



EFEITO DO MÉTODO DE INOCULAÇÃO NA PRODUÇÃO DE ÁCIDO OXÁLICO POR *Aspergillus niger* ATCC1015

Jeniffer Kelly Cortes Amaro¹, Cleomar Pereira Lima¹, Thúlio Pereira Mattos¹, Gilberto Oliveira Mendes¹

¹ Universidade Federal de Uberlândia, Monte Carmelo, Minas Gerais
(jeniamaro@outlook.com)

RESUMO: O objetivo desse trabalho foi explorar a eficiência do *Aspergillus niger* ATCC1015 como produtor de ácido oxálico em diferentes métodos de inoculação. Foi testado e observado o efeito de três métodos de inoculação do fungo para a produção do ácido, sendo eles: conídios, conídios pré-germinados e biomassa pré-crescida. O experimento foi montado com 5 repetições por tratamento, conduzido em erlenmeyer de 125 mL com 75 mL de meio e inoculado com suspensão de conídios (10^7 conídios/mL). Os frascos foram incubados por 6 dias em incubadora shaker horizontal a 250 rpm e 30 °C. Após o período de incubação as amostras foram filtradas em sistema de filtração a vácuo utilizando papel filtro qualitativo 40 µm. A biomassa fúngica retida no filtro foi transferida para cadinho e seca em estufa a 60 °C até peso constante e no filtrado analisaram-se o pH e o oxálico produzido. Todos os três métodos de inoculação testados mostraram ter efeito significativo na produção de ácido oxálico quando comparado com o controle. Os maiores níveis de produção de oxalato foram alcançados pelos métodos conídios BDA e conídios pré-germinados, produzindo 53 e 50 mmol L⁻¹ de oxalato.

Palavras-chave: fósforo, biossíntese, oxalato.

INTRODUÇÃO

O suprimento apropriado de P é de fundamental importância em todas as fases do desenvolvimentos das plantas (GRANT *et al.*, 2001). Contudo, na maioria dos solos há deficiência de formas de P prontamente absorvíveis pelas plantas em função da fixação deste elemento às partículas do solo. Isso se agrava nos solos tropicais, onde o fosfato é adsorvido a oxí-hidróxidos de Al e Fe (FONTES; WEED, 1996).

Além disso, nos últimos anos, cerca de metade dos fertilizantes fosfatados aplicados no país foram oriundos de importação. Fatores como acessibilidade global à rocha fosfática (RF) e a inconstância dos preços, podem aumentar consideravelmente os custos da produção de alimentos no Brasil (WITHERS *et al.*, 2018). Da mesma forma é bastante reconhecido que as reservas globais de RF (principal fonte de P para a produção de fertilizantes) são um recurso natural finito. Assim, caminhos estratégicos de gestão para diminuir a dependência



do P importado, e utilizar o P de forma mais eficiente, se tornarão gradativamente mais importantes.

O ácido oxálico em comparação com os demais ácidos se mostra mais eficiente na solubilização de fosfatos devido à acidificação do meio e ao alto potencial de complexação resultante da proximidade de seus grupos carboxila (KPOMBLEKOU - A; TABATABAI, 1994). Além disso, foi observado por Mendes *et al.* (2020) que o ácido oxálico foi o mais eficaz em todos os tratamentos, quando testaram seis ácidos orgânicos nas concentrações de 0 a 250 mmol L⁻¹ para solubilização de oito RFs, sendo melhor que o ácido sulfúrico, liberando mais P por mmol de ácido.

Estudos realizados por Mendes *et al.* (2021) indicaram que o *Aspergillus niger* ATCC1015 produziu a maior quantidade de ácido oxálico, atingindo 155 mmol L⁻¹ quando testado com outros 3 tipos de cepas de *Aspergillus* e o fungo *Sclerotium rolfsii*. Nesse contexto, o objetivo desse trabalho foi explorar a eficiência do *Aspergillus niger* ATCC1015 como produtor de ácido oxálico em diferentes métodos de inoculação.

MATERIAL E MÉTODOS

Foi testado e observado o efeito de três métodos de inoculação do fungo *Aspergillus niger* na produção de ácido oxálico, sendo eles: conídios, conídios pré-germinados e biomassa pré-crescida. Para isso, foi realizada uma suspensão de conídios (10⁷ conídios/mL) do fungo *Aspergillus niger* ATCC1015 crescidos em meio de cultura extrato de malte ágar (MEA) durante 8 dias a 28 °C.

É importante ressaltar que também foi realizada uma suspensão de conídios do fungo em questão crescido em meio de cultura batata dextrose e ágar (BDA) nas mesmas condições de incubação do fungo crescido em MEA, a fim de comparar se teria ou não alguma diferença na produção de ácido oxálico pelo *Aspergillus niger*. Após realizada a suspensão de conídios a mesma foi transferida para erlenmeyers de 125 mL contendo 75 mL de meio de cultura líquido Strasser (STRASSER, 1994). Os erlenmeyers foram incubados em *shaker* horizontal a 30 °C e 240 rpm por 6 dias.

As amostras foram filtradas após incubação, utilizando papel filtro qualitativo 40 µm em sistema de filtração a vácuo. Foi avaliada a biomassa retida no papel filtro e o filtrado foi analisado para quantificação do ácido oxálico pelo método de cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC), e pH.



Frascos erlenmeyers contendo somente meio de cultura líquido não inoculados com suspensão de conídios do fungo *A. niger* foram incubados como controle. O experimento foi realizado com cinco repetições por tratamento. Os dados foram submetidos a ANOVA e os tratamentos comparados por meio do teste de Tukey ($p < 0.05$).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os três métodos de inoculação do fungo *Aspergillus niger* ATCC1015 que foram testados mostraram ter efeito significativo na produção de ácido oxálico quando comparado ao controle, que não teve nenhuma produção de ácido. Os maiores níveis de produção de oxalato foram alcançados nos métodos de inoculação conídios BDA e conídios pré germinados, alcançando biossíntese de 53 mmol L^{-1} e 50 mmol L^{-1} de ácido oxálico respectivamente (Figura 1a). Isso está diretamente ligado ao baixo valor de pH encontrado no meio de cultura após o período de incubação, quanto maior a produção de ácido oxálico, mais ácido o pH do meio (Figura 1b).

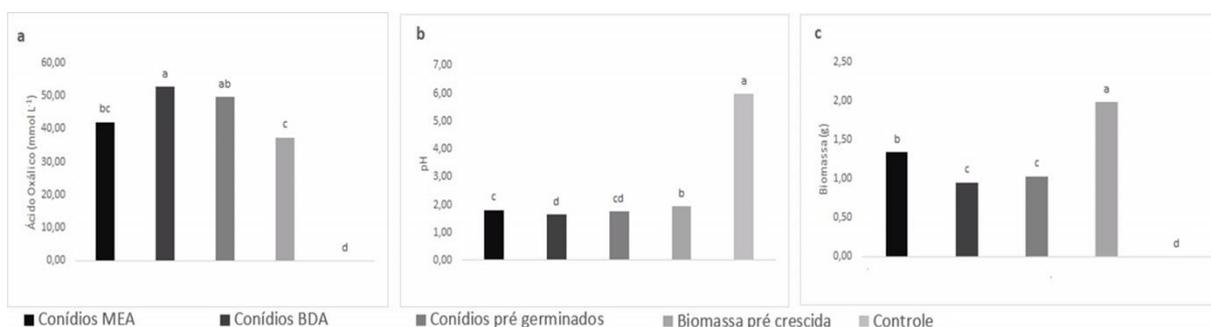


Figura 1. Biossíntese de oxalato (a), pH dos meios de cultura (b) e biomassa fúngica (c) produzidos pelo fungo *Aspergillus niger* ATCC1015. Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Esses dados corroboram com os dados encontrados por Mendes *et al.* (2021), em que o fungo *Aspergillus niger* produziu a maior quantidade de ácido oxálico em meio não tamponado, atingindo em torno de 60 mmol L^{-1} de oxalato quando testado com outros 3 gêneros fúngicos também produtores de ácido oxálico.

Por outro lado, a menor quantidade de ácido oxálico produzida pelo mesmo foi no método biomassa pré crescida, onde se produziu a maior quantidade de biomassa (Figura 1c),



o que explica a relação entre a quantidade de biomassa e oxalato, pois quando ele investe sua energia em produzir biomassa, ele deixa de investir energia em produção de ácido.

CONCLUSÕES

A produção de ácido oxálico é influenciada pelo método de inoculação do fungo *Aspergillus niger*, tendo o máximo de produção pelos métodos conídios BDA e conídios pré germinados.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem o financiamento do trabalho pelas instituições FAPEMIG e CAPES.

REFERÊNCIAS

FONTES, M. P. F.; WEED, S. B. Phosphate adsorption by clays from Brazilian Oxisols: Relationships with specific surface area and mineralogy. **Geoderma**, v. 72, n. 1–2, p. 37–51, 1996.

GRANT, C. A. *et al.* The importance of early season phosphorus nutrition. p. 211–224, 2001. **Canadian Journal of Plant Science**.

KPOMBLEKOU - A, K.; TABATABAI, M. A. Effect of organic acid on release of phosphorus from phosphate rocks. **Soil Science**, 1994.

MENDES, G. DE O. *et al.* Oxalic acid is more efficient than sulfuric acid for rock phosphate solubilization. **Minerals Engineering**, v. 155, n. May, p. 106458, 2020.

MENDES, G. DE O. *et al.* Rock phosphate solubilization by abiotic and fungal produced oxalic acid: reaction parameters and bioleaching potential. **Microbial Biotechnology**, v.15, n, February, 2021.

STRASSER, H.; BURGSTALLER, W.; SCHINNER, F. High-yield production of oxalic acid for metal leaching processes by *Aspergillus niger*. **FEMS Microbiology Letters**, v. 119, n. 3, p. 365–370, 1994.

WITHERS, P. J. A. *et al.* Transitions to sustainable management of phosphorus in Brazilian agriculture. **Scientific Reports**, v. 8, n. 1, p. 1–13, 2018.