroso em modo batelada alimentada em Planejamento Fatorial Completo 2³. A concentração de lipídios e proteínas foi avaliada no tempo inicial e 8 dias. O maior acúmulo de lipídios foi obtido quando o fungo foi cultivado com sulfato ferroso obtendo-se 4,2 vezes em relação aos conteúdos iniciais. O maior acúmulo de proteínas foi obtido no experimento que continha glicose, de 2,8 vezes em comparação com o experimento sem indutores.

Palavras-chave: Biocomposto.
Bioprocessos. Fungos.

1. INTRODUÇÃO

São crescentes os estudos com a produção de lipídios e proteínas devido às possibilidades de aplicações industriais. A utilização de microrganismos como fungos em indústria alimentícia oferece diversificação de produtos e rendimentos

econômicos consideravelmente altos (SOARES et al., 2010).

O acúmulo de lipídios e proteínas pode ser utilizado na produção de farelo fúngico para a incorporação de rações animais, biocombustíveis, lipídios insaturados ou bioemulsificantes, já que os lipídios microbianos podem apresentar características polares e apolares em uma mesma molécula (SPIER, 2005; SILVA; FREITAS, 2008).

A produção destes produtos pode ser realizada por bioprocessos em estado sólido. A fermentação em estado sólido consiste em uma boa alternativa para o aproveitamento dos resíduos agroindustriais por utilizar materiais simples e de baixo custo, necessitando na maioria dos casos, apenas da adição de água e de micronutrientes. Ela é altamente renovável e a sua utilização diminui o impacto sobre o meio ambiente. Devido à menor quantidade de água utilizada, os reatores são menores, ocupando menores áreas, necessitando de menor investimento, reduzindo os custos de produção e também contribuindo para a valorização de resíduos com a obtenção de bioprodutos de maior valor agregado (PANDEY et al., 2003; SCHMIDELL et al., 2001).

O fungo *Aspergillus niger* é promissor para fermentações em estado sólido devido à variedade de produtos de seu metabolismo e por ser considerado um microrganismo GRAS (Generally Recognized as Safe) (RODRIGUES et al., 2009).

Este estudo teve como objetivo avaliar a influência de indutores sobre o acúmulo de lipídios e proteínas no fungo *Aspergillus niger* em fermentação em estado sólido utilizando resíduos agroindustriais.

2. MATERIAL E MÉTODOS

O fungo utilizado neste estudo foi o *Aspergillus niger*. O fungo foi mantido em tubos com PDA (ágar batata dextrose) em refrigerador a 4°C. O inóculo foi preparado em erlenmeyer de 250 mL contendo 30 mL de PDA solidificado durante 7 dias a 30°C. Após, adicionou-se Tween 80 a 0,1% para formação da suspensão de esporos, que foi utilizada para a inoculação do meio de cultivo.

O meio de cultivo foi preparado com farelo de trigo (85%) e casca de arroz (15%), adicionados de água destilada estéril até atingir 60% de umidade, sem ajuste de pH. O meio foi autoclavado e adicionado a béqueres estéreis. O meio foi inoculado com a suspensão de esporos de forma a obter-se 2.10^6 esporos/g no tempo inicial de fermentação. Os béqueres foram tampados com manta acrílica e incubados em estufa a 30°C.

A indução da síntese de lipídios foi realizada com a adição de soluções de glicose, glicerol e sulfato ferroso em modo batelada alimentada nos tempos inicial e 4 dias (4d). A Tabela 1 apresenta os volumes das soluções adicionados, calculados de modo a atingir-se as concentrações definidas pelo Planejamento Fatorial Completo 2^3 . As amostragens foram realizadas nos tempos inicial e em 8d para a realização das determinações de umidade, lipídios e proteínas através dos métodos da AOAC (1995).

Tabela 1. Influência dos indutores.

Exp	Glicose (%)	Glicerol (%)	Sulfato ferroso (%)
1	0,0 (-1)	0,00 (-1)	0,000 (-1)
2	0,5 (+1)	0,00 (-1)	0,000 (-1)
3	0,0 (-1)	0,25 (+1)	0,000 (-1)
4	0,5 (+1)	0,25 (+1)	0,000 (-1)
5	0,0 (-1)	0,00 (-1)	0,021 (+1)
6	0,5 (+1)	0,00 (-1)	0,021 (+1)
7	0,0 (-1)	0,25 (+1)	0,021 (+1)
8	0,5 (+1)	0,25 (+1)	0,021 (+1)

Exp. 1 sem indutores; exp. 2 glicose; exp. 3 glicerol; exp. 4 glicose + glicerol; exp. 5 sulfato ferroso; exp. 6 glicose + sulfato ferroso; exp. 7 glicerol + sulfato ferroso; exp. 8 glicose + glicerol + sulfato ferroso.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A Tabela 2 apresenta os teores de umidade nos tempos inicial e 8d dos experimentos do Planejamento Fatorial Completo 2^3 .

Tabela 2. Teor de umidade (%) nos experimentos em função do tempo.

Exp.	Tempo de cultivo	
	0d	8d
1	57,40±3,25	50,62±3,83
2	61,27±2,12	55,92±2,13
3	61,34±1,53	55,04±1,09
4	60,30±1,82	57,26±4,84
5	63,74±1,78	56,12±5,02
6	58,89±1,82	58,73±5,76
7	61,33±2,30	55,01±1,50
8	64,75±0,04	57,53±5,53

Resultados em média±dp

Exp. 1 sem indutores; exp. 2 glicose; exp. 3 glicerol; exp. 4 glicose + glicerol; exp. 5 sulfato ferroso; exp. 6 glicose + sulfato ferroso; exp. 7 glicerol + sulfato ferroso; exp. 8 glicose + glicerol + sulfato ferroso.

Verifica-se que a umidade dos meios de cultivo apresentou tendência a diminuição no decorrer do tempo, em função da evaporação ou condensação de água em

virtude das temperaturas de cultivo. Nem todos os ensaios apresentaram 60% de umidade no tempo inicial, o que pode ter sido devido a perdas por evaporação durante a autoclavagem do meio ou devido a dificuldades de amostragem em função da pouca homogeneidade do meio, inerentes do modo de cultivo em fermentação em estado sólido.

As Tabelas 3 e 4 apresentam a variação dos conteúdos de lipídios e proteínas em base seca nos experimentos do Planejamento Fatorial Completo 2^3 utilizado para avaliar a influência dos indutores sobre estas variáveis resposta, além do adimensional para cada variável, calculado dividindo-se o valor obtido no tempo de 8 dias de fermentação pelo obtido no tempo inicial.

Tabela 3. Teor de lipídios (% base seca) nos tempos inicial e final do processo fermentativo para os experimentos do PFC e adimensionais.

Exp.	Tempo de cultivo		
	0 d	8 d	Adimensional*
1	1,81	1,30	0,72±0,06
2	1,62	1,80	1,12±0,15
3	1,17	1,49	1,27±0,03
4	3,97	2,03	0,51±0,02
5	1,32	5,56	4,22±0,55
6	1,43	5,53	3,87±0,44
7	1,30	1,05	0,81±0,08
8	2,02	1,81	0,90±0,01

*média±dp

Exp. 1 sem indutores; exp. 2 glicose; exp. 3 glicerol; exp. 4 glicose + glicerol; exp. 5 sulfato ferroso; exp. 6 glicose + sulfato ferroso; exp. 7 glicerol + sulfato ferroso; exp. 8 glicose + glicerol + sulfato ferroso.

Tabela 4. Teor de proteínas (% base seca) nos tempos inicial e final do processo fermentativo para os experimentos do PFC e adimensionais.

Exp	Tempo de cultivo		
	0 d	8 d	Adimensional*
1	10,64	20,72	1,95±0,20
2	10,69	30,23	2,83±0,03
3	11,46	20,46	1,78±0,06
4	9,46	16,50	1,76±0,27
5	11,85	19,66	1,66±0,04
6	9,54	14,21	1,49±0,14
7	10,93	17,72	1,63±0,29
8	12,09	11,61	0,96±0,09

*média±dp

Exp. 1 sem indutores; exp. 2 glicose; exp. 3 glicerol; exp. 4 glicose + glicerol; exp. 5 sulfato ferroso; exp. 6 glicose + sulfato ferroso; exp. 7 glicerol + sulfato ferroso; exp. 8 glicose + glicerol + sulfato ferroso.

A adição de sulfato ferroso e glicose + sulfato ferroso apresentaram efeito notável no acúmulo de lipídios, de aproximadamente 4,2 e 3,8 vezes em relação aos conteúdos iniciais. Portanto, a adição destes indutores interferiu no acúmulo de lipídios pelo fungo *Aspergillus niger*. A adição de glicose apresentou efeito significativo na indução do acúmulo de proteínas, de 2,8 vezes em comparação com um aumento de 1,9 vezes no experimento sem indutores. Portanto, a glicose induz ao acúmulo de proteína. Observou-se que as condições que levaram ao aumento do conteúdo de lipídios foram as que ocasionaram a diminuição nos conteúdos de proteínas.

A Tabela 5 apresenta os efeitos estimados das variáveis sobre os adimensionais de lipídios e proteínas e os níveis de significância obtidos para cada variável.

Tabela 5. Influência das variáveis estudadas sobre o percentual de lipídios e proteínas em base seca.

Fonte de variação	Lipídio		Proteína	
	Efeitos	p	Efeitos	p
Média	1,68	<0,01	1,76	<0,01
(1)Glicose	-0,16	0,41	0,01	0,97
(2)Glicerol	-1,61	<0,01	-0,45	<0,01
(3)Sulfato Ferroso	1,54	<0,01	-0,64	<0,01
1 por 2	-0,18	0,34	-0,35	<0,01
1 por 3	0,02	0,89	-0,42	<0,01
2 por 3	-1,58	<0,01	0,17	0,08

ANOVA; Proteína; R-sqr=,93415;
 Adj:,89024

ANOVA; Lipídio; R-sqr=,96274;
 Adj:,93789

Os resultados observados na Tabela 5 estão de acordo com o que foi observado no experimento 5, onde obteve-se o maior acúmulo de lipídios e no qual o fungo foi cultivado com sulfato ferroso. Da mesma maneira, o maior acúmulo de proteínas foi obtido no experimento 2, no qual o fungo foi cultivado com glicose.

4. CONSIDERAÇÕES FINAIS

A síntese de lipídios em fermentação em estado em sólido foi estimulada pela adição de sulfato ferroso e inibida pela adição de glicose e glicerol, enquanto que a síntese de proteínas foi estimulada pela adição de glicose. A indução da síntese de lipídios e proteínas pode ser afetada pelas condições do meio de cultivo, dependendo da aplicação almejada.

A fermentação em estado sólido mostrou-se uma alternativa para o acúmulo de lipídios em fungos filamentosos, agregando valor a resíduos agroindustriais e contribuindo para a produção de compostos que podem ser aproveitados para a síntese de biodiesel.

Agradecimentos

Ao CNPQ e ao PIBIC/UPF.

5. REFERÊNCIAS

AOAC. **Association of Official Analytical Chemists. Official methods of analysis of the AOAC International.** 16th ed. Arlington, 1995.

PANDEY, A. Solid-state fermentation. **Biochemical Engineering Journal.** Trivandrum, India V.13, p.81–84, 2003.

RODRIGUES, A. A. **Atividade antimicrobiana e produção de enzimas de interesse biotecnológico de bactérias isoladas de diferentes habitats.** Dissertação (Mestrado em Concentração de Microbiologia) – Instituto de Patologia Tropical e Saúde Pública, Universidade Federal de Goiás, Goiânia, 2009. 2 p.

SCHMIDELL, W. et al. **Biotechnologia Industrial.** v. 2. São Paulo: E. Blücher, 2001. 254 p.

SILVA, P.R.F.; FREITAS, T.F.S. **Biodiesel: the charge and the bond of the fuel producing.** *Ciência Rural*, Santa Maria, v.38, n.3, p.843-851, mai-jun, 2008.

SOARES, Izabel Aparecida et al. **Identificação do potencial amilolítico de linhagens mutantes do fungo filamentosso *Aspergillus nidulans*.** *Ciência e Tecnologia de Alimento*, 2010. vol.30, n.3, p. 700-705.

SPIER, M. R. **Produção de Enzimas Amilolíticas Fúngicas A-Amilase e Amiloglicosidase por Fermentação no Estado Sólido.** Dissertação de Mestrado. UFPR, PR, Brasil, 2005.