

***Trichoderma koningiopsis*: FERMENTAÇÃO EM ESTADO SÓLIDO**

NAIR MIRELY FREIRE PINHEIRO SILVEIRA^{1,2*}, HELEN TREICHEL³, ALTEMIR JOSÉ MOSSI⁴

1 Introdução

A versatilidade metabólica dos fungos filamentosos tem impulsionado sua aplicação em processos fermentativos voltados à produção de enzimas e outros compostos de interesse biotecnológico. Nesse contexto, o fungo *Trichoderma koningiopsis* destaca-se pelo rápido crescimento, adaptabilidade a diferentes substratos e capacidade de produzir enzimas de interesse biotecnológico (Ulrich, 2021).

Caracterizada pelo crescimento microbiano sobre substratos sólidos umedecidos, na ausência de água livre, a fermentação em estado sólido (FES) apresenta menor geração de efluentes, menor demanda energética e maior estabilidade enzimática em comparação à fermentação submersa (Verduzco-Oliva & Gutierrez-Urbe, 2020). Entre os substratos promissores, as microalgas destacam-se pelo elevado teor de proteínas, lipídios, carboidratos e compostos bioativos, favorecendo sua valorização biotecnológica (Chilakamarry, 2022).

Nesse contexto, a utilização de biomassas microalgais como substratos para a FES por *T. koningiopsis* representa uma abordagem promissora para a produção de enzimas. Compreender a influência das características morfológicas desses materiais sobre o desempenho fermentativo pode contribuir para a seleção de substratos mais eficientes e o aprimoramento do bioprocessamento.

2 Objetivos

Avaliar a produção de enzimas hidrolíticas e relacionadas ao metabolismo oxidativo por *Trichoderma koningiopsis* durante a fermentação em estado sólido, utilizando diferentes biomassas microalgais, e correlacionar o desempenho enzimático com a morfologia superficial

1 Graduanda em Engenharia Ambiental e Sanitária, Universidade Federal da Fronteira Sul (UFFS), *câmpus* Erechim, contato: nairfreire460@gmail.com

2 Grupo de Pesquisa: Agroenergia

3 Doutora em Engenharia de Alimentos, UFFS, *câmpus* Erechim,

4 Doutor em Ecologia e Recursos Naturais, UFFS, *câmpus* Erechim, **Orientador.**

dos substratos obtida por microscopia eletrônica de varredura (MEV).

3 Metodologia

O fungo filamentoso *Trichoderma koningiopsis* (GenBank: MK860714), previamente isolado de *Digitaria ciliaris* e identificado por Ulrich et al. (2021), foi cultivado em meio Batata Dextrose Ágar (BDA) durante 7 dias em BOD a 28°C para obtenção de uma suspensão de esporos ($6,2 \times 10^6$ esporos mL⁻¹).

Foram utilizadas quatro biomassas microalgais como substratos para a fermentação em estado sólido: (i) *Chlorella* sp. proveniente da fitorremediação de efluente da suinocultura (Embrapa Suínos e Aves); (ii) um consórcio de microalgas e cianobactérias cultivado em efluente doméstico municipal tratado (Ruas, 2022); (iii) biomassa comercial de *Chlorella* sp.; e (iv) biomassa microalgal proveniente da fitorremediação de efluente doméstico municipal.

A fermentação em estado sólido foi realizada utilizando 10 g de biomassa seca previamente esterilizada e inoculada com a suspensão de esporos, sendo as amostras incubadas a 28 °C durante 96 horas em câmara climática com 80% de umidade relativa. A extração das enzimas foi realizada em tampão fosfato de sódio, conforme metodologia adaptada de Pandey et al. (2000). Após a fermentação, foram determinadas as atividades das enzimas amilase (Miller, 1959), catalase (Hasan, 2022), ascorbato peroxidase (Nakano e Asada, 1981), peroxidase (Khan e Robinson, 1994) e lipase (Treichel, 2016).

A morfologia superficial das biomassas foi avaliada por microscopia eletrônica de varredura (MEV), para correlacionar as características estruturais dos substratos com o desempenho enzimático.

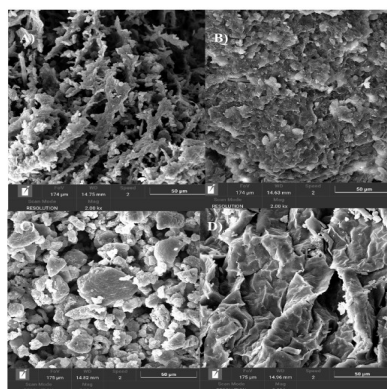
4 Resultados e Discussão

4.1 Caracterização por MEV

A Microalga 1 (*Chlorella* sp.), proveniente da fitorremediação de efluente da suinocultura, apresentou superfície irregular e compacta, com cavidades e estruturas porosas (Figura 1A), favorecendo a retenção de água e a disponibilidade de substrato (Pandey, 2000). Obtida de efluente doméstico municipal, a Microalga 2 apresentou morfologia lamelar, com regiões fraturadas e bordas irregulares (Figura 1B), características que favorecem a penetração de hifas e o contato com o substrato (Srivastava, 2019).

Já a Microalga 3 (*Chlorella* sp. comercial) apresentou estrutura granular e porosa (Figura 1C), favorecendo a difusão de oxigênio e o metabolismo oxidativo relacionado à produção de enzimas antioxidantes. Por fim, a Microalga 4, proveniente de efluente doméstico, apresentou superfície heterogênea, com regiões lisas, granulares e porosas (Figura 1D), características que podem ter limitado a acessibilidade ao substrato e a indução enzimática (Thomas, 2013).

Figura 1: Imagens MEV dos diferentes substratos: (A) Microalga 1: *Chlorella* sp. proveniente da fitorremediação de águas residuárias de suinocultura; (B) Microalga 2: biomassa isolada de efluente de tratamento de águas residuárias municipais; (C) Microalga 3: *Chlorella* sp. comercial; (D) Microalga 4: biomassa obtida de efluente doméstico.



4.2 Avaliação da Atividade Enzimática

A Microalga 1 (*Chlorella* sp.), proveniente da fitorremediação de efluentes suinícolas, destacou-se pela elevada produção de lipase, atingindo $462,95 \text{ U g}^{-1}$ após 48 horas de fermentação, seguida por redução da atividade nas avaliações posteriores. Esse desempenho foi associado à sua estrutura superficial compacta e porosa, que favoreceu a retenção de umidade e facilitou o acesso inicial do fungo aos lipídios presentes no substrato. Em contrapartida, apresentou baixa produção de amilase e não se destacou quanto às enzimas relacionadas ao metabolismo oxidativo (Shivakumar, 2024).

A Microalga 2, obtida de estação de tratamento de águas residuárias, apresentou o perfil enzimático mais diversificado, com $275,30 \text{ U g}^{-1}$ de lipase em 72 horas, $93,17 \text{ U g}^{-1}$ de amilase em 96 horas e a maior atividade de peroxidase ($1.509,04 \text{ U g}^{-1}$ em 72 horas), além de induzir a produção de ascorbato peroxidase (Pandey, 2000). Esse desempenho pode estar relacionado à composição nutricional e à morfologia lamelar do substrato. A Microalga 3 (*Chlorella* sp.)

comercial apresentou a maior atividade de lipase ($578,70 \text{ U g}^{-1}$ em 48 horas) e elevada atividade de catalase ($42.599,88 \text{ U g}^{-1}$ em 72 horas), indicando favorecimento da degradação de lipídios e da resposta antioxidante (Oliveira, 2017).

A Microalga 4, proveniente de efluente doméstico, apresentou o menor desempenho enzimático entre as biomassas avaliadas. Não foi detectada atividade de lipase durante todo o período de fermentação e a produção de amilase permaneceu baixa, sem destaque para as enzimas relacionadas ao metabolismo oxidativo. Esses resultados sugerem que sua composição e características estruturais forneceram condições menos favoráveis para a colonização fúngica e para a indução da produção enzimática.

5 Conclusões

Os resultados demonstraram que a origem e a morfologia das biomassas microalgais influenciaram a produção enzimática por *Trichoderma koningiopsis*. A Microalga 3 apresentou maiores atividades de lipase e catalase, enquanto a Microalga 2 destacou-se para peroxidase e ascorbato peroxidase. Esses resultados reforçam o potencial das biomassas microalgais, especialmente de efluentes, como substratos sustentáveis para a produção de enzimas de interesse biotecnológico.

Referências Bibliográficas

CHILAKAMARRY, C. R.; MIMI SAKINAH, A. M.; ZULARISAM, A. W.; SIROHI, R.; KHILJI, I. A.; AHMAD, N.; PANDEY, A. Advances in solid-state fermentation for bioconversion of agricultural wastes to value-added products. *Bioresource Technology*, v. 343, p. 126065, 2022.

HASAN, Mahmud et al. Physiological and biochemical responses of selected weed and crop species to the plant-based bioherbicide WeedLock. *Scientific Reports*, v. 12, art. 19602, 2022.

KHAN, A. A.; ROBINSON, D. S. Hydrogen donor specificity of mango isoperoxidases. *Food Chemistry*, v. 49, n. 4, p. 407-410, 1994.

MILLER, G. L. Use of dinitrosalicylic acid reagent for determination of reducing sugar. *Analytical Chemistry*, v. 31, n. 3, p. 426-428, 1959.

NAKANO, Y.; ASADA, K. Hydrogen peroxide is scavenged by ascorbate-specific peroxidase in spinach chloroplasts. *Plant and Cell Physiology*, v. 22, n. 5, p. 867-880, 1981.

OLIVEIRA, F.; SALGADO, J. M.; PÉREZ-RODRÍGUEZ, N.; DOMÍNGUEZ, J. M.; VENÂNCIO, A.; BELO, I. Lipase production by solid-state fermentation of olive pomace in

tray-type and pressurized bioreactors. *Journal of Chemical Technology & Biotechnology*, v. 93, n. 5, p. 1312-1319, 2018.

PANDEY, A.; SOCCOL, C. R.; MITCHELL, D. A. New developments in solid-state fermentation: I—Bioprocesses and products. *Process Biochemistry*, v. 35, n. 10, p. 1153-1169, 2000.

RUAS, G.; LACERDA, S. F.; NANTES, M. A. *et al.* CO₂ addition and semicontinuous feed regime in shaded HRAP: pathogen removal performance. *Water*, v. 14, n. 24, p. 4047, 2022.

SHIVAKUMAR, S.; SERLINI, N.; ESTEVES, S. M. *et al.* Cell walls of lipid-rich microalgae: characterisation, ultrastructure, and enzymatic disruption. *Fermentation*, v. 10, n. 12, p. 608, 2024.

SRIVASTAVA, N.; SRIVASTAVA, M.; MISHRA, P. K. *et al.* Applications of solid-state fermentation in biotechnology: a review. *Journal of Basic Microbiology*, v. 59, n. 8, p. 695-709, 2019.

THOMAS, L.; LARROCHE, C.; PANDEY, A. Current developments in solid-state fermentation. *Biochemical Engineering Journal*, v. 81, p. 146-161, 2013.

TREICHEL, H. *et al.* Lipase production from a newly isolated *Aspergillus niger* by solid-state fermentation using canola cake. *Current Biotechnology*, v. 6, n. 4, 2017.

ULRICH, A. *et al.* Alternative bioherbicide based on *Trichoderma koningiopsis*: enzymatic characterization and effects on plants and soil organisms. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, v. 36, p. 102127, 2021.

VERDUZCO-OLIVA, R.; GUTIERREZ-URIBE, J. A. Beyond enzyme production: solid-state fermentation as an alternative approach to produce antioxidant polysaccharides. *Sustainability*, v. 12, n. 2, p. 495, 2020.

Palavras-chave: Biomassa microalgal; Produção de enzimas; Morfologia do substrato.

Nº de Registro no sistema Prisma: PES-2025-0132

Financiamento

