

ESTUDOS DA NUTRIÇÃO E DA PRODUÇÃO DE SUBSTÂNCIAS QUE ABSORVEM LUZ ULTRAVIOLETA POR

Penicillium commune

Alirio de CARVALHO*
Olympio JARDIM JUNIOR**
Lillian de Lourdes LORENCETTI**
Flávio Carvalho RIBEIRO**
Rubens MOLINARI*

■ RESUMO: Foram pesquisadas as necessidades nutricionais para o desenvolvimento do *Penicillium commune* e a produção de substâncias que absorvem luz ultravioleta. Constatou-se que, usando-se D-frutose como fonte de carbono e de energia, as melhores fontes de nitrogênio para a produção do material, entre as estudadas, são a gelatina e o sulfato de amônio. Para o crescimento do bolor, além das duas citadas, a melhor é a mistura de sulfato de amônio com L-aspartato de potássio. Observou-se que a concentração inicial de fósforo é provavelmente o fator que mais afeta a produção das substâncias em estudo (S_{260}), pois o acúmulo do material aumenta ao se reduzir a concentração inicial da fonte de fósforo e é maior na presença de 3,0 mM de ortofosfato. Estudando-se as condições de cultivo, verificou-se que maiores produções das substâncias S_{260} são obtidas ao serem utilizados frascos de Erlenmeyer de 125 ml, contendo 30 ml de meio de cultivo e 2,5 ml de inóculo, agitados, em experimentos de 192 horas (250 rpm e 30°C). Constatou-se, através das curvas de crescimento do *P. commune* e de produção do material, que o acúmulo das substâncias nos caldos de cultura é processo diretamente relacionado à atividade microbiana em todas as fases do crescimento e não um processo relacionado à degradação, na fase decrescente, de ácidos nucleicos pré-formados. Estudou-se também a influência do enriquecimento do meio inicialmente desenvolvido, com os nutrientes complexos: água de milho, bacto-peptona, hidrolisado de caseína, farelo de algodão, farelo de amendoim, farinha de soja, extrato de carne, bacto-casitona e extrato de levedo. Verificou-se que a produção das substâncias pode ser aumentada em até 102% e que, entre os nutrientes complexos utilizados, a água de milho foi a única, nas concentrações usadas, a estimular a produção, enquanto a bacto-peptona mostrou-se ineficiente e os demais apresentaram efeito inibidor, destacando-se, entre eles, o extrato de levedo - componente rico em fósforo - com redução de 100%, ou seja, inibição completa da produção.

■ UNITERMOS: *Penicillium commune*; nutrição; produção de substâncias que absorvem luz ultravioleta.

* Departamento de Química Tecnológica e de Aplicação - Instituto de Química da UNESP - 14800-900 - Araraquara - SP.

** Alunos de Iniciação à Pesquisa Científica - Departamento de Química Tecnológica e de Aplicação - Instituto de Química da UNESP - Araraquara - SP.

Introdução

Certos microrganismos secretam no meio de cultura uma gama de substâncias que absorvem na região ultravioleta do espectro da luz e que apresentam absorvância máxima em comprimentos de onda próximos a 260 nm. Entre elas estão substâncias relacionadas a ácidos nucleicos, tais como bases nitrogenadas, nucleosídeos e nucleotídeos. A este material deu-se a denominação inespecífica de "substâncias S_{260} " e, desde a publicação do primeiro trabalho encontrado na literatura¹⁸, a produção microbiana destas substâncias tem despertado muito interesse em virtude de algumas delas terem sido identificadas como potentes estimuladoras do sabor dos alimentos como, por exemplo, a guanosina-5'-monofosfato (GMP), a inosina-5'-monofosfato (IMP) e a xantosina-5'-monofosfato (XMP), tornando a bibliografia pertinente bastante extensa^{5, 12-15, 17, 19}.

Em nosso laboratório, pesquisamos o assunto já há alguns anos, tendo trabalhado tanto com bactérias^{2, 4-6} quanto com bolores^{2, 3, 7-11}.

O presente trabalho tem por objetivo o estudo dos melhores nutrientes em meios quimicamente definidos, bem como determinar a influência da adição de nutrientes complexos, e também definir as melhores condições de cultivo para obter-se maiores produções das substâncias S_{260} e bom crescimento do microrganismo empregado, contribuindo, assim, com informações que levem, no futuro, - alicerçados na hipótese de que a origem deste material está relacionada ao metabolismo dos microrganismos e não à degradação de ácidos nucleicos pré-formados⁷⁻¹⁰ - a uma elucidação dos mecanismos bioquímicos e dos motivos pelos quais os microrganismos produzem e acumulam tais substâncias em seus caldos de cultura.

Objetivou-se também ampliar os conhecimentos existentes na produção das substâncias relacionadas a ácidos nucleicos por bolores, uma vez que muito pequena tem sido a atenção dada a estes microrganismos².

Em trabalhos anteriores^{2, 3, 7-11}, comparamos a produção das substâncias S_{260} por vários bolores do gênero *Aspergillus*. Neste trabalho, iniciamos nossos estudos com outro importante gênero de bolores, *Penicillium*, tendo-se utilizado o *P. commune* em experimentos voltados para a otimização dos meios nutrientes e das condições de cultivo, empregando-se tanto meios quimicamente definidos quanto meios complexos.

Material e métodos

Meio para preparação do inóculo

A composição deste meio¹⁸ é, por litro, a seguinte: 15 g de sacarose; 1,98 g (15mM) de $(NH_4)_2SO_4$; 1,306 g (7,5mM) de K_2HPO_4 ; 0,2 g de $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ e 25 g de ágar para a solidificação do meio.

Inóculo

Foi preparada uma suspensão de esporos do *Penicillium commune* IZ 80 (ATCC 10428) pela adição de 8 ml de água destilada esterilizada a três tubos da cultura na forma de ágar inclinado. A suspensão de esporos foi obtida raspando-se suavemente a superfície do meio com uma espátula esterilizada.

A seguir foram inoculados 10 frascos de Roux, contendo 200 ml do meio já indicado, com 2 ml cada da suspensão de esporos, esparramando-se uniformemente o inóculo sobre o meio sólido e os frascos foram deixados à temperatura ambiente durante 20 dias. Foram adicionados, então, 150 ml de água destilada esterilizada a cada frasco e a suspensão de esporos foi preparada da forma já descrita. A suspensão obtida foi assepticamente homogeneizada em liquidificador de copo de alumínio, estéril, e transferida, em porções de 10 a 30 ml, para frascos estéreis de 50 ml. Após serem fechados com tampa de borracha e proteção de alumínio, os frascos foram mantidos à temperatura de 5°C até serem usados. Este inóculo continha 2×10^7 esporos por mililitro, em média, determinados por diluição e plaqueamento.

Meio básico

A composição do meio básico empregado no estudo das fontes de nitrogênio foi, por litro, a seguinte: 50 g de D-frutose, 1,306 g (7,5mM) de K_2HPO_4 e 0,2 g de $MgSO_4 \cdot 7H_2O$.

Esterilização dos meios de cultivo e outros materiais

A esterilização foi feita por aquecimento, em autoclave, mantendo-se o aquecimento efetivo a 121°C durante 20 minutos. A fonte de carbono era esterilizada à parte e depois acrescentada assepticamente ao restante do meio.

O pH dos meios era ajustado, após a esterilização, quando necessário, pela adição de ácido sulfúrico ou hidróxido de potássio diluídos e esterilizados, de modo a se obter pH entre 6,0 e 7,0.

Técnicas de fermentação

O processo empregado para permitir o crescimento do microrganismo em condições de produzir as substâncias que absorvem no ultravioleta (S_{260}) foi o de "frascos agitados". Com tal técnica a atividade microbiana ocorreu em cultura submersa, em frascos de Erlenmeyer submetidos à rotação. Foram utilizados frascos de 125 ml, contendo 30 ml de meio nutriente e 1,0 ml de inóculo, colocados na mesa agitadora, onde descreviam círculos de aproximadamente 3 cm de diâmetro na velocidade de 250 rotações por minuto.

Os frascos foram tampados com espuma de poliuretano de 1 cm de espessura, presa à boca do frasco por elástico. O crescimento foi feito em estufa mantida a 30°C, em experimentos de 170 horas, em que a agitação só era interrompida o mínimo possível, para carga e descarga do aparelho, a fim de manter oxigenação contínua e uniforme ao microorganismo em desenvolvimento.

As experiências foram sempre constituídas por duplicatas, ou seja, cada resultado deriva de par de frascos preparados e analisados paralelamente.

Métodos analíticos

A produção das substâncias S_{260} foi determinada pela absorbância medida a 260 nm, (A_{260}), do caldo de cultura filtrado. Foram feitas correções nos valores obtidos em função da absorbância do meio nutriente esterilizado ("Branco") e do volume final do caldo fermentado em relação ao volume inicial de meio de cultivo. Tais correções são necessárias para permitir a correta comparação de resultados dentro de uma mesma experiência e entre experiências diferentes, visto ser normal a perda de água no processo de fermentação. Determinava-se também o pH do filtrado.

Por analogia com o sistema utilizado por Bendich¹, definiu-se uma unidade de material S_{260} como a quantidade de substâncias contida em 1 ml de solução, cuja absorbância a 260 nm é 1,0 medida em cuba de 1 cm.

O crescimento microbiano foi avaliado pela determinação da massa micelar do microorganismo filtrado e lavado com água destilada. O micélio lavado era transferido, com auxílio de um mínimo de água, para copos de 50 ml previamente secos e pesados. Eliminava-se a maior parte da água de transferência por aquecimento dos copos em chapa quente (não se permitindo ebulição), seguindo-se aquecimento em estufa a 105°C durante 15 horas.

Os resultados, média dos pares, são apresentados como micélio por mililitro de caldo fermentado (mg/ml), ou massa micelar total (mg), referidos ao volume inicial de meio e desprezando-se a contribuição do inóculo.

Quando o meio de cultura continha carbonato de cálcio, o micélio era lavado com ácido perclórico 0,1M, antes de ser lavado com água, para a remoção daquele sólido.

Resultados

Fonte de nitrogênio

Os resultados obtidos pela adição de várias fontes de nitrogênio ao meio básico, usando-se D-frutose como fonte de carbono¹⁶, estão indicados na Tabela 1. Os resultados mostram que as melhores fontes de nitrogênio para a produção das substâncias S_{260} são, entre as estudadas, a gelatina e o sulfato de amônio. Para o

crescimento do bolor, além das duas citadas, a melhor é a mistura de sulfato de amônio com L-aspartato de potássio.

Tabela 1 - Influência da fonte de nitrogênio na produção do material S_{260} e no crescimento do *Penicillium commune*, usando-se D-frutose como fonte de carbono

Fontes de nitrogênio	pH final (183 horas)	A_{260} final (U/ml)	Massa micelar (mg/ml)
Gelatina (5,0 g/l)	7,0	15,4	14,4
Sulfato de amônio (30 mM)	1,9	12,0	13,5
Nenhuma	6,6	5,1	0,1
L-Aspartato de potássio (60 mM)	4,3	4,7	9,2
Glicina (60mM)	4,2	3,8	6,5
Sulfato de amônio (15 mM) com L-aspartato de potássio (30 mM)	4,1	3,8	18,2
Trietanolamina (60 mM)	3,4	3,0	6,1
Uréia (30 mM)	7,2	2,0	0,3
Nitrato de potássio (60 mM)	4,1	1,6	6,1

Fonte de fósforo

Os resultados apresentados na Tabela 2 foram obtidos ao se estudar a influência da concentração inicial do ortofosfato dipotássico na produção do material S_{260} e no crescimento do *P. commune*, no meio básico contendo gelatina como fonte de nitrogênio. A concentração de potássio foi mantida constante pela adição de sulfato de potássio.

Tabela 2 - Influência da concentração inicial da fonte de fósforo na produção específica das substâncias S_{260} pelo *Penicillium commune* (inóculo PC-0)

K_2HPO_4 (mM)	K_2SO_4 (mM)	pH final	Produção específica* (U/mg)
0,0	10,0	7,0	0,88
1,5	8,5	6,5	0,86
3,0	7,0	6,9	1,60
4,5	5,5	7,5	1,35
6,0	4,0	6,5	0,94
7,5	2,5	7,5	0,78

* Relação entre o número de unidades S_{260} produzidas e a concentração micelar total (mg) em cada frasco.

Verifica-se através da produção específica – que é a relação entre o número de unidades S_{260} produzidas e a concentração micelar no frasco – que a concentração inicial de fósforo é fundamental para a produção das substâncias em estudo, pois o acúmulo do material aumenta ao se reduzir a concentração inicial da fonte de fósforo e é maior na presença de 3,0 mM de ortofosfato.

Influência do volume de meio

Usando-se o meio desenvolvido, ou seja, que contém por litro: 50 g de D-frutose; 5 g de gelatina; 0,52 g (3,0mM) de K_2HPO_4 ; 1,2 g (7,0mM) de K_2SO_4 e 0,2 g de $MgSO_4 \cdot 7H_2O$, estudou-se a influência do volume de meio por frasco. Os resultados obtidos (Tabela 3) mostram que, entre os volumes utilizados, obtêm-se maior produção, ou seja, maior número de unidades S_{260} , e também maior produção específica com 30 ml de meio de cultivo.

Tabela 3 – Influência do volume inicial de meio nutriente na produção do material S_{260} e no crescimento do *Penicillium commune*. Inóculo: todos os frascos receberam 1 ml da suspensão de esporos do bolor (inóculo PC-1)

Volume de meio (ml)	pH final	Número de unidades S_{260}	Massa micelar total (mg)	Produção* específica (U/mg)
10	4,3	19,2	131,0	0,15
15	3,6	34,2	151,5	0,23
20	3,5	43,0	165,4	0,26
25	4,2	59,5	207,5	0,29
30	4,4	114,3	237,0	0,48
35	4,0	101,2	301,0	0,34
40	4,0	88,0	404,0	0,22

* Relação entre o número de unidades S_{260} produzidas e a concentração micelar total (mg) em cada frasco. Tempo de crescimento: 182 horas.

Influência do volume de inóculo

Ao se estudar a influência do volume de inóculo, os resultados obtidos (Tabela 4) indicam que, entre os valores utilizados, tem-se maior número de unidades S_{260} e também maior produção específica com 2,5 ml de inóculo, ao se usar 30 ml de meio nutriente.

Tabela 4 – Influência do volume de inóculo na produção das substâncias S_{260} e no crescimento do *Penicillium commune*. Todos os frascos continham 30 ml de meio nutriente (inóculo PC-1)

Volume de inóculo (ml)	pH final	Número de unidades S_{260}	Massa micelar total (mg)	Produção* específica (U/mg)
0,5	3,8	96,0	279,0	0,34
1,0	3,3	111,0	336,4	0,33
1,5	3,2	135,0	411,0	0,33
2,0	3,2	168,0	420,0	0,40
2,5	3,2	174,0	402,0	0,43
3,0	3,3	150,0	408,0	0,37

* Relação entre o número de unidades S_{260} produzidas e a concentração micelar total (mg) em cada frasco.

Influência do tempo de agitação no crescimento do microrganismo e na produção das substâncias S_{260}

A Figura 1 mostra as curvas de produção das substâncias S_{260} e de crescimento do *P. commune* no meio desenvolvido, em função do tempo de agitação, usando-se 30 ml de meio de cultivo e 2,5 ml de inóculo por frasco. Os resultados mostram que a produção máxima do material e o crescimento máximo do bolor foram obtidos com 192 e 241 horas de agitação, respectivamente.

Influência de nutrientes complexos

Novos meios de cultivo foram ensaiados pela adição de nutrientes complexos, individualmente e na concentração de 5 g/l, ao meio inicialmente desenvolvido, em experimentos de 192 horas de agitação. Os resultados obtidos estão indicados na Tabela 5 e mostram que, entre os nutrientes utilizados, apenas a água de milho (produto da Companhia Refinações de Milho Brasil, contendo 0,52 g/ml de sólidos totais determinados como massa seca) é eficiente no estímulo (17%) da produção das substâncias S_{260} .

A Tabela mostra ainda que a bacto-peptona é ineficiente e que os outros nutrientes complexos utilizados são inibidores da produção, destacando-se entre eles o extrato de levedo com redução de 100%.

Influência da concentração da água de milho

Os resultados da Tabela 6 mostram que a concentração inicial deste nutriente tem grande influência na produção do material e que meios contendo por volta de 8 g/l do nutriente são os mais produtivos, com aumentos superiores a 100%.

É interessante notar que, para o *P. commune*, a água de milho, quando presente em concentração superior a 10 g/l, deixa de estimular a produção do material S_{260} , passando a inibi-la. Na presença de 13 g/l deste nutriente a inibição é de 42%.

Tabela 6 - Produção das substâncias S_{260} pelo *Penicillium commune*, em função da concentração inicial da água de milho como único aditivo ao meio inicialmente desenvolvido

Água de milho (g/l)	pH final	A_{260} final (U/ml)	Produção relativa	Estímulo (%)	Inibição (%)
0,0	4,0	6,6	1,00	-	-
2,0	4,9	6,8	1,03	3	-
4,0	5,7	7,1	1,08	8	-
5,0	5,6	7,5	1,14	14	-
6,0	5,8	11,4	1,73	73	-
8,0	6,5	13,3	2,02	102	-
10,0	6,7	8,2	1,24	24	-
13,0	6,6	3,8	0,58	-	42

Discussão

A seleção do *P. commune*, utilizado neste trabalho, foi feita em trabalho anterior¹⁶, em que se comparou a produção das substâncias S_{260} por bolores do gênero *Penicillium*, entre eles o *P. commune*, o *P. citrinum* e o *P. italicum*. No mesmo trabalho¹⁶ também foi feito o estudo das fontes de carbono, tendo sido selecionada a D-frutose, entre as substâncias utilizadas, mas servem também, porém com menor produção das substâncias S_{260} , a maltose, a D-manose e a D-glicose. A partir destes dados, passou-se ao estudo das fontes de nitrogênio em que se definiram (Tabela 1) a gelatina e o sulfato de amônio como as melhores para a produção do material S_{260} e, para o crescimento do bolor, além destas também a mistura de sulfato de amônio com L-aspartato de potássio, que se mostrou como a melhor. Com o *P. commune* não observamos aumento

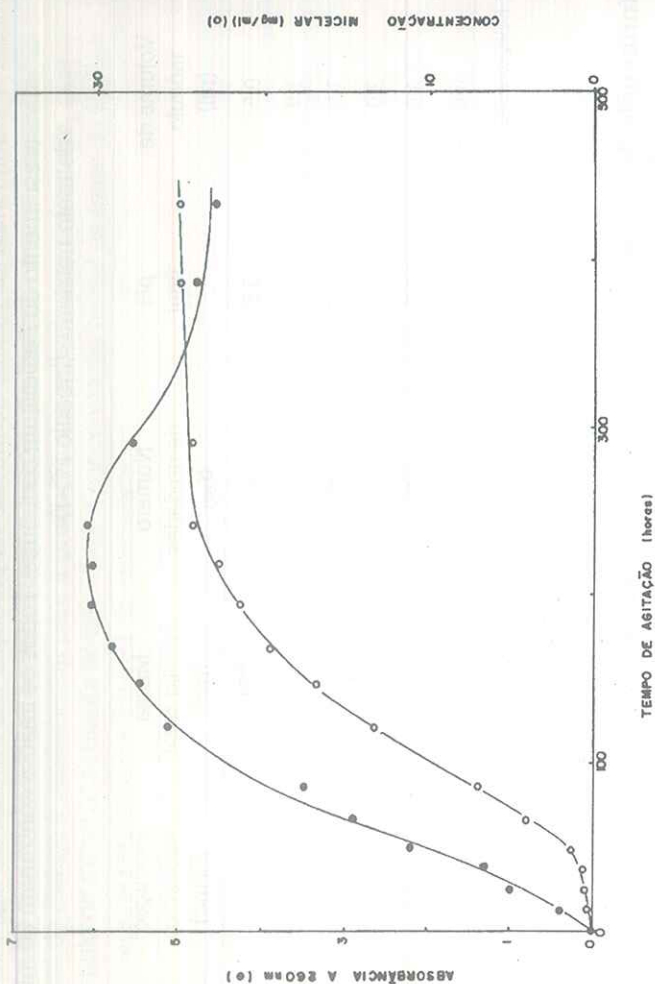


FIGURA 1 - Curvas de crescimento do *Penicillium commune* e de produção das substâncias S_{260} , em função do tempo de agitação, no meio nutriente desenvolvido e condições estudadas.

Tabela 5 - Influência de nutrientes complexos na produção das substâncias S_{260} pelo *Penicillium commune*

Nutrientes complexos	pH final	A_{260} final (U/ml)	Produção relativa	Estímulo (%)	Inibição (%)
Água de milho	5,8	7,5	1,17	17	-
Bacto-peptona	3,3	6,4	1,00	-	-
Hidrolisado de caseína	3,2	6,3	0,98	-	2
Farelo de algodão	6,2	4,7	0,73	-	27
Farinha de soja	6,4	2,9	0,45	-	55
Extrato de carne	5,7	2,2	0,34	-	66
Bacto-casitona	3,9	2,1	0,33	-	67
Farelo de amendoim	6,2	1,7	0,27	-	73
Extrato de levedo	5,1	0,0	0,00	-	100
Sem nutriente complexo	3,2	6,4	1,00	-	-

na produção das substâncias S_{260} com o uso do sulfato de amônio em mistura com o L-aspartato de potássio, como havíamos observado anteriormente com espécies do gênero *Aspergillus*^{7, 8} e com bactéria⁴, mas mostra comportamento semelhante ao do *A. oryzae*⁹.

Verificou-se (Tabela 2), em relação à influência da concentração inicial de ortofosfato, através da "produção específica" - razão entre a produção (número de unidades S_{260}) e o crescimento microbiano, que aumentou conforme diminuiu-se a concentração inicial de fosfato -, que a concentração de fósforo é fundamental para a produção das substâncias S_{260} , e supomos que o *P. commune* secreta para o meio de cultura precursores de ácidos nucleicos⁵, devido à insuficiência de fosfato para a produção dos nucleosídeos trifosfatos necessários à biossíntese daquelas macromoléculas, o que confirma trabalhos anteriores^{3, 4, 7-9}.

No caso específico do *P. commune*, ao se reduzir a concentração inicial de fosfato de 7,5 mM para 3,0 mM, houve aumento de 105% na produção do material.

As Tabelas 3 e 4 mostram que os volumes de meio nutriente e de inóculo são parâmetros interdependentes e que a produção das substâncias S_{260} depende da relação entre estes volumes e é máxima, nas condições e relações utilizadas, para 30 ml de meio e 2,5 ml de inóculo de *P. commune*. O decréscimo da produção para volumes de meio acima do volume ótimo indica a dependência do processo à aeração, que é função, neste caso, do volume de líquido no frasco, uma vez que o volume do frasco e a velocidade de agitação (250 rpm) são constantes.

Confirmando resultados anteriores, obtidos com o *Streptomyces aureofaciens*⁴, com o *Aspergillus niger*³, com o *Aspergillus amstelodami*⁷, com o *Aspergillus ochraceus*⁸ e com o *Aspergillus oryzae*⁹, a Figura 1 indica que o crescimento do *P. commune* e o acúmulo das substâncias S_{260} no caldo de cultura são também processos simultâneos em todas as fases do desenvolvimento deste bolor. Isto mostra novamente que a produção do material está diretamente relacionada à atividade microbiana, não se tratando de processo de degradação de ácidos nucleicos na fase decrescente²⁰. O fato de a produção das substâncias S_{260} ser processo aeróbio pode ser visto também como outra indicação de desvio metabólico ativo, que pode ser nutricionalmente manipulado, e contrária à hipótese de hidrólise de ácidos nucleicos, pré-formados, na fase decrescente da curva de crescimento, processo este que não dependeria de oxigênio.

É pouco comum a utilização industrial de meios nutrientes quimicamente definidos para a produção de substâncias úteis por fermentação. São utilizados, preferencialmente, meios contendo materiais complexos, geralmente subprodutos ou resíduos da indústria agropecuária, por serem econômicos e eficientes. Assim, neste trabalho, procurou-se também enriquecer o meio de cultivo pela adição, individualmente, dos nove nutrientes complexos indicados na Tabela 5.

Os resultados mostram que nem todos os meios enriquecidos nutricionalmente foram favoráveis ao aumento da produção das substâncias S_{260} , o que sugere que a produção destas substâncias parece não estar relacionada ao teor de nutrientes dos meios, mas depender particularmente de alguns componentes.

No caso do *P. commune*, apenas a água de milho apresentou efeito estimulante, enquanto a bacto-peptona mostrou-se ineficiente e os demais nutrientes complexos apresentaram efeito inibidor. O resultado relativo à utilização do extrato de levedo, isto é, inibição de 100% da produção das S_{260} , confirma plenamente trabalhos anteriores^{6, 10, 11}, e já era esperado, pois, sendo um componente rico em fósforo, teria certamente efeito inibidor da produção.

Os resultados apresentados na Tabela 6 mostram a influência da concentração inicial da água de milho e indicam aumento, na produção das S_{260} , superior a 100% em meio contendo 8 g/l do nutriente complexo.

É interessante notar-se também que para o *P. commune* a água de milho, quando presente em concentração mais elevada, deixa de estimular a produção do material S_{260} , passando a inibi-la. Em meio nutriente, contendo 13 g/l de água de milho, a inibição foi de 42%.

Análise química preliminar das substâncias S_{260} , através de cromatografia de troca-iônica, cromatografia em papel e espectrofotometria ultravioleta, indicou, de maneira semelhante ao trabalho com *Streptomyces aureofaciens*⁵, a presença de substâncias relacionadas a ácidos nucleicos, como será visto em publicação posterior.

CARVALHO, A. et al. Production of UV light absorbing substances by *Penicillium commune* in relation to media composition. *Ecl. Quim.*, São Paulo, v. 18, p. 7-18, 1993.

■ **ABSTRACT:** An investigation was developed in order to define the nutritional requirements and conditions of cultivation for microbial growth, production, and accumulation of substances which absorb ultraviolet light through *P. commune*. The results showed that the S_{260} production level is dependent on the medium composition, where phosphate concentration seems to be the most important factor involved in increasing the production of UV light absorbing substances. Fermentation conditions were studied, such as the influence of the nutrient medium volume or the inoculum volume and fermentation time. Higher S_{260} productions are obtained using 125 ml Erlenmeyer flasks, containing 30 ml of fermentation medium inoculated with 2.5 ml of inoculum culture, in experiments involving 192 hours fermentation (250 rpm; 30°C). The production, previously studied in chemically defined media, was further investigated in complex media, obtained by the addition of the following complex nutrients (added one by one as enrichment nutrients) to the culture medium studied: corn steep liquor, bacto-peptone, casein hydrolysate, cotton seed meal, peanut meal, soybean flour, meat extract, bacto-casitone, and yeast extract. Complex culture media with increased production (102%) were obtained with corn steep liquor by the adjustment of the optimal concentration of the complex nutrient used.

■ **KEYWORDS:** *Penicillium commune*; nutrition; production of UV light absorbing substances.

Referências bibliográficas

1. BENDICH, A. In: COLOWICK, S. P., KAPLAN, N. O. *Methods in enzymology*. New York: Academic Press, 1957. v. 3, p. 715.
2. CARVALHO, A. *Produção de substâncias que absorvem no ultravioleta por fermentação microbiana - estudos da nutrição e condições de cultivo para produção máxima*. Araraquara, 1982. 213p. Tese (Livre-Docência) - Instituto de Química, Universidade Estadual Paulista.
3. CARVALHO, A., FARIA, C. R., MOLINARI, R. *Ecl. Quím.*, v. 3, p. 55, 1978.
4. CARVALHO, A., MOLINARI, R. *Rev. Bras. Tecnol.*, v. 7, p. 289, 1976.
5. ———. *Appl. Environ. Microbiol.*, v. 46, p. 762, 1983.
6. CARVALHO, A., OLIVEIRA, P. L. C., MOLINARI, R. *Ecl. Quím.*, v. 2, p. 47, 1977.
7. CARVALHO, A., REBOLLA, E. A., MOLINARI, R. *Ecl. Quím.*, v. 6, p. 21, 1981.
8. CARVALHO, A., ROSIM, R. C., MOLINARI, R. *Rev. Microbiol.*, v. 18, p. 269, 1987.
9. CARVALHO, A., SANTIAGO, I. S. T., MOLINARI, R. *Ecl. Quím.*, v. 14, p. 1, 1989.
10. ———. *Rev. Microbiol.*, v. 20, p. 327, 1989.
11. CARVALHO, A., SITA, W., MOLINARI, R. *Ecl. Quím.*, v. 5, p. 63, 1980.
12. CHERMENSKI, D. N. *Prikl. Biokhim. Mikrobiol.* (U.R.S.S.), v. 9, p. 236, 1973.
13. DEMAIN, A. L., JACKSON, M., VITALI, R. A., HENDLIN, D., JACOB, T. A. *Appl. Microbiol.*, v. 14, p. 821, 1966.
14. FURUYA, A. *Hakko Kogaku Zasshi* (Japan), v. 52, p. 461, 1974.
15. HARA, T., UEDA, S. *J. Appl. Biochem.*, v. 3, p. 11, 1981.
16. JARDIM JUNIOR, O. *Estudo da nutrição e da produção de substâncias relacionadas a ácidos nucleicos por fermentação com Penicillium commune*. 45p. Instituto de Química da Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho". Araraquara: UNESP/IO, 1982 (Monografia).
17. KOTANI, Y., YAMAGUCHI, K., KATO, F., FURUYA, A. *Agric. Biol. Chem.*, v. 42, p. 399, 1978.
18. MAGASANIK, B., BROOKE, M. *J. Biol. Chem.*, v. 206, p. 83, 1954.
19. SCHWARTZ, J., MARGALITH, P. *Biotechnol. Bioeng.*, v. 15, p. 85, 1973.
20. SIMUTH, J., ZELINKA, J. *J. Antibiot.*, v. 23, p. 242, 1970.

Recebido em 10.8.1992.
Aceito em 22.10.1992.