

# Xarope de Maltose como Potencial Substrato para o Crescimento de *Monascus Ruber*

## Maltose Syrup as a Potential Substrate for the Growth of *Monascus Ruber*

Camila Fernanda Dias de Oliveira<sup>a\*</sup>; Welker Denner Bernardes de Araújo<sup>b</sup>; Franciello Vendruscolo<sup>ac</sup>

<sup>a</sup>Universidade Federal de Goiás, Programa de Pós-Graduação *Stricto Sensu* em Ciência e Tecnologia de Alimentos. GO, Brasil. Instituto Federal. GO, Brasil.

<sup>b</sup>Universidade Federal de Goiás. GO, Brasil.

<sup>c</sup>Universidade Federal de Goiás, Programa de Pós-Graduação *Stricto Sensu* em Engenharia Química. GO, Brasil.

\*E-mail: [camilaferdias@gmail.com](mailto:camilaferdias@gmail.com);

---

### Resumo

Diversas fontes de carbono vêm sendo utilizadas como substrato para o crescimento do *Monascus ruber*, as mais usuais são glicose, sacarose, amido e o arroz, têm sido amplamente consumido na China, Japão, Ásia, Indonésia e países do Sudeste Asiático. E o xarope de maltose apresenta-se como um substrato potencial alternativo para o fungo *Monascus*, bem interessante por ser um subproduto da indústria de alimentos. Deste modo, o objetivo deste trabalho foi avaliar o reaproveitamento do resíduo agroindustrial xarope de maltose como um potencial para fabricação de pigmentos, determinando a velocidade de crescimento radial pelo fungo *Monascus ruber* CCT 3802, em cultivo sólido sob diferentes concentrações de substrato. As análises de velocidade de crescimento radial foram realizadas em meio ágar dextrose de batata (PDA) sob diferentes concentrações de xarope de maltose (5, 20, 50, 80 e 95 g/L), além da placa padrão contendo apenas PDA. Diante dos resultados pode-se observar que o micro-organismo cultivado no meio contendo 50 g/L de xarope de maltose obteve crescimento de 0,0607 mm h<sup>-1</sup>, ou seja, 1,4568 mm dia<sup>-1</sup> representando maior velocidade de crescimento radial quando comparado com as demais concentrações. Portanto, a utilização do xarope de maltose como substrato para o *Monascus ruber* é promissor observando que as diferentes concentrações obtiveram influência em seu crescimento.

**Palavras-chave:** Crescimento Radial. Fermentação Sólida. Xarope de Maltose.

### Abstract

Several sources of carbon have been used as a substrate for the growth of *Monascus ruber*, the most common of which are glucose, sucrose, starch and rice, have been widely consumed in China, Japan, Asia, Indonesia and Southeast Asian countries. And maltose syrup presents itself as an alternative potential substrate for the *Monascus* fungus, quite interesting as it is a by-product of the food industry. Thus, the objective of this work was to evaluate the reuse of the agro - industrial maltose syrup residue as a potential for pigment manufacture, determining the radial growth rate by the *Monascus ruber* CCT 3802 fungus in solid culture under different substrate concentrations. Radial growth rate analyzes were performed on potato dextrose agar (PDA) under different concentrations of maltose syrup (5, 20, 50, 80 and 95 g/L), in addition to the standard plate containing only PDA. In view of the results, it can be observed that the microorganism cultured in the medium containing 50 g/L of maltose syrup obtained growth of 0.0607 mm h<sup>-1</sup>, that is, 1.4568 mm day<sup>-1</sup> representing higher speed of radial growth when compared to the other concentrations. Therefore, the use of maltose syrup as a substrate for *Monascus ruber* is promising by observing that the different concentrations have influenced its growth.

**Keywords:** Radial Growth. Solid Fermentation. Maltose Syrup.

---

## 1 Introdução

O *Monascus ruber* é um fungo comestível e têm sido utilizado na fermentação em estado sólido a séculos em países asiáticos. Diversas fontes de carbono vêm sendo utilizadas como substrato para o crescimento do fungo, as mais usuais são glicose, sacarose, amido e o arroz, têm sido amplamente consumido na China, Japão e países do Sudeste Asiático. E o xarope de maltose apresenta-se como um substrato potencial alternativo para o *Monascus*, bem interessante por ser um subproduto da indústria de alimentos (KUMAR *et al.*, 2015; HILARESA *et al.*, 2018).

Durante a fermentação o *Monascus ruber* produz vários metabólitos secundários, principalmente pigmento. O pigmento de *Monascus* é uma mistura de compostos

vermelhos, laranja e amarelo, que são classificados em policetídicos. Os Monascin e Ankaflavin são (pigmentos amarelos), Rubropunctatina e Monascorubrina (pigmentos laranja) e Rubropunctamine e Monascorubramine (pigmentos vermelhos) são seis pigmentos bem conhecidos pela literatura (ORAKA *et al.*, 2018; WIBOWO *et al.*, 2015).

Os metabólitos secundários derivam-se a partir de diferentes intermediários do metabolismo primário. No caso dos pigmentos são sintetizados pelos ácidos graxos de cadeia média como, por exemplo, o ácido octanóico, pela via metabólica dos ácidos graxos ligam-se a estrutura do cromóforo por meio de uma reação de esterificação gerando o pigmento laranja. Por oxidação do pigmento laranja dá origem ao pigmento amarelo. E os vermelhos são produzidos pela reação do pigmento laranja com compostos que contenham

NH<sub>3</sub> e NH<sub>2</sub> na molécula (SRIANTA *et al.*, 2016).

Pigmentos de *Monascus* são utilizados na coloração de bebidas, arroz, peixes, vinhos até usos medicinais e ainda, como promissor na utilização em produtos cárneos em substituição aos sais de nitrito que conferem cor avermelhada e, ao mesmo tempo, a produção de nitrosaminas, compostos esses carcinogênicos (HAJJAJ *et al.*, 2012).

A produção de pigmentos por *Monascus* é comumente realizada com fermentação em estado sólido. Fungos filamentosos têm habilidades extremas de adaptação, colonizam em substratos sólidos com facilidade pela penetração das hifas no meio e ainda crescem em baixo conteúdo de umidade, além da obtenção de produtos de alto valor agregado. Entretanto, o cultivo sólido é afetado por fatores intrínsecos e extrínsecos como, composições dos meios, fontes de nitrogênio, concentração de oxigênio e o valor do pH no sistema. Deste modo, a escolha de uma boa fonte de substrato é importante no sucesso do crescimento dos micro-organismos pois, o substrato ideal é aquele que provê os nutrientes necessários aos fungos para seu máximo crescimento (COSTA; VENDRUSCOLO, 2017).

O emprego de subprodutos agroindustriais da indústria de alimentos pode ser uma grande oportunidade para que os custos de tais pigmentos sejam diminuídos. O xarope de maltose é o principal subproduto da malteação dos grãos, obtido pela germinação dos cereais pela síntese de enzimas responsáveis pela degradação dos polissacarídeos. Deste modo, o presente estudo busca, avaliar a influência do uso de xarope de maltose como fonte de carbono na velocidade de crescimento radial de *Monascus ruber* CCT 3802 em cultivo sólido em diferentes concentrações de xarope de maltose.

## 2 Material e Métodos

O micro-organismo utilizado foi o fungo *Monascus ruber* CCT 3802, obtido da Coleção de culturas André Tosello (Campinas, SP), mantido em ágar dextrose de batata (PDA). A manutenção do isolado foi realizada em tubos de ensaio contendo PDA inclinado, esterilizados a 121 °C durante 15 minutos. Logo depois de resfriados, os tubos foram inoculados conforme a metodologia de Hajjaj *et al.* (2012), onde uma alçada de micro-organismo, foi transferida para tubos de ensaio, incubados a 30 °C por 7 dias. Este material foi utilizado para inocular as placas de petri.

A determinação da velocidade do crescimento radial foi obtida sob diferentes concentrações de xarope de maltose, variando de (5, 20, 50, 80 e 95 g/L), de acordo com a metodologia de Vendruscolo *et al.* (2010), foi preparado uma suspensão de esporos, onde três alçadas do micro-organismo cultivado em tubos de ensaio foram transferidos para tubos de *Duran* contendo 0,7 mL de ágar bacteriológico 0,2% previamente autoclavados a 121°C por 15 minutos. O PDA e as concentrações de xarope de maltose foram autoclavadas a 121 °C durante 15 minutos, posteriormente vertido em placas

de petri de 100 mm. Depois de solidificados, com auxílio de ponteira de micropipeta com diâmetro de 1,4 mm, os meios de cultivo foram inoculados através da imersão da ponteira na suspensão de esporos e posteriormente toque no centro de cada placa. Após inoculação, foram traçadas três raias no fundo de cada placa, passando pelo ponto de inoculação. Posteriormente, forma incubadas em estufa a 30 °C. A cada 24 horas, foram medidos os diâmetros das colônias do *Monascus ruber* CCT 3802. Cada experimento foi composto por 5 repetições acompanhado por um controle sem o substrato.

A velocidade de crescimento radial nos meios utilizados foi determinada pela declividade da reta obtida pela regressão linear, conforme a Equação 1.

$$r(t) = a + V_{CR} \cdot t \quad [1]$$

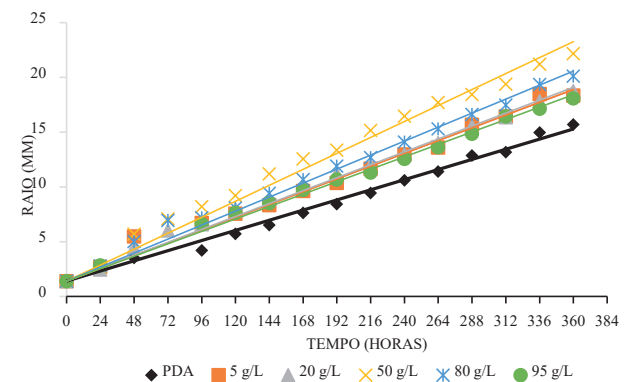
em que,  $r(t)$  é o raio da colônia (mm);  $a$  é a constante da regressão linear;  $V_{CR}$  é a velocidade de crescimento radial (mm/dia);  $t$  é o tempo de cultivo (h).

Para as diferentes velocidades de crescimento obtidas e para os diferentes meios analisados, foram comparadas as declividades das retas em gráficos, utilizando-se o software Microsoft Excel® 2010. Para verificar se há diferença significativa entre as velocidades obtidas das curvas de regressão, foi utilizado o teste-t pelo software ASSISTAT.

## 3 Resultados e Discussão

O crescimento de *Monascus ruber* em placas de petri em meio sólido foi avaliado e a velocidade de crescimento radial determinada. A Figura 1 apresenta as curvas das colônias do fungo em PDA sob diferentes concentrações de xarope de maltose, durante 360 horas de cultivo, onde o crescimento observado aproximou da linearidade dos diferentes meios.

**Figura 1** - Curva de crescimento radial de *Monascus ruber* em placas contendo diferentes concentrações de xarope de maltose.



Fonte: Dados da pesquisa.

Foi possível verificar que houve crescimento nas placas com meio contendo xarope de maltose e também nas placas cultivadas somente com meio PDA. Entretanto, observa-se que houve diferenças estatísticas para todas as concentrações de bagoço de malte aplicada, quando comparadas com o meio PDA (Quadro 1).

**Quadro 1** - Equação de regressão linear, coeficiente de regressão ( $R^2$ ) e velocidade de crescimento radial ( $V_{CR}$ ) para o fungo *Monascus ruber* em meio de cultivo contendo diferentes concentrações de xarope de Maltose.

Concentrações de xarope de Maltose (g/L)	Equação de regressão	$R^2$	$V_{CR}$ (mm h <sup>-1</sup> )
PDA	$r(t) = 0,0386t + 1,4$	0,9723	0,0386±0,0065 <sup>d</sup>
5	$r(t) = 0,0486t + 1,4$	0,9871	0,0486±0,0039 <sup>bc</sup>
20	$r(t) = 0,0492t + 1,4$	0,9922	0,0492±0,0016 <sup>bc</sup>
50	$r(t) = 0,0607t + 1,4$	0,9928	0,0607±0,0061 <sup>a</sup>
80	$r(t) = 0,0533t + 1,4$	0,9889	0,0533±0,0101 <sup>b</sup>
95	$r(t) = 0,0473t + 1,4$	0,9953	0,0473±0,0012 <sup>c</sup>

\*Médias seguidas pela mesma letra na coluna não difere estatisticamente entre si, pelo teste Tukey, a nível de ( $p \leq 0,05$ ) de significância.

Fonte: Dados da pesquisa.

A maior velocidade de crescimento radial do *M. ruber* foi obtida da placa contendo 50 g/L de xarope de maltose 0,0607 mm h<sup>-1</sup>, ou seja, 1,4568 mm dia<sup>-1</sup> o que corresponde ao crescimento de aproximadamente 57% quando comparado com meio contendo apenas PDA, mostrando que nessa concentração o fungo conseguiu alcançar sua velocidade máxima, e conseqüentemente terá maior produção de pigmentos. Já para as placas com o fungo cultivado em meio PDA, foram observadas crescimento em torno de 0,0386 mm h<sup>-1</sup>, que corresponde a 0,9264 mm dia<sup>-1</sup>.

A fermentação em estado sólido para o *Monascus ruber* devem conter os nutrientes em quantidades e proporções corretas para a manutenção e multiplicação. O carbono é um elemento essencial necessário ao crescimento microbiano. Por isso, os nutrientes indispensáveis ao organismo em causa devem estar em quantidades sob forma assimilável.

Autores como Oliveira *et al.* (2016) determinaram a velocidade de crescimento radial de *Monascus ruber* CCT 3802 em meio PDA sob diferentes concentrações do resíduo agroindustrial bagaço de malte, para esse substrato observaram velocidades de 3,31 mm dia<sup>-1</sup>, ou seja, um aumento de 55% quando em relação com os micro-organismos cultivados em meio PDA, mostrando que quanto maior a velocidade de crescimento, maior a produção de pigmentos.

Carvalho *et al.* (2005) avaliaram a velocidade média de quatro linhagens de *Monascus purpureus* cultivados em meio PDA a 30 °C, encontraram velocidades entre 2,3 e 3,1 mm dia<sup>-1</sup> velocidades maiores do que as encontradas para *Monascus ruber* nesta pesquisa.

#### 4 Conclusão

O emprego de subprodutos agroindustriais da indústria de alimentos pode ser uma grande oportunidade para o crescimento e cultivo de *Monascus ruber*. O xarope de maltose apresentou influência direta no crescimento radial do fungo. Onde, as maiores velocidades foram observadas em meio contendo 50 g/L. Portanto pode-se utilizar o xarope de maltose como substrato em meio sólido para obtenção e extração dos pigmentos de *Monascus ruber*.

#### Referências

- CARVALHO, J.C. *et al.* Biopigments from *Monascus*: Strain Selection, Citrinin Production and Color Stability. *Braz. Arch. Biol. Technol.*, v. 48, n.6, p.885-894, 2005.
- COSTA, J.P.V.; VENDRUSCOLO, F. Production of red pigments by *Monascus ruber* CCT 3802 using lactose as a substrate. *Biocatal Agric Biotechnol.*, v.11, p.50-55, 2017.
- HAJJAJ, H. *et al.* Effect of Amino Acids on Red Pigments and Citrinin Production in *Monascus ruber*. *J. Food Sci.*, v.77, n.3, p.156-159, 2012.
- HILARESA, R.T. *et al.* Sugarcane bagasse hydrolysate as a potential feedstock for red pigment production by *Monascus ruber*. *Food Chem.*, v.245, p.786-791, 2018.
- KUMAR, A. *et al.* Microbial pigments: production and their applications in various industries. *IJPCBS*. v.5, n.1, p.203-212, 2015.
- OLIVEIRA, C.F.D. *et al.* Bagaço de malte como substrato para produção de biopigmentos produzidos por *Monascus Ruber* CCT 3802. *Rev. Agric. Neotrop.*, v.3, n.3, p.6-9, 2016.
- ORAKA, T. *et al.* Chicken feather peptone: A new alternative nitrogen source for pigment production by *Monascus purpureus*. *J. Microbiol.*, v.271, p.56-62, 2018.
- SRIANTA, I. *et al.* Comparison of *Monascus purpureus* growth, pigment production and composition on different cereal substrates with solid state fermentation. *Biocatal Agric. Biotechnol.*, v. 7, p.181-186, 2016.
- VENDRUSCOLO, F. *et al.* Construction and application a vane system in a rotational rheometer for determination of the rheological properties of *Monascus ruber* CCT 3802. *J. Biomol.*, v.24, n.24, p.29-35, 2010.
- WIBOWO, S. *et al.* Colour and carotenoid changes of pasteurised orange juice during storage. *Food Chem.*, v.33, n.1, p.330-340, 2015.