

APLICAÇÃO DE FT-IR PARA MONITORAMENTO DE CULTIVO EM FASE SÓLIDA DE *Agaricus bisporus* EM *Citrus reticulata*

Guilherme G. Silva¹ (IC), Thomas Schmidt¹ (PG), Yuri G. Kappenberg¹ (IC), Michele Hoeltz¹ (PQ), Valeriano A. Corbellini¹ (PQ) *valer@unisc.br

¹Universidade de Santa Cruz do Sul – Santa Cruz do Sul – RS

Palavras Chave: cultivo em fase sólida, *Agaricus bisporus*, quimiometria, FT-IR

Abstract

FTIR application for monitoring of solid phase fermentation of *Agaricus bisporus* in *Citrus reticulata*

PLS/FTIR models of pectinase activity and reducing sugars were obtained for monitoring cultivation of *Agaricus bisporus*.

Introdução

A determinação de atividade pectinase (AP) e açúcares redutores (AR) são parâmetros necessários para monitoramento de cultivo de micro-organismos em resíduos de *Citrus* sp., visando aplicações biotecnológicas^{1,2}. Os métodos tradicionais de quantificação destes parâmetros são onerosos e geram grande quantidade de resíduos. Neste sentido, o objetivo do presente trabalho foi avaliar a aplicação da espectroscopia de Absorção Molecular no Infravermelho com transformada de Fourier (FT-IR) associada à quimiometria como método alternativo para monitoramento destes parâmetros em cultivo em fase sólida (CFS) de *A. bisporus* sobre resíduos de mandarina (*Citrus reticulata*)

Resultados e Discussão

O experimento de CFS foi realizado em frascos erlenmeyers (triplicatas de 120 mL) contendo 25 g de resíduo de mandarina, pH 4,5 (corrigidos com CaCO₃) estéril (121°C, 15 min) foram inoculados com suspensão de micélio (inóculo de *A. bisporus*³) de 4% (v/m). A incubação foi realizada a 28°C por 14 dias. O controle foi realizado sem adição de inóculo, e acompanhou cada triplicata, totalizando 90 amostras. AP e AR foram determinados através do método do Ácido Dinitrossalicílico (ADNS)⁴. A extração das enzimas foi realizada com solução-tampão 50 mM pH 7,0, na proporção de 1:17 (g de sólido/mL de solução-tampão). Triplicatas contendo 10 µL do extrato foram acrescidas de 10 µL de K₃[Fe(CN)₆] 0,2 g.mL⁻¹ e espalhadas em peças de inox com 8 mm de diâmetro. Após desidratação (37 °C, 3 h) foram analisados por FT-IR (reflectância especular) na faixa de 4000-450 cm⁻¹, com 8 pulsos de varredura e 4 cm⁻¹ de resolução. Os espectros foram normalizados pela banda νCN (2117 cm⁻¹), corrigidos para espalhamento de luz (MSC), pré-processados por centragem na média e analisados por regressão via mínimos quadrados parciais (PLS)

supervisionada pelos respectivos valores de AR, AP, com validação cruzada (CV) de mútua exclusão de 1 por vez em software Pirouette 4.0, seguida por validação externa (30 espectros com menor erro de CV).

Observou-se grande variabilidade nos espectros dos extratos em função do tempo de cultivo (Fig 1).

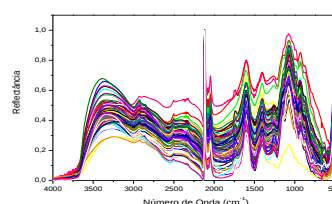


Figura 1. Conjunto de espectros (n=90) de extratos de CFS de *A. bisporus* em mandarina.

A modelagem PLS-SRIFTS evidenciou boa qualidade preditiva (Tab 1).

Tabela 1. Figuras de mérito de modelos PLS/FT-IR de parâmetros de CFS de *A. bisporus*.

Parâmetro	Faixa (mmol.L ⁻¹)	RMSECV RMSEP	R ²
AP			
Cal	0,33-2,16	0,03	0,9999
Val	0,55-2,16	0,10	0,9746
AR*			
Cal	2,18-13,22	0,19	0,9152
Val	2,18-12,94	0,41	0,9881

*: com correção de linha de base; Número de variáveis latentes (VL) = 10. Faixa: 4000-450 cm⁻¹.

Conclusões

A partir dos resultados obtidos pode-se concluir que a FT-IR, associada à quimiometria, apresenta-se como um método rápido, limpo, com baixa geração de resíduos, passível de implementação em rotinas de monitoramento de atividade pectinase e açúcares redutores em CFS de *Agaricus bisporus* sobre resíduos de *Citrus reticulata*.

Agradecimentos

CNPQ, CAPES, FAPERGS e UNISC

¹ NEVES, M. F. (coord.) "O retrato da citricultura brasileira." *Ribeirão Preto: Citrus BR*, 2010.

² SCHIEBER, A.; STIMTZING, F. C.; CARLE, R. Trends Food Sci. Technol. 2001, 12, 401.

³ LIU, G-Q; WANG, X-L. *Appl. Microbiol Biotechnol.* 2007, 74, 78.

⁴ MILLER, G. L. *Anal. Chem.*, 1959, 31, 426.