



## II-135 CAPACIDADE DE ASPERGILLUS NIGER CRESCER EM MEIO SALINO CONTENDO BTEX

**Victória Bermúdez<sup>(1)</sup>**

Pós-doutoranda em Tecnologia e gestão ambiental (IFCE). Doutora em Ecologia e recursos hídricos (UFC)

**Matheus Oliveira**

Graduando em Gestão ambiental (IFCE)

**Glória Silva**

PhD in Hydraulics and Sanitation

**Kelly Rodrigues**

PhD in Hydraulics and Sanitation

**Endereço<sup>(1)</sup>:** Av. Treze de Maio, 2081 - Benfica, Fortaleza - CE, 60040-531. Vmsbermudez@gmail.com

### RESUMO

A poluição ambiental por BTEX está frequentemente associada a derramamentos acidentais de petróleo no mar e ao descarte de efluentes contendo esses compostos. Os BTEXs são tóxicos e podem ter efeitos cancerígenos, sendo compostos persistentes, perigosos e bioacumulativos no meio ambiente. O potencial de *Aspergillus niger* na degradação de hidrocarbonetos é citado em vários estudos, não em ambientes salinos. Foi realizado teste de halotolerância a fim de verificar a capacidade deste fungo de degradar BTEX sob efeito da salinidade. Submetido à salinidades de 5%, 10%, 20% e 30% (v/v), foi observado crescimento em até 10% da concentração. Com base nesse teste, foi realizado ensaio com 10 reatores em batelada, contendo meio Czapek com adição de NaCl (10%), 10 discos de inóculo de *Aspergillus niger* e os compostos BTEX. Todos os reatores foram operados em um ciclo de 72h, sendo que A.N CBC operou em um tempo reacional diferente, até finalizar o ciclo (72h). Registrou-se remoção da matéria orgânica no reator A.N CBC (29,4%), com 72h de operação. Para os demais reatores não houve remoção ou baixa variação. Ao fim da operação dos reatores, foi observado que altas concentrações de sacarose (30 g/L) reprimiram o consumo de matéria orgânica, influenciando o reator com inóculo fúngico de *Aspergillus niger* AN400. Dessa forma, através da adaptação do fungo na condição de 10% de salinidade, pode-se observar que este progresso mostra o potencial biotecnológico sua utilização em ambiente salino e nos processos de biorremediação em ambientes marinhos.

**PALAVRAS-CHAVE:** BTEX. Fungos. Salinidade. Biorremediação.

### INTRODUÇÃO

Ao longo do crescimento populacional, a poluição ambiental tem se tornado uma preocupação crescente em todo o mundo, isso devido aos efeitos dos impactos negativos sobre a saúde humana e o equilíbrio dos ecossistemas. Dentre os diversos poluentes presentes no meio ambiente, os compostos BTEX (benzeno, tolueno, etilbenzeno e xilenos) têm despertado particular atenção devido à sua ampla utilização em produtos do petróleo, e seus derivados, e seus impactos negativos.

O BTEX são hidrocarbonetos monoaromáticos altamente voláteis e tóxicos, frequentemente encontrados em solos, águas superficiais e subterrâneas contaminadas por vazamentos de tanques de armazenamento de combustível, derramamentos de petróleo ou descarte inadequado de resíduos que os contenham. A sua presença representa um risco para a saúde humana, pois pode ser inalado, ingerido ou absorvido pela pele, causando efeitos adversos como irritação respiratória, danos ao sistema nervoso central e até mesmo o desenvolvimento de câncer (SONWANI *et al.*, 2021).

Além dos riscos diretos à saúde humana, a contaminação ambiental por BTEX também afeta negativamente os ecossistemas. Esses compostos podem ser tóxicos para organismos aquáticos, interferindo na reprodução, crescimento e sobrevivência de várias espécies.

A poluição por BTEX em meio salino é um problema ambiental preocupante, pois pode ocorrer em áreas costeiras, em estuários ou em ambientes marinhos contaminados por vazamentos de petróleo, descargas



industriais ou outras fontes de contaminação. Elas podem acontecer em regiões onde há exploração de petróleo, derramamentos acidentais de petróleo, atividades portuárias ou outras próximas ao mar. Os compostos hidrocarbonetos do petróleo possuem, naturalmente, baixa solubilidade e sua presença em ambientes aquáticos salinos podem tornar o crescimento microbiano ainda mais difícil, já que concentração elevada de sal reduz a solubilidade dos hidrocarbonetos (CHUNYAN *et al.*, 2023).

Diante desse cenário, é de extrema importância o desenvolvimento de estratégias eficientes para o monitoramento, controle e remediação da poluição ambiental por BTEX. Estudos científicos (THACHARODI *et al.*, 2023, GANESAN *et al.*, 2022) têm se dedicado ao entendimento dos processos de degradação desses compostos, incluindo a atuação de microrganismos, como bactérias e fungos, que possuem a capacidade de metabolizar e reduzir a concentração desses poluentes no meio ambiente.

Neste contexto, este trabalho teve como objetivo a remoção de BTEX por *Aspergillus niger* AN400 em meio salino, procurando-se verificar a tolerância da espécie à condição salina, avaliar a eficiência de remoção desses compostos sob efeito da salinidade e da presença de fonte de carbono primária em baixa e alta concentração.

## MATERIAIS E MÉTODOS

Para a realização do teste de halotolerância, todas as vidrarias utilizadas foram previamente esterilizadas a 121°C durante 20 minutos. Foi avaliado o crescimento de *Aspergillus niger* AN400, pertencente à micoteca do Laboratório de Tecnologia Ambiental (LATAM), ao longo de 7 dias, nas salinidades de 5%, 10%, 20% e 30%, pela adição de NaCl ao meio Czapek (Ver Tabela 1).

**Tabela 1 - Composição do meio de cultura Czapek Agar**

Compostos	(g/L)
Nitrato de Sódio (NaNO <sub>3</sub> )	2
Sulfato de Magnésio (MgSO <sub>4</sub> )	0,8
Cloreto de Potássio (KCL)	0,8
Sulfato Ferroso (FeSO <sub>4</sub> )	0,01
Fosfato Dipotássico (K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> )	1
Sacarose	30
Agar	20

O meio Czapek Ágar foi preparado com adição de NaCl em diferentes concentrações (5%, 10%, 15%, 20%, 25% e 30%), sendo então distribuído em placas de Petri. Após o endurecimento do meio, as placas foram inoculadas no centro com um disco de *Aspergillus niger* com 4 mm de diâmetro. Todo o ensaio foi realizado em quadruplicata. Além das placas nas quais o *Aspergillus niger* foi submetido ao efeito da salinidade, foram ainda preparadas placas contendo apenas o meio Czapek Ágar sem adição do NaCl, a fim de verificar o crescimento da espécie sem o efeito da salinidade.

### 2.2 Avaliação do crescimento micelial

#### 2.2.1 Diâmetro teórico

Avaliação por meio do diâmetro teórico foi obtido após o crescimento fúngico durante as 168h, assim como a avaliação dos valores de velocidade de crescimento. O cálculo para estimar os valores de diâmetro teórico foi determinado conforme Mello (2018) (Equação 2).

$$A = \pi \left(\frac{d}{2}\right)^2$$

$$d = \sqrt{\left(\frac{4 \times A}{\pi}\right)} \quad (02)$$

Onde:

d: Diâmetro Teórico (cm)

A: Área ocupada pelo fungo (cm<sup>2</sup>)



$\pi$ : 3,14

### 2.2.2 Avaliação por velocidade de crescimento

O crescimento das colônias foi monitorado diariamente e obtidas área e diâmetro das colônias, sendo estimada a velocidade de crescimento das colônias ou de crescimento micelial (VCM), conforme Oliveira (1991) (Equação 1).

$$VCM = \sum \left( \frac{D - D_{n-1}}{N} \right) \quad (01)$$

Onde:

VCM: velocidade de crescimento micelial

D: diâmetro da colônia em um tempo  $t_n$

$D_{n-1}$ : diâmetro médio da colônia em um tempo  $t_{n-1}$

N: número de dias após a inoculação ( $t_0$ )

## 2.3 Reatores em batelada

### 2.3.1 Produção do inóculo de *Aspergillus niger*

Colônias de *Aspergillus niger* foram cultivadas em placas de Petri estéreis, no Laboratório de Tecnologia Ambiental (LATAM), no IFCE e preservadas a uma temperatura de 4 °C.

A partir do corte de discos de 4 cm, foram adicionados 10 discos em frascos de Erlenmeyers de 250 mL, os quais continham 200 mL de meio de reação.

### 2.3.2 Meio aquoso sintético

O meio sintético foi preparado com base na composição do meio do teste de halotolerância (Meio Czapek), contendo nutrientes disponibilizados, mas respectivas concentrações (g/L): NaNO<sub>3</sub> (2), MgSO<sub>4</sub> (0,8), KCl (0,8), FeSO<sub>4</sub> (0,01), K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> (1), Sacarose (30g). A adição de NaCl foi feita na maior concentração em que houve crescimento dos fungos no teste de halotolerância (10%).

Os hidrocarbonetos aromáticos benzeno, tolueno, etilbenzeno e xileno foram adicionados ao meio, de volume útil de 250 mL, em 250  $\mu$ L, 288  $\mu$ L, 288  $\mu$ L e 284  $\mu$ L, respectivamente. Para uma melhor solubilização dos compostos, foram adicionados em cada Erlenmeyers 50 mL de álcool etílico PA.

### 2.3.3 Operação do reator

Os frascos de Erlenmeyers com meio aquoso e os discos de fungos foram mantidos sob agitação de 150 rpm, em uma mesa agitadora por um período de 72h, de modo que a cada ciclo pré estabelecido (4 h, 12 h, 24 h, 36 h, 48 h e 72 h) era retiradas alíquotas para a análises das variáveis de acordo com a configuração estabelecida nos fracos, que pode ser observada na Tabela 2 (Ver Tabela 2), em que há a presença de salinidade no meio ou não.

**Tabela 2: Configuração dos reatores em agitação**

Controle (C)	Meio salino com os compostos BTEX sem a presença de fungos
Branco (B)	Meio salino sem os compostos BTEX e com a presença de fungos
<i>Aspergillus niger</i> salino (A.N Salino)	Meio salino com os compostos BTEX e com a presença de fungos
<i>Aspergillus niger</i> não salino (A.N não salino)	Meio sem salinidade com os compostos BTEX com a presença de fungos
<i>Aspergillus niger</i> cossustrato em baixa concentração (A.N CBC)	Meio salino com os compostos BTEX com a presença de fungos (Baixo cossustrato)

Para o reator contendo *Aspergillus niger* e cossustrato em baixa concentração (A.N CBC) as alíquotas para monitoramento foram retiradas apenas nos tempos reacionais de: 24 h 48 h e 72 h.

## 2.4 Variáveis analisadas

As variáveis analisadas no monitoramento dos reatores deste trabalho foram demanda química de oxigênio (DQO) e potencial hidrogeniônico, seguindo os métodos fornecidos em APHA (2012) de análises físico-químicas, além de sólidos suspensos voláteis (SSV) pela metodologia de Oliveira e Silva. (2006).

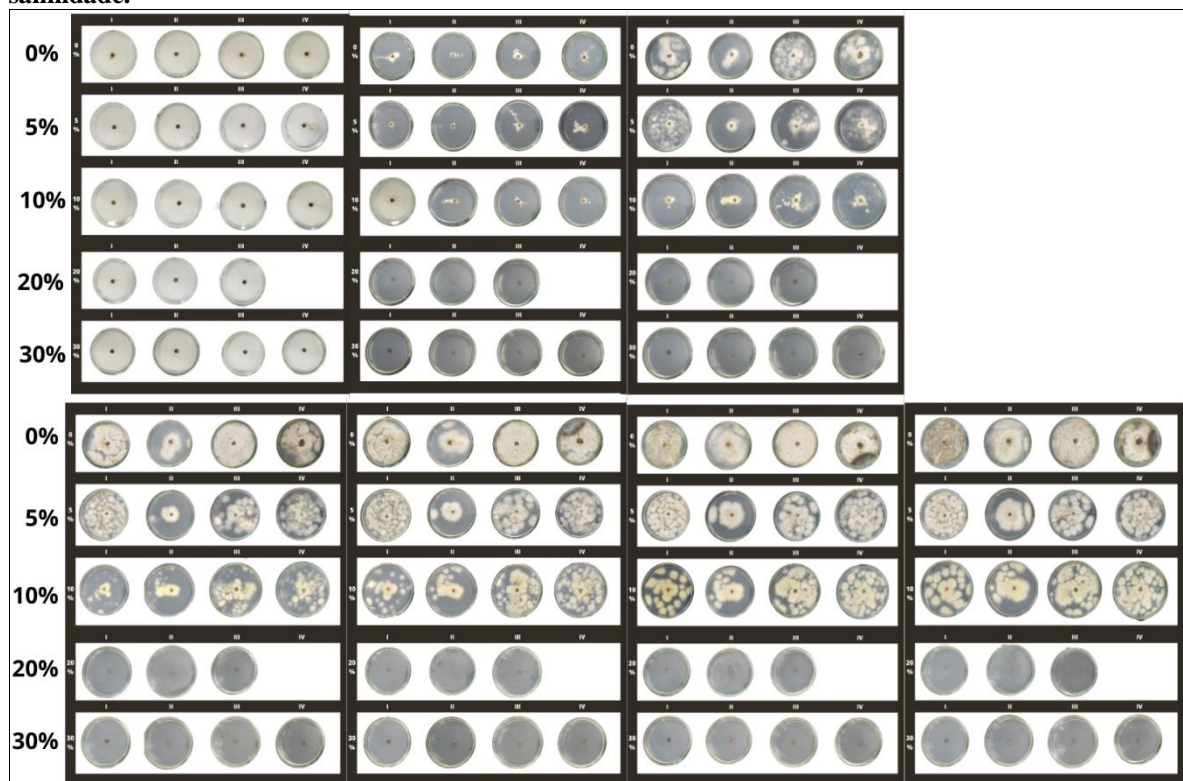
## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Verificou-se que, de um total de 19 placas, em 60% dos valores de salinidade estudados, *Aspergillus niger* apresentou bom crescimento de suas colônias a partir de 48 h do início do teste. Para as maiores salinidades estudadas, 20% e 30% não houve crescimento dos fungos, indicando que não foram capazes de suportar os efeitos da salinidade mais elevada.

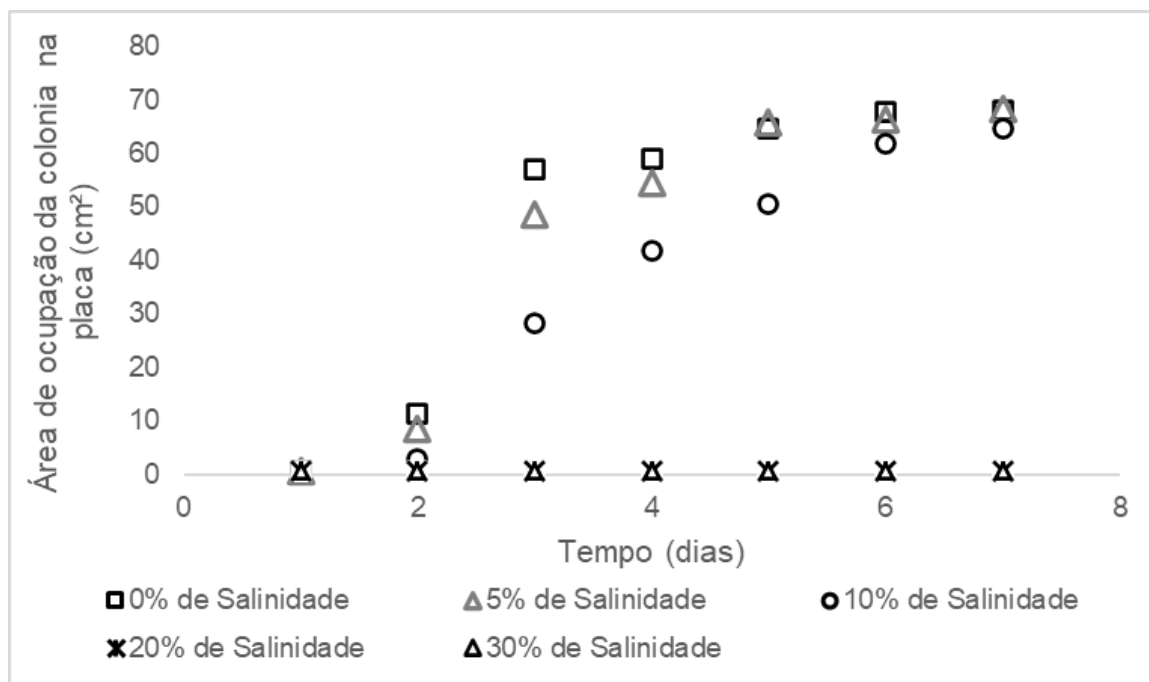
Nas placas em que o *Aspergillus niger* cresceu a 5% e 10% de salinidade, foi observado um progresso contínuo de crescimento das colônias, com maior taxa de ocupação entre os períodos de 48 h, 72h e 96 h, sendo a taxa de ocupação média de 9,15 cm<sup>2</sup>/h, 41,7cm<sup>2</sup>/h e 47,87cm<sup>2</sup>/h para as respectivas horas, e alcançando uma estabilidade de crescimento regular a partir de 144 h, com taxa média de 68,23 cm<sup>2</sup>/h.

Na Figura 1 (Ver Figura 1) é mostrado as placas nas quais as colônias de *Aspergillus niger* se desenvolveram ao longo do tempo de estudo. Assim pôde-se relacionar estes dados em um gráfico linear de crescimento, em milímetros (cm<sup>2</sup>) por tempo, em horas (h) (Ver Figura 2).

**Figura 1: Desenvolvimento *A. niger* em placas de Petri no período de 24h à 168h nas concentrações de salinidade.**



**Figura 2: Ocupação da área da colônia de *Aspergillus niger* AN400, nas salinidades de 5%, 10%, 20% e 30%, ao longo do tempo.**



Observou-se ainda que, de forma visual, o *Aspergillus niger* se desenvolveu com uma coloração mais amarelada nos conídios, evoluindo de forma lenta e gradativa para uma coloração marrom. Buonafina (2015) explicou que algumas cepas, na caracterização taxonômica, podem apresentar verso e reverso com coloração coincidente, sendo que, segundo Afonso (2015), *Aspergillus niger*, para a coloração do verso, poderão apresentar conídios de cor preta, sendo seu reverso branco a amarelo. Neste trabalho, o fungo apresentou uma coloração amarela nos conídios até 168h, coincidindo com seu reverso.

Na Tabela a seguir (Ver Tabela 3) são mostrados a média dos dados de velocidade de crescimento micelial de *Aspergillus niger* ao longo do tempo de estudo, nas placas sem adição de NaCl e sob o efeito da salinidade (5%, 10%, 20% e 30%).

**Tabela 3: Velocidade de Crescimento do *Aspergillus niger* de 24 a 168 horas em mm/dia.**

Concentração	24h	48h	72h	96h	120h	144h	168h
0%	4,77	14,01	12,65	0,53	0,82	0,04	0,00
5%	4,44	11,61	13,91	1,59	1,66	0,11	0,41
10%	4,77	3,97	14,78	3,16	1,05	1,29	0,33
20%	2,98	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
30%	2,98	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00

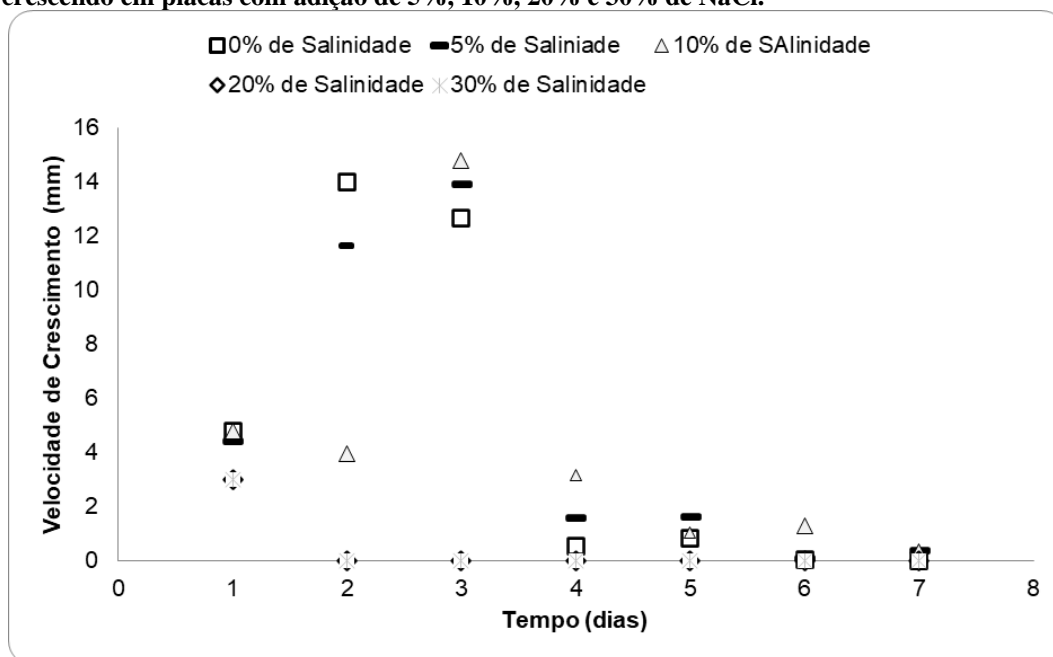
As placas de controle (0%) foram as primeiras a ocuparem toda a área da placa, atingindo taxa máxima de ocupação de 67,93 cm<sup>2</sup>/h, diâmetro máximo da colônia de 9,3 cm e velocidade de crescimento máximo registrado em 48h, com 14,01 mm/dia, e chegando a 0 mm/dia ao atingir a área máxima da placa em 168h. Para placas com meio salino, o *Aspergillus niger* AN400 teve melhor crescimento para 10% de salinidade. Em termos de com velocidade de crescimento, o maior índice foi de 14,78 mm/dia, medida em 72 h após a inoculação. Quando comparado as controle, as placas com 10% de salinidade conseguiram acompanhar a sua velocidade de crescimento máximo com 24h de diferença, com valores aproximados de 14,01 mm/dia para concentração 0%, em 48h, e 14,78 mm/dia para 10%, em 72h.

A alta concentração de NaCl, nas placas com 20% e 30%, não permitiu que as cepas fúngicas se desenvolvessem. Cao *et al* (2022) afirmaram que há uma diminuição na velocidade de crescimento fúngico em meios com concentração alta de sais, quando comparado à meios com baixas concentrações salinas, pois a salinidade causará estresse na célula microbiana. Isso demonstra que a presença do cloreto de sódio (NaCl) é uma condição que influencia na condução de sobrevivência fúngica, ou no seu desenvolvimento, devido à alta concentrações deste sal no meio.



Ao longo do tempo, o crescimento micelial de *Aspergillus niger* teve aumento nas replicatas, principalmente para os dias iniciais (24 h, 48 h e 72 h), mas é observado que há uma diminuição da velocidade de crescimento micelial (VCM) em todas as concentrações a partir do quarto dia (96 h). Após esse período, o crescimento fúngico passou a ser gradual, mas a velocidade manteve-se baixa, variando em média de 1,18 mm/dia, em 120h, a 0,25 mm/dia, em 168h, ou até estabilizar em 0 mm/dia, em 168h, como na placa C representado na Figuras 3 (Ver Figura 3), isso porque no decorrer dos dias, a cepa fúngica obteve a ocupação total da área da placa, diminuindo a velocidade de crescimento devido à existência de pequenas zonas ainda a serem ocupadas.

**Figura 3: Valores de velocidade de crescimento das colônias de *Aspergillus niger*, ao longo do tempo de estudo, na ausência e presença de salinidade – colônias crescendo na ausência de salinidade e colônias crescendo em placas com adição de 5%, 10%, 20% e 30% de NaCl.**



Verificou-se a adaptabilidade do fungo em diferentes concentrações, sendo os seus valores aproximados entre si, com exceção de pequenos picos observados nas. Para uma melhor assimilação do desenvolvimento das cepas fúngicas, foi desenvolvido dados em relação ao diâmetro de crescimento dessas cepas fúngicas (*A. niger* AN 400). Com o crescimento esporulado do fungo, foi desenvolvido um diâmetro teórico em relação ao tamanho das placas. A equação utilizada para a elaboração dos dados foi apresentada anteriormente (Ver Equação 2).

Dessa forma, os resultados de diâmetro teórico (Ver Tabela 4) mostram que o crescimento das colônias, em termos de diâmetro (cm), ocupou a área total das placas apenas nas concentrações de 5% e 10%, atribuído à menores salinidades. Na concentração de 10% foram obtidos bons resultados, o que faz com que a aplicabilidade desta concentração em reatores possa ser aplicável.

Para as placas de 20% e 30%, não houve crescimento micelial, de modo que não houve alteração do diâmetro da colônia fúngica após as 24 h até o final do experimento (Ver Tabela 4).

**Tabela 4: Diâmetro teórico nos tempos de 24 a 168 horas.**

Concentrações	Diâmetro Teórico (cm)							
	Replicata	24h	48h	72h	96h	120h	144h	168h
0%	I	0,94	3,55	8,89	9,03	9,28	9,30	9,30
	II	1,01	2,57	5,05	7,16	8,37	9,28	9,30
	III	0,94	5,59	9,02	9,30	9,30	9,30	9,30

Concentrações	Diâmetro Teórico (cm)							
	IV	1,01	4,01	8,16	8,31	8,87	8,90	8,90
5%	I	0,94	3,57	8,43	9,01	<b>9,20</b>	<b>9,20</b>	<b>9,20</b>
	II	0,94	2,42	4,19	4,89	6,76	7,88	8,68
	III	1,01	3,03	7,46	8,36	9,11	9,20	9,60
	IV	0,94	4,34	8,26	8,31	9,23	9,26	9,44
	I	0,94	1,64	3,79	6,39	7,88	8,55	8,91
10%	II	0,94	0,96	5,32	5,90	6,88	7,38	7,88
	III	1,18	2,08	6,59	8,08	8,15	9,19	9,26
	IV	1,01	2,08	7,21	8,25	8,29	9,18	9,28
	I	0,80	0,80	0,80	0,80	0,80	0,80	0,80
	II	0,80	0,80	0,80	0,80	0,80	0,80	0,80
20%	III	0,80	0,80	0,80	0,80	0,80	0,80	0,80
	I	0,80	0,80	0,80	0,80	0,80	0,80	0,80
	II	0,80	0,80	0,80	0,80	0,80	0,80	0,80
	III	0,80	0,80	0,80	0,80	0,80	0,80	0,80
	IV	0,80	0,80	0,80	0,80	0,80	0,80	0,80

### 3.2 Ensaios com Reatores em batelada

#### 3.2.1 Variação de pH

Ao decorrer do experimento com os reatores em batelada para a remoção dos compostos BTEX, os reatores controle (C) permaneceram em uma faixa de pH entre 6,3 e 6,5, já nos reatores brancos (B) permaneceram na faixa de pH 7,4 e 7,6 em suas respectivas concentrações estudadas. Nos reatores com fungos, obteve-se uma variação de pH entre 7,2 a 7,6 desde o início até seu tempo final (72h).

Em relação à degradação de hidrocarbonetos, Daâssi e Qabil Almaghribi (2022) explicam que os valores de pH é um fator chave para a boa eficiência da biodegradação, devido a sua capacidade de afetar diretamente o crescimento, sobrevivência e reprodução dos microrganismos. Estudos de Muangchinda *et al* (2018) mostraram que a melhor faixa de pH para uma boa eficiência de biodegradação dos hidrocarbonetos está entre 4 e 8.

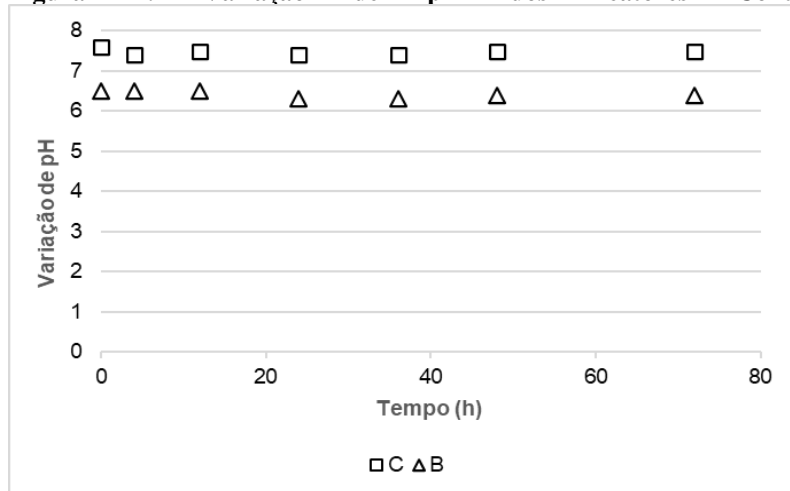
Yan *et al* (2015) realizaram alguns trabalhos sobre a biodegradação de hidrocarbonetos totais do petróleo (HTP) com diferentes valores de pH com o objetivo de avaliar a eficiência da degradação destes compostos. Os resultados deste estudo mostraram que a biodegradação foi menor em pH 3 (4%) e maior em pH 7 (72%). Em pH 9, a degradação dos compostos diminuiu, obtendo eficiência de 30%. Assim, podemos identificar que para pH inferiores a 4 e maiores que 8 podem inibir a atividade microbiana e dificultar a biodegradação.

Dessa forma, para os valores de pH, este estudo esteve dentro da faixa de pH que foram citados pelos autores, apresentando boas condições para o desenvolvimento fúngico e para o processo de remoção dos compostos BTEX.

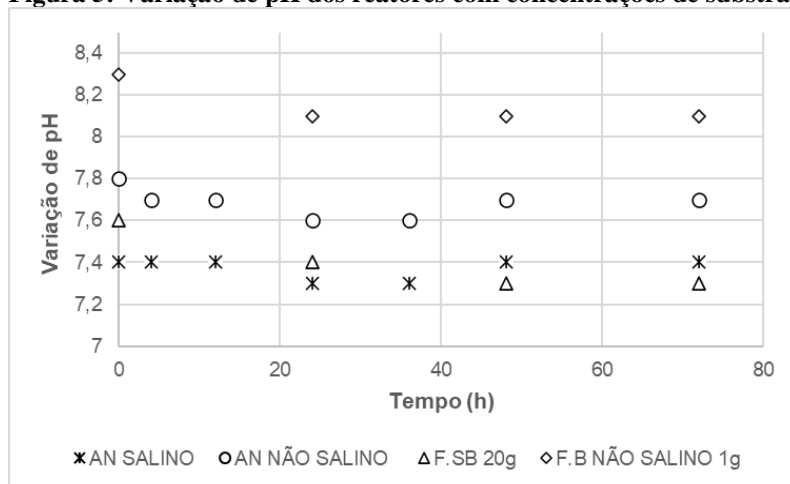
A variação de pH dos reatores estudados nas suas concentrações de sacarose (1g e 30g) e dos compostos BTEX (250 µL para benzeno, 288 µL para tolueno, 288 µL para etilbenzeno e 284 µL para xileno), podem ser observados na figura 4 e 5 (Ver Figura 4 e Figura 5).



**Figura 4: Variação de pH dos reatores Controle (C) e Branco (B)**



**Figura 5: Variação de pH dos reatores com concentrações de substrato (1, e 30g) com e sem BTEX.**



### 3.3 Valores de SSV

O crescimento de biomassa, medido em SSV, conforme a Tabela 5 (Ver Tabela 5) mostrou que os reatores fúngicos A.N Não Salino1 e 2 obtiveram valores de aumento significativo no último tempo reacional (168h), com valores de 0,747 g/L e 0,608g/L, respectivamente. Os reatores com a concentração de salinidade (A.N Salino 1 e 2) obtiveram crescimento com valores similares aos reatores B, mas com um valor inferior em A. N Salino 2. Os reatores C foram os que tiveram menores valores dos demais, mostrando que os fungos conseguiram crescer durante o experimento.

**Tabela 5: Valores de SSV dos reatores com 30 g/L durante 168h.**

Reatores	Tempo 0h	Tempo 168h
	g/L	
C1	0	0,322
C2	0	0,387
B1	0	0,437
B2	0	0,423



A.N SALINO 1	0	0,422
A.N SALINO 2	0	0,203
A.N NÃO SALINO 1	0	0,747
A. N NÃO SALINO 2	0	0,608

Todos os reatores estudados para este ensaio tiveram uma concentração de cossustrato (Sacarose) de 30g.L, tornando o meio super concentrado. Dessa forma, os valores de biomassa, medido em SSV, foram maiores quando comparado com os trabalhos de Bermúdez (2018), que obteve os maiores valores de biomassa com 0,278 g.L e 0,290 g.L ao utilizar a concentração de 0.5g.L de sacarose em seus reatores. Neste trabalho, os demais reatores em batelada obtiveram valores inferiores ao apresentado.

Portanto, a quantidade de biomassa se relacionada com a utilização de fontes energéticas primárias e secundárias pelo fungo, conseqüentemente, a maior quantidade de biomassa, verificada na Tabela 5, pode estar relacionada a alta concentração de cossustrato (sacarose), consumo e metabolismo utilizado pelo fungo.

### 3.4 Remoção de DQO

Dos resultados obtidos através das análises da demanda química de oxigênio (DQO) dos reatores estudados (C, B, A.N Salino, A.N não Salino e A.N Cossustrato em Baixa Concentração), não houve grande variação da DQO, com pouca mudança de seu valor inicial. Nas primeiras 4 horas de experimento, o reator de controle (C), teve baixa atividade de degradação, com 4,12%, e se manteve estável nos demais tempos reacionais, sem alteração à remoção de DQO. No reator branco (B), seguiu a mesma condição de remoção que o reator C, se mantendo estável e sem alteração em seus valores em todos os tempos reacionais.

Com a presença de salinidade, o reator *A.N Cossustrato em Baixa Concentração* (AN CBC) foi o único que apresentou taxa de remoção significativa, com valores registrados em seu último tempo reacional (72h) de 29,43%.

Nos reatores A.N Salino e A.N Não Salino, não houveram remoção de DQO até os tempos reacionais finais (72h). Em todos os 4 reatores (C, B, AN Salino, AN não Salino), o valor de sacarose utilizado foi de 30g/L, como está descrito na composição do Caldo Czapek Dox, da marca KASVI, apenas em A.N CBC foi utilizado 1g/L de cossustrato.

Dos resultados do reator A.N CBC foi observado, como citado, valores de remoção da concentração de matéria orgânica. O reator foi operado devido a necessidade de compreender a ocorrência de atividade biodegradante em diferentes concentrações de cossustrato (sacarose). Dessa forma, o tempo de funcionamento deste reator se difere dos demais, sendo esses períodos de 24, 48 e 72 horas. Portanto, os valores que resultaram deste reator foram de 27% em 48 horas, com aumento da eficiência em 2,4% em 72 horas, obtendo 29,4% de eficiência em seu último horário, registrando um bom índice diante das condições de salinidade.

A presença de grande quantidade de cossustrato nos reatores C, B e AN (Salino e Não Salino) – 30 g/L de Sacarose – foi fator determinante para que o consumo de matéria orgânica fosse menor, causando uma inibição do processo biodegradador pelos microrganismos. Em seus estudos, Bermúdez *et al* (2019) identificou que o alto consumo de cossustrato em seus reatores com inóculos fúngicos fez com que a sua degradação tivesse baixa eficiência, com 20 a 30% de remoção, quando comparados aos reatores com menores concentrações de substrato. Nesse estudo, os autores utilizaram glicose e sacarose como cossustrato e concluíram que a melhor taxa de eficiência foi alcançada com a adição de 3.0 g/L, com 49% de degradação.

Santiago (2020) em seus trabalhos com reatores anaeróbios em batelada observou resultados de DQO elevados (1641,3 g/L) na sua caracterização, o que concluiu ser devido a substâncias oxidativas encontradas em seu material de estudo. Dessa forma, para os trabalhos seguintes, o autor reduziu a quantidade de material que alimentava os reatores por conta de possíveis inibições devido ao excesso de substrato que alimentaria o inóculo, o que levou a 95% de remoção em 168h, com valor de 9,35 g/L de DQO em seu T0. Essa adição de uma grande concentração de substrato aos sistemas, resulta na inibição de microrganismos no processo anaeróbio (Mao *et al*, 2015), que ocorre em decorrência da adição de alta quantidade de substrato de fácil degradação, o que faz com os estes microrganismos busquem como alternativa o consumo que garanta menor gasto energético.



Chunyan *et al* (2023), explica que o aumento das concentrações de salinidade são fatores que interferem na atividade metabólica, assim como na diversidade dos microrganismos. Somados a alta concentração de sacarose no meio, isso explica não só a ausência de remoção nos reatores A.N Salino, como também o motivo da ausência de atividade biodegradante, devido à inibição de secreção enzimática pela da alta pressão osmótica e redução de solubilidade de oxigênio e hidrocarbonetos disponíveis (Hazaimh e Ahmed, 2021).

A maioria dos microrganismos estão mais sensíveis aos valores altos de salinidade, Thacharodi *et al* (2023) relata que a existência de níveis altos de sal no ambiente impossibilita que os microrganismos atuam no processo de degradação de materiais e salienta que a biorremediação de hidrocarbonetos aromáticos policíclicos (HAP) reduz drasticamente. Estudos anteriores, mostraram que a biodegradação dos HAPs foi inibida pela salinidade em 3%, enquanto em 1%, ocorreu um aumento modesto na taxa de degradação deste composto (Li *et al*, 2022).

Quando Ward e Brock (1978) examinaram o potencial de um lago salino (*Great Salt Lake*), nos Estados Unidos, descobriram que as taxas de degradação de hidrocarbonetos diminuiram à medida que a salinidade aumentava, de 3,3 para 28,4%. Em um estudo posterior, Sei e Fathepure (2009) usaram uma cultura adaptada às condições deste lago que foi capaz de degradar o benzeno e tolueno como única fonte de carbono para várias concentrações de salinidade (14 a 29%).

A presença do cloreto afeta a eficiência da biodegradação, seja na forma de NaCl ou Cl, conforme evidenciado por Santos (2010) que reportou baixa eficiência na degradação da matéria orgânica devido à concentração de cloreto presente em concentrações maiores que 4 gCl/L. O que mostra que a existência de Cl no meio pode ser fator restritivo à degradação por microrganismos.

Nos trabalhos de remoção de benzeno, tolueno e xileno de Pessoa Wanderley *et al* (2020), o potencial de remoção da matéria orgânica chegaram a 74%, utilizando *Aspergillus niger* como inóculo na degradação. Já Rodrigues *et al* (2017), em estudos anteriores, conseguiu uma eficiência na remoção de DQO de 48% em uma das etapas de seu estudo com compostos BTEX. Os dados obtidos neste trabalho, não conseguiram chegar próximos aos dos autores citados, mas a existência de inibidores nos processos foram fatores limitantes para a eficiência do processo de biodegradação, mas frente às condições de salinidade de um fungo não halotolerante, os dados de remoção em A.N CBC foram bastante satisfatórios, o que leva a crer que o maior fator inibitório é a alta concentração de sacarose, que impossibilitou a remoção da DQO no reator A.N Não Salino.

## CONCLUSÕES

O teste de halotolerância mostrou que *Aspergillus niger* AN400 suportou bem seu crescimento até a salinidade máxima de 10% (v/v). A operação do reator em batelada com inóculo fúngico de *Aspergillus niger* AN400 sofreu influência da presença de sacarose em alta concentração (30 g/L), reprimindo ao consumo de matéria orgânica, sendo que concentração mais baixa de 1 g/L de sacarose demonstrou ser mais viável, observando-se diminuição da DQO de quase 30%, não sendo possível afirmar o quanto de BTEX teria sido removido do meio, devido à impossibilidade da execução de análises para a determinação desses compostos.

Sendo observado este progresso de crescimento fúngico em ambiente salino, pôde-se identificar, de forma simultânea, o potencial biotecnológico da utilização deste fungo em ambiente salino, podendo, desta forma, ser aplicado em processos de biorremediação em ambientes marinhos.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. AFONSO, Sara de Oliveira Mateus. **Aspergillus niger: sua utilização na indústria farmacêutica sua utilização na indústria farmacêutica**. Orientador: Maria Helena Barroso. 2015. 88 f. Dissertação (Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas) - INSTITUTO SUPERIOR DE CIÊNCIAS DA SAÚDE EGAS MONIZ, [S. l.], 2015. DOI <http://hdl.handle.net/10400.26/10960>. Disponível em: <https://comum.rcaap.pt/bitstream/10400.26/10960/1/Afonso%20Sara%20de%20Oliveira%20Matheus.pdf>. Acesso em: 7 abr. 2023.
2. ANDRADE, Marcus Vinicius Ribeiro Fernandes de; DEUSDARÁ, Tullio Teixeira; SCHEIDT, Gessiel Newton; CHAGAS JUNIOR, Aloísio Freitas. Isolamento, caracterização fenotípica e perfil



- de crescimento de Cepas do Fungo *Cunninghamella* sp. de Solo do Sul do Tocantins, Brasil. **Biota Amazônia**, Macapá, v.5, n. 2, p. 58-64, Abril 2015. DOI <http://periodicos.unifap.br/index.php/biota>. Disponível em: [https://www.researchgate.net/publication/281358547\\_Isolamento\\_Caracterizacao\\_Fenotipica\\_e\\_Profil\\_de\\_Crescimento\\_de\\_Cepas\\_do\\_Fungo\\_Cunninghamella\\_sp\\_de\\_Solo\\_do\\_Sul\\_do\\_Tocantins\\_Brasil](https://www.researchgate.net/publication/281358547_Isolamento_Caracterizacao_Fenotipica_e_Profil_de_Crescimento_de_Cepas_do_Fungo_Cunninghamella_sp_de_Solo_do_Sul_do_Tocantins_Brasil). Acesso em: 9 maio 2023.
3. ANDRADE, Meire Cristina Nogueira De. **CONTROLE DE FUNGOS CONTAMINANTES NO CULTIVO DO COGUMELO COMESTÍVEL SHIITAKE (*Lentinula edodes*) EM TOROS DE EUCALIPTO (*Eucalyptus urophylla*)**. Orientador: Prof. Dr. Luiz Antônio Graciolli. 2003. 67 f. Dissertação (Mestrado) - Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Ilha Solteira - SP, 2003. Disponível em: <https://repositorio.unesp.br/handle/11449/98870>. Acesso em: 11 maio 2023.
  4. APHA. **Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater**. 20th ed., Washington, D.C: American Public Health Association/American Water Works Association/Water Environment Federation. 1496p. 2012.
  5. BERMÚDEZ, V. M.S., Bezerra Farias, L., Marinho, G. M., de Araújo Rodrigues Pessoa, K., & Marinho Silva, G. M. (2019). ESTUDO DA DEGRADAÇÃO DO PARAQUAT EM REGIME DE BATELADA AGITADA INOCULADOS COM *Phanerochaete chrysosporium* COM ADIÇÃO DE GLICOSE OU SACAROSE. **Revista AIDIS De Ingeniería Y Ciencias Ambientales**. Investigación, Desarrollo Y práctica, 12(3), 432–452. <https://doi.org/10.22201/iingen.0718378xe.2019.12.3.63291>
  6. BERMÚDEZ, V. M. S. **Estudo comparativo de espécies fúngicas para degradar paraquat em reatores em batelada**. Orientador: Profa. Titular Glória Maria Marinho Silva. 2018. 118 f. Dissertação (Mestrado) - Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Ceará, Fortaleza - Ceara, 2018.
  7. BUONAFINA, Maria Daniela Silva. **Caracterização in vitro de fungos quanto aos glicoconjugados da superfície celular e formação de biofilme para avaliação do tratamento na otomicose experimental**. Orientador: Profª. Drª. Rejane Pereira Neves. 2014. 75 f. Dissertação (Pós-Graduação em Biologia de Fungos) - Universidade Federal de Pernambuco Centro de Biociências, Recife, 2014. DOI <https://repositorio.ufpe.br/handle/123456789/26649>. Disponível em: <https://repositorio.ufpe.br/bitstream/123456789/26649/1/DISSERTA%20c3%87%20Maria%20Daniela%20Silva%20Buonafina.pdf>. Acesso em: 7 abr. 2023.
  8. CAO, Xiaoqing; GAO, Xue; ZHENG, Kai; WU, Shan; WU, Yanan; MENG, Guodong; HU, Zhen; NIU, Qigui; SU, Jixin. Efficient pollutants removal and microbial flexibility under high-salt gradient of an oilfield wastewater treatment system. **Science of The Total Environment**, [s. l.], v. 823, n. 153619, p. 1-12, 1 jun. 2022. DOI <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2022.153619>. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0048969722007112?via%3Dihub>. Acesso em: 9 maio 2023.
  9. CHUNYAN, Xu; QARIA, Majjid A.; QI, Xu; DAOCHEN, Zhu. The role of microorganisms in petroleum degradation: Current development and prospects. **Science of The Total Environment**, [s. l.], v. 865, n. 161112, p. 1-15, 20 mar. 2023. DOI <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2022.161112>. Disponível em:



SIMPÓSIO LUSO-BRASILEIRO  
DE ENGENHARIA SANITÁRIA  
E AMBIENTAL



<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0048969722082158?via%3Dihub>. Acesso em: 8 maio 2023.

10. DAÂSSI, Dalel; QABIL ALMAGHRIBI, Fatimah. 3 Biotech. **Petroleum-contaminated soil: environmental occurrence and remediation strategies**, [s. l.], 25 maio 2022. DOI 10.1007/s13205-022-03198-z. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/35646506/>. Acesso em: 28 jul. 2023.
11. GANESAN, M; MANI, R; SAI, S; KASIVELU, G; AWASTHI, M. K; RAJAGOPAL, R; AZELEE, N. I. W.; SELVI, P. K; CHANG, S. W; RAVINDRAN, B. Bioremediation of polycyclic aromatic hydrocarbons. **Chemosphere**, [s. l.], v. 303, Part 1, 2022. DOI <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2022.134956>. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0045653522014497>. Acesso em: 9 maio 2023.
12. GIACOMINI, Maria Carolina Arnold. **ESTUDO DE MONITORAMENTO DA BIOTA EM COLUNAS DE WINOGRADSKY CONTAMINADAS COM ÓLEO DIESEL PURO**. Orientador: Prof. Dr. Ederio Dino Bidoia. 2022. 51 f. TCC (Graduação) - UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JÚLIO DE MESQUITA FILHO” INSTITUTO DE BIOCÊNCIAS, Rio Claro, 2022. DOI <http://hdl.handle.net/11449/216352>. Disponível em: <https://repositorio.unesp.br/handle/11449/216352>. Acesso em: 4 jul. 2023.
13. HAZAIMEH, Mohammad Daher; AHMED, Enas S. Bioremediation perspectives and progress in petroleum pollution in the marine environment: a review. **Environmental Science and Pollution Research**, [S. l.], v. 28, 13 ago. 2021. DOI <https://doi.org/10.1007/s11356-021-15598-4>. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1007/s11356-021-15598-4#citeas>. Acesso em: 27 jul. 2023.
14. LI, Yang; LI, Wenjing Li; JI, Lei; SONG, Fanyong; LI, Tianyuan; FU, Xiaowen; LI, Qi; XING, Yingna; ZHANG, Qiang; WANG, Jianing. Effects of Salinity on the Biodegradation of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in Oilfield Soils Emphasizing Degradation Genes and Soil Enzymes. **Front Microbiol**, [s. l.], v. 12, 11 jan. 2022. DOI 10.3389/fmicb.2021.824319. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/35087508/>. Acesso em: 27 jul. 2023.
15. MAO, Chunlan; FENG, Yongzhong; WANG, Xiaojiao; REN, Guangxin. Review on research achievements of biogas from anaerobic digestion. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, [S. l.], v. 45, p. 540-555, 15 maio 2015. DOI <https://doi.org/10.1016/j.rser.2015.02.032>. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S1364032115001203?via%3Dihub>. Acesso em: 28 jul. 2023.
16. MELLO, F. E; SILVA, H. P; CELESTINO, G. G; LOPES, I. O. N; BALBI-PEÑA, M. I; GODOY, C. V. Crescimento micelial radial e esporulação de isolados de *Corynespora cassiicola*. **Summa Phytopathol**, BOTUCATU - SP, v. 44, ed. 4, p. 374-379, 2018. DOI <https://doi.org/10.1590/0100-5405/177612>. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/sp/a/Qrd3RFHTC6PH8mR4BkFsYv/?lang=pt#>. Acesso em: 16 out. 2023.
17. MUANGCHINDA, Chanokporn; RUNGSIHIRANRUT, Adisan; PROMBUTARA, Pinidphon; SOONGLERDSONGPHA, Suwat; PINYAKONG, Onruthai. 16S metagenomic analysis reveals adaptability of a mixed-PAH-degrading consortium isolated from crude oil-contaminated seawater to changing environmental conditions. **Journal of Hazardous Materials**, [s. l.], ano 2018, v. 375, n. 125968, p. 119-127, 5 set. 2018. DOI <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2018.05.062>. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0304389418304187>. Acesso em: 28 jul. 2023.



18. OLIVEIRA, R; SILVA; S. A. **Manual de análises físico-químicas de águas de abastecimento e residuárias**. Campina Grande, PB - Editora G.Marcone. 270p. 2001.
19. OLIVEIRA, João Almir. **Efeito do tratamento fungicida em sementes e no controle de tombamento de plântulas de pepino (*Cucumis sativus* L.) e pimentão (*Capsicum annum* L.)**. Orientador: José da Cruz Machado. 1991. 131 f. Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal de Lavras, Lavras - Minas Gerais, 1991. Disponível em: <http://repositorio.ufla.br/handle/1/33483>. Acesso em: 11 maio 2023.
20. PESSOA WANDERLEY, C. R.; DA SILVA SIQUEIRA, J. P.; FREIRE ANDRADE, M. V.; CARVALHO DE OLIVEIRA, P. C.; SILVEIRA DUARTE, I. C.; MARINHO SILVA, G. M.; RODRIGUES PESSOA, K. de A. **REMOÇÃO DE BENZENO, TOLUENO E XILENO EM REATORES FÚNGICOS EM BATELADA**. *Revista AIDIS de Ingeniería y Ciencias Ambientales*. Investigación, desarrollo y práctica, [S. l.], v. 13, n. 2, p. 431–442, 2020. DOI: 10.22201/iingen.0718378xe.2020.13.2.62666. Disponível em: <https://www.revistas.unam.mx/index.php/aidis/article/view/62666>. Acesso em: 22 ago. 2023.
21. RODRIGUES, Kelly; OLIVEIRA, Patricia Celestino Carvalho de; MOREIRA, Isabel Cristina de Queiroz; FIRMINO, Sara Fatima Gomes; PESSOA WANDERLEY, Carlos Ronald; ARAUJO, Rinaldo dos Santos; MARINHO, Gloria. **Remoção de BTEX por fungos em reator aeróbio de escoamento contínuo**. *Eng Sanit Ambient*, [s. l.], v. 22, ed. 4, p. 809-820, Agost 2017. DOI 10.1590/S1413-41522017129981. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/esa/a/QnQhXf6fgxzFPHZPBHpJdKt/#>. Acesso em: 28 jul. 2023.
22. SANTIAGO, Maria Vitória Gonçalves Santiago. **APLICAÇÃO DE RESÍDUOS LÁCTEOS VENCIDOS NA OBTENÇÃO DE BIOGÁS EM REATORES ANAERÓBIOS EM BATELADA**. Orientador: Profª. Drª. Sandra Imaculada Maintinguer. 2020. 49 f. TCC (Graduação) - UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA, Rio Claro, SP, 2020. Disponível em: <https://repositorio.unesp.br/handle/11449/244034>. Acesso em: 1 ago. 2023.
23. SANTOS, Jorge Augusto de Carvalho. **Estudo da influência do cloro de sódio na remoção de matéria orgânica, na determinação da DQO e na microbiota em um sistema de tratamento aeróbio por lodos ativados**. Orientador: Prof. Tit. Jurandy Povinelli. 2010. 104 f. Dissertação (Mestrado) - UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO - Escola de Engenharia de São Carlos, São Carlos, 2010. DOI 10.11606/D.18.2010.tde-11112010-093116. Disponível em: <https://www.teses.usp.br/teses/disponiveis/18/18138/tde-11112010-093116/en.php>. Acesso em: 27 jul. 2023.
24. SEI, A; FATHEPURE, B. Z. Biodegradation of BTEX at high salinity by an enrichment culture from hypersaline sediments of Rozel Point at Great Salt Lake. *Journal of Applied Microbiology*, [s. l.], v. 107, p. 2001-2008, 1 dez. 2009. DOI <https://doi.org/10.1111/j.1365-2672.2009.04385.x>. Disponível em: <https://academic.oup.com/jambio/article-abstract/107/6/2001/6720010?redirectedFrom=fulltext>. Acesso em: 29 jul. 2023.
25. SONWANI, Ravi Kumar; KIM, Ki-Hyun; ZHANG, Ming; TSANG, Yiu Fai; LEE, Sang Soo; GIRI, Balendu Shekher; SINGH, Ram Sharan; RAI, Birendra Nath. Construction of biotreatment platforms for aromatic hydrocarbons and their future perspectives. *Journal of Hazardous Materials*, [s. l.], v.



SIMPÓSIO LUSO-BRASILEIRO  
DE ENGENHARIA SANITÁRIA  
E AMBIENTAL



416, n. 125968, p. 1-26, 15 ago. 2021. DOI <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2021.125968>.

Disponível em:

<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0304389421009328?via%3Dihub>. Acesso em: 8 maio 2023.

26. THACHARODI, Aswin; HASSAN, Saqib; SINGH, Tripti; MANDAL, Ramkrishna; CHINNADURAI, Jeganathan; KHAN, Hilal Ahmad; HUSSAIN, Mir Ashiq; BRINDHADEVI, Kathirvel; PUGAZHENDHI, Arivalagan. Bioremediation of polycyclic aromatic hydrocarbons: An updated microbiological review. **Chemosphere**, [S. l.], v. 328, p. -, 1 jun. 2023. DOI <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2023.138498>. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0045653523007658?via%3Dihub>. Acesso em: 27 jul. 2023.
27. WARD, D M; BROCK, T D. Hydrocarbon biodegradation in hypersaline environments. **Appl Environ Microbiol**, [s. l.], Fev 1978. DOI 10.1128/aem.35.2.353-359.1978. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/16345276/>. Acesso em: 29 jul. 2023.