



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO TOCANTINS  
CAMPUS UNIVERSITÁRIO DE GURUPI  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM PRODUÇÃO VEGETAL (PPGPV)**

**RODRIGO JOSÉ DA SILVA**

**DESENVOLVIMENTO E OTIMIZAÇÃO DE UM BIOPROCESSO PARA  
PRODUÇÃO DE CONÍDIOS DE *Metarhizium anisopliae***

**Gurupi, TO  
2025**

**Rodrigo José da Silva**

**Desenvolvimento e Otimização de um Bioprocesso para Produção de conídios de  
*Metarhizium anisopliae***

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Produção Vegetal da Universidade Federal do Tocantins (UFT), como requisito à obtenção do grau de Doutor em Produção Vegetal.

Orientador: Raimundo Wagner de Souza Aguiar

**Gurupi, TO  
2025**

**Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)**  
**Sistema de Bibliotecas da Universidade Federal do Tocantins**

---

J83d José da Silva, Rodrigo.

Desenvolvimento e otimização de um bioprocesso para produção de conídios de *Metarhizium anisopliae*. / Rodrigo José da Silva. – Gurupi, TO, 2025.

93 f.

Tese (Doutorado) - Universidade Federal do Tocantins – Câmpus Universitário de Gurupi - Curso de Pós-Graduação (Doutorado) em Produção Vegetal, 2025.

Orientador: Raimundo Wagner de Souza Aguiar

1. Biocontrole. 2. Biofábrica. 3. Bioprocesso. 4. Inovação. I. Título

**CDD 635**

---

TODOS OS DIREITOS RESERVADOS – A reprodução total ou parcial, de qualquer forma ou por qualquer meio deste documento é autorizado desde que citada a fonte. A violação dos direitos do autor (Lei nº 9.610/98) é crime estabelecido pelo artigo 184 do Código Penal.

**Elaborado pelo sistema de geração automática de ficha catalográfica da UFT com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).**

Rodrigo José da Silva

**Desenvolvimento e otimização de um bioprocesso para produção de conídios de  
*Metarhizium anisopliae***

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Produção Vegetal. Foi avaliado para a obtenção do título de Doutor em Produção Vegetal e aprovado em sua forma final pelo Orientador e pela Banca Examinadora.

Data de aprovação: 18 / 12 / 2024

Banca Examinadora

---

Prof. Dr. Raimundo Wagner de Souza Aguiar, UFT

---

Prof. Dr. Hélio Bandeira Barros, UFT

---

Prof. Dr. Gil Rodrigues dos Santos, UFT

---

Prof. Dr. Edson Marcelino Alves, IFTO

---

Prof. Dr. Sérgio José da Costa, IFTO

Aos meus pais, José Irdeu e Maria de Lourdes, pela força em cada gesto de amor e sacrifício, e pelo apoio incondicional que me guiou até aqui. Vocês me ensinaram que o conhecimento é um bem precioso, mas que o verdadeiro valor da vida está nas pessoas que escolhemos amar e honrar. Esta conquista é tão minha quanto de vocês.

## AGRADECIMENTOS

À Deus, por todas as coisas que me aconteceram. Cada uma delas, ao seu modo, fez-me chegar até aqui. É através da jornada de tropeços, vitórias e derrotas, que tentamos enxergar o significado e a beleza da vida. Gratidão por todas as bênçãos e pela tua presença constante, guiando meus passos com sabedoria e amor.

Aos meus pais José Irdeu e Maria de Lourdes, que apesar de todas as dificuldades, sempre apoiaram em meus estudos. Ensinaram a dignidade, honestidade e respeito. Cada conquista foi reflexo do amor, sacrifício e incentivo que sempre me ofereceram. Obrigado por serem minha base e meu maior exemplo;

A minha irmã Débora Michele Pereira pela amizade, companheirismo e apoio em meus estudos;

A minha esposa Leticia e filhos Rafael e Miguel, pela paciência, apoio e dedicação em nossa vida pessoal e profissional. Sou profundamente grato pelo apoio e amor que vocês me oferecem a cada dia. Vocês são minha força e minha maior inspiração, e cada passo que dou em direção aos meus sonhos é impulsionado pelo carinho e compreensão que sempre encontrei em vocês;

A toda minha família, em especial a minha avó Ambrosina e tias Elizabeth, Suzete e Elizete, que sempre ajudaram, motivaram e apoiaram em meus estudos;

Ao meu orientador, Prof<sup>o</sup>. Dr. Raimundo Wagner de Sousa Aguiar, pela orientação, criatividade, disponibilidade e acompanhamento dos trabalhos. Tenho a honra em dizer que fui orientado pelo professor/pesquisador referência no uso de produtos biológicos na agricultura;

Aos Professores/Pesquisadores Dr. Ildon Rodrigues do Nascimento, Dr. Hélio Bandeira Barros, Dr. Gil Rodrigues dos Santos, Dr. Edson Marcelino Alves, Dr. Sérgio José da Costa por comporem a banca examinadora deste trabalho, pelas correções, críticas construtivas e considerações de suma importância;

Ao Prof<sup>o</sup>. Dr. Ildon Rodrigues do Nascimento Coordenador do Programa de Pós-graduação em Produção Vegetal (PPGPV) pela excelência e dedicação ao Programa;

Aos Professores do Programa de Pós Graduação em Produção Vegetal pelos notórios ensinamentos;

A técnica de laboratório Dra. Dalmácia de Souza Carlos Mourão, pela ajuda na caracterização morfológica dos fungos e notórios ensinamentos sobre o referido assunto;

Ao técnico de laboratório Dr. Suetônio Fernandes dos Santos pelos ensinamentos e apoio técnico durante a execução dos experimentos;

A secretária do PPGPV Erika de Araújo Menezes Borba, pelo excelente trabalho prestado frente a secretaria, sempre atenta às demandas, esclarecendo dúvidas com presteza e ajudando na resolução dos problemas;

Aos colegas de turma, pela amizade, companheirismo e bons momentos ao longo dessa etapa, em especial ao grande amigo Maykon Rodrigo Gomes de Barros;

À Universidade Federal do Tocantins (UFT) e ao Programa de Pós Graduação em Produção Vegetal (PPGPV), pelo apoio e incentivo à pesquisa;

Ao Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Tocantins (IFTO) pelo apoio e incentivo à qualificação.

## RESUMO

O *Metarhizium anisopliae* é um fungo amplamente empregado como agente de controle biológico em programas de manejo integrado de pragas, representando uma alternativa sustentável aos defensivos químicos. Atualmente, seus conídios são produzidos por meio de Fermentação em Estado Sólido (FES) utilizando arroz pré-cozido como substrato. A FES é caracterizada pelo uso de substratos insolúveis que atuam como suporte físico e fonte de nutrientes, sem a presença de água livre. A composição do substrato desempenha um papel crucial, pois influencia o crescimento microbiano ao afetar a disponibilidade de nutrientes e a aderência do microrganismo, além de favorecer a liberação de substâncias extracelulares. Esta tese está organizada em 3 capítulos correlacionados. O Capítulo 1 apresenta, por meio de sua contextualização, o tema “Otimização da produção do fungo *M. anisopliae* utilizando arroz enriquecido com sais, extrato de levedura e glicose”. Por meio da otimização, foi possível identificar e ajustar as doses de extrato de levedura, sais e glicose, que influenciam diretamente no crescimento e na esporulação do fungo. O Capítulo 2 é intitulado "Desenvolvimento de Protótipo de Mesa Agitadora com Sistema de Múltiplos Eixos Excêntricos". As mesas agitadoras são amplamente utilizadas em laboratórios para dissolver sólidos em líquidos, misturar substâncias, homogeneizar líquidos, facilitar/acelerar reações químicas e crescimento de microrganismos, dentre outros bioprocessos. A inovação proposta nesse capítulo pode melhorar a eficiência dos processos citados, principalmente no quesito capacidade de carga e rendimento. Além disso, o sistema pode ser ajustado para diferentes intensidades e alcance de movimento, permitindo maiores oportunidades nas aplicações diversas. O Capítulo 3 apresenta o design e simulação de uma planta de bioprocessos para produção de biodefensivo a partir de conídios de *M. anisopliae*. A simulação desse bioprocessos é fundamental para prever o desempenho da planta industrial antes de sua implementação, permitindo a otimização de parâmetros críticos e a redução de custos. Além disso, esse capítulo apresenta uma análise econômica que possibilita avaliar a viabilidade financeira do projeto, levando em conta os investimentos iniciais, os custos operacionais e o retorno esperado. Assim, esta tese reúne aspectos técnicos e econômicos, contribuindo para o aprimoramento dos processos de produção de *M. anisopliae*, abrangendo desde a otimização da formulação do substrato e o desenvolvimento de tecnologias inovadoras até simulações e análises econômicas, promovendo avanços na produção de agentes biológicos para o manejo sustentável de pragas.

**Palavras-chaves:** Biocontrole. Biofábrica. Bioprocessos. Fungo. Inovação.

## ABSTRACT

*Metarhizium anisopliae* is a fungus widely used as a biological control agent in integrated pest management programs, offering a sustainable alternative to chemical pesticides. Currently, its conidia are produced through Solid-State Fermentation (SSF) using pre-cooked rice as a substrate. SSF is characterized by the use of insoluble substrates that serve as both physical support and a nutrient source, without the presence of free water. The substrate composition plays a crucial role as it influences microbial growth by affecting nutrient availability and microorganism adherence, as well as promoting the release of extracellular substances. This thesis is organized into three interconnected chapters. Chapter 1 introduces the theme "Optimization of *M. anisopliae* production using rice enriched with salts, yeast extract, and glucose" through its contextualization. Through optimization, it was possible to identify and adjust the doses of yeast extract, salts, and glucose, which directly influence the fungus's growth and sporulation. Chapter 2 is titled "Development of a Prototype Shaker Table with a Multi-Eccentric Axis System." Shaker tables are widely used in laboratories to dissolve solids in liquids, mix substances, homogenize liquids, facilitate/accelerate chemical reactions, and support microorganism growth, among other bioprocesses. The innovation proposed in this chapter can improve the efficiency of these processes, particularly in terms of load capacity and performance. Furthermore, the system can be adjusted for different intensities and motion ranges, enabling greater opportunities for diverse applications. Chapter 3 focuses on the design and simulation of a bioprocess plant for the production of biopesticides from *M. anisopliae* conidia. Simulating this bioprocess is essential to predict the industrial plant's performance prior to implementation, allowing the optimization of critical parameters and cost reduction. Additionally, this chapter presents an economic analysis to evaluate the financial feasibility of the project, considering initial investments, operational costs, and expected returns. Thus, this thesis integrates technical and economic aspects, contributing to the enhancement of *M. anisopliae* production processes. It spans the optimization of substrate formulation, the development of innovative technologies, and simulations with economic analyses, driving progress in the production of biological agents for sustainable pest management.

**Keywords:** Biocontrol. Biofactory. Bioprocess. Fungus. Innovation.

## LISTA DE ILUSTRAÇÃO

### CAPÍTULO I

- Figura 1** - Campos de contagem da câmara de Neubauer. ....27
- Figura 2** - Percentagem de hidratação de diferentes tipos de arroz ao longo do tempo de imersão em água. ....31
- Figura 3** - Micrografia óptica da água de enxague inicial dos grãos em aumento de 1000x apresentando bactérias após coloração Gram. ....32
- Figura 4** - Massa de arroz hidratado com diferentes concentrações de extrato de levedura, glicose e sais, avaliados isoladamente durante um período de 1,5 horas. ....33
- Figura 5** - Potencial Hidrogeniônico (pH) em função de diferentes concentrações de Extrato de Levedura (A), Sais (A) e Glicose (C). ....34
- Figura 6** - Número de conídios do fungo *M. anisopliae* em função do enriquecimento do arroz com diferentes concentrações de Sais (A), Extrato de Levedura (B) e Glicose (C). ....35
- Figura 7** - Ausência de esporos do fungo *M. anisopliae* nas partes dos grãos de arroz que ficaram aglomerados durante a incubação. ....37
- Figura 8** - Propriedades hidrofóbicas evidentes pela maneira como as gotículas de água se acumulam e deslizam sobre a superfície do fungo *M. anisopliae*. ....38
- Figura 9** - Gráfico de traços para as respostas produção (a) e viabilidade (b) de conídios. Otimização da produção de conídios utilizando arroz enriquecido com sais, extrato de levedura e glicose no meio de cultura em cultivo sólido a 28 °C por 7 dias. ...40
- Figura 10** - Gráfico de superfície de resposta relativo à otimização da produção de conídios utilizando arroz enriquecido com sais, extrato de levedura e glicose no meio de cultura em cultivo sólido a 28°C por 7 dias. ....41
- Figura 11** - Gráfico de superfície de resposta relativo à otimização da viabilidade de conídios utilizando arroz enriquecido com sais, extrato de levedura e glicose no meio de cultura em cultivo sólido a 28 °C por 7 dias. ....42
- Figura 12** - Valores preditos das variáveis que otimizam as respostas, conforme o modelo ajustado pelo software Design Expert. ....43

### CAPÍTULO II

- Figura 1** - Configuração de agitador tipo linear recíproco (a) e orbital (b). ....53
- Figura 2** - Componentes de um agitador orbital. ....54

<b>Figura 3</b> - Modelo conceitual do protótipo.....	56
<b>Figura 5</b> - Vista inferior da plataforma orbital. Desenho técnico (a) e imagem real (b). .....	59
<b>Figura 6</b> - Vista frontal (a) e superior (b) do eixo excêntrico responsável pelo movimento orbital.....	60
<b>Figura 7</b> - Vista superior (a) e lateral (b) do mancal. ....	61
<b>Figura 8</b> - Detalhe da conexão entre o eixo excêntrico e o mancal superior e inferior. ....	61
<b>Figura 9</b> - Esboço do mecanismo de agitação. ....	62
<b>Figura 10</b> - Mesa agitadora após a construção e montagem de todas as partes.....	62

### **CAPÍTULO III**

<b>Figura 1</b> - Fluxograma do bioprocesso para produção de bioinseticida a base de conídios de <i>M. anisopliae</i> . .....	80
<b>Figura 2</b> - Fluxograma combinado contendo o balanço de massa em cada corrente. ....	81
<b>Figura 3</b> - Gráfico de Strauss projetado para variações no Preço de Venda Unitário e Custos de Matéria-Prima. ....	90
<b>Figura 4</b> - Gráfico do Ponto de Equilíbrio.....	90

## LISTA DE TABELAS

### CAPÍTULO I

<b>Tabela 1</b> - Composição e concentração dos sais na solução estoque para suplementação do meio de cultura.....	25
<b>Tabela 2</b> - Matriz experimental utilizada para avaliar os efeitos dos sais, do extrato de levedura e da glicose em função de suas diferentes dosagens sobre a produção de conídios.....	26
<b>Tabela 3</b> - Matriz experimental para otimização da produção de conídios do fungo <i>M. anisopliae</i> .....	28
<b>Tabela 4</b> - Matriz experimental e respostas observadas de mistura de sais, extrato de levedura e glicose para otimização da produção de conídios do fungo <i>M. anisopliae</i> .....	38
<b>Tabela 5</b> - Dados estatísticos dos modelos obtidos para cada resposta estudada.....	39
<b>Tabela 6</b> - Validação dos modelos obtidos por meio do delineamento experimental de misturas para as respostas R1 e R2.....	44
<b>Tabela 7</b> - Composição, concentração e preço dos sais na solução estoque para suplementação do meio de cultura.....	45
<b>Tabela 8</b> - Preço das matérias primas para fermentação de 1 tonelada de arroz utilizando a combinação otimizada da suplementação com sais, extrato de levedura e glicose.....	45

### CAPÍTULO II

<b>Tabela 1</b> - Materiais necessários para a construção do protótipo.....	57
<b>Tabela 2</b> - Levantamento dos custos para a construção do protótipo.....	63
<b>Tabela 3</b> - Características e custos de agitadores orbitais comerciais.....	64

### CAPÍTULO III

<b>Tabela 1</b> - Impostos brasileiros com suas respectivas alíquotas.....	74
<b>Tabela 2</b> - Especificações dos equipamentos e resumo da estimativa de custos.....	81
<b>Tabela 3</b> - Resumo da estimativa de Capital Fixo Direto.....	82
<b>Tabela 4</b> - Resumo dos custos materiais.....	83
<b>Tabela 5</b> - Salários dos funcionários por função desempenhada.....	83

<b>Tabela 6</b> - Impostos sobre a folha de pagamento brasileira para empresas do Regime de Lucro Real e Presumido. ....	84
<b>Tabela 7</b> - Custo Operacional Anual, resumo por item de custo. ....	84
<b>Tabela 8</b> - Estimativa de Custo Unitário, Preço de Venda e Receitas. ....	85
<b>Tabela 9</b> - Análise de fluxo de caixa (mil R\$). ....	85
<b>Tabela 10</b> - Resumo da Avaliação Econômica. ....	87

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

BDA	Batata Dextrose Agar
CDTP	Custos Diretos Totais da Planta
CFD	Capital Fixo Direto
CITP	Como Custos Indiretos Totais da Planta
COA	Custo Operacional Anual
COFINS	Contribuição para Financiamento da Seguridade Social
CSLL	Contribuição Social sobre o Lucro Líquido
CTCE	Custo Total de Compra de Equipamento
DCC	Delineamento Composto Central
DIC	Delineamento Inteiramente Causalisado
FES	Fermentação em Estado Sólido
IFTO	Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Tocantins
IRPJ	Imposto de Renda Pessoa Jurídica
ITC	Investimento Total de Capital
MSR	Metodologia de Superfície de Resposta
OC	Outros Custos
PIS	Programas de Integração Social
PP	Polipropileno
PPGPV	Programa de Pós-Graduação em Produção Vegetal
ROI	O Retorno sobre o Investimento
SSF	Solid-State Fermentation
TIR	Taxa Interna de Retorno
UFC	Unidades Formadoras de Colônia
UFT	Universidade Federal do Tocantins
VPL	Valor Presente Líquido

## SUMÁRIO

<b>INTRODUÇÃO GERAL .....</b>	<b>17</b>
<b>REFERÊNCIAS .....</b>	<b>20</b>
<b>CAPÍTULO I - OTIMIZAÇÃO DA PRODUÇÃO DO FUNGO <i>Metarhizium anisopliae</i> UTILIZANDO ARROZ ENRIQUECIDO COM SAIS, EXTRATO DE LEVEDURA E GLICOSE.....</b>	<b>22</b>
<b>1 INTRODUÇÃO .....</b>	<b>22</b>
1.1 OBJETIVOS.....	24
1.1.1 Objetivo Geral .....	24
1.1.2 Objetivos Específicos.....	24
<b>2 MATERIAL E MÉTODOS.....</b>	<b>24</b>
2.1 LOCAL E DELINEAMENTOS EXPERIMENTAIS.....	24
2.2 DETERMINAÇÃO DA CAPACIDADE DE HIDRATAÇÃO DO ARROZ .....	25
2.3 INFLUÊNCIA ISOLADA DE SAIS, EXTRATO DE LEVEDURA E GLICOSE SOBRE A PRODUÇÃO DE CONÍDIOS DE <i>Metarhizium anisopliae</i> .....	25
2.4 DELINEAMENTO COMPOSTO CENTRAL (DCC) .....	27
2.5 ANÁLISE DE CUSTO .....	29
<b>3 RESULTADOS E DISCUSSÃO .....</b>	<b>30</b>
3.1 CAPACIDADE DE HIDRATAÇÃO DO ARROZ .....	30
3.2 REDUÇÃO DA CONTAMINAÇÃO BACTERIANA DURANTE A HIDRATAÇÃO DO ARROZ .....	32
3.3 INFLUÊNCIA ISOLADA DE SAIS, EXTRATO DE LEVEDURA E GLICOSE SOBRE A PRODUÇÃO DE CONÍDIOS DE <i>Metarhizium anisopliae</i> .....	33
3.4 DELINEAMENTO COMPOSTO CENTRAL PARA OTIMIZAÇÃO DA PRODUÇÃO DE CONÍDIOS DO FUNGO <i>M. anisopliae</i> .....	38
3.5 VALIDAÇÃO DOS MODELOS OBTIDOS .....	43
3.5 ANÁLISE DE CUSTO .....	44
<b>4 CONCLUSÃO .....</b>	<b>46</b>
<b>REFERÊNCIAS .....</b>	<b>47</b>
<b>CAPÍTULO II – DESENVOLVIMENTO DE PROTÓTIPO DE MESA AGITADORA COM SISTEMA de Múltiplos Eixos Excêntricos.....</b>	<b>52</b>
<b>1 INTRODUÇÃO .....</b>	<b>52</b>
1.1 OBJETIVOS.....	55

1.1.1	Objetivo Geral .....	55
1.1.2	Objetivo Específico.....	55
2	MATERIAL E MÉTODOS.....	55
3	RESULTADOS E DISCUSSÃO .....	57
3.1	DESING E CONSTRUÇÃO DA BASE.....	57
3.2	DESING E CONSTRUÇÃO DA PLATAFORMA ORBITAL.....	58
3.3	DESING E CONSTRUÇÃO DO MECANISMO DE AGITAÇÃO .....	59
3.4	AVALIAÇÃO DE CUSTOS.....	63
4	CONCLUSÃO .....	65
	REFERÊNCIAS .....	66

**CAPÍTULO III – DESING, SIMULAÇÃO E ANÁLISE ECONÔMICA DE UMA PLANTA DE BIOPROCESSO PARA PRODUÇÃO DE CONÍDIOS DE *Metarhizium anisopliae* .....**

1	INTRODUÇÃO .....	67
1.1	OBJETIVOS.....	68
1.1.1	Objetivo Geral .....	68
1.1.2	Objetivos Específicos.....	69
2	MATERIAL E MÉTODOS.....	69
2.1	PROJETO E SIMULAÇÃO DA PLANTA DE BIOPROCESSOS .....	69
2.2	ANÁLISE ECONÔMICA.....	69
2.2.1	Investimento Total de Capital.....	70
2.2.2	Custo Operacional Anual .....	72
2.2.3	Renda Anual .....	73
2.2.4	Lucros Anuais .....	73
2.2.5	Análise de Sensibilidade.....	76
3	RESULTADOS E DISCUSSÃO .....	76
3.1	ANÁLISE DE MERCADO.....	76
3.1.1	O Mercado de Bioinsumos Agrícolas no Brasil .....	76
3.1.2	Desenvolvimento econômico do local de instalação da planta de bioprocessos..	77
3.1.3	Definição de capacidade de produção anual de bioinsumo à base de conídios de <i>Metarhizium anisopliae</i> .....	78
3.1.4	Estimativa da Capacidade de Produção.....	79
3.2	FLUXOGRAMA DO PROCESSO.....	80
3.3	ANÁLISE ECONÔMICA.....	81

<b>4</b>	<b>CONCLUSÃO .....</b>	<b>91</b>
	<b>REFERÊNCIAS .....</b>	<b>92</b>