

## Influência do pH e da concentração de esporos na morfologia de *Aspergillus niger* e na produção de endoglucanase

André Luís Zozzi Ferreira<sup>1</sup>; Mariane Molina Buffo<sup>2</sup>; Cristiane Sanchez Farinas<sup>3</sup>; Alberto Colli Badino<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Aluno de graduação em Engenharia Química, Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, SP. andreluis\_zozzi@hotmail.com;

<sup>2</sup>Aluna de doutorado em Engenharia Química, Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, SP;

<sup>3</sup>Pesquisadora da Embrapa Instrumentação, São Carlos, SP;

<sup>4</sup>Professor do Departamento de Engenharia Química, Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, SP.

No presente trabalho pretendeu-se avançar no entendimento do processo produção de enzimas celulolíticas, mais especificamente endoglucanases pelo fungo filamentoso *Aspergillus niger* (A. niger 12 da coleção da Embrapa Agroindústria de Alimentos, Rio de Janeiro, RJ). Tal avanço se deu através da indução da morfologia do inóculo do fungo, pela união de duas técnicas já existentes na literatura (pH do meio e concentração de esporos). O principal objetivo foi gerar inóculos com diferentes morfologias e verificar qual a melhor para produção de enzimas celulolíticas, contribuindo para a obtenção de enzimas mais eficazes para aplicação na produção de etanol 2G. Os cultivos do inóculo foram realizados de forma submersa em Erlenmeyers de 500 mL com 100 mL de meio de Mandels modificado em shaker a 200 rpm e 32°C. Foram utilizadas três diferentes combinações de pH e concentração de esporos inicial (Ce): (1) pH=2,0 e Ce=5.10<sup>7</sup>, (2) pH=4,0 e Ce=5.10<sup>5</sup> e (3) pH=6,0 e Ce=5.10<sup>3</sup>. Após 48 h de crescimento, os inóculos obtidos foram analisados em relação a morfologia. Utilizou-se como parâmetros morfológicos a porcentagem de pellet (ou fase dispersa) de cada experimento e o tamanho dos pellets, por meio de análise da área e diâmetro médio dos mesmos. As imagens obtidas em microscópio óptico ou em câmera fotográfica, dependendo do tamanho das formas obtidas, foram analisadas com auxílio do software Image J®. Uma proporção de 10% v/v dos diferentes inóculos foram inoculados em meio de cultura de produção e cultivados a 200 rpm e 32°C. Foi utilizado lactose como indutor para produção de endoglucanase e o pH do novo meio de Mandels modificado foi ajustado para 4,5. A etapa de produção teve duração de 72 h. Foi também analisada a influência da concentração celular nas fases de inóculo e de produção. Após o termino de cada etapa, filtrou-se o meio de cultivo com auxílio de bomba a vácuo e as massas filtradas permaneceram na estufa a 60°C por 48 h. Apesar de visualmente diferentes, as morfologias apresentaram valores próximos de concentrações celulares no inóculo e na fase de produção. Sob altos valores de pH e baixo valor de concentração inicial de esporos (condição 3), a morfologia resultante do inóculo foi predominantemente formada de pellets com diâmetros de ~5 mm. Já com baixos valores de pH e alta concentração inicial de esporos (condição 1), a morfologia foi predominantemente dispersa, com a presença de apenas alguns pellets menores do que 1,0 mm. As análises de atividades enzimáticas foram realizadas por protocolo desenvolvido pela Embrapa, em que os açúcares redutores são medidos após a hidrólise, pelo método do DNS. Os valores de atividade enzimática variaram na faixa de 507,2 UI/L para a condição 1, 795,5 UI/L para a condição 2 e 1159,3 UI/L para a condição 3, o que mostra que a morfologia do inóculo e suas condições de preparo influenciam a produção enzimática.

**Apoio financeiro:** CAPES, FAPESP, CNPq, Embrapa

**Área:** Engenharias

**Palavras-chave:** *Aspergillus niger*, Endoglucanase, Morfologia