



## **Secagem de Conídios de *Trichoderma harzianum* LCB47 por Atomização: Efeito da Temperatura de Entrada e de Saída do Ar**

**Virna Luiza de Farias<sup>1,2</sup>, Tatiane Cavalcante Maciel<sup>1,3</sup>, Fabiano André Narciso Fernandes<sup>2</sup>, Gustavo Adolfo Saavedra Pinto<sup>1</sup>.**

<sup>1</sup>Embrapa Agroindústria Tropical, Rua Dra. Sara Mesquita, 2270, Pici, CEP: 60511-110 Fortaleza, CE, Brasil – e-mail: gustavo@cnpat.embrapa.br

<sup>2</sup>Universidade Federal do Ceará - Departamento de Engenharia Química

<sup>3</sup>Universidade Federal do Ceará - Departamento de Tecnologia de Alimentos

### **RESUMO**

*O controle biológico consiste no emprego de um organismo que ataca outro que esteja causando danos econômicos às lavouras. A espécie *Trichoderma harzianum* é uma das mais utilizadas no controle biológico de fungos fitopatogênicos. A desidratação dos esporos permite sua preservação por um longo período de tempo, e um dos métodos utilizados para a secagem é a atomização. Este trabalho teve como objetivo avaliar o efeito da temperatura de entrada e de saída do ar no nível de sobrevivência de conídios de *T. harzianum* LCB47, e na umidade do material em pó obtido da secagem em “spray dryer”. A temperatura de saída de 55°C foi a melhor para a obtenção de alto nível de sobrevivência dos esporos de *Trichoderma harzianum* LCB47.*

**Palavras-chave:** Controle biológico, “spray dryer”, maltodextrina

### **INTRODUÇÃO**

O controle biológico consiste no emprego de um organismo (predador, parasita ou patógeno) que ataca outro que esteja causando danos econômicos às lavouras (PLANETA, 2007). Fungos do gênero *Trichoderma* são reconhecidos como agentes de controle biológico por serem antagonistas a vários fungos fitopatogênicos, podendo exercer o controle indiretamente, por meio de indução de resistência e de tolerância ao estresse às plantas ou, diretamente, competindo por espaço e nutrientes, produzindo substâncias antimicrobianas, inativando as enzimas do patógeno e mediante o micoparasitismo, sendo a ação das enzimas hidrolíticas sobre os fitopatógenos considerado o principal mecanismo envolvendo o processo desse antagonista (SILVA; MELLO, 2007). *T. harzianum* vem sendo aceito como um dos agentes de biocontrole mais potentes contra doenças de plantas, e vem sendo usado com um antagonista contra vários fungos fitopatogênicos do solo nos últimos anos (TSENG *et al.*, 2008).

Para o controle biológico, é importante guardar a unidade ativa em um estágio infeccioso, contudo dormente, seguro e fácil para aplicação. A chave para prolongar sua sobrevivência é



parar a germinação e reduzir o metabolismo ao máximo, o que é possível através da desidratação (HORACZEK; VIERNSTEIN, 2004). O benefício da secagem de conídios é a redução da sua atividade metabólica, o que minimiza a perda das reservas de armazenamento e a produção de metabólitos tóxicos (GUIJARRO *et al.*, 2006).

A secagem por atomização ou “spray drying” tem sido reportada como eficiente para secagem de conídios, uma vez que diminui a perda durante o processo de secagem e melhora a estabilidade do fungo durante seu armazenamento (GAVA, 2006). A atomização é a técnica mais comum e barata para a produção de produtos microencapsulados (GHARSALLAOUI *et al.*, 2007), sendo a maltodextrina um dos encapsulantes mais freqüentemente utilizados nesse processo (COLLARES, 2001).

O objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito da temperatura de entrada e de saída do ar no nível de sobrevivência de conídios de *Trichoderma harzianum* LCB47, e na umidade do material em pó obtido da secagem em “spray dryer”.

## MATERIAL E MÉTODOS

**Microrganismo:** Foi utilizada uma linhagem de *Trichoderma harzianum* LCB47, transferido do Laboratório de Controle Biológico da Embrapa Semi-Árido, Petrolina/PE.

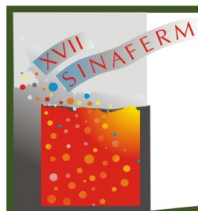
**Produção de inóculo:** Utilizou-se erlenmeyers de 125 mL contendo meio de cultura, constituído de 4,6 g de farelo de trigo e 6 mL de solução de peptona 5,6%, previamente autoclavado a 121°C/15min. O inóculo foi removido do meio através de extração com 50 mL de solução 0,3% (v/v) de Tween 80.

**Produção dos esporos em maior escala:** Utilizou-se meio farelo de trigo, constituído de farelo e água na proporção de 1:2, que segundo Cavalcante *et al.* (2008) é adequado para a produção de esporos de fungo do gênero *Trichoderma*. 40g do meio farelo de trigo foram pesados em erlenmeyers de 500 mL, autoclavados a 121°C/15 min e após resfriados, foram inoculados. Os meios inoculados foram incubados em estufa biológica a 30°C por 120 a 168 horas.

**Obtenção e preparo da suspensão de esporos:** A partir do meio farelo de trigo foram realizadas duas extrações sucessivas com 50mL de água destilada estéril, para cada erlenmeyer, obtendo-se então a suspensão de esporos. Às suspensões recuperadas, adicionou-se maltodextrina dextrose equivalente 10 (DE 10) em quantidade correspondente a 4 vezes o teor de sólidos solúveis totais da suspensão, que foi utilizada como agente encapsulante, e em seguida, a solução foi homogeneizada em homogeneizador de tecidos Ação Científica, modelo AC 620/2, até completa dissolução da maltodextrina.

**Condições de secagem no spray dryer:** A secagem da suspensão foi conduzida em Mini Spray Dryer Büchi B-290, com fluxo de secagem concorrente, capacidade máxima de secagem de 1,0 L de água por hora e bico atomizador de duplo fluido de 0,7 mm de diâmetro (BÜCHI, 2005). A temperatura de entrada foi fixada manualmente, enquanto a temperatura de saída do produto foi ajustada através da vazão de alimentação da suspensão e da velocidade de aspiração.

**Sólidos solúveis totais:** Determinados na suspensão recém-extraída do meio farelo de trigo em refratômetro digital Atago, modelo PR-101.



# XVII SIMPÓSIO NACIONAL DE BIOPROCESSOS

Natal / RN

02 a 05 de agosto

2009

**Viabilidade:** Determinada pela quantidade de esporos germinados e não germinados em placas de Petri contendo meio ágar água (WA) com suspensão comercial concentrada de thiabendazole ( $485 \text{ g.L}^{-1}$ ) fornecido por Novartis Biociências S.A (Tecto SC), após 24 horas de incubação a  $21^\circ\text{C}$  no escuro. 0,1 mL da suspensão foram semeadas nas placas, e após o tempo de incubação, aproximadamente 1mL de solução lacto-glicérica de azul de anilina foram adicionadas e espalhadas delicadamente por toda a superfície das placas. Foram considerados germinados, os esporos com hifas iguais ou maiores que seu tamanho (HORACZEK e VIERNSTEIN, 2004).

**Nível de sobrevivência:** Expresso como o quociente dos conídios germinados antes ( $N_0$ ) e após ( $N_1$ ) o processo de secagem. Nível de sobrevivência =  $(N_1/ N_0) \times 100$  (HORACZEK e VIERNSTEIN, 2004).

**Umidade:** Determinado no pó obtido da secagem, segundo metodologia 012/IV (IAL, 2004).

Fixou-se a temperatura de entrada e variou-se a de saída para avaliação do efeito isolado da temperatura de saída, tanto na viabilidade dos esporos quanto no teor de umidade no pó obtido (Tabela 1).

Tabela 1 - Condições de secagem dos experimentos para avaliação do efeito da temperatura de saída do ar no nível de sobrevivência dos esporos e na umidade do pó.

| Temperatura ( $^\circ\text{C}$ ) |       | Vazão de alimentação da suspensão (%) | Aspiração (%) | Vazão de ar comprimido ( $\text{L.h}^{-1}$ ) |
|----------------------------------|-------|---------------------------------------|---------------|--|
| Entrada                          | Saída |                                       |               |  |
| 120                              | 55    | 40                                    | 100           | 742  |
| 120                              | 60    | 25                                    | 100           | 742  |
| 120                              | 65    | 20                                    | 100           | 742  |

Para avaliação do efeito isolado da temperatura de entrada na viabilidade dos esporos e no teor de umidade do material seco resultante, fixou-se a temperatura de saída do ar e variou-se a temperatura de entrada (Tabela 2).

Tabela 2 - Condições de secagem dos experimentos para avaliação do efeito da temperatura de entrada do ar no nível de sobrevivência dos esporos e na umidade do pó.

| Temperatura ( $^\circ\text{C}$ ) |       | Vazão de alimentação da suspensão (%) | Aspiração (%) | Vazão de ar comprimido ( $\text{L.h}^{-1}$ ) |
|----------------------------------|-------|---------------------------------------|---------------|--|
| Entrada                          | Saída |                                       |               |  |
| 100                              | 55    | 20                                    | 100           | 742  |
| 110                              | 55    | 27                                    | 100           | 742  |
| 120                              | 55    | 40                                    | 100           | 742  |
| 140                              | 55    | 55                                    | 100           | 742  |
| 160                              | 55    | 60                                    | 95            | 742  |

**RESULTADOS E DISCUSSÃO**

Farias *et al.*, (2008), observaram que experimentos utilizando-se diferentes temperaturas de entrada e mesma temperatura de saída (140/70°C e 170/70°C) originaram pós com umidade semelhante e mesmo nível de sobrevivência dos esporos, sugerindo uma relação entre a temperatura de saída do produto com o nível de sobrevivência dos esporos. Desta forma, foram conduzidos experimentos com a temperatura de entrada do ar fixa em 120°C, variando-se as temperaturas de saída (Tabela 3), a fim de avaliar o efeito da temperatura de saída na umidade do produto final e no nível de sobrevivência dos esporos.

Tabela 3 - Nível de sobrevivência dos esporos e umidade do pó resultante dos experimentos para avaliação do efeito da temperatura de saída do ar.

| Temperatura (°C) |       | Viabilidade (%) |         | Umidade (%)* | Nível de sobrevivência(%) |
|------------------|-------|-----------------|---------|--------------|---------------------------|
| Entrada          | Saída | Antes*          | Depois* |              |                           |
| 120              | 55    | 28,2            | 26,2    | 7,70         | 93                        |
| 120              | 60    | 33,0            | 19,7    | 6,82         | 60                        |
| 120              | 65    | 42,6            | 18,1    | 6,62         | 42                        |

\* Média dos experimentos conduzidos em triplicata

Tanto a umidade dos produtos da secagem quanto a viabilidade dos esporos apresentaram uma relação inversa com a temperatura de saída. Este fato está de acordo com Horaczek e Viernstein (2004), que em seu trabalho também relataram que a temperatura de saída foi fundamental para a obtenção de esporos viáveis de *Beauveria brongniartii* e *Metarhizium anisopliae*.

O melhor resultado com relação ao nível de sobrevivência foi o do teste conduzido com temperatura de saída do ar de 55°C, a qual foi escolhida para os experimentos seguintes.

Para a avaliação do efeito da temperatura de entrada na umidade do pó obtido após a secagem e no nível de sobrevivência dos esporos, realizaram-se experimentos variando-se a temperatura de entrada do ar de secagem e mantendo a temperatura de saída do ar fixa em 55°C, para todos os testes (Tabela 4).

Tabela 4 - Nível de sobrevivência dos esporos e umidade do pó resultante dos experimentos para avaliação do efeito da temperatura de entrada do ar.

| Temperatura (°C) |       | Viabilidade (%) |         | Umidade (%)* | Nível de sobrevivência(%) |
|------------------|-------|-----------------|---------|--------------|---------------------------|
| Entrada          | Saída | Antes*          | Depois* |              |                           |
| 100              | 55    | 29,4            | 23,2    | 7,18         | 79                        |
| 110              | 55    | 59,7            | 48,0    | 7,42         | 80                        |
| 120              | 55    | 28,2            | 26,2    | 7,70         | 93                        |
| 140              | 55    | 22,8            | 21,8    | 9,04         | 96                        |
| 160              | 55    | 52,0            | 33,1    | 11,31        | 64                        |

\* Média dos experimentos conduzidos em triplicata



Com a elevação da temperatura de entrada do ar de 100 a 160°C, observou-se aumento do teor de umidade dos pós resultantes. A vazão de alimentação da suspensão foi um parâmetro determinante na umidade do pó. Isso ocorreu devido à necessidade de se aumentar a vazão, com a elevação da temperatura de entrada, para a manutenção da temperatura de saída em 55°C. Büchi (2007) explica que quanto maior a alimentação de solução, maior é a energia necessária para evaporar a água das gotas transformando-as em partículas..

Do experimento com temperatura de entrada de 100 até o de 140°C, observou-se relação direta entre a umidade do material final da secagem e o nível de sobrevivência dos esporos, enquanto no de 160°C, apesar da umidade elevada do pó, o nível de sobrevivência foi menor. Provavelmente, para essa temperatura de entrada, a quantidade de encapsulante adicionada não foi suficiente para proteger os esporos do ar quente durante a secagem.

### CONCLUSÕES

O aumento da diferença entre a temperatura de entrada e a de saída implicou aumento da umidade do material em pó obtido após a secagem. A temperatura de saída de 55°C foi a melhor para a obtenção de alto nível de sobrevivência dos esporos de *Trichoderma harzianum* LCB47. A condição de secagem que resultou em maior nível de sobrevivência dos esporos foi a 140/55°C de temperatura de entrada e de saída, respectivamente.

### REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Büchi. (2005), *Manuel d'instructions atomisateur de séchage B-290*.

Büchi Labortechnik Ag. Training papers - Spray drying. Disponível em: <[http://www.buchi.com/Spray-Drying.69.0.html?&no\\_cache=1&file=308&uid=2283](http://www.buchi.com/Spray-Drying.69.0.html?&no_cache=1&file=308&uid=2283)>. Acesso em: 15. jan. 2007.

Cavalcante, R. S.; Lima, H. L. S.; Pinto, G. A. S.; Gava, C. A. T. e Rodrigues, S. (2008), Effect of moisture on *Trichoderma* conidia production on corn and wheat bran by solid state fermentation. *Food Bioprocess Technology*, v.1, p.100–104.

Collares, F. P. (2001), Desprendimento de filmes de pastas alimentícias durante a secagem sobre superfícies de sólidos e sua relação com a transição vítrea. *Tese de doutorado*, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, Brasil.

Farias, V. L.; Maciel, T. C.; Fernandes, F. A. N. e Pinto, G. A. S. (2008), Avaliação do efeito da temperatura na secagem por “spray dryer” de conídios de *Trichoderma harzianum*. Anais do XX Congresso Brasileiro de Fruticultura.

Gava, C. A. T. (2006), Projeto de pesquisa: Desenvolvimento de formulações de biofungicidas com alta estabilidade para o manejo integrado de doenças de fruteiras tropicais. Petrolina-PE.

Gharsallaoui, A.; Roudaut, G.; Chambin, O.; Voilley, A. e Saurel, R. (2007), Applications of spray-drying in microencapsulation of food ingredients: An overview. *Food Research International*, v.40, p. 1107–1121.

Guijarro, B.; Larena, I.; Melgarejo, P. e De Cal, A. (2006), Effect of drying on conidial viability of *Penicillium frequentans*, a biological control agent against peach Brown rot disease caused by *Monilinia* spp. *Biocontrol Science and Technology*, v.16, p.257-269.



Horaczek, A. e Viernstein, H. (2004), Comparison of three commonly used drying technologies with respect to activity and longevity of aerial conidia of *Beauveria brongniartii* and *Metarhizium anisopliae*, *Biological Control*, v.31, p.65-71.

Instituto Adolfo Lutz. *Normas Analíticas: Métodos físico-químicos para análise de alimentos*. IAL: São Paulo, 2004. 4. ed. 1004 p.

Planeta Orgânico. Controle biológico. Disponível em: <<http://www.planetaorganico.com.br/control.html>>. Acesso em: 30. jan. 2007.

Silva, J. B. T. e Mello, S. C. M. (2007), Utilização de *Trichoderma* no controle de fungos fitopatogênicos. Documentos: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia. Brasília-DF.

Tseng, S. C.; Liu, S. Y.; Yang, H. H.; Lo, C. T. e Peng, K. C. (2008), Proteomic study of biocontrol mechanisms of *Trichoderma harzianum* ETS 323 in response to *Rhizoctonia solani*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, v.56, p.6914-6922.