



BIOMASSA MICROALGAL COMO MATÉRIA PRIMA PARA A OBTENÇÃO DE ENZIMAS

Simone Kubeneck

Mestre pelo Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia Ambiental da
Universidade Federal da Fronteira Sul (UFFS)
simonekubeneck@gmail.com

Helen Treichel

Professora do Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia Ambiental da
Universidade Federal da Fronteira Sul (UFFS)
helentreichel@gmail.com

1. Introdução

As microalgas veem recebendo muito atenção nos últimos tempos por se tratar de organismos considerados matérias-primas bioquímicas de baixo custo e por promoverem o desenvolvimento sustentável. Esses organismos podem ser encontrados em rios, lagos e oceanos e ainda são tolerantes a amplas faixas de salinidade, pH e temperatura, podendo ser cultivadas em águas residuárias, além de serem compostas de um elevado teor de carboidratos, proteínas, lipídios e compostos bioativos de alto valor (Okeke et al., 2022; Serrà et al., 2020).

Devido a sua composição e fácil adaptabilidade, as microalgas podem ser cultivadas em águas residuárias, atuando como biorremediadoras de poluentes emergentes tais como farmacêuticos e pesticidas que mesmo após tratamentos primários e secundários do efluente ainda são encontradas em baixas concentrações nas águas residuárias (Peer Muhamed Noorani et al., 2024). Por meio de mecanismos como biossorção, bioadsorção e bioacumulação as microalgas removem os contaminantes emergentes presentes no efluente, bem como reduzem a matéria orgânica e nutrientes como nitrogênio e fósforo, utilizando dos mesmos para o seu próprio desenvolvimento ao mesmo tempo que possibilitam ao final do processo um efluente que possa ser descartado adequadamente (Fayaz et al., 2024; Goh et al., 2023). Tendo conhecimento acerca da composição das microalgas, a biomassa proveniente de processos de biorremediação de águas residuárias pode ser uma alternativa para uso em processos biotecnológicos que visam a obtenção de produtos por meio de processos sustentáveis.



Nesse contexto, esse trabalho teve como objetivo avaliar a produção de diferentes enzimas por meio de processo fermentativo em estado submerso utilizando biomassa microalgal como substrato e microrganismo *Trichoderma koningiopsis* como microrganismo fermentador. Ainda se avaliou o uso de pré-tratamento com sonda ultrassônica e mudança no valor de pH e temperatura do meio reacional de determinação de atividade enzimática, a fim de verificar o comportamento enzimático.

2. Metodologia

O potencial do uso de biomassa microalgal para a obtenção de bioprodutos foi avaliado quanto a produção de enzimas por meio de processo fermentativo em estado submerso em biorreator *Airlift* conforme as condições ótimas estabelecidas por CAMARGO et al. (2024), em que o meio fermentativo foi composto de 200 g de biomassa microalgal proveniente de águas residuárias composta majoritariamente por *Chlorella* sp., 400 mL de antiespumante, 1400 mL de água destilada e 10^7 células por mL de inóculo de *Trichoderma koningiopsis*. O processo fermentativo ocorreu por 96 horas e ao final o composto fermentado foi filtrado em filtros sintéticos e o permeado líquido centrifugado a 200 RPM, 04°C por 30 min. A porção sobrenadante proveniente da centrifugação foi utilizada nos testes (Camargo et al., 2024).

Foram determinadas as atividades de amilase (Fuwa, 1954; Miller, 1959; Pongsawasdi; Yagisawa, [s.d.]), celulase (Ghose, 1987; Miller, 1959), lipase (Treichel et al., 2016), protease (Waghmare et al., 2015) e peroxidase (Devaiah; SHETTY, 2009; Khan; Robinson, 1994) no composto fermentado e o comportamento da atividade enzimática ao ser exposto à sonda ultrassônica nas condições de 80% de potência, 10 minutos de exposição e 03 pulsos (Stefanski et al., 2020) e em meios reacionais com diferentes faixas de pH e temperatura conforme determinado por (Kubeneck et al., 2025).

3. Resultados e discussão

Ao avaliar a presença das enzimas de diferentes classes no composto microalgal fermentado foi possível obter atividades enzimáticas acima de 01 U/mL somente para protease e peroxidase resultando em atividades iguais a 97,50 U/mL e 52,08 U/mL, respectivamente. Já ao expor o composto a sonda ultrassônica e a diferentes faixas de pH

e temperatura na reação de determinação enzimática, foi possível observar a diminuição da atividade enzimática conforme descrito na Tabela 01.

Tabela 01: Atividades enzimáticas de protease e peroxidase do composto fermentado ao ser exposto a sonda ultrassônica e diferentes faixas de pH e temperatura.

Ensaio	pH	Temperatura (°C)	Protease (U/mL)	Peroxidase (U/mL)
01	-1 (4.0)	-1 (20)	23,78	9,00
02	1 (10)	-1 (20)	3,78	8,83
03	-1 (4.0)	1 (80)	11,00	6,83
04	1 (10)	1 (80)	0,00	3,33
05	-1.41 (2.76)	0 (50)	0,00	11,00
06	+1.41 (11.24)	0 (50)	0,00	5,83
07	0 (7)	-1.41 (7.57)	3,00	8,33
08	0 (7)	+1.41 (92.43)	13,22	4,83
09	0 (7)	0 (50)	6,33	6,33
10	0 (7)	0 (50)	0,00	6,33
11	0 (7)	0 (50)	0,00	6,00

A diminuição dos valores de atividade de ambas as enzimas as condições de exposição da sonda e as descritas na tabela 01 pode se principalmente pela exposição das enzimas a sonda ultrassônica. A cavitação gerada pelo ultrassom pode causar mudanças na estrutura da enzima e portanto, afetar a atividade enzimática (Wang et al., 2018). Por ser uma exposição prolongada e em elevada potência, a temperatura atingida durante a exposição ao ultrassom acabou causando a desnaturação das enzimas e consequentemente a redução da atividade enzimática. Segundo Fazlena; Norsuraya; Nadiah (2013) durante um processo ultrassônico se tem a formação de bolhas de cavitação que podem colapsar de forma violenta o que acaba aumentando a temperatura no sistema ultrassônico, aliado a isso a potência e tempo de exposição a sonda ultrassônica pode ter contribuído para a redução das atividades enzimáticas.

No entanto, mesmo que houve a redução da atividade para ambas as enzimas (protease e peroxidase) ao serem expostas a sonda e a diferentes faixas de pH e temperatura, vale destacar que a enzima peroxidase manteve sua atividade mesmo que reduzida em diferentes pHs e temperaturas de reação e após a exposição a sonda ultrassônica.



4. Considerações finais

Por meio deste estudo foi possível obter enzimas a partir de fermentação com biomassa microalgal e *Trichoderma koningiopsis* que podem ser amplamente utilizadas no setor industrial e ambiental, entretanto ao serem expostas a sonda ultrassônica a fim de avaliar o comportamento das atividades enzimáticas foi observado uma redução das atividades, sendo uma proposta de trabalho futuro a avaliação da atividade dessas enzimas ao serem expostas a esse meio reacional em condições de potência, pulso e tempo de exposição reduzidos.

Referências

CAMARGO, A. F. et al. **Trichoderma koningiopsis fermentation in airlift bioreactor for bioherbicide production.** *Bioprocess and Biosystems Engineering*, [s.l.], v. 47, nº 5, p. 651–663, 2024. ISSN: 16157605, DOI: 10.1007/s00449-024-02991-9.

DEVAIAH, S. P.; SHETTY, H. S. **Purification of an infection-related acidic peroxidase from pearl millet seedlings.** *Pesticide Biochemistry and Physiology*, [s.l.], v. 94, nº 2–3, p. 119–126, 2009. ISBN: 0048-3575, ISSN: 00483575, DOI: 10.1016/j.pestbp.2009.04.010.

FAYAZ, T. et al. **Harnessing the potential of microalgae-based systems for mitigating pesticide pollution and its impact on their metabolism.** *Journal of Environmental Management*, [s.l.], v. 357, p. 120723, 2024. ISSN: 10958630, DOI: 10.1016/j.jenvman.2024.120723.

FAZLENA, H.; NORSURAYA, S.; NADIAH, S. N. **Ultrasonic assisted enzymatic reaction: An overview on ultrasonic mechanism and stability-activity of the enzyme.** Em: *2013 IEEE Business Engineering and Industrial Applications Colloquium (BEIAC)*. [s.l.]: IEEE, 2013. Disponível em: <<http://ieeexplore.ieee.org/document/6560256/>>. ISBN: 978-1-4673-5968-9, DOI: 10.1109/BEIAC.2013.6560256.

FUWA, H. **A NEW METHOD FOR MICRODETERMINATION OF AMYLASE ACTIVITY BY THE USE OF AMYLOSE AS THE SUBSTRATE.** *The Journal of Biochemistry*, [s.l.], v. 41, nº 5, p. 583–603, 1954.

GHOSE, T. K. **MEASUREMENT OF CELLULASE ACTIVITIES.** *Pure & Appl. Chem*, [s.l.], v. 59, nº 2, p. 257–268, 1987. DOI: 10.1351/pac198759020257.

GOH, P. S. et al. **Microalgae-Enabled Wastewater Treatment: A Sustainable Strategy for Bioremediation of Pesticides.** *Water (Switzerland)*, [s.l.], v. 15, nº 1, p. 70, 2023. ISSN: 20734441, DOI: 10.3390/w15010070.



KHAN, A. A.; ROBINSON, D. S. **Hydrogen donor specificity of mango isoperoxidases.** [s.l.], v. 49, p. 407–410, 1994.

KUBENECK, S. et al. **Characterization of enzymatic and metabolic of a biocomposite based on *Trichoderma koningiopsis* and chlorella biomass.** *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, [s.l.], v. 65, p. 103542, 2025. ISSN: 18788181, DOI: 10.1016/j.bcab.2025.103542.

MILLER, G. L. **Use of Dinitrosalicylic Acid Reagent for Determination of Reducing Sugar.** *Analytical Chemistry*, [s.l.], v. 3, nº 31, p. 426–28, 1959. DOI: 10.1021/ac60147a030.

PEER MUHAMED NOORANI, K. R. et al. **Recent advances in remediation strategies for mitigating the impacts of emerging pollutants in water and ensuring environmental sustainability.** *Journal of Environmental Management*, [s.l.], v. 351, p. 119674, 2024. ISSN: 03014797, DOI: 10.1016/j.jenvman.2023.119674.

PONGSAWASDI, P.; YAGISAWA, M. **Screening and Identification of a Cyclomaltodextrin Glucanotransferase-Producing Bacteria.** Em: *J. Ferment. Teehnol.* [s.l.]: [s.n.], [s.d.].

SCHUSTER, A.; SCHMOLL, M. **Biology and biotechnology of *Trichoderma*.** *Applied Microbiology and Biotechnology*, [s.l.], v. 87, nº 3, p. 787–799, 2010. ISSN: 01757598, DOI: 10.1007/s00253-010-2632-1.

SERRÀ, A. et al. **Circular zero-residue process using microalgae for efficient water decontamination, biofuel production, and carbon dioxide fixation.** *Chemical Engineering Journal*, [s.l.], v. 388, 2020. ISSN: 13858947, DOI: 10.1016/j.cej.2020.124278.

STEFANSKI, F. S. et al. **Potential Use of Biological Herbicides in a Circular Economy Context: A Sustainable Approach.** *Frontiers in Sustainable Food Systems*, [s.l.], v. 4, 2020. ISSN: 2571581X, DOI: 10.3389/fsufs.2020.521102.

TREICHEL, H. et al. **Lipase Production from a newly Isolated *Aspergillus Niger* by Solid State Fermentation using Canola Cake as Substrate Lipase Production from a Newly Isolated *Aspergillus niger* by Solid State Fermentation Using Canola Cake as Substrate.** *Current Biotechnology*, [s.l.], v. 05, p. 01–07, 2016. ISBN: 2211550105666, DOI: 10.2174/2211550105666151124193225.

WAGHMARE, S. R. et al. **Purification and characterization of novel organic solvent tolerant 98 kDa alkaline protease from isolated *Stenotrophomonas maltophilia* strain SK.** *PROTEIN EXPRESSION AND PURIFICATION*, [s.l.], v. 107, p. 1–6, 2015. ISSN: 1046-5928, DOI: 10.1016/j.pep.2014.11.002.



Agradecimentos

Os autores agradecem às Agências de Fomento Brasileiras: Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq - 302484/2022-1), Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), apoio do Centro de Pesquisa em Bioprocessos e Biotecnologia para Alimentos (Biofood), financiado pela Fundação de Amparo à Pesquisa do Rio Grande do Sul (FAPERGS-22/2551-0000397-4) e a Universidade Federal da Fronteira Sul (UFFS) pelo apoio financeiro.