



UNIVERSIDADE ESTADUAL DO SUDOESTE DA BAHIA – UESB
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA

BIORREMEDIAÇÃO DE POLUENTES ORGÂNICOS EM MEIO
AQUOSO UTILIZANDO FUNGOS FILAMENTOSOS

LUIZ FILIPE NONATO SILVA

ITAPETINGA – BAHIA - BRASIL
NOVEMBRO - 2024

LUIZ FILIPE NONATO SILVA

**BIORREMEDIAÇÃO DE POLUENTES ORGÂNICOS EM MEIO
AQUOSO UTILIZANDO FUNGOS FILAMENTOSOS**

Dissertação apresentada à Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Química para obtenção do título de Mestre em Química Analítica.

Orientadora: Prof^a Dr^a Alexilda Oliveira Souza

Co-orientadora: Prof^a Dr^a Silmara Almeida Carvalho

**ITAPETINGA – BAHIA - BRASIL
NOVEMBRO – 2024**

TERMO DE APROVAÇÃO

LUIZ FILIPE NONATO SILVA

“Biorremediação de Poluentes Orgânicos em Meio Aquoso Utilizando Fungos Filamentosos”

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Química da Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre em Química.

COMISSÃO EXAMINADORA



Documento assinado digitalmente
ALEXILDA OLIVEIRA DE SOUZA
Data: 26/11/2024 13:02:49-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Profa. Dra. Alexilda Oliveira de Souza
(Universidade Estadual de Campinas – SP, 2001)
(Orientadora)



Documento assinado digitalmente
SILMARA ALMEIDA DE CARVALHO
Data: 28/11/2024 10:20:48-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Profa. Dra. Silmara Almeida de Carvalho
(UFMG, Belo Horizonte – MG, 2009)
Coorientadora



Documento assinado digitalmente
BARAQUIZIO BRAGA DO NASCIMENTO JÚNIOR
Data: 27/11/2024 15:38:49-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Prof. Dr. Baraquizio Braga do Nascimento Júnior (UFRJ,
Rio de Janeiro – RJ, 2008)



Documento assinado digitalmente
LUCIANA AMARAL DE FARIA
Data: 26/11/2024 15:03:58-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Profa. Dra. Luciana Amaral de Faria
(UESB, Itapetinga – BA, 2019)

Dissertação aprovada pelo Colegiado do Curso de Pós-graduação em Química em

____/____/____

Dedico este trabalho aos meus pais, Washington Luiz de Melo Silva e Maria Cristina Raimunda Nonato, por todo o apoio, amor e confiança incondicional ao longo dos anos.

E ao meu avô, Faustino Alves da Silva, que me acompanha e abençoa através do outro plano, muito obrigado, sei que o senhor está imensamente orgulhoso!

“Portanto, meus amados irmãos, sede firmes e constates, sempre abundantes na obra do senhor, sabendo que o vosso trabalho não é vão.”

Paulo (I Coríntios, 15:58.)

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus por toda glória e oportunidade que recebi. Enfrentei inúmeras dificuldades ao longo do caminho, mas sei que contei com o apoio de muitos para chegar até aqui. Desde pequeno, sonhei em alcançar lugares que pareciam impossíveis e, se Deus quiser, ainda chegarei a patamares inimagináveis seguindo seus ensinamentos. Espero manter sempre a humildade, sabedoria e espiritualidade para me guiar, pois acredito que o impossível se torna possível para quem tem fé.

Agradeço profundamente aos meus pais, Washington Luiz de Melo Silva, Maria Cristina Raimunda Nonato e ao meu irmão Lucas Nonato Silva. Sei que, sem o apoio e o amor de vocês, eu não teria conseguido. Agradeço a toda família por todo carinho e companheirismo.

Sou imensamente grato às minhas orientadoras, Alexilda Oliveira de Souza e Silmara Almeida de Carvalho, por todo o aprendizado, paciência, carinho e confiança ao longo da minha jornada acadêmica. Vocês foram um presente para a minha formação, e sou muito grato por cada etapa do processo.

Agradeço à Prof^a Carla Larissa Meira pelo apoio e ajuda no preparo das amostras para as análises de FTIR.

Aos meus amigos, especialmente Ariane Vieira, Janaína Freire, Larissa Paim e Luara Oliveira, vocês são minha fortaleza. Obrigado por sempre estarem ao meu lado.

À minha amiga e colega de mestrado, Mariele Moraes, tenho um imenso orgulho da mulher incrível que você é. Tenho certeza de que vamos alcançar voos incríveis juntos. Amo você!

Aos meus amigos do laboratório (CEPEQ), obrigado por todo o companheirismo e por tornarem nosso ambiente de trabalho sempre tão agradável. Vocês são incríveis!

Agradeço à Coordenação de Aperfeiçoamento Pessoal de Nível Superior (Capes) pelo apoio financeiro através da concessão da bolsa, e à Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia (UESB) por me proporcionar a oportunidade de ingressar na pós-graduação.

MUITO OBRIGADO!

RESUMO

SILVA, L.F.N. **BIORREMEDIAÇÃO DE POLUENTES ORGÂNICOS EM MEIO AQUOSO UTILIZANDO FUNGOS FILAMENTOSOS**. Itapetinga – BA: UESB, 2024. 75 p. (Dissertação – Mestrado em Química).

A poluição dos recursos hídricos é um desafio global que afeta os ecossistemas aquáticos e, por consequência, a saúde humana. As atividades industriais, agrícolas e urbanas agravam esse problema, demandando o aprimoramento de técnicas mais eficazes para o tratamento de efluentes contaminados. A biorremediação surge como uma alternativa aos métodos tradicionais de tratamento, pois não demanda a utilização de reagentes químicos, bem como elevados investimentos. Neste processo são utilizados microrganismos que atuam consumindo os poluentes orgânicos e inorgânicos, biotransformando em espécies não tóxicas. Este estudo teve como objetivo investigar o potencial de fungos endofíticos na biorremediação de poluentes orgânicos, especificamente fenol e corantes azoicos, amplamente utilizados em diversas indústrias e que contribuem para a poluição ambiental. Realizou-se uma seleção primária com 48 isolados de fungos endofíticos de videiras, seguido da seleção secundária onde 5 isolados mais promissores foram aplicados em um processo cinético de fermentação em estado líquido sob três condições: meio aquoso com os contaminantes sob agitação e, em meio nutricional CZAPEC sob duas condições de cultivo: movimento circular e estático. Selecionou-se os caldos fermentados dos melhores resultados, após a biorremediação, para análise por espectroscopia no infravermelho com transformada de Fourier (FTIR). Foram realizados testes de citotoxicidade utilizando *Artemia salina* com objetivo de analisar a toxicidade do meio após o processo de biorremediação. O isolado 47 apresentou-se como o fungo com maior capacidade de biorremediar o fenol, com 98,84% de redução do poluente em meio aquoso sob agitação, seguido do isolado 30 que foi capaz de reduzir 52,97% do fenol em meio Czapec sob agitação. Quanto a biorremediação do corante amarelo tartrazina verificou-se que a fermentação aquosa não apresentou bons resultados. Por outro lado, quando a fermentação foi enriquecida com o meio Czapec, o sistema apresentou melhor desempenho, com o isolado 01 apresentando 73,56% de redução do corante em fermentação líquida na condição estática. O teste com a *A. salina* indicou ausência de toxicidade nos sistemas biorremediados. Os espectros de FTIR evidenciaram mudanças nos modos vibracionais das moléculas de fenol e do corante amarelo tartrazina, sugerindo alterações estruturais após o processo de biorremediação. Entre os isolados com os melhores desempenhos, realizou-se a identificação do *Aspergillus niger* e *Epicoccum* sp, correspondendo, respectivamente, a fungo do gênero *Aspergillus* e *Epicoccum*. Os resultados obtidos apontaram que os fungos endofíticos de videira apresentaram potencial biorremediador dos poluentes estudados. Entretanto, notou-se diferentes comportamentos, o fenol foi melhor biorremediado em meio aquoso e sob agitação, enquanto o amarelo tartrazina foi melhor biorremediado com enriquecimento do meio com caldo Czapec e sob a condição estática.

Palavras-chave: Recursos hídricos, Corantes azo, fenol, *Aspergillus niger*, *Epicoccum* sp.

ABSTRACT

SILVA, L.F.N. **BIOREMEDIATION OF ORGANIC POLLUTANTS IN AQUEOUS MEDIUM USING FILAMENTOUS FUNGI**. Itapetinga – BA: UESB, 2024. 75 p. (Dissertation – Master's in Chemistry).

Water resource pollution is a global challenge that affects aquatic ecosystems and, consequently, human health. Industrial, agricultural and urban activities aggravate this problem, demanding the improvement of more effective techniques for the treatment of contaminated effluents. Bioremediation emerges as an alternative to traditional treatment methods, as it does not require the use of chemical reagents, as well as high investments. In this process, microorganisms are used that act by consuming organic and inorganic pollutants, biotransforming them into non-toxic species. This study aimed to investigate the potential of endophytic fungi in the bioremediation of organic pollutants, specifically phenol and azo dyes, which are widely used in several industries and contribute to environmental pollution. A primary selection was carried out with 48 isolates of endophytic fungi from grapevines, followed by secondary selection where 5 most promising isolates were applied in a kinetic process of fermentation in a liquid state under three conditions: aqueous medium with the contaminants under agitation and in CZAPEC nutritional medium under two culture conditions: circular and static movement. The fermented broths with the best results after bioremediation were selected for analysis by Fourier transform infrared spectroscopy (FTIR). Cytotoxicity tests were performed using *Artemia salina* to analyze the medium's toxicity after the bioremediation process. Isolate 47 was the fungus with the greatest capacity to bioremediate phenol, with 98.84% reduction of the pollutant in aqueous medium under agitation, followed by isolate 30, which was able to reduce 52.97% of phenol in Czapec medium under agitation. Regarding the bioremediation of the tartrazine yellow dye, it was found that aqueous fermentation did not present good results. On the other hand, when the fermentation was enriched with the Czapec medium, the system presented better performance, with isolate 01 presenting a 73.56% reduction of the dye in liquid fermentation under static conditions. The test with *A. salina* indicated the absence of toxicity in the bioremediated systems. The FTIR spectra evidenced changes in the vibrational modes of the phenol molecules and the tartrazine yellow dye, suggesting structural alterations after the bioremediation process. Among the isolates with the best performances, the identification of *Aspergillus niger* and *Epicoccum sp* was carried out, corresponding, respectively, to fungi of the genus *Aspergillus* and *Epicoccum*. The results obtained indicated that the endophytic fungi of grapevine presented bioremediation potential of the studied pollutants. However, different behaviors were noted, phenol was better bioremediated in aqueous medium and under agitation, while tartrazine yellow was better bioremediated with enrichment of the medium with Czapec broth and under static conditions.

Keywords: water resources, azo dye, phenol, *Aspergillus sp*, *Epicoccum sp*.

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Propriedades físico-químicas do corante amarelo tartrazina.....	19
Tabela 2: Propriedades físico-químicas do fenol.....	21
Tabela 3: Funções enzimáticas para biorremediação de contaminantes.	28
Tabela 4: Percentual do 9º dia de Biodegradação do Corante Amarelo Tartrazina por Fungos Endofíticos.	45
Tabela 5: Percentual de Biodegradação de Fenol por Fungos Endofíticos após 18 dias.....	52
Tabela 6: Quantificação do perfil de crescimento dos fungos estudados ao longo de 10 dias frente ao modelo contaminante (Fenol) e (Amarelo Tartrazina).	61

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Imagem de poluição dos recursos hídricos. Fonte: (Canva, 2024).....	15
Figura 2: Estrutura química corante amarelo tartrazina. Fonte: (Canva, 2024)	18
Figura 3: Estrutura fenólica. Fonte: (Canva, 2024)	22
Figura 4 : Visão geral de metodologias combinatórias para biorremediação.....	25
Figura 5: Comparação entre os processos de bioacumulação e bio sorção	26
Figura 6: Degradação de corantes azo por fungos filamentosos.	30
Figura 7: Biodegradação do fenol por <i>Chlamydomonas reinhardtii</i>	33
Figura 8: Curva de calibração das concentrações de fenol.	37
Figura 9: Curva de calibração das concentrações do amarelo tartrazina.	38
Figura 10: Imagens das placas de Petri com fungos filamentosos endofíticos e seus crescimentos celulares em BDA adicionados de 100 e 500 mg.L ⁻¹ de Fenol e de Amarelo Tartrazina. Fonte: Autor (2024)	40
Figura 11: Comparação dos microrganismos selecionados, após 7 dias contendo 10 mg.L ⁻¹ de Amarelo tartrazina. Fonte: Autor (2024).....	41
Figura 12: Perfil de remoção do Corante Amarelo Tartrazina em meio aquoso a 100 mg.L ⁻¹ pelos isolados 1, 5, 27, 30 e 47 (sob agitação). Fonte: Autor (2024)	42
Figura 13: Perfil de remoção do corante Amarelo tartrazina em meio nutricional CZAPEC a 100 mg.L ⁻¹ pelos isolados 1, 5, 27, 30 e 47 (sob agitação). Fonte: Autor (2024)	43
Figura 14: Biorremediação de 100 mg.L ⁻¹ do corante amarelo tartrazina utilizando meio CZAPEC em movimento circular uniforme.: Fonte: autor	44
Figura 15: Perfil de remoção do Amarelo Tartrazina em meio nutricional CZAPEC a 500 mg.L ⁻¹ pelos isolados 1, 5, 27, 30 e 47 (em meio estático). Fonte: Autor (2024).....	44
Figura 16: Perfil de remoção do Fenol em sistema aquoso a 500 mg.L ⁻¹ pelos isolados 1, 5, 21, 27, 30 e 47 (sob agitação). Fonte: Autor (2024)	48
Figura 17: Perfil de remoção do Fenol em meio nutricional CZAPEC a ± 500 mg.L ⁻¹ pelos isolados 1, 5, 27, 30 e 47 (sob agitação). Fonte: Autor (2024)	50
Figura 18: Perfil de remoção do Fenol em meio nutricional CZAPEC a 500 mg.L ⁻¹ pelos	

isolados 1, 5, 27, 30 e 47 (em meio estático). Fonte: Autor (2024).....	51
Figura 19: Sobreposição dos espectros no infravermelho do fenol e do seu respectivo produto de biorremediação por <i>A. niger</i> e <i>Epicoccum</i> sp.. Fonte: Autor (2024).	54
Figura 20: Sobreposição dos espectros no infravermelho do amarelo tatrazina e do seu respectivo produto de biorremediação por <i>A. niger</i> e <i>Epicoccum</i> sp. Fonte: Autor (2024).	56

LISTA DE ABREVIações E SIGLAS

ANVISA - Agência Nacional de Vigilância Sanitária

CEPEQ - Centro de Pesquisa em Química

CONAMA - Conselho Nacional do Meio Ambiente

EPA - Environmental Protection Agency

IA - inteligência artificial

LQABio - Laboratório de Química Ambiental e Biotecnologia/

PDA – Potato dextrose agar

POA - Processos de Oxidação Avançada

SMC - sistemas modelo de contaminantes

BDA - Batata-Dextrose-Ágar

SSE - solução de suspensão de esporos

RFC- Reagente de Folin-Ciocalteu

UASB-Upflow Anaerobic Sludge Blanket.

DL50 - Dose letal 50

FTIR - Espectroscopia de Infravermelho com transformada de Fourier

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	12
2	REFERENCIAL TEÓRICO	14
2.1	<i>Poluição dos recursos hídricos.</i>	14
2.1.1	<i>Corantes</i>	16
2.1.2	<i>Fenóis</i>	20
2.2	Tecnologias para o tratamento de efluentes contendo poluentes orgânicos	23
2.2.1	Biorremediação: Uma Alternativa Sustentável	24
2.2.2	Biorremediação de corantes	28
2.2.3	Biorremediação de Fenóis	31
3	OBJETIVO	34
3.1	Objetivo Geral	34
3.2	Objetivos Específicos	34
4	MATERIAIS E MÉTODOS	35
4.1	<i>Micro-organismos isolados</i>	35
4.2	<i>Métodos de Análise</i>	35
4.2.1	<i>Screening de fungos filamentosos endofíticos para degradação de fenol e corante azo</i>	35
4.2.2	<i>Seleção secundária de isolados</i>	35
4.2.3	<i>Perfil de degradação de fenol</i>	36
4.2.4	<i>Perfil de degradação do Amarelo Tartrazina</i>	37
4.2.5	<i>Avaliação toxicológica dos SMC</i>	38
4.2.6	<i>Espectroscopia de Infravermelho com transformada de Fourier FTIR</i>	38
5	RESULTADOS E DISCUSSÃO	40
5.1	<i>Seleção primária de isolados</i>	40
5.2	<i>Seleção secundária de isolados</i>	41
5.2.1	<i>Biorremediação do Corante Amarelo Tartrazina</i>	41
5.2.2	<i>Biorremediação do Fenol</i>	48
5.3	Resultados de espectroscopia FTIR	53
5.4	Avaliação toxicológica dos isolados identificados	57
6	CONCLUSÃO	59
7	PERSPECTIVAS FUTURAS.....	60
8	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	65

1 INTRODUÇÃO

Muitos processos industriais geram efluentes ricos em compostos orgânicos e inorgânicos, que, ao serem descartados inadequadamente, contaminam recursos hídricos e impactam ecossistemas e a saúde humana. Entre os poluentes orgânicos, destacam-se os corantes sintéticos e fenóis, amplamente usados em indústrias como farmacêutica, têxtil, petroquímica, de pesticidas, resinas, papel e petróleo, sendo encontrados em diversas concentrações em águas residuais provenientes dessas atividades.

Para mitigar esses riscos, o Conselho Nacional do Meio Ambiente limita o descarte de fenóis a 0,5 mg/L em efluentes, conforme padrão de lançamento para qualquer tipo de efluente. Já o limite máximo permitido de fenol em água destinada ao abastecimento público é de 0,1 µg/L, conforme estipulado pelo Ministério da Saúde (Portaria 36/GM de 1990), visando evitar danos à saúde humana.

Os corantes sintéticos, amplamente usados nas indústrias têxtil, alimentícia e de papel, causam severos impactos ambientais quando descartados inadequadamente, devido à sua complexidade estrutural, estabilidade química e baixa biodegradabilidade (BANERJEE; CHATTOPADHYAYA, 2017). Em águas naturais, inibem a fotossíntese, reduzem a qualidade da água e são tóxicos para organismos aquáticos. Além disso, a bioacumulação de alguns corantes representa riscos à saúde humana e à biodiversidade (KUMAR, 2024).

O desenvolvimento de soluções para tratar efluentes e reduzir compostos orgânicos e inorgânicos vem sendo estruturados, com vistas a atender os Objetivos de Desenvolvimento Sustentável (ODS), especialmente o ODS 3, que visa reduzir, até 2030, mortes e doenças causadas por produtos químicos e poluição.

As técnicas convencionais de tratamento de efluentes orgânicos, como coagulação, flotação e adsorção, demandam alto investimento e apenas transferem poluentes, podendo gerar poluição secundária (CAVALCANTE et al., 2018; SHI et al., 2020). Assim, torna-se urgente adotar técnicas eficientes, ecologicamente sustentáveis e de baixo custo para mitigar os impactos da poluição hídrica. Nesse contexto, os processos biotecnológicos, como por

exemplo a biorremediação, apresentam potencial para atender os requisitos destacados.

A biorremediação consiste em um processo biotecnológico que utiliza organismos vivos, como microrganismos (bactérias, fungos) ou plantas, para remover, degradar ou neutralizar poluentes em ambientes (SINGH, et al. 2024). Os sistemas de biodegradação têm se destacado como alternativa no âmbito da química verde, pois são processos ambientalmente amigáveis que utilizam microrganismos como bactérias, fungos, leveduras e algas para tratar águas residuais (MAHMOUD et al., 2017; XIAO et al., 2018; SHINDHAL et al., 2021).

De acordo com Mahmoud e colaboradores (2017), os fungos, especialmente cepas de *Aspergillus niger*, apresentam elevada capacidade para mineralizar e degradar uma série de compostos orgânicos, lignina e compostos altamente tóxicos. Isso ocorre porque os fungos produzem uma grande quantidade de enzimas extracelulares e intracelulares que podem digerir uma ampla gama de contaminantes orgânicos, incluindo corantes sintéticos, resíduos orgânicos, produtos esteróides e compostos aromáticos (SHINDHAL et al., 2021; RATHI & KUMAR, 2022). Além disso, o uso de fungos para o tratamento de águas residuais está alinhado com o Objetivo de Desenvolvimento Sustentável (ODS) 6 - Água Potável e Saneamento, que, até 2030, visa melhorar a qualidade da água, reduzindo a poluição, eliminando despejos inadequados e minimizando a liberação de produtos químicos perigosos.

O cumprimento das regulamentações ambientais e a adesão aos ODS reforçam a importância de estratégias que promovam um equilíbrio entre o progresso industrial e a preservação da saúde humana e ambiental. Diante do exposto, a proposta do presente estudo foi identificar fungos endofíticos com potencial para serem aplicados como agentes biorremediadores de sistemas aquosos contaminados com fenol e corante amarelo tartrazina.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 *Poluição dos recursos hídricos.*

A água é um recurso indispensável para todos os ecossistemas e cobre cerca de 70% da superfície do planeta. Apesar de ser renovável, apenas 0,003% do volume total de água está disponível para consumo humano. A poluição dos recursos hídricos é uma realidade crescente, embora existam processos eficazes no tratamento, muitos processos acabam gerando grandes quantidades de resíduos, necessitando de tratamentos adicionais, de forma a dificultar o tratamento em larga escala (SOUZA, et al., 2020).

A contaminação dos corpos d'água com substâncias tóxicas, como compostos orgânicos persistentes, metais tóxicos e corantes industriais, representa um desafio mundial. Esses poluentes causam inúmeros problemas sobre a vida aquática e a saúde humana. Anualmente, estima-se que entre 7 e 10 bilhões de toneladas de resíduos sejam produzidos em todo mundo, e aproximadamente 3 bilhões de pessoas não possuem acesso a instalações adequadas de descarte, potencializando os riscos de poluição dos recursos hídricos (CHIKUKULA, et al., 2024; YANTI, et al., 2024).

A poluição da água é definida como a presença de substâncias que alteram suas propriedades físicas, químicas e biológicas, destruindo sua estrutura natural. As principais fontes de poluição hídrica incluem descargas industriais, agrícolas e urbanas. Estima-se que 75 a 80% da poluição da água seja causada por esgoto doméstico, que contém resíduos sólidos, plásticos e contaminantes tóxicos bacterianos, parte dos quais são lançados nos rios sem nenhum tratamento. Mais de 2,2 bilhões de pessoas em todo o mundo não têm acesso a água potável, e milhões sofrem de doenças transmitidas pela água a cada ano (KILIÇ, 2021; BALARAM, et al., 2023). A Figura 1 ilustra algumas situações de poluição dos recursos hídricos.

A contaminação pode ocorrer através de três principais agentes: biológica, física e química. A contaminação biológica refere-se à presença de organismos ou substâncias que excedem os níveis normais, afetando as condições naturais do ambiente, e pode ser controlada por práticas de higiene e saneamento. Por fim, A contaminação física envolve formas de energia que ultrapassam padrões normais, como excesso de temperatura, ruído e

radioatividade, enquanto a contaminação química diz respeito à presença de substâncias tóxicas em concentrações acima do permitido pelas legislações ambientais (DA SILVA LIMA; SALES, 2022).



Figura 1: Imagem de poluição dos recursos hídricos. Fonte: (Canva, 2024)

De acordo com Salama e colaboradores (2022) no norte da África a reutilização da água é reconhecida como uma alternativa para aumentar o abastecimento em áreas críticas, onde as águas residuais precisam ser tratadas com a qualidade exigida para o uso pretendido. A aplicação de tratamento de efluentes em larga escala, na maioria dos casos, acaba sendo inviável devido aos altos custos, complexidade operacional e geração de subprodutos. Vários métodos físicos, químicos, biológicos e, mais recentemente, inteligência artificial (IA) vem sendo usados para monitorar a qualidade da água. A IA vem sendo estruturada como uma ferramenta para analisar dados coletados por várias técnicas analíticas, processar dados de composição da água e identificar grupos de compostos selecionados (GAȚAREK; ROSIAK; KAŁUŻNA-CZAPLIŃSKA, 2024).

A descarga de efluentes industriais sem o devido tratamento constitui uma das principais causas da poluição dos recursos hídricos (NATARAJAN et al., 2017). Esses efluentes contêm diversos poluentes orgânicos como solventes, dioxinas, dibenzenofuranos, bifenilos policlorados (PCB's), fenóis, fármacos e corantes. Dentre os contaminantes citados, os corantes e fenóis se destacam pelo potencial poluidor, pois quando estão presentes nos recursos hídricos

podem provocar efeitos adversos sobre o ambiente e à saúde pública.

2.1.1 Corantes

Muitas teorias foram propostas para correlacionar a cor dos corantes com sua estrutura molecular. Em 1876, Otto Witt, um químico alemão, observou que a cor de um corante é devida a certos grupos contendo múltiplas ligações, conhecidos como cromóforos. Alguns exemplos de cromóforos incluem o grupo nitro ($-\text{NO}_2$), nitroso ($-\text{NO}$), carbonila ($-\text{CO}-$), a ligação etilênica ($-\text{C}=\text{C}$), a ligação acetilênica, entre outros. À medida que o número de cromóforos em um corante aumenta, a cor do corante se torna mais intensa. A presença de certos grupos que, embora não atuem como cromóforos, intensificam a cor do corante. Esses grupos são conhecidos como auxocromos. Exemplos de auxocromos incluem $-\text{OH}$, $-\text{NH}_2$, $-\text{NHR}$, $-\text{NR}_2$, X (Cl , Br ou I), e COOH (KUMAR, et al., 2021).

Auxocromos são grupos funcionais que, embora não possuam cor por si mesmos, podem modificar a cor de um corante ao se ligarem a cromóforos (grupos responsáveis pela cor), aumentando sua intensidade e alterando a tonalidade. Tais grupos possuem átomos que doam ou aceitam elétrons, influenciando a absorção de luz e resultando em cores mais intensas (PAVLOVIĆ, et al., 2022). Essa interação é fundamental na compreensão da complexidade dos corantes naturais. Já os corantes sintéticos, são combinações de compostos ligados fortemente, sendo classificados em grupos como indidóides, antraquinonas, alfa-naftoquinonas, flavonoides, taninos, alcaloides, dihidropiranos e carotenoides (REPON, et al., 2024).

Os corantes, amplamente utilizados em diversas indústrias, são classificados em várias categorias para melhor compreensão. Os principais incluem os corantes ácidos, usados em fibras como lã, seda e nylon devido à sua boa solubilidade em água. Já os corantes diretos são aplicados em fibras de celulose, como o algodão, sem a necessidade de mordentes, o que facilita o tingimento, embora apresentem menor resistência à lavagem (ENERIJIOFI, 2021; HUNGER, 2007).

Corantes azóicos, um dos tipos mais utilizados, têm grupos azo ($-\text{N}=\text{N}-$) na estrutura que confere cores vibrantes e variadas. Eles são amplamente empregados devido à sua versatilidade, custo relativamente baixo e estabilidade em diferentes condições, os corantes dispersos são ideais para fibras sintéticas,

como poliéster, por sua baixa solubilidade em água e alta dispersibilidade. Os corantes de enxofre são conhecidos por proporcionar tons escuros e são altamente duráveis, sendo aplicados principalmente em fibras de celulose (HUNGER, 2007)

Os corantes reativos são conhecidos por formar ligações covalentes com as fibras, garantindo excelente solidez de cor, especialmente em tecidos de algodão. Os corantes básicos são utilizados em fibras sintéticas e acrílicas, oferecendo cores vibrantes, embora com menor resistência à luz e à lavagem. Os corantes de oxidação desenvolvem a cor por meio de reações químicas, sendo comuns em tinturas capilares. Os corantes mordentes, como os de cromo, requerem um mordente para fixação em fibras como lã e seda, mas seu uso tem diminuído devido a questões ambientais. Os corantes de cuba, insolúveis em água, passam por redução para aplicação e, após oxidação, oferecem excelente resistência da cor (HUNGER, 2007).

Essas classificações são essenciais para entender as aplicações, características e impactos ambientais associados a cada tipo de corante. Os corantes reativos presentes no efluente não podem ser reutilizados, pois se tornam não reativos devido à hidrólise. Além disso, sua baixa adsorção e fixação resultam em um efluente altamente concentrado, que é difícil de tratar por meio de processos primários ou secundários. Portanto, o tratamento de efluentes de tinturaria contendo corantes reativos é particularmente desafiador, uma vez que esses corantes não se decompõem facilmente por métodos convencionais de coagulação (HASSAN; CARR, 2018).

O uso de corantes nas indústrias, especialmente na produção de têxteis, alimentos, cosméticos e produtos farmacêuticos, tem crescido significativamente nas últimas décadas. Esse aumento está associado à demanda por produtos mais atrativos e visualmente diferenciados, o que torna o uso de corantes essencial para muitas empresas. No entanto, esse processo gera uma série de desafios ambientais, uma vez que grande parte dos corantes utilizados são sintéticos e possuem estruturas químicas complexas que não se decompõem facilmente no meio ambiente (ENERIJIOFI, 2021).

2.1.1.1. Corante Amarelo Tartrazina

O amarelo tartrazina, cuja estrutura está descrita na Figura 2, é um corante sintético aniônico do tipo azo, apresenta perfil altamente tóxico sendo comumente utilizado em indústrias alimentícias. Esse composto possui uma estrutura química de difícil oxidação e bastante estável persistindo no ambiente por muito tempo (BANERJEE; CHATTOPADHYAYA, 2017).



Corante azo amarelo tartrazina



Figura 2: Estrutura química corante amarelo tartrazina. Fonte: (Canva, 2024)

A ingestão do corante amarelo tartrazina, em grandes quantidades, pode causar problemas a saúde, como urticária, asma, alergia, etc. A ANVISA estabelece um limite de $7,5\text{mg.Kg}^{-1}$ de consumo diário a fim de não causar problemas a saúde humana. Sua forte coloração é devido a estabilidade dos grupos azo ($-\text{N}=\text{N}-$) em suas moléculas, onde a formação de estruturas conjugadas absorve luz na região do visível em diferentes comprimentos de onda resultando na coloração observada (BANERJEE; CHATTOPADHYAYA, 2017; ABD EL-RAHIM, et al 2021). A Tabela 1 apresenta as propriedades físico-químicas do corante amarelo tartrazina.

Tabela 1: Propriedades físico-químicas do corante amarelo tartrazina.

Corante amarelo tartrazina	
Nome químico	Trisódio; 5-oxo-1-(4-sulfonatofenil)-4-[(4-sulfonatofenil)diazenil]-4H-pirazol-3-carboxilato
Fórmula química	$C_{16}H_9N_4O_9S_2Na_3$
Peso molecular	534.358 g mol ⁻¹
Classificação	Monoazo
Ponto de fusão	300 °C
Ponto de ebulição	870°C
Comprimento de onda máximo de absorção, λ_{Max} (pH 7)	426nm.
Solubilidade	20g 100mL ⁻¹ (25 °C)

Fonte: MICHELETTI, et al. 2023. (Com adaptações)

Quase 97% das águas residuais contendo corantes provêm das indústrias alimentícia, química e têxtil. Esses setores frequentemente combinam corantes como amarelo tartrazina com azuis e verdes para criar diferentes tons. Estima-se que 12% desses corantes sintéticos, incluindo laranja de metila, vermelho de metila, azul de metileno e vermelho do Congo, são perdidos durante o processamento. Aproximadamente 20% dos corantes produzidos mundialmente são descartados sem tratamento, causando poluição ambiental preocupante (TKACZYK; MITROWSKA; POSYNIK, 2020; HANAFI; SAPAWE, 2020).

Os corantes sintéticos nos corpos d'água são altamente visíveis, o que causa diminuição da incidência de luz, empobrecendo todo meio biótico, afetando os processos fotossintéticos das plantas aquáticas. Métodos químicos e físicos para o tratamento de efluentes contaminados com corantes são de difícil implementação devido ao custo elevado. Diante disso, estudos no âmbito da química verde com avaliação de diferentes técnicas de tratamento em águas residuais vêm sendo estudados, como biossorção de corantes utilizando bactérias e fungos, degradação microbiana e enzimática, oxidação, filtração, dentre outras (BANKOLE, et al, 2018; ABD EL-RAHIM, et al 2021).

2.1.2 Fenóis

Os fenóis são compostos orgânicos com um grupo hidroxila (-OH) ligado diretamente a um anel aromático, como o benzeno, conferindo-lhes propriedades únicas em relação a outros álcoois. A ressonância do anel aromático aumenta a acidez dos fenóis, tornando-os levemente ácidos e capazes de liberar prótons da hidroxila, especialmente em soluções alcalinas. Essa acidez distinta é crucial para diversas aplicações químicas e industriais, como sínteses orgânicas, produção de plásticos e medicamentos (GANI; SHAMA, 2021).

Os compostos fenólicos são encontrados principalmente em frutas, legumes, vegetais, chá, vinho e café, sendo responsáveis pelas características sensoriais dos alimentos. Tais compostos contribuem para o amargor das frutas devido à interação com a glicoproteína salivar, bem como influenciam a cor de muitas frutas e vegetais. Destaca-se ainda que, os compostos fenólicos são conhecidos por explicar as diferenças de sabor e cor entre diferentes marcas de vinho. Nas plantas, os principais fenólicos incluem lignanas, taninos, ácidos fenólicos, estilbenos e flavonoides (ALARA; ABDURAHMAN; UKAEGBU, 2021).

Os fenóis possuem ampla aplicação industrial devido à sua versatilidade funcional. Na indústria química, são intermediários na síntese de resinas fenólicas usadas em plásticos, adesivos e materiais de isolamento, valorizadas por sua resistência térmica e mecânica. Atuam também como antioxidantes e conservantes, inibindo processos oxidativos. No setor farmacêutico, fenóis são precursores chave na síntese de fármacos como analgésicos, antissépticos e anestésicos, destacando-se a aspirina, derivada do ácido acetilsalicílico com grupo fenólico essencial para sua eficácia (PAVITHRA, et al., 2023; SALEHI, et al., 2021).

Apesar da ampla aplicabilidade, os fenóis apresentam riscos ambientais e à saúde pública devido à sua toxicidade. Resíduos fenólicos oriundos de processos industriais podem contaminar solos e corpos d'água, ameaçando a vida aquática e humana. Portanto, o tratamento e descarte adequado desses compostos são essenciais para minimizar os impactos ambientais, sendo fundamental gerir cuidadosamente o uso, bem como os resíduos gerados após as diversas aplicações, com vistas a equilibrar os benefícios industriais com a

proteção da saúde e do meio ambiente (BIBI, et al., 2023; AHMARUZZAMAN, et al., 2024).

2.1.2.1 Potencial poluidor do fenol

O fenol, também conhecido como C_6H_5OH ou hidroxibenzeno, é um composto orgânico com um anel aromático (benzeno) ligado a um grupo hidroxila (-OH). À temperatura ambiente, apresenta-se como um sólido cristalino branco ou incolor (Figura 3), com odor característico. Apresenta propriedades físico-químicas como peso molecular de $94,11 \text{ g.mol}^{-1}$ e ponto de fusão de 43°C (Tabela 2). Apesar de sua estrutura simples, o fenol é altamente tóxico, devido à ressonância no anel aromático. Embora apresente propriedades antissépticas, é também um dos poluentes mais agressivos. A ingestão de 1000 mg pode ser fatal, causando arritmias ventriculares, edema pulmonar, estridor e taquipneia. Gerado principalmente pela indústria petroquímica, o fenol é extremamente nocivo à saúde humana, mesmo em concentrações baixas (1 mg.L^{-1}), e é classificado como carcinogênico e mutagênico (HANAFI; SAPAWE, 2020; PATIL, et al., 2023).

Tabela 2: Propriedades físico-químicas do fenol

FENOL	
Peso molecular	94.11 g mol ⁻¹
Aparência	Sólido cristalino transparente
pH	6,0
Ponto de fusão	40.5 °C
Ponto de ebulição	181.7 °C
Toxicidade	Perigo (corrosivo e irritante).
Solubilidade	8,3 g/100 ml (20 °C)

Fonte: HANAFI; SAPAWE, 2020. (Com adaptações)

São comumente encontrados com altas concentrações em diversos tipos de águas residuais industriais, como das indústrias farmacêuticas, têxteis, pesticidas, de resinas, de papel, refinarias de petróleo, siderúrgicas, conversão de carvão, químicas, corantes, dentre outras.(MOHD, 2022) O fenol faz parte da

composição por 11 dos 126 produtos químicos registrados como poluentes prioritários da Lei Federal da Água Limpa (CWA) da Agência de Proteção Ambiental dos Estados Unidos (EPA), sendo reconhecida como contaminante de grande risco, recebendo prioridade para o desenvolvimento de critérios da qualidade da água. (RAMOS; MOREIRA; AMARAL, 2024).

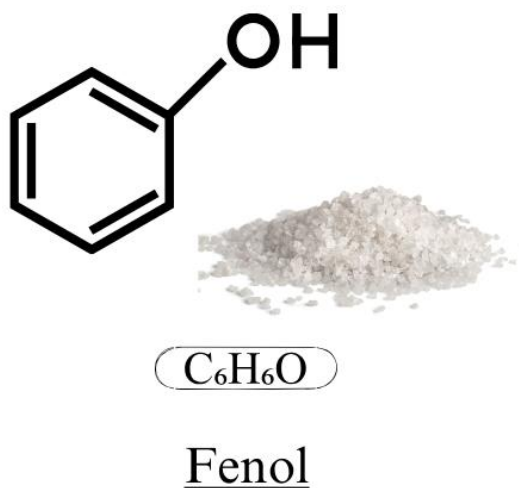


Figura 3: Estrutura fenólica. Fonte: (Canva, 2024)

O fenol é um componente essencial em diversas indústrias devido à sua versatilidade. Na indústria química, é fundamental na produção de plásticos, como resinas fenólicas, e na síntese de caprolactama, usada na fabricação de náilon. No setor farmacêutico, participa na síntese de medicamentos e anestésicos locais, embora seu uso como antisséptico tenha sido substituído por alternativas mais seguras. (PRAJAPATI, et al., 2021) Na dermatologia e cosmética, é usado em peelings químicos para a remoção de camadas da pele. Também é aplicado como germicida em desinfetantes industriais e hospitalares. Contudo, seu manuseio requer cautela devido à sua toxicidade (SCOTT; COX; NJARDARSON, 2022).

Muitas indústrias fazem o descarte para o meio ambiente sem os devidos cuidados, acarretando diversos problemas nos recursos hídricos. Normalmente é estabelecido um limite padrão inferior a $1,00 \text{ mg.L}^{-1}$ para descarte de componentes fenólicos em efluentes; mas vários efluentes industriais contêm concentração de fenol superior a 5000 mg.L^{-1} . De acordo com o Conselho

Nacional do Meio Ambiente CONAMA 357/2005 (alterada pela resolução 410/2009 e 430/2011) estabelece uma nova concentração de 0,003 mg L⁻¹ de fenóis totais em água, máxima permitida como padrão de lançamento para qualquer tipo de efluente (BRASIL, 2011; LAKSHMI, et al 2016; VIDAL; MORAES, 2019).

2.2 Tecnologias para o tratamento de efluentes contendo poluentes orgânicos

As tecnologias para o tratamento de efluentes contendo poluentes orgânicos abrangem métodos físicos, químicos e biológicos, sendo selecionadas com base na natureza do efluente e nas características dos poluentes. Os Processos de Oxidação Avançada (POA), como a fotocatálise, ozonização e reação de Fenton, utilizam agentes oxidantes para degradar compostos orgânicos complexos. Os tratamentos biológicos, como os lodos ativados, biofiltros e reatores anaeróbios “Upflow Anaerobic Sludge Blanket” (UASB), empregam microrganismos para decompor a matéria orgânica e são amplamente aplicados em estações de tratamento de esgoto. (REKHATE; SRIVASTAVA, 2020) As tecnologias de filtração por membranas, como osmose reversa, nanofiltração e ultrafiltração, permitem a remoção de compostos orgânicos por meio de barreiras físicas que separam os poluentes da água. Além disso, o processo de adsorção, especialmente com carvão ativado e zeólitas, é eficaz na remoção de diversas moléculas orgânicas (TITCHOU, et al., 2021).

Complementando essas abordagens, métodos químicos como a cloração e a precipitação química promovem a oxidação ou precipitação dos poluentes para sua remoção posterior, enquanto processos eletroquímicos, como a eletrocoagulação e a oxidação eletroquímica, utilizam corrente elétrica para tratar efluentes. (SHAHEDI, et al., 2020) Tecnologias de separação, como destilação e extração com solventes, são aplicadas para remover compostos orgânicos voláteis, e tratamentos térmicos, como incineração e pirólise, são utilizados para efluentes altamente tóxicos, convertendo os poluentes em subprodutos menos nocivos. A escolha da tecnologia de tratamento depende de fatores como a concentração dos poluentes, a eficiência desejada e as exigências ambientais (MANNA; SEN, 2023).

A maioria dos métodos convencionais disponíveis apresentam eficiência na remediação dos efluentes, mas apresentam limitações associadas a geração

de grandes volumes de lodos, incrustação de membrana, mineralização incompleta do contaminante, bem como não conduz a uma transformação química do contaminante, o qual será somente transferido de uma fase para outra.

A biorremediação surge como uma abordagem inovadora e sustentável para o tratamento de águas contaminadas com corantes especialmente em relação à poluição por corantes industriais, compostos orgânicos tóxicos e metais tóxicos. (NARAYANAN; ALI; EL-SHEEKH, 2023; SARAVANAN, et al., 2023). A versatilidade dessa abordagem permite sua aplicação em uma ampla gama de poluentes e ambientes, contribuindo para a preservação dos recursos hídricos e a saúde dos ecossistemas (PRATUSH; KUMAR; HU, 2018; AYILARA; BABALOLA, 2023).

2.2.1 Biorremediação: Uma Alternativa Sustentável

A biorremediação surge como um processo que utiliza microrganismos, plantas ou enzimas para remover ou reduzir poluentes do ambiente. Seu objetivo principal é converter substâncias tóxicas em compostos não tóxicos ou menos tóxicos, utilizando agentes biológicos (DA SILVA LIMA; SALES, 2022; RAJENDRAN et al., 2022).

A Figura 4 descreve uma visão geral das vias de biorremediação evidenciando que tais processos são eficazes na remoção de moléculas orgânicas de difícil degradação e metais tóxicos. Esses sistemas biológicos convertem resíduos complexos em substâncias mais simples, facilitando sua reintegração ao meio ambiente e gerando subprodutos menos tóxicos. Os microrganismos metabolizam substâncias tóxicas, produzindo CO_2 , CH_4 , água e biomassa (NAG et al., 2024; GUPTA et al., 2024). Além disso, a adsorção de poluentes por agentes biológicos é chamada de bioadsorção ou bioacumulação, o que permite o uso de resíduos orgânicos, organismos vivos ou mortos e outros materiais (MAGALHÃES, et al., 2023).

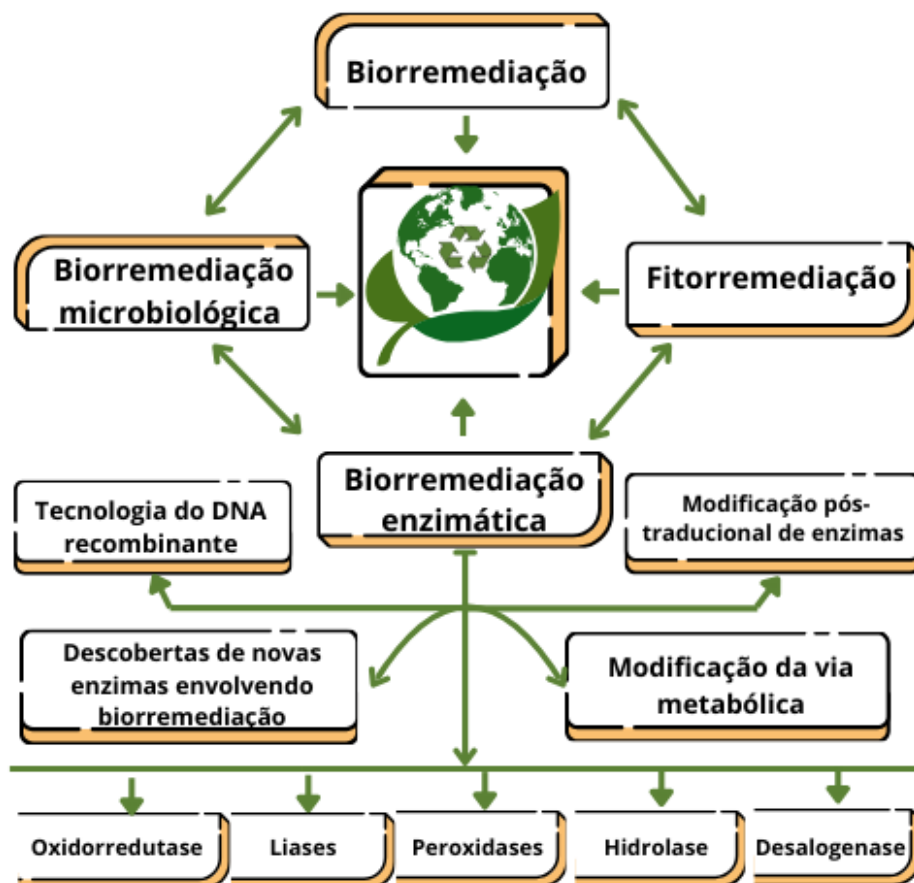


Figura 4 : Visão geral de metodologias combinatórias para biorremediação.

Fonte: (DA SILVA LIMA; SALES, 2022) Com adaptações.

Estudos científicos avançados mostram que algumas espécies de microrganismos, como *Phoma spp.*, *Penicillium spp.* e *Aspergillus spp.*, conseguem sobreviver em compostos químicos altamente tóxicos. Esses microrganismos utilizam mecanismos como adsorção (Figura 5) e transformação de poluentes em formas menos tóxicas, aproveitando-os como fonte de nutrientes para seu desenvolvimento microbiológico. Isso resulta na redução da concentração de poluentes no meio ambiente. Em particular, os fungos filamentosos destacam-se por sua eficiência e adaptabilidade a diferentes condições ambientais (ABD EL-RAHIM et al., 2021; CORBU et al., 2023).

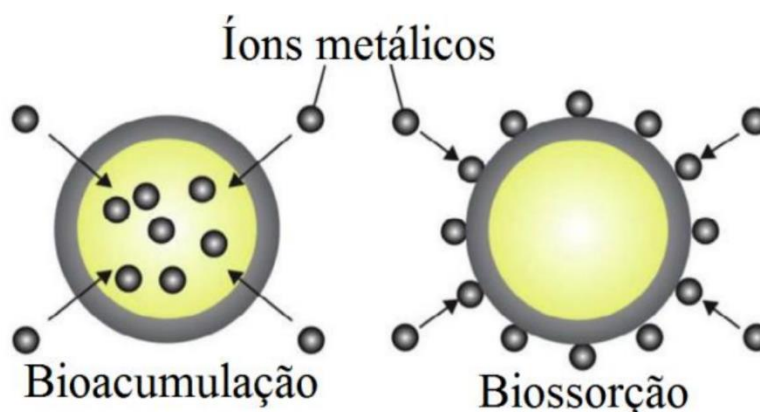


Figura 5: Comparação entre os processos de bioacumulação e biossorção

Fonte: (RIBAS; SILVA, 2023) Com adaptações.

A bioacumulação e a biossorção são processos biológicos usados na remoção de contaminantes, mas com diferenças importantes. A bioacumulação é ativa, realizada por organismos vivos que acumulam contaminantes em seus tecidos, sendo específica e dependente de condições ambientais. Já a biossorção é passiva, usando biomassa viva ou morta para adsorver contaminantes na superfície celular, sendo menos específica, porém resistente a condições extremas. A bioacumulação é mais aproveitada em tratamentos *in situ*, como fitorremediação, e a biossorção é mais bem visualizada em sistemas de tratamento de efluentes. (STEFFI; MISHEL, 2024)

Estudos de caso comprovam a eficácia dos fungos endofíticos na biorremediação de metais potencialmente tóxicos. Especificamente, o fungo *Mucor sp.* demonstrou notáveis capacidades de biossorção, com valores de 550 mg.g⁻¹ para cádmio (Cd) e 882 mg.g⁻¹ para chumbo (Pb) (DENG et al., 2011). Em ambientes contaminados por urânio (U), fungos isolados de áreas de mineração conseguiram desenvolver mesmo em concentrações elevadas, superando 8.000 mg.L⁻¹. (COELHO et al., 2020) Além disso, cepas de *Aspergillus spp.* APR-1 e APR-2 mostraram uma importante capacidade de biossorção, removendo 53,94% e 52,54% de arsênio (As) em soluções de 250 mM (TANVI et al., 2020).

Os fungos filamentosos têm sido amplamente estudados por seu grande potencial em diversas aplicações ambientais. Em particular, os fungos endofíticos, que vivem no interior das plantas em interações simbióticas, contribuem para o desenvolvimento vegetal por meio da troca mútua de

nutrientes e da produção de metabólitos secundários, oferecendo proteção contra patógenos. Esses microrganismos são grandes produtores de enzimas e pigmentos, aplicados em diversas indústrias tecnológicas (RANA et al., 2019; SANTOS; DE FARIA SILVA, 2020).

Afim de conhecimento da biodiversidade, a mais recente atualização taxonômica descreve dezenove filos principais de fungos: *Aphelidiomycota*, *Ascomycota*, *Basidiobolomycota*, *Basidiomycota*, *Blastocladiomycota*, *Calcarisporiellomycota*, *Caulochytriomycota*, *Chytridiomycota*, *Entomophthoromycota*, *Entorrhizomycota*, *Glomeromycota*, *Kickxellomycota*, *Monoblepharomycota*, *Mortierellomycota*, *Mucoromycota*, *Neocallimastigomycota*, *Olpidiomycota*, *Rozellomycota* e *Zoopagomycota*. Os fungos produzem uma ampla variedade de enzimas extracelulares, como amilases, lipases, lacases, que desempenham papéis essenciais em processos biológicos, degradando macromoléculas como proteínas, carboidratos e lipídios em componentes menores e mais simples. A Tabela 3 exemplifica algumas funções enzimáticas que são fundamentais para a decomposição de resíduos e a reciclagem de nutrientes no ecossistema (SINGH, et al., 2020; VAKSMAA, et al., 2023).

As propriedades biológicas dos microrganismos dependem diretamente de sua espécie, podendo produzir diferentes enzimas quando expostos a condições variadas de crescimento. Além disso, os fungos endofíticos desempenham um papel crucial na fitorremediação, aumentando a resistência das plantas hospedeiras em ambientes contaminados e auxiliando na extração e transformação de poluentes. (HE et al., 2020) A sinergia entre plantas e fungos não só melhora a saúde do solo e das plantas, como também oferece uma abordagem sustentável para o manejo ambiental, destacando o potencial dos fungos endofíticos como ferramentas biotecnológicas promissoras para aplicações ambientais (TRIPATHI et al., 2020).

Tabela 3: Funções enzimáticas para biorremediação de contaminantes.

Enzimas	Funções
OXIDORREDUTASES	
Oxigenases	Catalisam a oxidação de compostos aromáticos, como bifenilos clorados e olefinas alifáticas, incorporando oxigênio e facilitando sua transformação e mineralização.
Lacases	Clivam o anel de compostos aromáticos, reduzem oxigênio em água e geram radicais livres.
Peroxidases	Catalisam a redução na presença de peróxidos, como o peróxido de hidrogênio (H_2O_2), gerando radicais livres reativos após a oxidação de compostos orgânicos.
HIDROLASES	
Lipases	Hidrolisam triglicerídeos em glicerol e ácidos graxos, sendo amplamente usadas no tratamento de águas residuais e na degradação de hidrocarbonetos poliaromáticos.
Celulases	Decompõem materiais celulósicos complexos em açúcares simples, sendo comumente usadas no tratamento de resíduos agrícolas como algodão, serragem e palha de arroz.
Carboxilesterases	Catalisam a hidrólise da ligação éster carboxílico em pesticidas sintéticos, como organofosforados, pela adição de água.
Fosfotriesterases	Catalisam a hidrólise de fosfotriésteres, principais componentes dos compostos organofosforados amplamente usados em pesticidas, que podem causar intoxicações graves e morte.
Haloalcanos dehalogenases	Usadas na biodegradação de compostos alifáticos halogenados, como 1,2,3-tricloropropano.

Fonte: (DA SILVA LIMA; SALES, 2022) Com adaptações.

2.2.2 Biorremediação de corantes

Os sistemas de biodegradação têm sido reconhecidos como uma alternativa para o tratamento de águas residuais contendo corantes, por se tratar de um tratamento ambientalmente amigável, no qual é utilizado uma grande variedade de microrganismos, tais como bactérias, fungos filamentosos, leveduras e algas (XIAO et al., 2018). Os mesmos podem interagir com os corantes de várias maneiras. Estas podem incluir: ligação do corante à superfície celular por meio de compostos iônicos, interações covalentes, transporte de corante na célula, interações com enzimas que alteram as características dos corantes e interações com enzimas que promovam a decomposição destes compostos.

Uma pesquisa realizada por Salisu e colaboradores (2019) destaca o fungo *Aspergillus niger* como uma opção promissora para o tratamento de

efluentes têxteis, sendo a espécie predominante frente ao sistema utilizado, com taxas de prevalência de 70,00%, 38,98% e 66,67% de degradação. O estudo sugere que a degradação dos corantes por fungos pode estar relacionada à produção de enzimas específicas, como a azoreductase. Uma vez que, o estudo revelou uma alta contagem de fungos mesófilos viáveis nos efluentes têxteis, indicando que esses microrganismos podem suportar as rigorosas condições físicas e químicas presentes nesses ambientes.

Um estudo desenvolvido por Haque e colaboradores (2021) investigou a descoloração do alaranjado de metila utilizando consórcios de biofilmes formados por microrganismos selecionados: *Vitreoscilla* sp. (ENSG301), *Acinetobacter lwoffii* (ENSG302), *Klebsiella pneumoniae* (ENSG303) e *Pseudomonas fluorescens* (ENSG304). Esses microrganismos foram agrupados e identificados como consórcios C1, C2, C3 e C4. Os resultados exibiram elevadas taxas de descoloração: 97,30% para o consórcio C1, 98,75% para o C2, 99,51% para o C3 e 99,29% para o C4, todos em um meio de cultura contendo 200 mg L⁻¹ e 60 horas de incubação. As enzimas identificadas no processo foram azoreductase, NADH-DCIP reductase e lacase.

Um estudo de Andriani e Yanto (2022) compara a biodescoloração de corantes pelo fungo *Bjerkandera adusta* utilizando três métodos: (1) biorreator empacotado com alginato, (2) grânulos submersos imobilizados e (3) células livres submersas. Os testes foram realizados em condições salinas-alcálinas e não salinas. Os resultados indicam que *B. adusta* descoloriu 61%, 75% e 69% dos corantes nos ciclos I, II e III, respectivamente, em 5 dias, com uma concentração de 500 mg.L⁻¹. A degradação dos corantes é atribuída à atividade enzimática do fungo, que produz enzimas ligninolíticas como lacase e peroxidase.

Para corroborar os resultados da biorremediação de corantes, um estudo sobre a biodegradação do corante violeta cristal por *Trichoderma harzianum* em uma célula de combustível microbiana fúngica de câmara dupla demonstrou uma taxa de degradação de 82,5%, partindo de uma concentração inicial de 100 mg.L⁻¹ (VOTAT et al., 2024). A Figura 6 ilustra as etapas de degradação de corantes azo por fungos, que produzem enzimas como azoreductases. Essas enzimas promovem a clivagem redutiva dos corantes azo, convertendo-os em aminas incolores com o auxílio de agentes redutores, como FADH ou NADH.

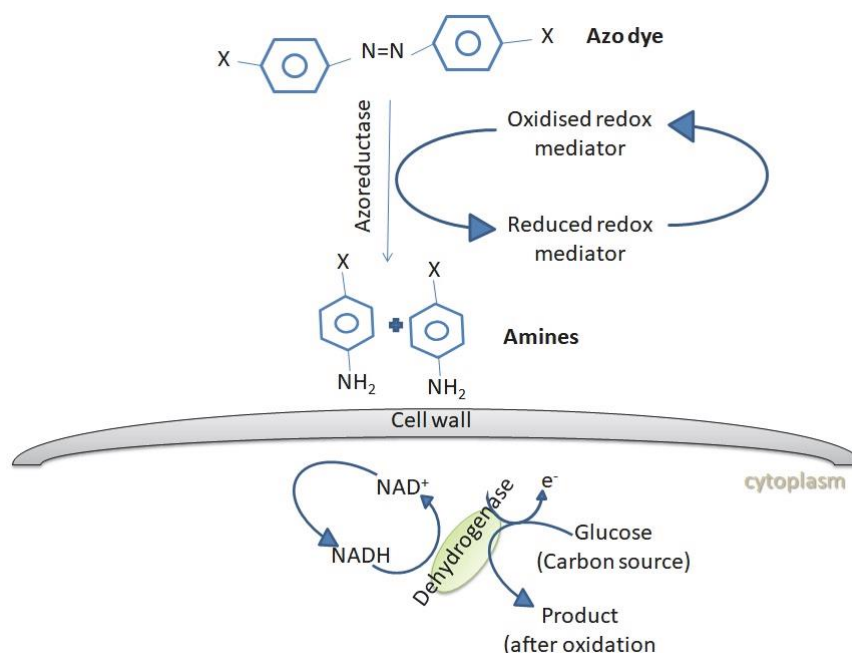


Figura 6: Degradação de corantes azo por fungos filamentosos.

Fonte: (RAJHANS, et al., 2021)

A etapa inicial na descoloração fúngica de corantes azo, tanto em condições anaeróbicas quanto aeróbicas, é a redução do grupo cromóforo azo ($-N=N-$). Esse processo pode envolver diversos mecanismos, como a ação de enzimas, mediadores redox de baixo peso molecular, redução química por redutores biogênicos como sulfeto, ou uma combinação desses fatores. As reações podem ocorrer em sítios intracelulares ou extracelulares. As azoredutases catalisam a redução do grupo azo na presença de agentes redutores, como NADH, NADPH e $FADH_2$, que atuam como doadores de elétrons, facilitando a quebra da ligação azo no interior da célula ou na membrana celular. Devido à capacidade das azoredutases de catalisar a clivagem de grupos azo em alguns microrganismos, elas desempenham um papel crucial no desenvolvimento de processos de biorremediação para águas residuais contendo corantes azóicos. (SINGH; SINGH; SINGH, 2015)

2.2.3 Biorremediação de Fenóis

Abordagens biotecnológicas têm se mostrado promissoras para a remoção de fenóis em meio aquoso. A biorremediação tem se destacado por sua capacidade de degradar fenóis através de enzimas específicas. (KUMAR, et al., 2020) A Figura 7 ilustra as vias metabólicas para biodegradação aeróbica do fenol. A utilização de técnicas biotecnológicas pode levar a uma degradação mais completa dos fenóis, resultando em subprodutos menos tóxicos e potencialmente inofensivos ao meio ambiente (AMOBONYE, et al., 2023).

Segundo Tebbouche e colaboradores (2016) a capacidade do *A. niger* de degradar fenol em fermentação aeróbia foi analisada sob diferentes situações, incluindo concentração de fenol, pH e temperatura. Os resultados mostraram que *A. niger* consegue usar fenol como única fonte de carbono. Uma concentração de 1.000 mg.L⁻¹ de fenol foi totalmente degradada em 140 horas, a 30°C e pH 5,5. A taxa máxima de eliminação de 1,32 mg.h foi alcançada com 200 mg.L⁻¹ de fenol, pH 8,5 e temperatura de 35°C.

Uma pesquisa conduzida por Salgado e colaboradores (2016) analisou as águas residuais dos lagares de azeite (OMW) e vinhaça (VS). Embora essenciais para a economia dos países mediterrâneos, esses efluentes causam impactos ambientais devido à alta concentrações de compostos fenólicos, demanda química de oxigênio (DQO) e cor. A pesquisa aplica a técnica de biorremediação com fungos filamentosos nos contaminantes gerados de OMW e VS, avaliando a produção de enzimas durante o processo de degradação. As espécies *A. ibericus*, *A. uvarum* e *A. niger* apresentaram as maiores atividades de lipase (1253,7 ± 161,2 U/L), protease (3700 ± 124,3 U/L) e tanase (284,4 ± 12,1 U/L).

O estudo de Hadibarata e Tachibana (2010) revelou que a água contaminada com petróleo bruto é mais eficazmente biorremediada do que o petróleo em si. Os fungos *Polyporus* sp. e *A. niger* foram utilizados para degradar o fenantreno, um hidrocarboneto aromático policíclico, em um meio líquido de caldo de sal mineral. A taxa máxima de degradação foi de 92% com *Polyporus* sp. e 95% com *A. niger*, após 30 dias de cultivo sob agitação a 120 r/min, em contraste com apenas 44% de degradação em culturas estáticas.

Segundo Marinho et al. (2017) a maioria dos estudos de biodegradação de pesticidas foca em solos, porém o autor investiga o destino do herbicida ATZ

[2-cloro-4-(etilamino)-6-(isopropilamino)-s-triazina] em águas residuais. O fungo *A. niger* tolerou até 30 mg.L⁻¹ de ATZ, e o impacto da glicose como co-substrato foi avaliado em concentrações de 0,5 a 5 g.L⁻¹. O teste de *Allium* mediu a toxicidade antes e após o tratamento, mostrando que *A. niger* atingiu 46% de desintoxicação. Já o reator GP3 apresentou a melhor taxa de biodegradação, com uma remoção final de ATZ de 72 ± 2%.

Nazos e colaboradores (2020) descreveram as etapas de biodegradação do fenol por *Chlamydomonas reinhardtii*. Na primeira etapa da biodegradação aeróbica, o fenol é convertido em catecol pela enzima fenol hidroxilase, que utiliza oxigênio molecular. O anel aromático do catecol pôde então ser clivado por duas vias: orto ou meta. Na via orto (também chamada via β-cetoadipato), a enzima 1,2-dioxigenase rompe a ligação entre os dois carbonos conectados aos grupos hidroxilas, formando o ácido cis,cis-mucônico. Este intermediário é posteriormente metabolizado em várias etapas, resultando em ácido succínico e acetil-CoA. Na via da meta-clivagem, o anel é rompido na ligação carbono-carbono adjacente a um grupo hidroxila, pela enzima 2,3-dioxigenase, formando o semialdeído 2-hidroximucônico. Esse intermediário é finalmente convertido em acetaldeído e piruvato (Figura 7).

A utilização de fungos, como *Aspergillus niger*, tem mostrado grande potencial na degradação de fenóis em condições controladas. Além disso, a aplicação de biorremediação tem sido eficaz no tratamento de águas residuais, como as de lagares de azeite e vinhaça, contribuindo para a redução de compostos tóxicos. Com base nos resultados de diversas pesquisas, a biorremediação, utilizando enzimas específicas e microrganismos adaptados, apresenta um alto potencial para a degradação de poluentes fenólicos.

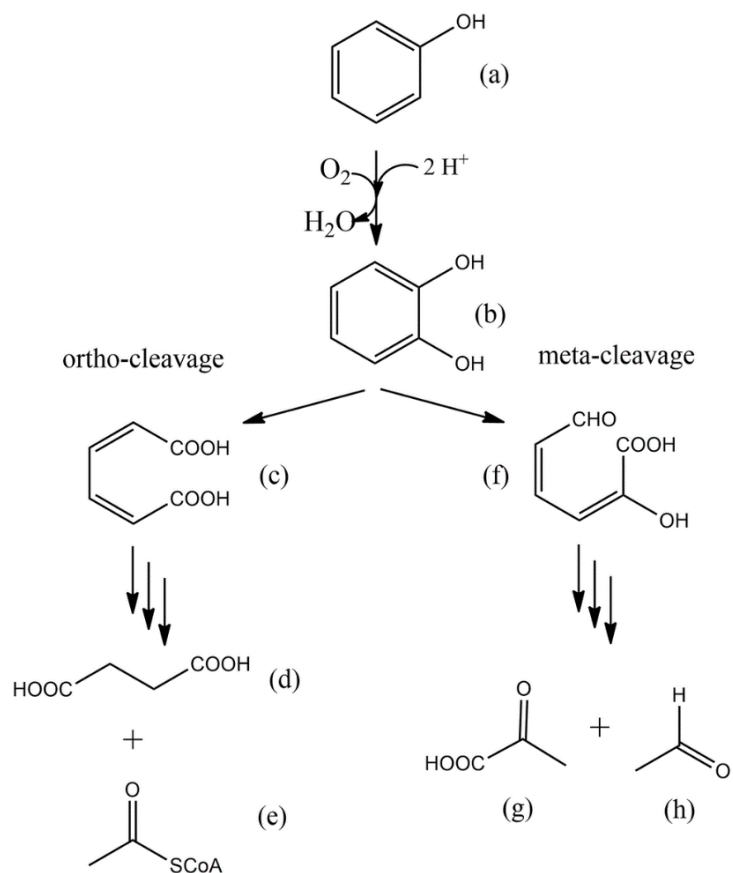


Figura 7: Biodegradação do fenol por *Chlamydomonas reinhardtii*

Fonte : NAZOS, et al., (2020)

Legenda: **a** fenol; **b** catecol; **c** cis, ácido cis-mucônico; **d** ácido succínico; **e** acetil-CoA; **f** 2-hidroximucônico semialdeído; **g** piruvato e **h** acetaldeído.

3 OBJETIVO

3.1 Objetivo Geral

Aplicar a técnica de biorremediação utilizando fungos filamentosos, com vistas a biodegradar fenol e o corante amarelo tartrazina que foram utilizados como sistemas modelos de contaminantes.

3.2 Objetivos Específicos

- Avaliar as condições de biorremediação do fenol e do corante amarelo tartrazina utilizando fungos endofíticos pertencentes à coleção do LQABio/CEPEQ (Laboratório de Química Ambiental e Biotecnologia/Centro de Pesquisa em Química, UESB, campus de Itapetinga).
- Otimizar as condições de biorremediação.
- Realizar o estudo cinético de biodegradação frente aos sistemas modelos de contaminantes estudados.
- Testar a toxicidade do caldo biorremediado após os ensaios de biodegradação.

4 MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 *Micro-organismos isolados*

Foram avaliados 48 isolados de fungos filamentosos endofíticos provenientes de videiras da região de Diamantina – MG, pertencentes à coleção do Laboratório de Química Ambiental e Biotecnologia (LQABio) do Centro de Pesquisas em Química - CEPEQ, campus de Itapetinga.

4.2 *Métodos de Análise*

4.2.1 *Screening de 48 fungos filamentosos endofíticos para degradação de fenol e corante azo*

Os fungos filamentosos foram cultivados em placas contendo sistemas modelo de contaminantes (SMC) compostos por fenol ou amarelo tartrazina. Com base nos dados fornecidos pelo grupo de pesquisa, foram determinadas as concentrações utilizadas para a inoculação de cada isolado, abrangendo os limites mínimo e máximo de 100 mg.L^{-1} e 500 mg.L^{-1} de fenol e amarelo tartrazina, em cada sistema modelo estudado. O objetivo foi avaliar a resistência dos isolados frente aos contaminantes estudados.

Para isso, foi necessário preparar o meio de cultivo BDA (Batata-Dextrose-Ágar), ao qual foram adicionadas quantidades adequadas dos contaminantes. Após a inoculação, as placas foram incubadas por 10 dias para permitir o desenvolvimento das colônias, sendo realizados registros fotográficos no 5º e no 10º dia. Foram selecionados os isolados que apresentaram melhor crescimento de biomassa em resposta ao corante amarelo tartrazina e ao fenol (1, 5, 27, 30 e 47). Todo o material foi esterilizado em autoclave a 121°C e 1 atm, para garantir a ausência de contaminação do material biológico.

4.2.2 *Seleção secundária de isolados*

Os isolados pré-selecionados na etapa anterior foram repicados em meio BDA e submetidos a crescimento por sete dias para o preparo de solução de suspensão de esporos. Utilizaram-se três tubos de ensaio com meio sólido inclinado de cada isolado para que a solução final estivesse na concentração aproximada de 01.10^8 esporos mL^{-1} . Os tubos foram lavados com 100 mL de água estéril para cada isolado, friccionando levemente a superfície promovendo a soltura dos esporos na solução.

Foram testadas três condições de biodegradação frente aos dois sistemas modelo de contaminantes avaliados. Cada frasco tipo erlenmeyer de 125 mL foram preenchidos, separadamente, com 50 mL das soluções de fenol e amarelo tartrazina (condição 1), 50 mL dos contaminantes mais meio CZAPEC (condição 2). Todas as soluções foram previamente esterilizadas em autoclave e resfriada à temperatura ambiente, para a adição de 20 mL da solução de suspensão de esporos (SSE), a partir de estudos iniciais desenvolvidas pelo grupo de pesquisa, foi possível estabelecer uma proporção de 5:2 (SMC:SSE) v/v.

O meio de cultura CZAPEC foi preparado de acordo com a formulação descrita por Silva e colaboradores (2022), com as seguintes composições: 3,0 g.L⁻¹ de NaNO₃ (nitrato de sódio), 1,0 g.L⁻¹ de K₂HPO₄ (fosfato dipotássico), 0,5 g.L⁻¹ de MgSO₄·7H₂O (sulfato de magnésio heptaidratado), 0,5 g.L⁻¹ de KCl (cloreto de potássio), 0,01 g.L⁻¹ de FeSO₄·7H₂O (sulfato ferroso heptaidratado), 30,0 g.L⁻¹ de sacarose, o pH inicial da solução foi ajustado para 5,0 utilizando ácido clorídrico (HCl) ou hidróxido de sódio (NaOH) 1M, conforme necessário.

As amostras foram incubadas sob temperatura ambiente 30°C, e dispostas em mesa agitadora a 150 rpm, durante a avaliação da cinética de degradação.

4.2.3 Perfil de degradação de fenol

Alíquotas do meio de fermentação (descrito no item 4.2.2) foram tomadas para análise de cinética de degradação a cada 05 dias. Para a identificação da presença de fenol utilizou-se como teste qualitativo a metodologia de determinação de compostos fenólicos totais, descrita por WETTASINGHE E SHAHIDI (1999), utilizando o reagente de Folin-Ciocalteu (RFC) marca IMBRALAB validade 02/2022. Para tal análise foi utilizada 0,250 mL do meio de fermentação junto a 0,250 mL do RFC e 0,500 mL de solução aquosa saturada de bicarbonato de sódio (NaHCO₃) marca Dinâmica, validade 05/2020. O volume foi completado para 5 mL com água destilada e submetido a agitação. Após 25 minutos em repouso, as amostras foram lidas em espectrofotômetro UV-Visível 760nm da marca Shimadzu® (Kioto, Japão) modelo UV-1800.

Uma curva analítica (Figura 8) foi construída utilizando soluções com concentrações de 0,100, 0,300, 0,500, 0,700, 0,900 e 1,100 g.L⁻¹, em triplicata, utilizando fenol cristal p.a. A linearidade dos pontos da curva foi analisada tendo em referência que quanto mais próximo de 1,0 for o coeficiente de correlação, maior será a precisão e exatidão das concentrações obtidas.

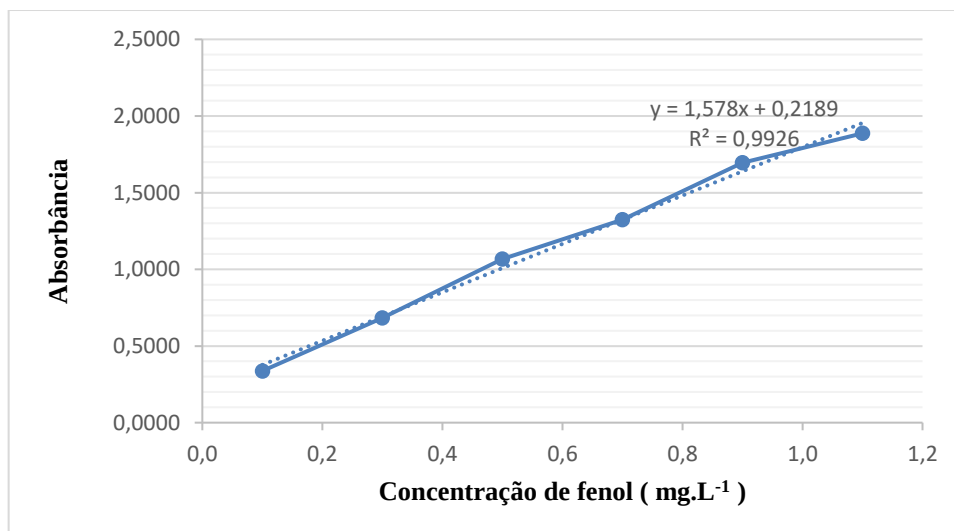


Figura 8: Curva de calibração das concentrações de fenol.

4.2.4 Perfil de degradação do Amarelo Tartrazina

Uma solução contendo 100 mg.L⁻¹ de amarelo tartrazina foi preparada em meio fermentado para análise da cinética de degradação. Amostras foram coletadas a cada 5 dias para monitorar o controle de degradação. A presença do corante foi identificada em espectrofotômetro UV-Visível da marca Shimadzu® (Kioto, Japão) modelo UV-1800, com leitura realizada na faixa de comprimento de onda de 426 nm. Foi construída uma curva analítica nas concentrações de 10, 20, 40, 60, 80 e 100 mg.L⁻¹. Todas as análises foram realizadas em triplicata.

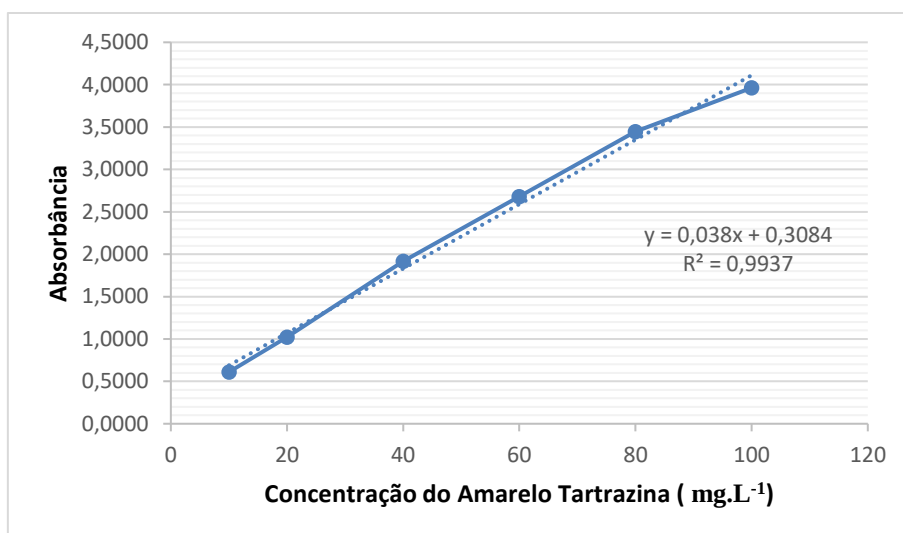


Figura 9: Curva de calibração das concentrações do amarelo tartrazina.

4.2.5 Avaliação toxicológica dos SMC

O teste foi realizado por meio do bioensaio com *Artemia salina* L. segundo metodologia descrita por Meyer et al. (1982). Foram colocados em cada tubo de ensaio 5 mL de solução salina (água do mar 1:1 e água destilada) com concentrações crescentes dos contaminantes (0, 25, 50, 100, 250, 500, 1000, 2000 e 5000) $\mu\text{g.mL}^{-1}$, e dez náuplios de artêmia. Após 24 horas a contagem do número de larvas (náuplios) mortas foi realizada e o resultado foi utilizado para calcular a DL50 (dose necessária para matar 50% da população de náuplios). O critério de classificação da toxicidade dos substratos contra *Artemia salina* L. foi definido por Meyer et al. (1982), onde os valores de $\text{DL50} > 1000 \mu\text{g.mL}^{-1}$ são considerados não tóxicos; entre 500 e 1000 $\mu\text{g.mL}^{-1}$ são levemente tóxicos e $< 100 \mu\text{g.mL}^{-1}$ são considerados como fortemente tóxicos. Os testes foram realizados com cinco repetições.

A determinação da DL50 no teste de toxicidade foi baseada na análise PROBIT (Finney, 1962) usando o software BioStat LE 7.6.5 com 95% de confiança, os resultados foram expressos com média e desvio padrão.

4.2.6 Espectroscopia de Infravermelho com transformada de Fourier FTIR

Para a amostragem e análise das amostras em FTIR, foi realizada uma etapa de preparação que incluiu o uso de um liofilizador para remoção da água e concentração dos compostos. Em seguida, foi conduzido um teste de solubilidade com diferentes solventes, visando isolar os compostos de interesse.

Os solventes utilizados foram acetato de etila, acetona, diclorometano, clorofórmio, metanol, etanol e hexano. Após a extração, os solventes foram removidos fazendo uso de um rotaevaporador.

Os espectros de FTIR foram obtidos utilizando o equipamento Infravermelho médio Cary 630 FTIR (Agilent Technologies Inc., Santa Clara, CA, USA), equipado com célula de reflectância total atenuada (ATR) e detector de sulfato de triglicina deuterado (DTGS) e o software Agilent MicroLab PC foi empregado para processar os resultados. Antes de cada coleta foi realizada uma leitura do espectro de fundo (background), em condições padronizadas. Em seguida, as amostras foram colocadas sobre o compartimento do acessório onde incidem os raios na faixa do infravermelho (cristal de diamante), sendo obtidos os espectros no modo de transmitância.

As amostras foram avaliadas na região espectral com comprimento de onda de 4000 cm^{-1} a 500 cm^{-1} . Todos os espectros foram recolhidos com uma resolução de 4 cm^{-1} a temperatura ambiente.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Seleção primária de isolados

Após a inoculação dos 48 isolados em placas contendo solução de fenol ou do corante amarelo tartrazina nas concentrações de 100 mg.L⁻¹ e 500 mg.L⁻¹ foi realizada uma avaliação qualitativa do crescimento dos microrganismos, gerando o *screening* destacado no Anexo I.

A Figura 10 ilustra a variação do comportamento de crescimento dos isolados após 10 dias de inoculação para os dois sistemas modelos estudados. Foi observado um crescimento regular das colônias no meio contendo o corante amarelo tartrazina em ambas as concentrações analisadas, embora não tenha sido possível visualizar a descoloração nas placas. Por outro lado, em relação ao fenol notou-se que alguns isolados não conseguiram se desenvolver em ambas as concentrações, sugerindo que o fenol é tóxico para o crescimento e manutenção desses microrganismos.

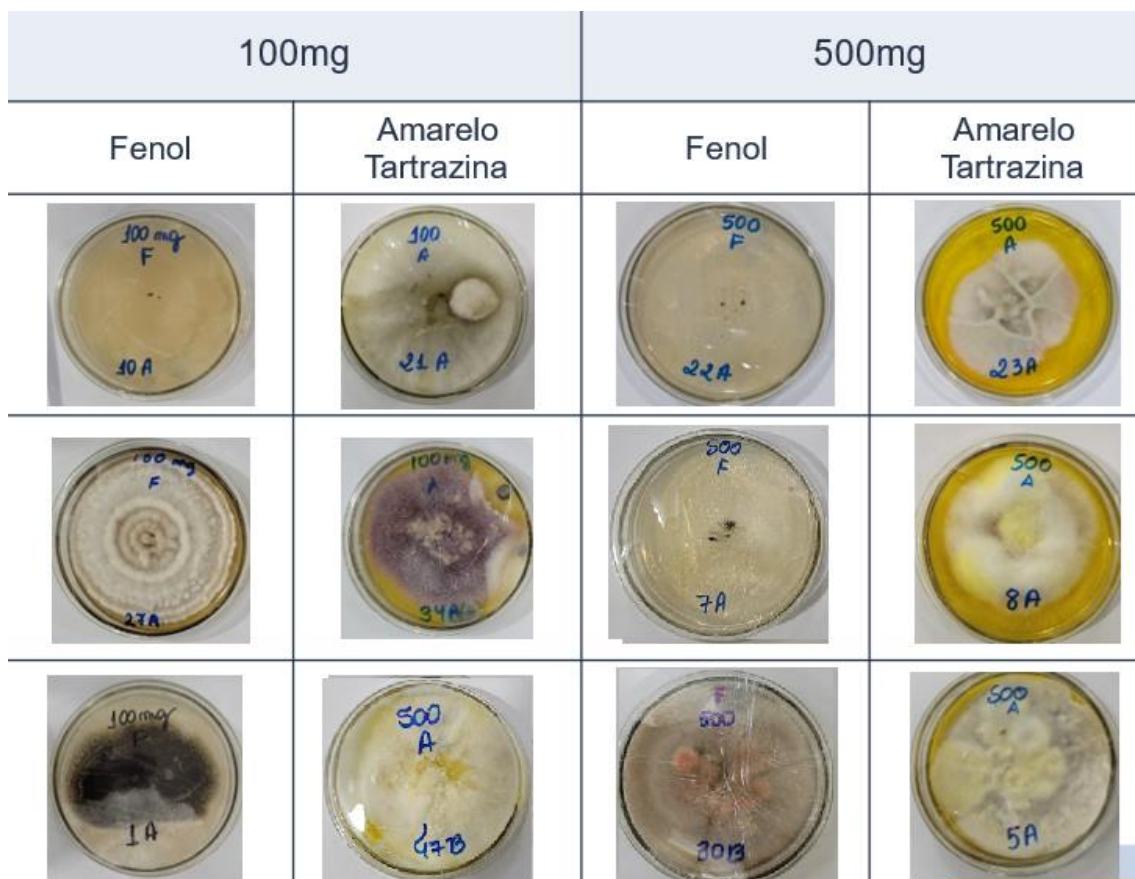


Figura 10: Imagens das placas de Petri com fungos filamentosos endofíticos e seus crescimentos celulares em BDA adicionados de 100 e 500 mg.L⁻¹ de Fenol e de Amarelo Tartrazina. Fonte: Autor (2024)

Com base nas observações qualitativas (anexo 1), os isolados 1, 5, 27, 30 e 47 foram selecionados para os ensaios de biorremediação tanto do fenol como do corante amarelo tartrazina. Na avaliação do sistema modelo contaminante (SMC) com o corante (Figura 11) notou-se que os isolados 1, 5 e 30 descoloriram o meio líquido de cultivo, e que os isolados 27 e 47 não descoloriram, indicando a necessidade de pesquisa complementar, com vistas à identificação dos subprodutos formados, que provavelmente interferiram na quantificação do corante por espectrofotometria UV-Vis.



Figura 11: Comparação dos microrganismos selecionados, após 7 dias contendo 10 mg.L^{-1} de Amarelo tartrazina. Fonte: Autor (2024)

5.2 Seleção secundária de isolados

A partir dos resultados da seleção primária, os solados 1, 5, 27, 30 e 47 foram submetidos à fermentação submersa para os dois sistemas de poluentes estudados, um utilizando uma solução aquosa contendo fenol a 500 mg.L^{-1} e outro contendo solução aquosa de amarelo tartrazina a 100 mg.L^{-1} , gerando os perfis de biorremediação para ambos os poluentes. Após as análises desses resultados utilizou-se, adicionalmente, um meio de cultura para fermentação com enriquecimento de carbono e nitrogênio, caldo CZAPEK, cuja fonte de carbono foi a sacarose e a fonte de nitrogênio o nitrato de sódio. Ambos os tratamentos foram fermentados sob movimentos circulares (agitação) e estático.

5.2.1 Biorremediação do Corante Amarelo Tartrazina

Ao analisar a cinética de biorremediação do corante amarelo tartrazina foi possível observar uma diminuição da concentração inicial do corante durante o período 25 dias de fermentação em meio aquoso com agitação como gráfico

(Figura 12). Os isolados 27, 47, 30 e 5 foram eficientes na biodescoloração, com destaque para o isolado 27 que reduziu em torno de 21,59% da concentração inicial do corante. Notou-se que o isolado 1 não apresentou capacidade descolorante.

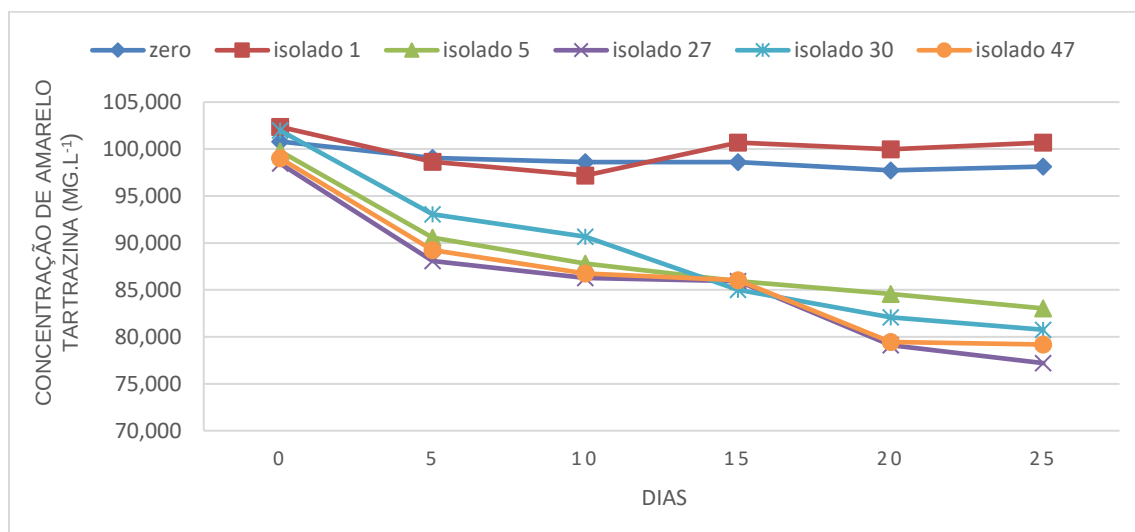


Figura 12: Perfil de remoção do Corante Amarelo Tartrazina em meio aquoso a 100 mg.L⁻¹ pelos isolados 1, 5, 27, 30 e 47 (sob agitação). Fonte: Autor (2024)

Os isolados 27, 47, 30 e 5 apresentaram aumento na eficiência de biorremediação ao longo dos 25 dias, com redução média da concentração do corante no 15º dia, exibindo 14,09% de biotransformação. No entanto, após o 9º dia, observou-se um aumento gradual na concentração do isolado 1, sugerindo uma possível formação de pigmento que absorve em comprimento de onda próximo ao do amarelo tartrazina. Verificou-se que, o isolado 1 não apresentou eficiência para reduzir o teor do corante, mas promoveu o aumento na concentração da cor de forma similar ao observado com os isolados 27, 47, 30 e 5.

Os resultados para o processo de fermentação, do sistema contaminante contendo meio líquido CZAPEC e amarelo tartrazina, sob agitação ao longo de 18 dias de fermentação para diferentes isolados (1, 5, 27, 30 e 47) encontram-se apresentados na Figura 13. Foi possível verificar a variação na concentração de amarelo tartrazina onde, inicialmente, todos os isolados promoveram uma redução na concentração de amarelo tartrazina, exceto o isolado fúngico 47.

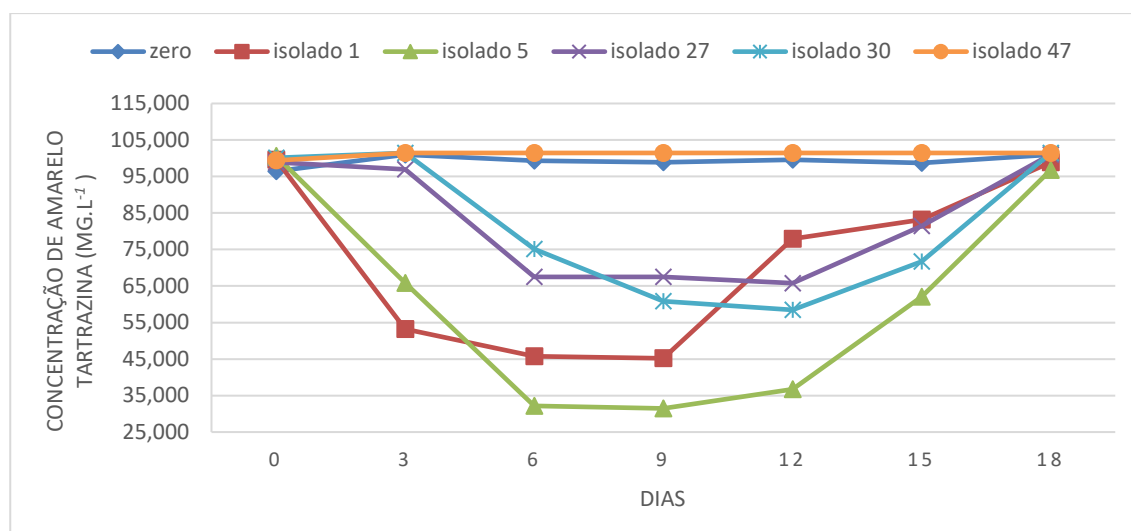


Figura 13: Perfil de remoção do corante Amarelo tartrazina em meio nutricional CZAPEC a 100 mg.L⁻¹ pelos isolados 1, 5, 27, 30 e 47 (sob agitação). *Fonte: Autor (2024)*

Os isolados 05 e 01 demonstraram capacidade de biotransformar o amarelo tartrazina até o 9º dia de fermentação, com desempenho de 68,71% e 54,62% respectivamente. Esses resultados sugerem que, embora os isolados tenham capacidade para iniciar a biorremediação do corante, sua eficiência pode variar durante o processo fermentativo. Essa variabilidade pode ser influenciada por fatores internos, devido a ação de enzimas degradativas, ou externos, como a disponibilidade de nutrientes. (IHSANULLAH et al., 2020)

A Figura 14 serve como base de comparação para avaliar a capacidade de biodegradação do corante entre o 9º e o 18º dia, com quantificação apresentada na Figura 13. No 9º dia, observa-se maior formação de biomassa, refletindo os níveis mais altos de degradação. Já na análise qualitativa da imagem do 18º dia, percebe-se uma maior densidade e turbidez na coloração, possivelmente os compostos dissolvidos ou liberados pela ação mecânica do equipamento são absorvidos na mesma faixa de frequência vibratória. Esses resultados sugerem que o movimento mecânico favorece a biorremediação até o 9º dia, promovendo maior formação de biomassa, mas, após esse período, a ação mecânica pode estar contribuindo para a degradação dessa biomassa.

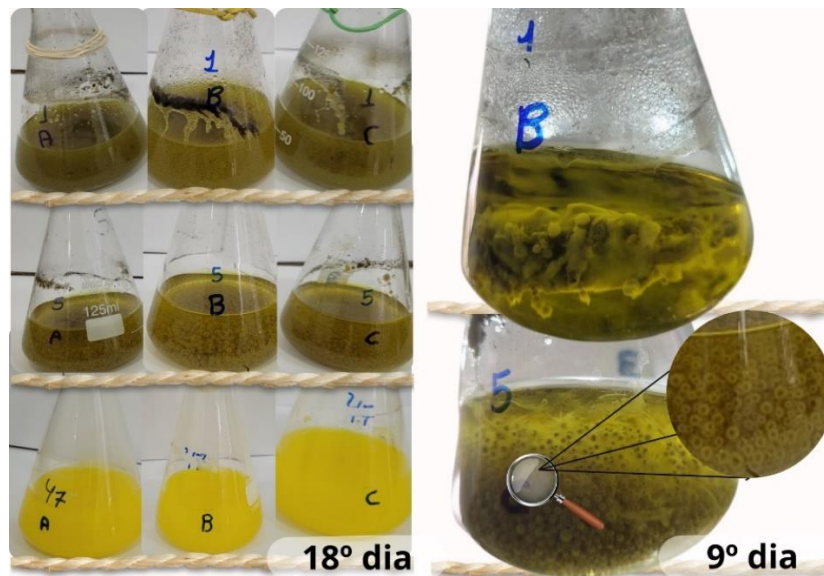


Figura 14: Biorremediação de 100 mg.L⁻¹ do corante amarelo tartrazina utilizando meio CZAPEC em movimento circular uniforme.: Fonte: autor

A Figura 15 apresenta os resultados de biorremediação do corante amarelo tartrazina em meio CZAPEK, sob condição estática, ao longo de 21 dias para os diferentes isolados. O isolado 1 apresentou a maior taxa de biodescoloração do corante, exibindo uma diminuição de 73,56% da concentração inicial no 9º dia de fermentação, mantendo-se em equilíbrio até o 21º dia. O isolado 1 pertencente a coleção de fungos endofíticos de videira do LQABio foi previamente identificado como *Aspergillus niger* e utilizado em outros trabalhos prévios.

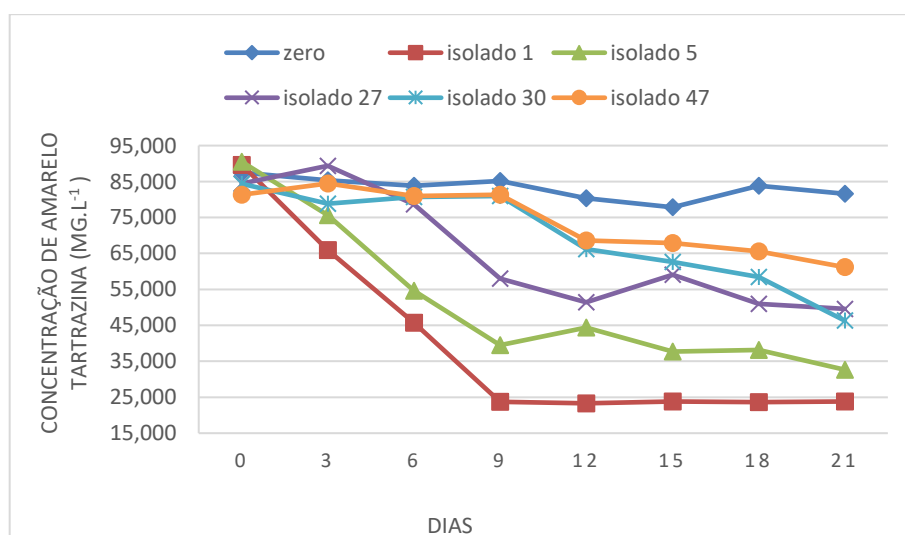


Figura 15: Perfil de remoção do Amarelo Tartrazina em meio nutricional CZAPEC a 500 mg.L⁻¹ pelos isolados 1, 5, 27, 30 e 47 (em meio estático). Fonte: Autor (2024)

Ainda analisando os resultados da Figura 15 foi possível observar que o isolado 5 reduziu a concentração do amarelo tartrazina até o 9º dia, estabilizando em uma média de 58% de biodescoloração a partir do 15º dia. O isolado 30 também teve um bom desempenho, embora com uma degradação mais lenta e progressiva, chegando a uma redução de 45% da concentração.

A biodescoloração realizada pelo fungo *A. niger* para as duas formas de fermentação (estático e com movimento circular) foram diferentes. Na fermentação com agitação, a curva de descoloração apresentou uma queda acentuada até o 3º dia, estabilizando-se até o 9º dia. Após esse ponto, observa-se um aumento na concentração do corante até o 18º dia de fermentação (Figura 13). Por outro lado, na fermentação estática (Figura 14), a concentração do corante diminuiu consideravelmente até o 9º dia, seguido de um estado de equilíbrio. Esses resultados sugerem que o meio estático oferece uma condição mais favorável ao metabolismo do *A. niger* (isolado 1).

Na Tabela 4 estão destacados, para fins de comparação, os resultados de biorremediação do corante amarelo tartrazina em diferentes condições.

Tabela 4: Percentual de Biodegradação do Corante Amarelo Tartrazina por Fungos Endofíticos no 9º dia de fermentação.

	Meio Aquoso		Meio Czapek	
	Agitação	Estático	Agitação	Estático
Isolado 1	0%		54,72%	73,56%
Isolado 5	2,18%		68,71%	56,37%
Isolado 27	12,38%		31,72%	31,30%
Isolado 30	16,63%		39,22%	4,03%
Isolado 47	13,12%		0%	0%

Fonte: Autor 2024

Observa-se que a remoção do corante variou comparando-se as condições de agitação e meio estático, sugerindo que a dinâmica do ambiente pode influenciar no mecanismo de biorremediação do sistema em estudo. Por exemplo, alguns isolados como o 01 tiveram desempenho mais alto em meio estático com 73,56%, enquanto o isolado 05 obteve melhor desempenho sob agitação apresentando eficiência de 68,71%.

Verificou-se ainda que, o meio de fermentação também exerceu influência nas taxas de remoção do corante. Na presença do CZAPEC notou-se maiores taxas de remoção, com isolados alcançando até 73,56% de eficiência no meio estático. Isso pode indicar que certos nutrientes e condições presentes no substrato CZAPEC favoreceram o metabolismo dos fungos endofíticos e, conseqüentemente, a biorremediação do corante.

Em alguns casos, como nos sistemas contendo os isolados 01 e 47, foram observadas pigmentações mais acentuadas, variando a cor e a turbidez dos sistemas, podendo ser absorvida na mesma frequência do corante, o que dificultou a quantificação, uma vez que possui multicomponentes que sejam absorvidos, podendo indicar uma incompatibilidade do isolado com esse substrato específico ou condições de crescimento menos favoráveis para biorremediação.

Foi possível observar no presente estudo que o meio CZAPEC proporcionou um ambiente nutricionalmente mais favorável para o processo de biorremediação do corante amarelo tartrazina quando comparado a fermentação em meio aquoso. Algumas pesquisas evidenciaram o potencial de biorremediação do fungo *A. Niger*, frente a diferentes corantes azoicos. Em estudo conduzido por Hoyos e colaboradores (2023), em que foi desenvolvido um sistema de triagem para bioprospecção fúngica, foram avaliadas 16 linhagens quanto à sua capacidade de descolorir corantes azo, vermelho Congo, azul brilhante G-250 e verde malaquita (trifenilmetanos). Os resultados da descoloração foram correlacionados com a quantificação da atividade da enzima lacase em diferentes valores de pH (4,5, 5,0 e 5,5). Os testes in vitro após quinze dias de fermentação, em uma mistura de vermelho Congo e verde malaquita, promoveu taxas de descoloração de 37,51% e 23,41%.

Um estudo de Agrawal e colaboradores (2021) demonstrou que o endófito fúngico *Penicillium megasporum* Orpurt produziu lacase ($19,12 \pm 3,45 \text{ U.mL}^{-1}$), que foi eficaz na descoloração de corantes têxteis sintéticos, com taxas de

descoloração de $89,4 \pm 3,2\%$ para o vermelho congo, $76,2 \pm 2,5\%$ para o laranja G e $54 \pm 2,8\%$ para a rodamina B, utilizando glicose e extrato bovino como fontes de carbono e nitrogênio em pH 6,0.

Os fungos do gênero *Aspergillus* são muito utilizados em aplicações de biorremediação de corantes orgânicos. Mahmoud e colaboradores (2017) conduziram uma pesquisa para avaliar a capacidade do fungo *A. niger* na degradação do corante azo vermelho utilizando uma concentração de 1000 mg.L^{-1} . O estudo foi realizado sob agitação de 250 rpm, a $28 \pm 1^\circ\text{C}$, e alcançou uma taxa máxima de remoção de 58,6% após sete dias de incubação.

Ghafoor e colaboradores (2024) investigaram o potencial de degradação dos corantes Sumifex Tourqi Blue e Navy Blue utilizando as cepas *Aspergillus fumigatus* e *Aspergillus flavus*. A análise espectrofotométrica UV-Vis demonstrou a perda dos picos dos corantes originais na região visível, indicando a capacidade dessas cepas de remover corantes azo. As taxas de descoloração para *A. fumigatus* foi de 75% para o Sumifex Tourqi Blue e 48% para o Navy Blue, enquanto para *A. flavus* as taxas foram de 63% e 85%, respectivamente, para os mesmos corantes.

Um estudo realizado por ASSES e colaboradores (2018) corroboram com os resultados obtidos no presente trabalho ao investigar a descoloração do corante vermelho do Congo por *A. niger*. Neste estudo, foi utilizado um meio de caldo de nutrientes sintéticos com incubação a 28°C e pH 5, durante um período de 6 dias, sob agitação entre 120 e 150 rpm. A máxima descoloração do corante foi associada à produção de enzimas lignina peroxidase e manganês peroxidase. Alcançou-se uma eficiência de descoloração superior a 97% quando 2 g de micélios foram incubados em um meio com pH 5, na presença de 200 mg.L^{-1} de corante, nas mesmas condições de temperatura e agitação mencionadas.

O estudo realizado por Ngo e Tischler (2022) demonstrou que o uso de microrganismos para a degradação de corantes apresenta diversas vantagens. De maneira econômica, os corantes são decompostos em grande medida, utilizando menos água e produzindo menos lodo. Os mecanismos pelos quais os microrganismos podem descolorir (reduzindo as ligações azo às aminas aromáticas) e degradar (quebrando os corantes azo em pequenas moléculas que resultam em H_2O , CO_2 e subprodutos minerais) corantes azo têm sido objeto de interesse em diversos estudos.

5.2.2 Biorremediação do Fenol

Considerando o sistema modelo contaminante (SMC) para análise da biorremediação do fenol em fermentação líquida com água e fenol a 500mg.L^{-1} foi possível observar que após 20 dias todos os isolados testados foram capazes de reduzir a concentração inicial do fenol, e no 25º dia com redução mínima de 84,45% pelo isolado 21 e redução máxima de 99,62%, pelos isolados 30 e 47 (Figura 16).

Os isolados 30 e 47 apresentaram as melhores taxas de biotransformação do fenol em fermentação líquida, resultando em um caldo fermentado com concentração residual final de fenol de $0,002 \pm 0,001 \text{ g.L}^{-1}$ para ambos, após 25 dias de fermentação. No entanto, o processo de biotransformação apresentou comportamentos distintos entre eles. O isolado 1, por exemplo, alcançou uma redução de 61,27% na concentração inicial de fenol já no 10º dia, enquanto o isolado 30 obteve apenas 8,11% de redução no mesmo período (Figura 16).

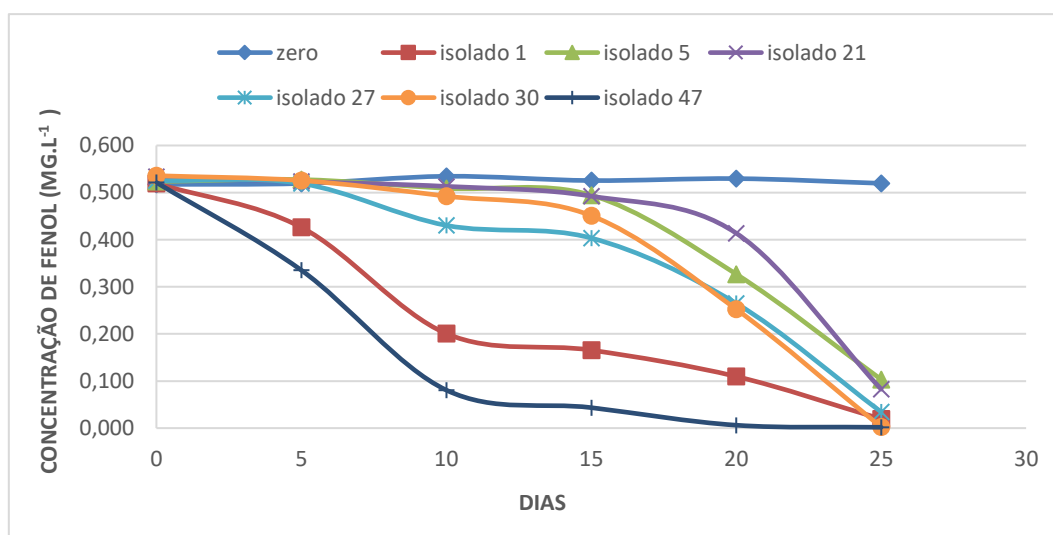


Figura 16: Perfil de remoção do Fenol em sistema aquoso a 500 mg.L^{-1} pelos isolados 1, 5, 21, 27, 30 e 47 (sob agitação). Fonte: Autor (2024)

Como o isolado 30 apresentou resultados promissores na biorremediação do fenol e do corante amarelo tartrazina, foi encaminhado para identificação da espécie por biologia molecular, cujo resultado indicou que esta cepa pertence a espécie *Epicoccum* sp., pois na chave de agrupamento houve baixa resolução (65%), ficando a cepa próxima aos táxons *Epicoccum camelliae* e *Epicoccum variabile*.

Devido o *A. niger*, a espécie do isolado 1 ser conhecida e muito aplicada

em atividades biotecnológicas variadas, vale a pena destacar os resultados em relação a biotransformação do fenol. O *A. niger* (isolado 1 – Figura 16) apresentou o mesmo comportamento de redução da concentração inicial do fenol, com queda de 61,27% na concentração do caldo fermentado no 10º dia de fermentação e 96,34% no 25º dia. Foi o fungo filamentoso com o terceiro melhor resultado para a biorremediação deste poluente.

He e colaboradores (2023) investigaram o uso do fungo *A. niger* na biodegradação da clortetraciclina (CTC), obtendo uma taxa de degradação de 95,41% em 72 horas. A clortetraciclina é um antibiótico amplamente utilizado na indústria farmacêutica, tem gerado preocupações devido à sua estrutura fenólica, quando dissociada, representa riscos para a saúde humana e para o meio ambiente.

Após o processo de remoção do fenol em meio aquoso e em movimento circular, optou-se por analisar o sistema modelo variando o meio de cultivo e o modelo de fermentação, uma vez que os microrganismos podem induzir diferentes vias metabólicas em resposta ao ambiente interno e externo. A eficácia da biodegradação pode ser maximizada otimizando os meios de cultura e os parâmetros do processo (UPPALA; MUTHUKMARAN, 2021). Para isso, foi utilizado o meio líquido CZAPEC como substrato nutricional, juntamente com os contaminantes na mesma concentração, tanto em movimento circular uniforme (mesa agitadora) quanto em meio estático.

Considerando os resultados obtidos para a biorremediação do fenol, no meio líquido CZAPEC sob agitação (Figura 17), verificou-se que o isolado 1 (*A. niger*) destacou-se por reduzir 84,24% desse composto no 15º dia.

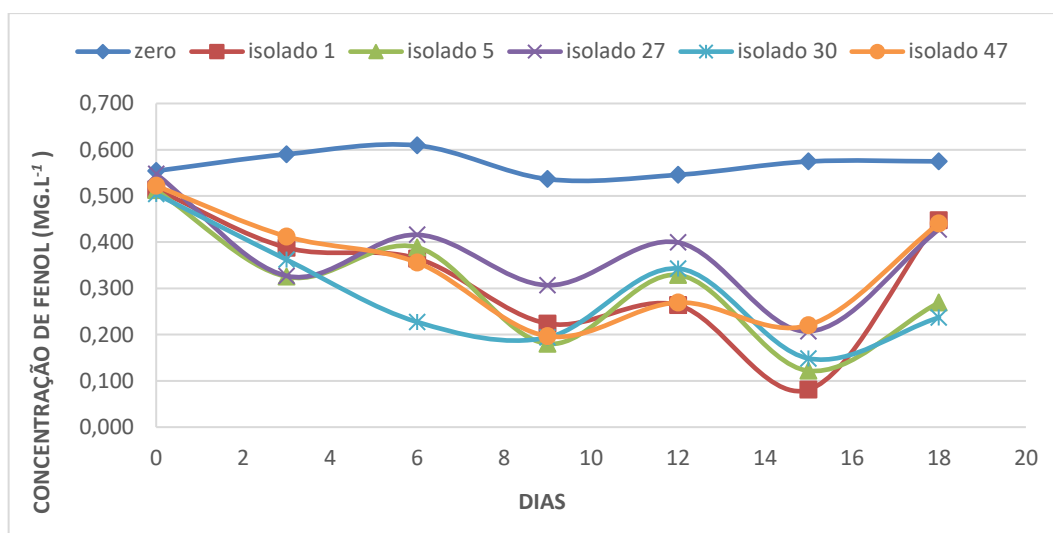


Figura 17: Perfil de remoção do Fenol em meio nutricional CZAPEC a $\pm 500 \text{ mg.L}^{-1}$ pelos isolados 1, 5, 27, 30 e 47 (sob agitação). Fonte: Autor (2024)

O comportamento da biorremediação do fenol para todos os isolados estudados apresentou alterações máximas e mínimas na concentração. Provavelmente, ocorreu um possível processo de adaptação que envolveu a bioissorção e liberação de fenol para a manutenção e desenvolvimento biológico. A curva de controle (sem microrganismos) também apresentou o mesmo padrão de comportamento, porém menos acentuado, sugerindo possíveis alterações no sistema tais como interações entre fenol e os constituintes do meio líquido, formação de aglomerados a partir de polimerização e, reações químicas com a formação de subprodutos.

Hamad e colaboradores (2021) observaram que a oxidação microbiana de hidrocarbonetos presentes no petróleo bruto promoveu a degradação de subprodutos como o fenol, resultando na formação de intermediários, incluindo álcoois, aldeídos e ácidos graxos, posteriormente convertidos em CO_2 . O *Aspergillus niger* 13r7 destacou-se como um dos mais eficientes na biodegradação de efluentes contendo fenol. Em relação às n-parafinas, a taxa de degradação alcançou 59,38% e 51,01%, enquanto as isoparafinas apresentaram remoções de 94,67% e 75,64% quando tratados com *Cladosporium brachyspora* e *Stachybotrys botryosum*, respectivamente.

Um estudo realizado por EL-DIN e colaboradores (2023) investigaram a utilização de fungos selecionados para a biorremediação de fenol e o-cresol. Foram estudados os fungos *A. flavus* e *Aspergillus terreus*, onde o isolado mais eficiente

atingiu taxas máximas de degradação de 88,34% e 98,1% para as cepas ON649683 e ON649704, respectivamente. Além disso, essas cepas demonstraram uma inibição de 61% e 64% para a oxidase e de 81% e 78% para as enzimas peroxidase ao longo de um período de 7 dias.

Os resultados obtidos no experimento com fenol e meio CZAPEC sob agitação são consistentes com os resultados observados em meio estático. A Figura 18 mostra o gráfico atualizado da variação na concentração de fenol ao longo de 21 dias para diferentes isolados, podendo comparar como a condição estática pode influenciar na eficiência de degradação dos compostos pelos microrganismos.

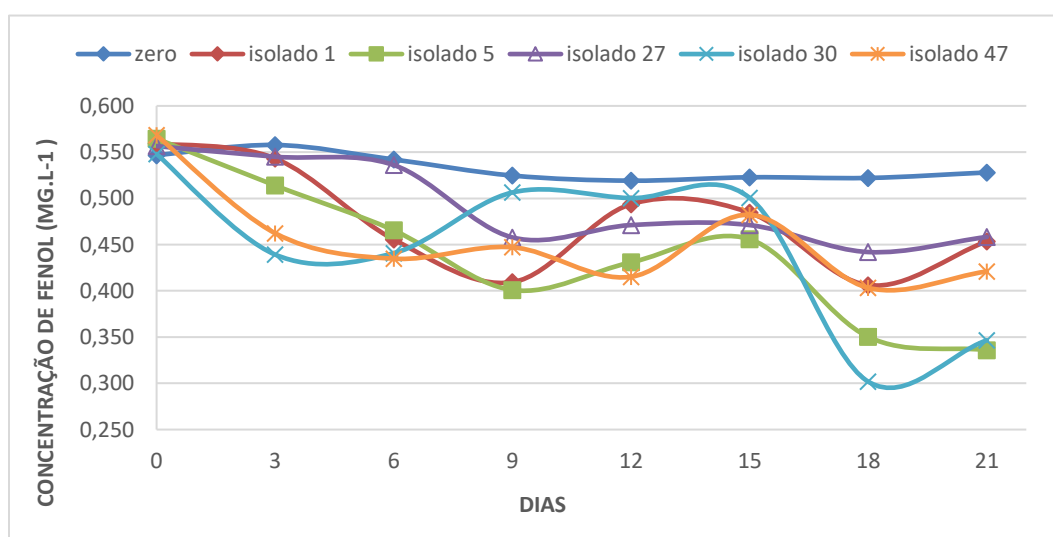


Figura 18: Perfil de remoção do Fenol em meio nutricional CZAPEC a 500 mg.L⁻¹ pelos isolados 1, 5, 27, 30 e 47 (em meio estático). Fonte: Autor (2024)

Nos primeiros nove dias, observou-se redução nas concentrações de fenol, com os isolados (*A. niger*) e 5 apresentando taxas de biorremediação de 26,83% e 29,03%, respectivamente. No entanto, a partir do 10º dia, houve um aumento na concentração de fenol em alguns dos isolados, sugerindo uma liberação gradual de fenol da biomassa de volta ao meio. Os isolados 27, 1 e 47 apresentaram um desempenho inferior no processo conduzido em condições estáticas, com reduções de 17,77%, 18,78% e 25,88%, respectivamente, o que indica um possível processo adaptativo que resultou na liberação do contaminante a partir do 15º dia. A curva de controle permaneceu estável. Este comportamento difere da condição de movimento circular uniforme, onde os isolados apresentaram maior índice de

biotransformação, sugerindo que o movimento pode aumentar a disponibilidade de nutrientes e oxigênio, afetando o metabolismo dos microrganismos (KOUR, et al., 2021; KEEGSTRA; CARRARA; STOCKER, 2022).

Por outro lado, os isolados apresentaram uma tendência de variação das concentrações de fenol, atingindo altas concentrações do contaminante no 15º dia e biotransformando o fenol no 18º, indicando uma adaptação inicial que aumenta a eficiência de biorremediação ao longo do tempo. Alguns isolados, entretanto, mostraram desempenho inferior, possivelmente devido ao acúmulo de subprodutos tóxicos em condições estáticas.

A degradação do fenol é lenta e difícil devido à sua estrutura cíclica, tornando a clivagem do anel benzênico um processo complexo, o que resulta no acúmulo dessa substância nos efluentes. Entender esses mecanismos pode ajudar a desenvolver estratégias mais eficazes para a biorremediação de ambientes contaminados (Poursat et al., 2019; Khalil et al., 2021).

A Tabela 5 oferece uma análise comparativa do percentual de biorremediação do fenol por diferentes isolados fúngicos em dois tipos de caldo fermentativo, aquoso e com Czapek após 18 dias de fermentação, sob agitação e estática. Esses dados permitem avaliar como as variáveis de substrato e dinâmica influenciaram na eficácia da biorremediação.

Tabela 5: Percentual de Remoção do Fenol por Fungos Endofíticos após 18 dias de fermentação.

	Meio Aquoso		Meio Czapek	
	Agitação	Estático	Agitação	Estático
Isolado 1	78,80%		12,84%	27,37%
Isolado 5	49,62%		47,46%	38,53%
Isolado 27	37,47%		21,75%	19,34%
Isolado 30	52,98%		52,97%	45,00%
Isolado 47	98,84%		15,52%	29,04%

Fonte: Autor 2024

Dentre os resultados foi possível observar que as maiores taxas de biotransformação foram no substrato contendo apenas água, contaminante e microrganismo. O isolado 47 foi capaz de biorremediar 98,84% do fenol sob agitação.

No substrato Czapec, as taxas de redução do fenol foram, em sua maioria, mais baixas comparadas ao meio contendo apenas água. Por exemplo, o isolado 01 apresentou uma taxa bem menor (12,84% em agitação) em comparação ao mesmo isolado no substrato contendo água (78,80% em agitação). Essa diferença pode indicar que o substrato Czapec fornece condições menos favoráveis para o desenvolvimento desses isolados, talvez pela composição nutricional do substrato que reage com os componentes presentes no sistema, não favorecendo o processo de biodegradação.

No presente trabalho, foi possível observar melhor desempenho no processo de biorremediação com o sistema contendo apenas a biomassa e o contaminante fenol, onde o microrganismo consumiu mais de 99% do poluente. A análise dos resultados sugere que o movimento circular uniforme (mesa agitadora) contribuiu para uma distribuição mais homogênea dos microrganismos e do contaminante, favorecendo a eficiência da biotransformação em comparação com os sistemas que utilizavam o meio CZAPEC. Devido à presença de múltiplos componentes no meio nutricional CZAPEC, a eficácia da biorremediação do fenol foi variável. Como proposta futura, é sugerido realizar um delineamento experimental, para ajustar a concentração de alguns componentes nutricionais, como nitrato de sódio, fosfato dipotássico, sulfato de magnésio heptaidratado, cloreto de potássio, sulfato ferroso heptaidratado e sacarose, a fim de maximizar a redução da concentração do poluente em referência.

Esses dados evidenciaram que, para maximizar a remoção, é fundamental escolher o substrato e as condições dinâmicas mais apropriadas para cada isolado fúngico, aproveitando ao máximo suas capacidades específicas de biorremediação.

5.3 Resultados de espectroscopia FTIR

A espectroscopia no infravermelho representa uma técnica de grande importância no processo de síntese e caracterização das substâncias estudadas neste trabalho. A análise comparativa e minuciosa entre os reagentes de partida e os produtos biorremediados, permitiu verificar variações nas intensidades das bandas, bem como os números de onda referentes às oscilações nas ligações. A intensidade das bandas de absorção está relacionada com a alteração do momento dipolar da ligação. Quanto maior a variação no momento dipolar oscilante ao incidir

a radiação, maior será a intensidade das bandas observadas no espectro Infravermelho (PAVIA, et al., 2010).

Na Figura 19 encontram-se sobrepostos os espectros do fenol e do seu produto de biorremediação produzidos pelo *A. niger* (lado esquerdo). As bandas apresentadas pelo fenol correspondem às já descritas na literatura, com destaque para a região acima de 3000 cm^{-1} , em, aproximadamente, 3230 cm^{-1} , com uma banda forte, larga, resultante da associação polimérica entre grupamentos O—H e seus respectivos estiramentos. Para o produto de biorremediação, nesta mesma região, nota-se uma modificação no espectro, com o deslocamento da banda referente aos estiramentos das ligações O—H, variando para $\sim 3400\text{ cm}^{-1}$. Apesar de estarem numa faixa de referência para este tipo de oscilação, pode-se sugerir um leve enfraquecimento desta ligação, quando comparada àquelas do reagente de partida. (PAVIA, et al., 2010)

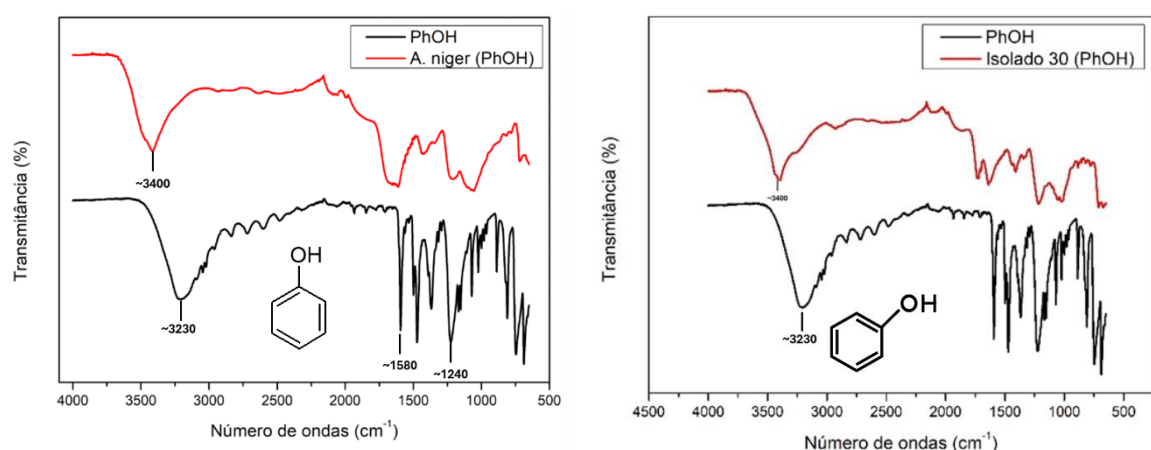


Figura 19: Sobreposição dos espectros no infravermelho do fenol e do seu respectivo produto de biorremediação por *A. niger* e *Epicoccum sp.*. Fonte: Autor (2024).

Na região entre $3000\text{--}1600\text{ cm}^{-1}$ verifica-se a ocorrência das deformações harmônicas, no plano, devido à combinação de deformações e vibrações das ligações C—H do anel benzênico, trazendo informações relevantes sobre o padrão de substituição da substância em análise, que, para o fenol, é monossustituído. Estas bandas ficaram claras no espectro do fenol, entretanto no produto de biorremediação esta leitura ficou dificultada, sugerindo-se que houve alguma modificação química na estrutura e/ou uma mistura de compostos na amostra em estudo (PAVIA, et al., 2010).

A região de $1600 - 1300 \text{ cm}^{-1}$ corresponde às bandas de absorção de estiramento C=C dos núcleos aromáticos e apresenta em geral bandas estreitas e intensas. No geral, quatro bandas são observadas para o fenol, onde podemos destacar a banda em $\sim 1580 \text{ cm}^{-1}$, com relativa intensidade em virtude da conjugação com o grupo hidroxila, o qual apresenta pares de elétrons não-ligantes, suscetíveis ao fenômeno de ressonância com o anel aromático. Na região entre $1300 - 900 \text{ cm}^{-1}$, encontra-se o estiramento C—O em fenóis, com uma banda em $\sim 1240 \text{ cm}^{-1}$, com intensidade forte, com ênfase em um dubleto adicional, resultante das deformações O—H. A resolução destas bandas no produto de biorremediação também ficou comprometida, sugerindo-se que houve alguma modificação química na estrutura e/ou uma mistura de compostos na amostra em estudo (PAVIA, et al., 2010).

A sobreposição dos espectros no infravermelho (FTIR) na imagem da Figura 19 compara também o fenol (PhOH) com o produto resultante de sua biorremediação pelo isolado 30 – *Epicoccum* sp (lado direito). Observa-se uma banda em torno de 3400 cm^{-1} , corresponde aos estiramentos O—H, que pode ser atribuída tanto à substância isolada quanto a moléculas de água de hidratação, devido à sua característica higroscópica. No caso do fenol, uma absorção característica na faixa de 3230 cm^{-1} está presente, sendo atribuída à vibração de estiramento da ligação O-H do grupo hidroxila (-OH) ligado ao anel aromático (PAVIA, et al., 2010).

No espectro do produto de biorremediação por *Epicoccum* sp (linha vermelha) figura 19, observa-se uma mudança significativa na região de 3400 cm^{-1} , sugerindo possíveis alterações na estrutura química do fenol após o processo de biorremediação. Isso pode indicar a degradação ou transformação do fenol pelo isolado 30 (*Epicoccum* sp), possivelmente resultando na formação de novos compostos. Além disso, também há diferenças em outras regiões do espectro, como nas bandas que correspondem às vibrações C=C do anel aromático, indicando que a biorremediação afetou a estrutura molecular do fenol, o que é consistente com a conversão do fenol em outros produtos menos tóxicos ou mais simples. Essas alterações nos espectros indicam possíveis interações ou transformações químicas ocorridas durante o processo de biorremediação, evidenciando o efeito do isolado 30 sobre a estrutura molecular do fenol.

A mesma análise comparativa dos espectros no infravermelho foi realizada com o corante amarelo tartazina e seus produtos de biorremediação utilizando os isolados 01 (*A. niger*) e 30 (*Epicoccum sp.*). A sobreposição dos espectros, mostradas nas Figuras 21 e 22, evidencia pontos de variação, referentes às bandas de absorção de cada uma das substâncias.

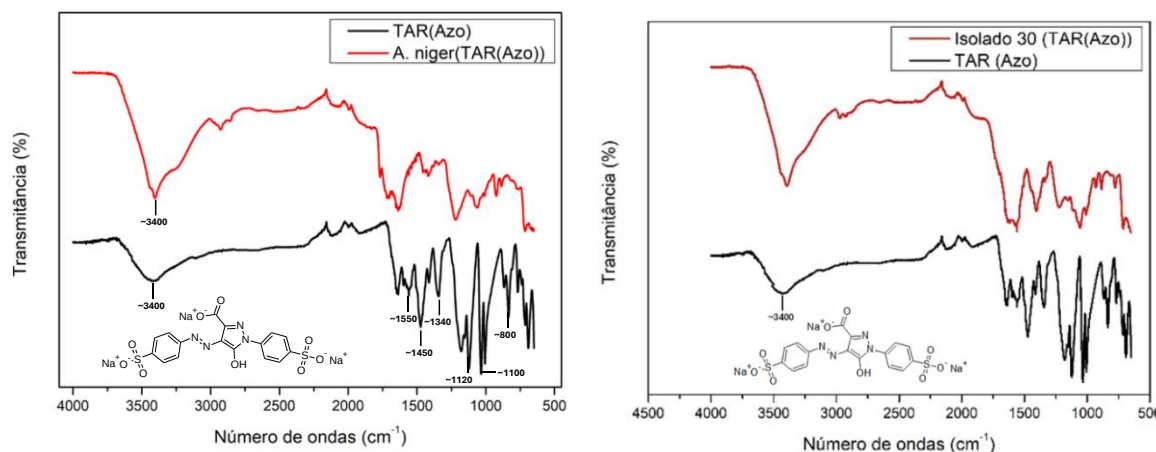


Figura 20: Sobreposição dos espectros no infravermelho do amarelo tartrazina e do seu respectivo produto de biorremediação por *A. niger* e *Epicoccum sp.* Fonte: Autor (2024).

O espectro do corante amarelo tartrazina figura 20, exibiu bandas bem definidas, como já descritas na literatura por Romão e colaboradores (2023). A banda em $\sim 3400 \text{ cm}^{-1}$, referente aos estiramentos O—H, tanto da substância isolada, quanto de possíveis moléculas de água de hidratação, em virtude da sua característica higroscópica. Ao analisar os espectros dos produtos de biorremediação, nota-se esta banda mais intensa e em sobreposição com outras bandas de absorção na mesma região. Os sítios reativos do corante amarelo tartrazina permite sugerir uma possível hidrólise na porção éster na molécula, o que poderia justificar a maior intensidade da banda referente aos estiramentos do grupamento O—H.

A região de $1600 - 1300 \text{ cm}^{-1}$ corresponde às bandas de absorção de estiramento C=C das vibrações de núcleos aromáticos e apresenta em geral bandas estreitas e intensas. Os grupos retiradores de elétrons ligados aos anéis aromáticos refletem na diminuição da intensidade destas bandas de absorção. As bandas em 1450 e 1340 cm^{-1} são atribuídas às deformações axiais dos grupos

O=S=O. Estas, por sua vez, não foram visualizadas no espectro do produto de biorremediação, podendo sugerir alguma modificação estrutural nesta porção da molécula (SILVERSTEIN; WEBSTER; KIEMLE, 2005).

O estiramento C—O referente à função enol, na molécula da tartrazina, foi confirmado pela banda de absorção em 1120 cm^{-1} , seguido da banda em $\sim 1100\text{ cm}^{-1}$ referente às hidroxilas ligadas à carbonos secundários. No espectro do produto de biorremediação estas bandas apresentaram baixas intensidades e considerável alargamento, sugerindo modificação na estrutura e/ou misturas de compostos na amostra analisada. Além disso, pode-se sugerir alteração no padrão de substituição dos anéis aromáticos, visto que a banda em 800 cm^{-1} referente a anéis benzênicos dissustituídos na posição *para*, não foi observada no espectro do produto de biorremediação.

O amarelo tartrazina é um corante azo, cujas bandas mais significativas estão associadas ao grupo azo ($-\text{N}=\text{N}-$), normalmente localizado na faixa de $1400\text{--}1500\text{ cm}^{-1}$. A degradação desse composto pode ser evidenciada pela diminuição na intensidade dessa banda. O rompimento da ligação azo pode gerar compostos amínicos, que aparecem como bandas em $3300\text{--}3500\text{ cm}^{-1}$ (PAVIA, et al., 2010).

Diferenças importantes foram verificadas por meio da análise comparativa dos espectros no infravermelho sugerindo alterações estruturais nos produtos de biorremediação partindo tanto do fenol como do corante amarelo tartrazina, apesar de inconclusivas, em termos de estruturas químicas. Serão necessárias aplicações de técnicas de cromatografias tais como Cromatografia Líquida de Alta Eficiência, Cromatografia em Coluna para separação dos constituintes e suas respectivas caracterizações estruturais por meio das análises dos novos espectros no infravermelho e dos espectros de Ressonância Magnética Nuclear de ^1H e de ^{13}C .

5.4 Avaliação toxicológica dos isolados identificados

Artemia salina é amplamente reconhecida como um bioindicador para compostos tóxicos. Sendo uma análise simples, barata, fornece resultados rápidos e com menos quantidade de compostos (SAHA; RAO, 2024). As soluções biorremediadas com fenol (500 mg) e amarelo tartrazina (100 mg), utilizando *A. niger* e *Epicoccum sp*, foram submetidas ao teste de letalidade frente a *A. salina*.

Após 24 horas de exposição dos náupilos às soluções, foi realizada a

contagem dos sobreviventes, obtendo-se valores de DL50 de 1931,04 $\mu\text{g.mL}^{-1}$ para *A. niger* e 1364,24 $\mu\text{g.mL}^{-1}$ para o *Epicoccum sp* em relação ao fenol biorremediado. Para o amarelo tartrazina biorremediado, os valores de DL50 foram 2065,38 $\mu\text{g.mL}^{-1}$ para *A. niger* e 2092,07 $\mu\text{g.mL}^{-1}$ para o *Epicoccum sp*. Já para a amostra controle de fenol (500 mg), a DL50 foi de 18,35 $\mu\text{g.mL}^{-1}$ apresentando ser fortemente tóxico, a amostra controle do amarelo tartrazina (100 mg), a DL50 foi de 1492,71 $\mu\text{g.mL}^{-1}$ não apresentando toxicidade. Esses resultados indicam que os compostos biorremediados por *A. niger* e pelo *Epicoccum sp* não apresentam toxicidade frente aos náupios de *A. salina*, conforme o critério de Meyer et al. (1982), que considera uma substância atóxica ou inativa quando seu valor de DL50 é superior a 1000 $\mu\text{g.mL}^{-1}$.

A ausência de toxicidade no teste realizado é um indicador de que o sistema pode ser bem tolerado pelo sistema biológico, podendo ser uma fonte de biotransformação com possível aplicação em efluentes industriais. Mesmo utilizando metodologias diferentes para avaliação toxicológica.

6 CONCLUSÃO

Os resultados de biorremediação obtidos no presente estudo, utilizando fungos filamentosos endofíticos, escolhidos após seleção primária e secundária de 48 isolados, evidenciaram que, especialmente os fungos *Aspergillus* e *Epicoccum* apresentaram potencial para biotransformar fenol e o corante amarelo tartrazina, com comportamentos distintos em função das condições de cultivo. Através da otimização das condições de biorremediação e da análise cinética dos processos, observou-se que o fenol foi melhor biodegradado em meio aquoso sob agitação, enquanto para o corante amarelo tartrazina notou-se melhor biodescoloração com o meio Czapek e em condição estática. Além disso, os testes de toxicidade do caldo biorremediado indicaram segurança biológica, reforçando o potencial desses fungos endofíticos como agentes sustentáveis para a descontaminação de efluentes industriais contaminados com fenol ou corante amarelo tartrazina.

7 PERSPECTIVAS FUTURAS

Para identificar os compostos resultantes da biotransformação pelos isolados em estudo, planeja-se, como etapa futura, isolar a molécula biotransformada e realizar análises detalhadas por cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC), seguida de cromatografia acoplada a espectrometria de massas e ressonância magnética nuclear (RMN). Esse conjunto de análises será fundamental para caracterizar as estruturas dos compostos transformados e entender o mecanismo de degradação enzimática, o que é crucial para desenvolver aplicações seguras e eficazes de biorremediação em ambientes contaminados. A identificação precisa dos produtos biotransformados contribuirá para assegurar que o processo de degradação não resulte em subprodutos tóxicos e permitirá aprimorar a eficiência e a segurança das práticas de tratamento ambiental.

ANEXOS

Screening de fungos filamentosos endofíticos para degradação de fenol e corante azo

Tabela 6: Quantificação do perfil de crescimento dos fungos estudados ao longo de 10 dias frente ao modelo contaminante (Fenol) e (Amarelo Tartrazina).

FUNGOS	Concentrações	Fenol		Amarelo Tartrazina	
		5 dias	10 dias	5 dias	10 dias
Isolado 1	0,100 g L ⁻¹	++	++++	—	—
	0,500 g L ⁻¹	+	+++	—	—
Isolado 2	0,100 g L ⁻¹	++	+++	—	—
	0,500 g L ⁻¹	—	++	—	—
Isolado 3	0,100 g L ⁻¹	+	++	—	—
	0,500 g L ⁻¹	+	++	—	—
Isolado 4	0,100 g L ⁻¹	++	+++	—	—
	0,500 g L ⁻¹	+	+++	—	—
Isolado 5	0,100 g L ⁻¹	++	+++	—	—
	0,500 g L ⁻¹	++	+++	—	—
Isolado 6	0,100 g L ⁻¹	—	—	—	—
	0,500 g L ⁻¹	—	—	—	—
Isolado 7	0,100 g L ⁻¹	—	—	—	—
	0,500 g L ⁻¹	—	—	—	—
Isolado 8	0,100 g L ⁻¹	+	+++	—	—
	0,500 g L ⁻¹	+	++	—	—
Isolado 9	0,100 g L ⁻¹	++	+++	—	—
	0,500 g L ⁻¹	—	+	—	—
Isolado 10	0,100 g L ⁻¹	++	+++	—	—
	0,500 g L ⁻¹	—	++	—	—
Isolado 11	0,100 g L ⁻¹	++	+++	—	—
	0,500 g L ⁻¹	—	+	—	—
Isolado 12	0,100 g L ⁻¹	++	—	—	—

	0,500 g L ⁻¹	+++	—	—	—
Isolado 13	0,100 g L ⁻¹	+	++	—	—
	0,500 g L ⁻¹	—	++	—	—
Isolado 14	0,100 g L ⁻¹	—	—	—	—
	0,500 g L ⁻¹	—	—	—	—
Isolado 15	0,100 g L ⁻¹	++	+++	—	—
	0,500 g L ⁻¹	+	++	—	—
Isolado 16	0,100 g L ⁻¹			—	—
	0,500 g L ⁻¹			—	—
Isolado 17	0,100 g L ⁻¹				
	0,500 g L ⁻¹	+	+		
Isolado 18	0,100 g L ⁻¹	Microorganismo não encontrado			
	0,500 g L ⁻¹				
Isolado 19	0,100 g L ⁻¹	Microorganismo não encontrado			
	0,500 g L ⁻¹				
Isolado 20	0,100 g L ⁻¹	+	++	—	—
	0,500 g L ⁻¹			—	—
Isolado 21	0,100 g L ⁻¹	++	+++	—	—
	0,500 g L ⁻¹	++	+++	—	—
Isolado 22	0,100 g L ⁻¹	+		—	—
	0,500 g L ⁻¹		+	—	—
Isolado 23	0,100 g L ⁻¹	+	++	—	—
	0,500 g L ⁻¹	+	+++	—	—
Isolado 24	0,100 g L ⁻¹	—	—	—	—
	0,500 g L ⁻¹	—	—	—	—
Isolado 25	0,100 g L ⁻¹	—	—	—	—
	0,500 g L ⁻¹	—	—	—	—
Isolado 26	0,100 g L ⁻¹	++	++	—	—
	0,500 g L ⁻¹	+	+++	—	—
Isolado 27	0,100 g L ⁻¹	++	++++	—	—
	0,500 g L ⁻¹	++	+++	—	—
Isolado 28	0,100 g L ⁻¹	+	++	—	—
	0,500 g L ⁻¹	++	+++	—	—

Isolado 29	0,100 g L ⁻¹	++	+++	-	-
	0,500 g L ⁻¹	+	++	-	-
Isolado 30	0,100 g L ⁻¹	++	++++	-	-
	0,500 g L ⁻¹	++	+++	-	-
Isolado 31	0,100 g L ⁻¹	+	++	-	-
	0,500 g L ⁻¹	+	+++	-	-
Isolado 32	0,100 g L ⁻¹	-	+	-	-
	0,500 g L ⁻¹	-	++	-	-
Isolado 33	0,100 g L ⁻¹	+	+	-	-
	0,500 g L ⁻¹	-	-	-	-
Isolado 34	0,100 g L ⁻¹	++	++	-	-
	0,500 g L ⁻¹	-	+	-	-
Isolado 35	0,100 g L ⁻¹	+	++	-	-
	0,500 g L ⁻¹	+	+++	-	-
Isolado 36	0,100 g L ⁻¹	+	++	-	-
	0,500 g L ⁻¹	+	++	-	-
Isolado 37	0,100 g L ⁻¹	+	++	-	-
	0,500 g L ⁻¹	+	++	-	-
Isolado 38	0,100 g L ⁻¹	-	-	-	-
	0,500 g L ⁻¹	-	-	-	-
Isolado 39	0,100 g L ⁻¹	+	++	-	-
	0,500 g L ⁻¹	-	-	-	-
Isolado 40	0,100 g L ⁻¹	Microorganismo não encontrado			
	0,500 g L ⁻¹				
Isolado 41	0,100 g L ⁻¹	Microorganismo não encontrado			
	0,500 g L ⁻¹				
Isolado 42	0,100 g L ⁻¹	+	++	-	-
	0,500 g L ⁻¹	+	++	-	-
Isolado 43	0,100 g L ⁻¹	+	+	-	-
	0,500 g L ⁻¹	+	++		
Isolado 44	0,100 g L ⁻¹	Microorganismo não encontrado			
	0,500 g L ⁻¹				
Isolado 45	0,100 g L ⁻¹	-	-	-	-

	0,500 g L ⁻¹	-	-	-	-
Isolado 46	0,100 g L ⁻¹	-	-	-	-
	0,500 g L ⁻¹	-	-	-	-
Isolado 47	0,100 g L ⁻¹	+++	++++	-	-
	0,500 g L ⁻¹	+++	+++	-	-
Isolado 48	0,100 g L ⁻¹	++		-	-
	0,500 g L ⁻¹	+++	++	-	-
Isolado 49	0,100 g L ⁻¹	+	+	-	-
	0,500 g L ⁻¹	-	-	-	-
Isolado 50	0,100 g L ⁻¹	+	+	-	-
	0,500 g L ⁻¹	-	-	-	-
Isolado 51	0,100 g L ⁻¹	-	-	-	-
	0,500 g L ⁻¹	-	-	-	-
Isolado 52	0,100 g L ⁻¹	+	++	-	-
	0,500 g L ⁻¹	-	++	-	-
Isolado 53	0,100 g L ⁻¹	++	+++	-	-
	0,500 g L ⁻¹	+	++	-	-

Crescimento do microrganismo (fenol); (-) nenhum, (+) muito pouco, (++) pouco, (+++) médio, (+++++) muito.

Descoloração do corante amarelo tartrazinal; (-) nenhum, (+) muito pouco, (++) pouco, (+++) médio, (+++++) muito.

8 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. ABD EL-RAHIM, Wafaa M. et al. Biodegradation of azo dyes by bacterial or fungal consortium and identification of the biodegradation products. *The Egyptian Journal of Aquatic Research*, v. 47, n. 3, p. 269-276, 2021.
2. AGRAWAL, Pavan Kumar et al. Evaluation of the ability of endophytic fungi from *Cupressus torulosa* to decolorize synthetic textile dyes. *Journal of Hazardous, Toxic, and Radioactive Waste*, v. 25, n. 1, p. 06020005, 2021.
3. AHMARUZZAMAN, Md et al. Phenolic Compounds in Water: From Toxicity and Source to Sustainable Solutions-An Integrated Review of Removal Methods, Advanced Technologies, Cost Analysis, and Future Prospects. **Journal of Environmental Chemical Engineering**, p. 112964, 2024.
4. AHMED, S. F. et al. Recent developments in physical, biological, chemical, and hybrid treatment techniques for removing emerging contaminants from wastewater. **Journal of hazardous materials**, v. 416, p. 125912, 2021.
5. ALARA, Oluwaseun Ruth; ABDURAHMAN, Nour Hamid; UKAEGBU, Chinonso Ishamel. Extraction of phenolic compounds: A review. **Current research in food science**, v. 4, p. 200-214, 2021.
6. AMOBONYE, Ayodeji et al. The potential of fungi in the bioremediation of pharmaceutically active compounds: a comprehensive review. **Frontiers in Microbiology**, v. 14, p. 1207792, 2023.
7. ANDRIANI, Ade; YANTO, Dede Heri Yuli. Comparative kinetic study on biodecolorization of synthetic dyes by *Bjerkandera adusta* SM46 in alginate beads-packed bioreactor system and shaking culture under saline-alkaline stress. **Biocatalysis and Biotransformation**, v. 40, n. 4, p. 296-307, 2022. <https://doi.org/10.1080/10242422.2021.1929193>
8. ANVISA. AGENCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. Informe Técnico nº 30, de 24 de julho de 2007. Disponível em:< https://www.gov.br/anvisa/pt-br/assuntos/alimentos/informes/copy_of_30de2007> Acessado em: 19 de fevereiro 2022.
9. Asses, N., Ayed, L., Hkiri, N., and Hamdi, M. (2018). "Congo Red decolorization and detoxification by *Aspergillus niger*: Removal mechanisms and

dye degradation pathway,” Biomed Res. Int.2018, Article ID 3049686. DOI: 10.1155/2018/3049686

10. BALARAM, V. et al. Pollution of water resources and application of ICP-MS techniques for monitoring and management—A comprehensive review. **Geosystems and Geoenvironment**, v. 2, n. 4, p. 100210, 2023.

11. BANERJEE, Sushmita; CHATTOPADHYAYA, M. C. Adsorption characteristics for the removal of a toxic dye, tartrazine from aqueous solutions by a low cost agricultural by-product. **Arabian Journal of Chemistry**, v. 10, p. S1629-S1638, 2017.

12. BANKOLE, Paul Olusegun et al. Biodegradation and detoxification of Scarlet RR dye by a newly isolated filamentous fungus, *Peyronellaea prosopidis*. **Sustainable Environment Research**, v. 28, n. 5, p. 214-222, 2018.

13. BIBI, Amina et al. Towards sustainable physiochemical and biological techniques for the remediation of phenol from wastewater: A review on current applications and removal mechanisms. **Journal of Cleaner Production**, p. 137810, 2023.

14. BRASIL. Ministério do Meio Ambiente – MMA. **Conselho Nacional Do Meio Ambiente-CONAMA**. Resolução Nº 357, datado 17 de março de 2005; DOU Nº 053, De 18/03/2005, Págs. 58-63.

15. Canva. (2024). *Imagem de poluição dos recursos hídricos*. https://www.canva.com/design/DAGMRNriKGU/dIkS7UMjuypA568CJQWGjA/view?utm_content=DAGMRNriKGU&utm_campaign=designshare&utm_medium=link&utm_source=editor

16. CAVALCANTE, Paula Romyne de Moraes et al. Removal of phenol from aqueous medium using micellar solubilization followed by ionic flocculation. **Journal of Environmental Chemical Engineering**, v. 6, n. 2, p. 2778-2784, 2018.

17. CERNEV, Tom; FENNER, Richard. The importance of achieving foundational Sustainable Development Goals in reducing global risk. **Futures**, v. 115, p. 102492, 2020.

18. CHIKUKULA, Abdulmajeed Allan et al. Problems and possible solutions to municipal solid waste management in Malawi Urban Areas—An Overview. **Asian J.**

Env. Ecol.[Internet].[cited 2024 Jun. 2], v. 23, n. 6, p. 42-5, 2024.

19. DA SILVA LIMA, Hevelyn Regina; SALES, Vanessa Oliveira. Aspectos gerais da ecotoxicologia, monitoramento ambiental, biodegradação e biorremediação. (2022) <https://doi.org/10.4322/mp.978-65-84548-03-9.c1>

20. DE MELLO, S. C. M.; REIS, A.; DA SILVA, J. B. T. Manual de curadores de germoplasma-micro-organismos: fungos filamentosos. **Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia-Documentos (INFOTECA-E)**, 2011.

21. EL-DIN, Ezz et al. Tracking of phenol bioremediation by two marine eco-friendly *Aspergillus terreus* MHG30 (ON649683) and *A. terreus* MHG60 (ON649704) strains at optimum conditions. **Egyptian Journal of Aquatic Biology and Fisheries**, v. 27, n. 4, p. 579-595, 2023.

22. ENERIJIOFI, Kingsley Erhons. Bioremediation of environmental contaminants: a sustainable alternative to environmental management. In: **Bioremediation for environmental sustainability**. Elsevier, 2021. p. 461-480.

23. FLORÊNCIO FILHO, DANIEL. Biorremediação de fenol em meio aquoso por fungos endofíticos de videira. Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia–UESB, **Mestrado em Química**, 2018.

24. GANI, Mohd Abdul; SHAMA, M. Phenolic Compounds. **Bioactive Compounds: Biosynthesis, Characterization and Applications**, 1st ed.; Zepka, LQ, Nascimento, TC, Jacob-Lopes, E., Eds, p. 223-240, 2021.

25. GAȚAREK, Paulina; ROSIAK, Angelina; KAŁUŻNA-CZAPLIŃSKA, Joanna. Chromatographic Methods for the Determination of Organic Pollution in Urban Water: A Current Mini Review. **Critical Reviews in Analytical Chemistry**, p. 1-18, 2024.

26. GHAFLOOR, Sidra et al. Evaluation of azo dyes degradation potential of *Aspergillus* strains: a strategy for waste management. **Journal of Hazardous Materials Advances**, p. 100475, 2024.

27. GIWA, Adewale et al. Recent advances in advanced oxidation processes for removal of contaminants from water: A comprehensive review. **Process Safety and Environmental Protection**, v. 146, p. 220-256, 2021.

28. GUPTA, Rishi et al. Biochemical conversion of CO₂ in fuels and chemicals: status, innovation, and industrial aspects. **Biomass Conversion and Biorefinery**, v. 14, n. 3, p. 3007-3030, 2024.
29. GUPTA, V. K.; SUHAS. Application of low-cost adsorbents for dye removal. **Journal of Environmental Management**, v. 90, p. 2313-2342, 2009.
30. HADIBARATA, Tony; TACHIBANA, Sanro. Characterization of phenanthrene degradation by strain *Polyporus* sp. S133. **Journal of Environmental Sciences**, v. 22, n. 1, p. 142-149, 2010.
<https://doi.org/10.1080/19443994.2015.1053991>
31. HAMAD, Asmaa A. et al. Petroleum hydrocarbon bioremediation using native fungal isolates and consortia. **The Scientific World Journal**, v. 2021, n. 1, p. 6641533, 2021.
32. HANAFI, Muhammad Farhan; SAPAWE, Norzahir. A review on the water problem associated with organic pollutants derived from phenol, methyl orange, and remazol brilliant blue dyes. **Materials Today: Proceedings**, v. 31, p. A141-A150, 2020.
33. HAQUE, Md Manjurul et al. Decolorization, degradation and detoxification of carcinogenic sulfonated azo dye methyl orange by newly developed biofilm consortia. **Saudi Journal of Biological Sciences**, v. 28, n. 1, p. 793-804, 2021.
<https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2020.11.012>
34. HASSAN, Mohammad M.; CARR, Christopher M. Uma revisão crítica sobre os avanços recentes da remoção de corantes reativos do efluente da tinturaria por adsorventes de troca iônica. **Quimiosfera**, v. 209, p. 201-219, 2018.
<https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2018.06.043>
35. HE, Wei et al. Fitorremediação assistida por endófitos: mecanismos e estratégias atuais de aplicação de poluentes mistos no solo. **Revisões críticas em biotecnologia**, v. 40, n. 1, p. 31-45, 2020.
36. HOYOS, Laura V. et al. Systematic screening strategy for fungal laccase activity of endophytes from *Otoba gracilipes* with bioremediation potential. **Fungal Biology**, v. 127, n. 9, p. 1298-1311, 2023.
<https://doi.org/10.1016/j.ibiod.2015.12.011>

37. HUNGER, Klaus (Ed.). **Industrial dyes: chemistry, properties, applications**. John Wiley & Sons, 2007.
38. IHSANULLAH, Ihsanullah et al. Bioremediation of dyes: Current status and prospects. **Journal of Water Process Engineering**, v. 38, p. 101680, 2020.
39. KEEGSTRA, Johannes M.; CARRARA, Francesco; STOCKER, Roman. The ecological roles of bacterial chemotaxis. **Nature Reviews Microbiology**, v. 20, n. 8, p. 491-504, 2022.
40. KHALIL, Doaa Montaser Ahmed et al. Bioremoval capacity of phenol by some selected endophytic fungi isolated from Hibiscus sabdariffa and batch biodegradation of phenol in paper and pulp effluents. **Iranian Journal of Microbiology**, v. 13, n. 3, p. 407, 2021.
41. KILIÇ, Zeyneb. Water pollution: causes, negative effects and prevention methods. **İstanbul Sabahattin Zaim Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi**, v. 3, n. 2, p. 129-132, 2021.
42. KOUR, Divjot et al. Beneficial microbiomes for bioremediation of diverse contaminated environments for environmental sustainability: present status and future challenges. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 28, p. 24917-24939, 2021.
43. KUMAR, Ashok et al. Microbial lipolytic enzymes—promising energy-efficient biocatalysts in bioremediation. **Energy**, v. 192, p. 116674, 2020.
44. KUMAR, Ashok et al. Structure and properties of dyes and pigments. **Dyes and pigments-novel applications and waste treatment**, v. 131, 2021.
45. LAKSHMI, A. B. et al. RSM Studies on phenol removal from aqueous solution and removal of phenolic compounds from industrial effluents by ionic liquid [Bmim][BF₄] dissolved in tributyl phosphate. **Journal of scientific & industrial research**, v. 75, p.512-518, 2016.
46. MADIGAN, Michael T. et al. **Brock biology of microorganisms**. Upper Saddle River, NJ: Prentice hall, 1997.
47. MAGALHÃES, Nathália Araújo et al. AÇÃO DE FUNGOS NA REMOÇÃO DE METAIS DE ÁGUAS RESIDUÁRIAS E COMPARTIMENTOS AMBIENTAIS: UMA

REVISÃO. **Revista AIDIS de Ingeniería y Ciencias Ambientales. Investigación, desarrollo y práctica**, p. 361-385. (2023)

<https://doi.org/10.22201/iingen.0718378xe.2023.16.1.82387>

48. MAHMOUD, Mohamed S. et al. Bioremediation of red azo dye from aqueous solutions by *Aspergillus niger* strain isolated from textile wastewater. *Journal of Environmental Chemical Engineering*, v. 5, n. 1, p. 547-554, 2017. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jece.2016.12.030>

49. MANNA, Madhumita; SEN, Sujit. Advanced oxidation process: a sustainable technology for treating refractory organic compounds present in industrial wastewater. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 30, n. 10, p. 25477-25505, 2023.

50. Marcia Debora dos; BLATT, Cecilia Terumi Teradaira. Teor de flavonóides e fenóis totais em folhas de *Pyrostegia venusta* Miers. de mata e de cerrado. **Brazilian Journal of Botany**, v. 21, p. 135-140, 1998.

51. MARINHO, G. et al. Potential of the filamentous fungus *Aspergillus niger* AN 400 to degrade Atrazine in wastewaters. **Biocatalysis and Agricultural Biotechnology**, v. 9, p. 162-167, 2017. <https://doi.org/10.1016/j.bcab.2016.12.013>

52. MEYER, B. N. et al. Brine shrimp: a convenient general bioassay for active plant constituents. **Planta medica**, v. 45, n. 05, p. 31-34, 1982.

53. MICHELETTI, Débora Hungaro et al. A review of adsorbents for removal of yellow tartrazine dye from water and wastewater. **Bioresource Technology Reports**, p. 101598, 2023.

54. MINISTÉRIO DA SAÚDE (MS) **Portaria 36/GM de 1990**. Disponível em:< https://bvsms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/gm/1990/prt0036_19_01_1990.html>. Acessado em: 19 de fevereiro 2022.

55. MOHD, Ayaz. Presence of phenol in wastewater effluent and its removal: an overview. **International Journal of Environmental Analytical Chemistry**, v. 102, n. 6, p. 1362-1384, 2022.

56. NARAYANAN, Mathiyazhagan; ALI, Sameh Samir; EL-SHEEKH, Mostafa. A comprehensive review on the potential of microbial enzymes in multipollutant bioremediation: Mechanisms, challenges, and future prospects. **Journal of**

Environmental Management, v. 334, p. 117532, 2023.

57. NAZOS, Theocharis T. et al. Biodegradation of phenol by *Chlamydomonas reinhardtii*. **Photosynthesis research**, v. 144, p. 383-395, 2020.

58. NELSON, David L.; COX, Michael M. **Princípios de Bioquímica de Lehninger-7**. Artmed Editora, 2018.

59. NGO, Anna Christina R.; UPPALA, Dirk. Microbial degradation of azo dyes: approaches and prospects for a hazard-free conversion by microorganisms. **International Journal of Environmental Research and Public Health**, v. 19, n. 8, p. 4740, 2022.

60. PATIL, Praveengouda et al. A review on interaction of phenolic pollutant with other pollutants in the binary adsorption system. **Desalination and Water Treatment**, v. 285, p. 213-241, 2023.

61. PAVITHRA, Kirubanandam Grace et al. A review on recent advancements in extraction, removal and recovery of phenols from phenolic wastewater: Challenges and future outlook. **Environmental Research**, v. 237, p. 117005, 2023.

62. PAVLOVIĆ, Jelena et al. Color stains on paper: fungal pigments, synthetic dyes and their hypothetical removal by enzymatic approaches. **Applied Sciences**, v. 12, n. 19, p. 9991, 2022.

63. POURSAT, Baptiste AJ et al. Implications of microbial adaptation for the assessment of environmental persistence of chemicals. **Critical Reviews in Environmental Science and Technology**, v. 49, n. 23, p. 2220-2255, 2019.

64. PRAJAPATI, Ravindra et al. Produtos químicos potenciais de resíduos plásticos. **Moléculas**, v. 26, n. 11, p. 3175, 2021.

65. PRATUSH, Amit; KUMAR, Ajay; HU, Zhong. Adverse effect of heavy metals (As, Pb, Hg, and Cr) on health and their bioremediation strategies: a review. **International Microbiology**, v. 21, n. 3, p. 97-106, 2018.

66. RAJENDRAN, Saravanan et al. A critical review on various remediation approaches for heavy metal contaminants removal from contaminated soils. **Chemosphere**, v. 287, p. 132369, 2022.
<https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2021.132369>

67. RAJHANS, Geetanjali et al. Degradation of dyes by fungi: an insight into mycoremediation. **Biotechnologia**, v. 102, n. 4, p. 445, 2021.
68. RAMOS, Ramatisa Ladeia; MOREIRA, Victor Rezende; AMARAL, Miriam Cristina Santos. Phenolic compounds in water: review of occurrence, risk, and retention by membrane technology. **Journal of Environmental Management**, v. 351, p. 119772, 2024.
69. RANA, Kusam Lata et al. Biodiversity of endophytic fungi from diverse niches and their biotechnological applications. **Advances in endophytic fungal research**, p. 105-144, 2019.
70. RATHI, B. Senthil; KUMAR, P. Senthil. Sustainable approach on the biodegradation of azo dyes: a short review. **Current Opinion in Green and Sustainable Chemistry**, v. 33, p. 100578, 2022.
<https://doi.org/10.1016/j.cogsc.2021.100578>
71. REKHATE, Chhaya V.; SRIVASTAVA, J. K. Recent advances in ozone-based advanced oxidation processes for treatment of wastewater-A review. **Chemical Engineering Journal Advances**, v. 3, p. 100031, 2020.
72. REPON, Md Reazuddin et al. Textile dyeing using natural mordants and dyes: a review. **Environmental Chemistry Letters**, v. 22, n. 3, p. 1473-1520, 2024.
73. RIBAS, Felipe Brondani Teixeira; SILVA, William Leonardo da. Biossorção: uma revisão sobre métodos alternativos promissores no tratamento de águas residuais. **Matéria (Rio de Janeiro)**, v. 27, p. e13212, 2023.
74. RODRIGUES, Guilherme Dias; SILVA, Luis Henrique Mendes da; SILVA, Maria do Carmo Hespanhol da. Alternativas verdes para o preparo de amostra e determinação de poluentes fenólicos em água. **Química Nova**, v. 33, n. 6, p. 1370-1378, 2010.
75. ROMÃO, W. et al. Comparando a eficiência analítica das técnicas FTIR, UV-VIS, CLAE-DAD e ESI(+)MS no estudo de corantes alimentares. **Quim. Nova**, vol. 46, n. 5, 435-449, 2023.
76. SAHA, Purbasha; BHASKARA RAO, K. V. Immobilization as a powerful bioremediation tool for abatement of dye pollution: a review. **Environmental Reviews**, v. 29, n. 2, p. 277-299, 2021.

77. SAID, Khairul Anwar Mohamad et al. A review of technologies for the phenolic compounds recovery and phenol removal from wastewater. **Process Safety and Environmental Protection**, v. 151, p. 257-289, 2021.
78. SALAMA, Doaa S. et al. Geoenvironmental approach to investigate surface and groundwater pollution-related problems in water-sensitive regions. **Environmental Monitoring and Assessment**, v. 194, n. 12, p. 928, 2022.
79. SALEHI, Sanaz et al. Applications of biocatalysts for sustainable oxidation of phenolic pollutants: A review. **Sustainability**, v. 13, n. 15, p. 8620, 2021.
80. SALGADO, José Manuel et al. Combined bioremediation and enzyme production by *Aspergillus* sp. in olive mill and winery wastewaters. **International Biodeterioration & Biodegradation**, v. 110, p. 16-23, 2016.
81. SAMSAMI, S. et al. Recent advances in the treatment of dye-containing wastewater from textile industries: Overview and perspectives. **Process safety and environmental protection**, v. 143, p. 138-163, 2020.
82. SANTOS, Kalila Silva; DE FARIA SILVA, Luciana Amaral. Fungos endofíticos isolados do umbuzeiro (*spondias tuberosa* arruda câmara): fontes alternativas potenciais para a produção de enzimas e pigmentos naturais. **Brazilian Journal of Development**, v. 6, n. 12, p. 103761-103774, 2020.
83. SARAIVANAN, A. et al. Recent advances in polymer composite, extraction, and their application for wastewater treatment: A review. **Chemosphere**, v. 308, p. 136368, 2022.
84. SARAIVANAN, A. et al. Strategies for microbial bioremediation of environmental pollutants from industrial wastewater: A sustainable approach. **Chemosphere**, v. 313, p. 137323, 2023.
85. SCOTT, Kevin A.; COX, Filipe B.; NJARDARSON, Jon T. Fenóis em produtos farmacêuticos: análise de um motivo recorrente. **Jornal de Química Medicinal**, v. 65, n. 10, p. 7044-7072, 2022.
86. SHAHADY, Thomas. Mitigating strategies for agricultural water pollution exacerbated by climate change. In: **Living with Climate Change**. Elsevier, 2024. p. 173-195.

87. SHAHEDI, A. et al. A review on industrial wastewater treatment via electrocoagulation processes. **Current opinion in electrochemistry**, v. 22, p. 154-169, 2020..
88. SHARMA, Pooja et al. Critical review on microbial community during in-situ bioremediation of heavy metals from industrial wastewater. **Environmental Technology & Innovation**, v. 24, p. 101826, 2021.
89. SHI, X. et al. Degradation of organic dyes by a new heterogeneous Fenton reagent-Fe₂GeS₄ nanoparticle. **Journal of hazardous materials**, v. 353, p. 182-189, 2018.
90. SHINDHAL, Toral et al. A critical review on advances in the practices and perspectives for the treatment of dye industry wastewater. *Bioengineered*, v. 12, n. 1, p. 70-87, 2021. <https://doi.org/10.1080/21655979.2020.1863034>
91. SILVA, Luciana Amaral De Faria et al. Pigment produced from *Arcopilus aureus* isolated from grapevines: promising natural yellow colorants for the food industry. **Food Chemistry**, v. 389, p. 132967, 2022.
92. SILVERSTEIN, R. M.; WEBSTER, F. X.; KIEMLE, D. J.; *Spectrometric Identification of Organic Compounds*, 8th ed.; John Wiley & Sons: New Jersey, 2005.
93. ŠIMONOVÍČOVÁ, Alexandra et al. *Aspergillus niger* environmental isolates and their specific diversity through metabolite profiling. **Frontiers in Microbiology**, v. 12, p. 658010, 2021.
94. SINGH, Pardeep et al. Bioremediation: a sustainable approach for management of environmental contaminants. In: **Abatement of environmental pollutants**. Elsevier, 2020. p. 1-23.
95. SINGH, Rajesh Kumar et al. Fungi as potential candidates for bioremediation. In: **Abatement of environmental pollutants**. Elsevier, 2020. p. 177-191.
96. SINGH, Ram Lakhan; SINGH, Pradeep Kumar; SINGH, Rajat Pratap. Enzymatic decolorization and degradation of azo dyes—A review. **International Biodeterioration & Biodegradation**, v. 104, p. 21-31, 2015.

97. SINGH, Vishwender Pratap et al. Advancing environmental sustainability: a comprehensive review on alleviating carbon footprint and its application in microalgal fermentation and bioremediation. **Environment, Development and Sustainability**, p. 1-46, 2024.
98. STEFFI, P. F.; MISHEL, P. F. Bioaccumulation and Biosorption. Bioremediation for Sustainable Environmental Cleanup, p. 56, 2024.
99. STEUDLER, Susanne; WERNER, Anett; WALTHER, Thomas. It is the mix that matters: Substrate-specific enzyme production from filamentous fungi and bacteria through solid-state fermentation. **Solid State Fermentation**, p. 51-81, 2019.
100. TEBBOUCHE, Latifa et al. Evaluation of the phenol biodegradation by *Aspergillus niger*: application of full factorial design methodology. **Desalination and Water Treatment**, v. 57, n. 13, p. 6124-6130, 2016.
101. TEBBOUCHE, Latifa et al. Evaluation of the phenol biodegradation by *Aspergillus niger*: application of full factorial design methodology. **Desalination and Water Treatment**, v. 57, n. 13, p. 6124-6130, 2016.
102. THACHARODI, Aswin et al. Microplastics in the environment: a critical overview on its fate, toxicity, implications, management, and bioremediation strategies. **Journal of Environmental Management**, v. 349, p. 119433, 2024.
103. TITCHOU, Fatima Ezzahra et al. Removal of organic pollutants from wastewater by advanced oxidation processes and its combination with membrane processes. **Chemical Engineering and Processing-Process Intensification**, v. 169, p. 108631, 2021
104. TKACZYK, Angelika; MITROWSKA, Kamila; POSYNIAK, Andrzej. Synthetic organic dyes as contaminants of the aquatic environment and their implications for ecosystems: A review. **Science of the total environment**, v. 717, p. 137222, 2020.
105. TORTORA, Gerard J.; FUNKE, Berdell R.; CASE, Christine L. **Introducción a la microbiología**. Ed. Médica Panamericana, 2007.
106. TRIPATHI, Sachchidanand et al. Fitorremediação de poluentes orgânicos: situação atual e direções futuras. **Redução de poluentes ambientais**, p. 81-105, 2020.

107. UPPALA, Rajeswari; MUTHUKUMARAN, Azhaguchamy. OPTIMIZATION OF MEDIA COMPONENTS AND PROCESS PARAMETERS FOR MICROBIAL MEDIATED REMEDIATION OF AZO DYES: A REVIEW.
108. VAKSMAA, Annika et al. Role of fungi in bioremediation of emerging pollutants. **Frontiers in Marine Science**, v. 10, p. 1070905, 2023.
109. VIDAL, R. R. L.; MORAES, J. S. Removal of organic pollutants from wastewater using chitosan: a literature review. **International journal of environmental science and technology**, v. 16, n. 3, p. 1741-1754, 2019.
110. VOTAT, Sébastien et al. Crystal Violet (CV) Biodegradation Study in a Dual-Chamber Fungal Microbial Fuel Cell with *Trichoderma harzianum*. **Energies**, v. 17, n. 1, p. 247, 2024. <https://doi.org/10.3390/en17010247>
111. WANG, Chuanyuan et al. Quantitative evaluation of in-situ bioremediation of compound pollution of oil and heavy metal in sediments from the Bohai Sea, China. **Marine Pollution Bulletin**, v. 150, p. 110787, 2020.
112. XIAO, X.; LI, T.; LU, X.; FENG, X.; HAN, X.; LI, W.; LI, Q.; YU, H.; A simple method for assaying anaerobic biodegradation of dyes. *Bioresource Technology*, v. 251, p. 204-209, 2018. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2017.12.052>
113. YANTI, Erpita et al. Analysis of River Environmental Pollution Factors. **Jurnal Penelitian Pendidikan IPA**, v. 10, n. 2, p. 465-470, 2024.