**MARÍLIA SANTIAGO DE BRITO DE PAULA**

# DEGRADAÇÃO DE COMPOSTOS DO PETRÓLEO POR *Coprinopsis calospora* e *Agaricus subrufescens*

**LAVRAS - MG**
**2026**

**MARÍLIA SANTIAGO DE BRITO DE PAULA**

# DEGRADAÇÃO DE COMPOSTOS DO PETRÓLEO POR C*oprinopsis calospora* e *Agaricus subrufescens*

Tese de Doutorado apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-graduação em Microbiologia Agrícola, área de concentração Microbiologia Agrícola, para obtenção de título de Doutor.

Prof. Dr. Eustáquio Souza Dias
Orientador

**LAVRAS – MG**

**2026**

**Ficha Catalográfica elaborada pelo Sistema de Geração de Ficha Catalográfica da Biblioteca Universitária da UFLA, com dados informados pelo(a) próprio(a) autor(a).**

Paula, Marília Santiago de Brito de.
Degradação de compostos do petróleo por Coprinopsis calospora e Agaricus subrufescens / Marília Santiago de Brito de Paula. - 2026.
103 p. : il.

Orientador: Eustáquio Souza Dias

Tese (Doutorado) - Universidade Federal de Lavras, 2026.
Bibliografia.

1. petróleo. 2. biodegradação. 3. fungos. I. Souza Dias, Eustáquio. II. Universidade Federal de Lavras. III. Título.

**MARÍLIA SANTIAGO DE BRITO DE PAULA**

# DEGRADAÇÃO DE COMPOSTOS DO PETRÓLEO POR *Coprinopsis calospora e Agaricus subrufescens*

# DEGRADATION OF PETROLEUM COMPOUNDS BY *Coprinopsis Calospora* AND *Agaricus subrufescens*

Tese apresentada à Universidade Federal de Lavras como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Microbiologia Agrícola, área de concentração em Microbiologia Agrícola, para obtenção do título de Doutor.

APROVADA em 31 de março de 2026.

| | |
|---|---|
| Dr. Eustáquio Souza Dias | UFLA |
| Dra. Bárbara Sayuri Bellete | UFLA |
| Dr. Carlos Godinho de Abreu | UFLA |
| Dra. Meire Cristina Nogueira de Andrade | FGT |
| Dr. Silvia Juliana Martinez Gelvez | UFLA |

gov.br
Documento assinado digitalmente
EUSTAQUIO SOUZA DIAS
Data: 22/06/2026 23:13:42-0300
Verifique em https://validar.iti.gov.br

Prof. Dr. Eustáquio Souza Dias
Orientador

**LAVRAS – MG**

**2026**

## AGRADECIMENTOS

Primeiramente, agradeço a Deus por toda sabedoria, por ter me concedido força nos momentos de dificuldade, serenidade diante dos desafios e coragem para seguir adiante mesmo quando os caminhos pareciam incertos. Sua presença constante foi sustento nas horas de dúvida.

A minha mãe, por todo amor, apoio e dedicação ao longo da minha vida, foi seguindo seu conselho que hoje defendo meu título de doutora.

Ao meu pai, que hoje não está fisicamente presente, mas permanece vivo em minha memória e em tudo que sou. Muito do que conquistei é reflexo do seu amor, pai.

Ao meu esposo, por suas palavras de incentivo nas horas difíceis, seu amor e sua paciência foram fundamentais para que eu chegasse aonde cheguei. Você é meu porto seguro.

À Universidade Federal de Lavras (UFLA), e a todo o corpo docente que têm construído e participado da minha formação ao longo de quatro anos.

Ao CNPq, pelo apoio financeiro concedido.

Ao meu orientador, expresso minha sincera gratidão pela orientação segura, pela confiança depositada em meu trabalho e pela dedicação ao longo de toda esta trajetória. Seus ensinamentos, sugestões e críticas construtivas foram fundamentais para o meu crescimento acadêmico e profissional. Agradeço pela disponibilidade, pela paciência e pelo incentivo constante, que tornaram possível a concretização deste trabalho.

Aos meus colegas: Anna, Carlos, Clara e Akiany eu não tenho palavras para agradecer tudo que vocês foram durante esses anos de doutorado. São amigos, que com certeza levo para minha vida. Agradeço pela amizade, pelo companheirismo e pelos momentos compartilhados, que tornaram os desafios mais leves e as conquistas mais significativas. A presença de vocês seja nos momentos de estudo, nas conversas, risadas e no apoio mútuo, foi essencial para a realização deste trabalho e ficará marcada para sempre na minha memória. Já sinto saudade!

A minha técnica de laboratório, Elisangela (Esilinha), você foi uma das melhores pessoas que conheci em minha vida! Obrigada por tanta amizade e carinho, sempre cuidando de mim, dentro e fora do laboratório. Você foi essencial em todo meu processo.

E a todos os colegas e amigos que não mencionei, mas que de alguma forma, direta ou indiretamente contribuíram para a realização deste trabalho. Muito obrigada!

## RESUMO

O petróleo é um composto orgânico, gerado por processos biogeoquímicos, constituído em sua maior parte por uma mistura complexa de hidrocarbonetos, que se transportado de forma incorreta pode poluir o meio ambiente. Biossurfactantes são emulsificantes naturais de hidrocarbonetos que favorecem a diminuição da tensão superficial configurando alta capacidade emulsionante. Podem ser produzidos através do metabolismo de microrganismos e possuem baixa toxicidade e alta biodegradabilidade, e biocompatibilidade conferindo alta vantagem sobre uso de surfactantes químicos e eficiência quando utilizado em baixas concentrações, além de possibilitar uma síntese a partir de substratos naturais em condições ambientais amenas e longo tempo de armazenamento. São produzidos majoritariamente por bactérias, no entanto, já existem relatos da produção de biossurfactantes por fungos. Usando microrganismos adequados degradantes de petróleo, alguns poluentes tóxicos e nocivos de hidrocarbonetos de petróleo podem ser degradados em substâncias inofensivas ou até desaparecer do ambiente. Os fungos *Coprinopsis* sp são basidiomicetos apresentam excelente desempenho na produção de enzimas ligninolíticas, são exímios acumuladores de metais pesados e atuam na degradação de hidrocarbonetos aromáticos policíclicos, em função disso, mais espécies desse gênero devem ser estudadas e avaliadas para sua aplicação na recuperação de áreas contaminadas com petróleo e seus derivados. Dessa forma, considerando o potencial dos fungos na produção de biossurfactantes e a importância desses compostos para vários processos biológicos, os quais podem ser aplicados na indústria, o substrato residual resultante do processo de cultivo de cogumelos comestíveis é valioso. O objetivo foi avaliar o potencial de degradação do petróleo da espécie de *Coprinopsis calospora* encontrada em resíduos agrícolas e suas propriedades emulsificantes e enzimáticas através de um substrato ideal utilizando casca de café adequado para cultivo de *Coprinopsis calospora,* verificar a degradação final dos hidrocarbonetos do petróleo analisando a fração aromática e alifática por *Coprinopsis calospora* + Petróleo em diferentes tempos de degradação, verificar a eficácia do uso do extrato bruto de *Coprinopsis calospora* na limpeza de dutos e tanques de petróleo.



Palavras-chave: petróleo; biodegradação; fungos.

## ABSTRACT

Petroleum is an organic compound, generated by biogeochemical processes, consisting mostly of a complex mixture of hydrocarbons, which if transported incorrectly can pollute the environment. Biosurfactants are natural emulsifiers of hydrocarbons that favor the reduction of surface tension, configuring high emulsifying capacity. They can be produced through the metabolism of microorganisms and have low toxicity and high biodegradability, and biocompatibility conferring high advantage over the use of chemical surfactants and efficiency when used in low concentrations, in addition to enabling a synthesis from natural substrates in mild environmental conditions and long storage time. They are mostly produced by bacteria, however, there are already reports of the production of biosurfactants by fungi. By using suitable petroleum-degrading microorganisms, some toxic and harmful pollutants of petroleum hydrocarbons can be degraded into harmless substances or even disappear from the environment. Coprinopsissp fungi are basidiomycetes that have excellent performance in the production of ligninolytic enzymes, are excellent accumulators of heavy metals and act in the degradation of polycyclic aromatic hydrocarbons, as a result, more species of this genus should be studied and evaluated for their application in the recovery of areas contaminated with oil and its derivatives. Thus, considering the potential of fungi in the production of biosurfactants and the importance of these compounds for various biological processes, which can be applied in industry, the residual substrate resulting from the process of cultivation of edible mushrooms is valuable. The objective of this project will be to evaluate the potential for oil degradation of the species of Coprinopsis calospora found in agricultural residues and its emulsifying and enzymatic properties through an ideal substrate using coffee husk suitable for cultivation of Coprinopsis calospora, to verify the final degradation of petroleum hydrocarbons by analyzing the aromatic and aliphatic fraction by Coprinopsis calospora + Petroleum at different degradation times, verify the effectiveness of the use of crude extract of Coprinopsis calospora in the cleaning of pipelines and oil tanks.



Keywords: petroleum; biodegradation; fungi.

## INDICADORES DE IMPACTO

Esta pesquisa apresenta elevado potencial de impacto social, tecnológico, econômico e ambiental ao propor o uso de fungos decompositores e de resíduos agrobiotecnológicos, como o substrato pós-cultivo de cogumelos (SMS), para a biodegradação de hidrocarbonetos derivados do petróleo, um dos principais contaminantes ambientais da atualidade. Os resultados demonstraram a capacidade de degradação de diferentes hidrocarbonetos presentes no petróleo, alcançando taxas de biodegradação de aproximadamente 57% para undecano, 65% para heptadecano, 66% para decano e 68% para octadecano, evidenciando a eficiência da tecnologia biológica desenvolvida para bioremediação de áreas contaminadas. Do ponto de vista social, a pesquisa contribui para a redução dos riscos à saúde humana associados à contaminação de solos, águas superficiais e subterrâneas por derivados de petróleo, beneficiando populações expostas a esses poluentes e promovendo maior segurança ambiental. No aspecto tecnológico, o trabalho gera inovação ao empregar fungos dos gêneros *Coprinopsis* e *Agaricus* e resíduos agrícolas como ferramentas de biorremediação, fortalecendo o desenvolvimento de biotecnologias sustentáveis e ampliando as possibilidades de aplicação da economia circular e da bioeconomia. Economicamente, a utilização de resíduos agroindustriais de baixo custo reduz a dependência de tecnologias físico-químicas mais onerosas e de surfactantes sintéticos derivados do petróleo, possibilitando alternativas mais acessíveis para recuperação ambiental e agregação de valor a resíduos que antes seriam descartados. Sob a perspectiva cultural e educacional, a pesquisa fortalece a conscientização sobre práticas sustentáveis de manejo ambiental e incentiva a adoção de soluções baseadas na natureza para enfrentamento da poluição industrial. Considerando os Objetivos de Desenvolvimento Sustentável (ODS) da ONU, o estudo apresenta aderência direta aos ODS 3 (Saúde e Bem-Estar), ODS 6 (Água Potável e Saneamento), ODS 9 (Indústria, Inovação e Infraestrutura), ODS 12 (Consumo e Produção Responsáveis), ODS 13 (Ação Contra a Mudança Global do Clima), ODS 14 (Vida na Água) e ODS 15 (Vida Terrestre), ao promover tecnologias limpas, recuperação de ecossistemas contaminados, reaproveitamento de resíduos agroindustriais e redução dos impactos ambientais decorrentes da exploração e do descarte inadequado de derivados de petróleo.

## IMPACT INDICATORS

This research demonstrates significant social, technological, economic, and environmental impact by proposing the use of decomposer fungi and agro-biotechnological residues, such as spent mushroom substrate (SMS), for the biodegradation of petroleum-derived hydrocarbons, which are among the most important environmental pollutants worldwide. The results showed the ability to degrade different hydrocarbons present in petroleum, achieving biodegradation rates of approximately 57% for undecane, 65% for heptadecane, 66% for decane, and 68% for octadecane, highlighting the effectiveness of the biotechnological approach developed for the remediation of contaminated environments. From a social perspective, the research contributes to reducing risks to human health associated with the contamination of soils, surface waters, and groundwater by petroleum derivatives, thereby benefiting populations exposed to these pollutants and promoting greater environmental safety. In terms of technological impact, the study generates innovation through the use of fungi from the genera *Coprinopsis* and *Agaricus*, together with agricultural residues, as bioremediation tools, strengthening the development of sustainable biotechnologies and expanding opportunities for applications in the circular economy and bioeconomy. Economically, the use of low-cost agro-industrial residues reduces dependence on more expensive physicochemical technologies and synthetic surfactants derived from petroleum, offering more affordable alternatives for environmental restoration while adding value to materials that would otherwise be discarded. From a cultural and educational standpoint, the research promotes awareness of sustainable environmental management practices and encourages the adoption of nature-based solutions to address industrial pollution. Regarding the United Nations Sustainable Development Goals (SDGs), the study is directly aligned with SDG 3 (Good Health and Well-Being), SDG 6 (Clean Water and Sanitation), SDG 9 (Industry, Innovation and Infrastructure), SDG 12 (Responsible Consumption and Production), SDG 13 (Climate Action), SDG 14 (Life Below Water), and SDG 15 (Life on Land), as it advances clean technologies, supports the restoration of contaminated ecosystems, promotes the reuse of agro-industrial residues, and contributes to reducing the environmental impacts associated with the exploitation and improper disposal of petroleum-derived products.

## LISTA DE FIGURAS


| | | |
|---|---|---|
| Figura 3.1 | Constituintes do petróleo ..... | 18 |
| Figura 3.2 | Princípio da degradação aeróbia de hidrocarbonetos por microrganismos ..... | 25 |
| Figura 3.3 | Mecanismo de oxidação de um n-alcano do diesel pelo sistema CYP. 1, Rubredoxina: NADH oxirredutase; 2, n-alcano monoxigenase; 3, álcool desidrogenase; 4, aldeído desidrogenase ..... | 26 |
| Figura 3.4 | Estrutura dos biossurfactantes e produção de micelas ..... | 27 |
| Figura 3.5 | Fotografia de *Coprinopsis calospora* em casca de café ..... | 32 |
| Figura 3.6 | Fotografias da espécie *Agaricus subrufescens* linhagem ABL 04/49 ..... | 33 |

## LISTA DE TABELAS

Tabela 3.1 Análise elementar do petróleo ..... 17

**SUMÁRIO**


| | | |
|---|---|---|
| | **PRIMEIRA PARTE** | **11** |
| **1** | **INTRODUÇÃO GERAL** | **11** |
| **2** | **JUSTIFICATIVA** | **14** |
| **3** | **REFERENCIAL TEÓRICO** | **15** |
| **3.1** | **O petróleo** | **15** |
| **3.2** | **A química do petróleo** | **16** |
| **3.3** | **Impacto ambiental e toxicidade do petróleo** | **19** |
| **3.4** | **Biorremediação e biodegradação** | **21** |
| **3.5** | **Degradação microbiana de hidrocarbonetos do petróleo e principais enzimas envolvidas** | **23** |
| **3.6** | **Biossurfactantes** | **26** |
| **3.7** | **Microrganismos degradadores de petróleo** | **29** |
| **3.8** | **Fungos coprinóides** | **30** |
| **3.8.1** | **O gênero *Coprinopsis*** | **31** |
| **3.9** | ***Agaricus subrufescens*** | **33** |
| | **REFERÊNCIAS** | **35** |
| | **SEGUNDA PARTE ARTIGOS** | **39** |
| | **ARTIGO 1 – POTENCIAL BIOEMULSIFICANTE DE EXTRATOS OBTIDOS EM DIFERENTES SUBSTRATOS DE CULTIVO DE *Coprinopsis calospora*** | **39** |
| | **ARTIGO 2 – DEGRADAÇÃO DE COMPOSTOS DO PETRÓLEO POR *Coprinopsis calospora*** | **56** |
| | **ARTIGO 3 – DEGRADAÇÃO DE COMPOSTOS DO PETRÓLEO UTILIZANDO SMS DO COGUMELO *Agaricus subrufescens*** | **81** |
| | **TERCEIRA PARTE** | **101** |
| | **CONSIDERAÇÕES FINAIS** | **101** |

# PRIMEIRA PARTE

## 1 INTRODUÇÃO GERAL

A transformação de resíduos agrícolas em matérias-primas para processos com geração de produtos valiosos é a premissa das abordagens em economia circular e bioeconomia. Nesta perspectiva, a produção de tensoativos biológicos é capaz de vincular ecossistemas agroindustriais, com forte impacto na redução da dependência em recursos não renováveis, sobretudo dos surfactantes sintéticos derivados da indústria petroquímica (MGBECHIDINMA *et al.,* 2022).

O petróleo é um composto orgânico, formado por processos biogeoquímicos, constituído em sua maior parte por uma mistura complexa de hidrocarbonetos. Seu processo de exploração, transporte e refino de petróleo pode poluir o meio ambiente, e o vazamento acidental de petróleo é a principal causa da poluição ambiental. Se o petróleo espalhado não for tratado a tempo, afetará seriamente a vida normal das pessoas na área circundante e terá um efeito tóxico no ambiente do solo e da água (LEI *et al.,* 2018).

Dentre os hidrocarbonetos monoaromáticos destacam-se benzeno, tolueno, etilbenzeno e xileno, que possuem como característica principal a presença do anel benzênico. São usados, principalmente, em solventes e em combustíveis e são os constituintes mais solúveis na fração da gasolina. O benzeno é considerado o mais tóxico, sendo reconhecido como um potente agente carcinogênico (SEABRA, 2008). Os hidrocarbonetos que possuem dois ou mais anéis são denominados hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (HPA) e são considerados os mais tóxicos componentes do petróleo. São mais agressivos ao meio ambiente por possuírem maior mobilidade em água e, por consequência, possuem maior amplitude de impacto. Muitos HPA possuem um potencial comprovadamente tóxico e alguns, carcinogênicos (TIBURTIUS *et al.,* 2004).

Os biossurfactantes são emulsificantes naturais de hidrocarbonetos que favorecem a diminuição da tensão superficial configurando alta capacidade emulsionante. Podem ser produzidos pelo metabolismo de microrganismos e possuem baixa toxicidade e alta biodegradabilidade e biocompatibilidade conferindo alta vantagem sobre uso de surfactantes químicos e eficiência quando utilizado em baixas concentrações, além de possibilitar uma

síntese a partir de substratos naturais em condições ambientais amenas e longo tempo de armazenamento (VERMA *et al.,* 2022).

A vasta aplicação dos surfactantes sintéticos, compreendendo vários campos da ciência, saúde, cosméticos, petróleo, engenharia e tecnologia, impulsiona de forma significativa seu mercado global, que está projetado para alcançar 52,4 bilhões de dólares em 2025. Por outro lado, a utilização de derivados de petróleo como matéria-prima para os surfactantes sintéticos é potencialmente nociva ao meio ambiente devido a sua ecotoxicidade, bioacumulação e baixa biodegradabilidade, estimulando o emergente mercado dos biossurfactantes, que conta com uma perspectiva de mercado global de 2,6 bilhões de dólares em 2023, fundamentado no forte apelo atual por alternativas ecologicamente amigáveis e sustentáveis (JONHSON *et al.,* 2021; FARIAS *et al.,* 2021).

Para o tratamento de poluentes de hidrocarbonetos de petróleo, os métodos físicos, químicos e a combinação dos dois métodos têm sido amplamente utilizados. No entanto, esses métodos geralmente não podem remover completamente o óleo emulsionado e o óleo dissolvido na água e no solo, e o custo do tratamento é mais alto. Métodos biológicos podem ser usados para degradar poluentes de hidrocarbonetos de petróleo. Existem muitos tipos de microrganismos que podem degradar os poluentes dos hidrocarbonetos de petróleo na natureza, este método não causa poluição secundária e tem baixo custo de processamento (LI *et al.,* 2019). Usando microrganismos adequados degradantes de petróleo, alguns poluentes tóxicos e nocivos de hidrocarbonetos de petróleo podem ser degradados em substâncias inofensivas, e mesmo algumas substâncias de hidrocarbonetos podem ser completamente degradadas.

Geralmente, as técnicas de biorremediação dependem de bactérias, devido aos ciclos rápidos de reprodução e facilidades para o estudo de suas vias metabólicas. No entanto, recentemente vários estudos relataram organismos fúngicos que excedem as capacidades bacterianas na biodegradação de hidrocarbonetos (SOARES *et al.,* 2011; PEREIRA *et al.,* 2017). Os fungos, embora possuam a mais ampla variante estrutural química de biossurfactantes e sejam produtores exclusivos de soforolipídios, manosileritritol lipídios, celobiose lipídios, xilolipídios, poliol lipídios e hidrofobinas, ainda são pouco explorados para a produção de biossurfactantes e bioemulsificantes, principalmente os fungos basidiomicetos (DA SILVA, *et al.,*2021). Muitos estudos apontam os fungos de podridão branca como microrganismos potenciais na degradação de hidrocarbonetos aromáticos policíclicos (HAP), fenóis, corantes etc., devido à sua capacidade de secretar enzimas ligninolíticas. (MATSUBARA *et al.,*2006).

Recentemente, fungos coprinóides (basidiomicetos) isolados do substrato pós-cultivo de cogumelos apresentaram Índice de Emulsificação de 73,45% em meio de cultivo contendo óleo de milho e sulfato de amônio, e 67,71% para meio de cultivo contendo glicerol e glicose (MARTINS *et al.,*2021). Martins, *et al.,* 2021 apresentou a bioprospecção de três diferentes fungos coprinóides, os quais costumam aparecer em substratos de cultivo de cogumelos do gênero *Agaricus* quando eles apresentam elevados teores de amônia para a produção de biossurfactantes em meios de cultivo distintos contendo óleo de milho e sulfato de amônio, glicerol e glicose. Os resultados mostraram que *Coprinopsis calospora* (Isolado FS-4.1) apresentou os melhores resultados em seu trabalho.

Os fungos coprinóides formam um grupo importante de macrofungos; são saprófitos com uma distribuição cosmopolita, normalmente crescendo em aglomerados em áreas de resíduos ou ocorrem em vários tipos de substratos como esterco, restos vegetais, solo, madeira etc. Entre as peroxidases mais abundantes investigadas, a *Coprinuscinereus* peroxidase (CiP) se destaca devido à sua facilidade de produção, alta atividade específica e amplo espectro de substrato. Algumas espécies de *Coprinus* exibem também excelente desempenho no acúmulo de metais pesados e na degradação de hidrocarbonetos aromáticos policíclicos (MA E RUAN, 2015, DONG *et al.,* 2015). Em função disso, mais espécies desse gênero devem ser estudadas e avaliadas para sua aplicação na recuperação de áreas contaminadas com petróleo e seus derivados além de seu potencial emulsificante e enzimático.

# 2 JUSTIFICATIVA

A disposição inadequada de resíduos oleosos da indústria de petróleo vem causando a contaminação de solos, de recursos hídricos superficiais e subterrâneos e, eventualmente, dependendo da volatilidade dos compostos orgânicos presentes nos resíduos, a contaminação do ar. Quando ocorre o derramamento de gasolina em solos, por exemplo, uma das principais preocupações é a contaminação das águas subterrâneas, especialmente, os aquíferos usados como fontes de abastecimento de água para o consumo humano. Vários podem ser os problemas gerados pela contaminação do solo e da água subterrânea por hidrocarbonetos, sendo aqueles relacionados com a saúde da população e dos ecossistemas os de maior importância. Além disto, a ocorrência de vazamentos de hidrocarbonetos configura perigo constante de incêndio ou explosão nos locais atingidos. Dada sua enorme ameaça à segurança ambiental e à saúde humana, é urgente o desenvolvimento de métodos eficientes e inovadores para degradação do petróleo e seus derivados. Estudar o mecanismo de degradação microbiana de poluentes de hidrocarbonetos de petróleo com a utilização de tecnologia verde autossustentável empregando fungos decompositores como *Coprinopsis* e *Agaricus* que apresentam facilidade de uso, disponibilidade, rápido crescimento, e alta capacidade de biodegradação de hidrocarbonetos é propício para explorar o caminho da tecnologia de remediação da poluição do petróleo e melhorar a eficiência do controle da poluição, além de possibilitar uma melhora na composição do sistema ambiental.

# 3 REFERÊNCIAL TEÓRICO

## 3.1 O petróleo

A palavra petróleo origina-se do latim petra (pedra) e oleum (óleo), isso significa óleo que vem da pedra ou está armazenado em pedras (rochas). O petróleo é definido como uma substância oleosa, inflamável, constituído em sua maior parte de hidrocarbonetos e impurezas como resinas, bem como asfaltenos. O mesmo já era conhecido na antiguidade, sendo que sua exploração e refino somente se tornaram expressivos no final do século XIX. Um dos primeiros produtos extraídos da produção de petróleo e comercializado foi o querosene. Esse veio substituir o óleo de baleia que tinha aplicação na iluminação pública e posteriormente com o desenvolvimento de motores a combustão interna, veio à demanda por gasolina e óleo diesel que seria outros produtos derivados do petróleo (FARAH E ARAÚJO, 2012, ROSA et al., 2006).

O petróleo é conhecido desde a Antiguidade, estando presente desde os primórdios da civilização. Há registros de que Nabucodonosor utilizou betume como material de ligação na pavimentação de estradas e na construção dos famosos jardins suspensos da Babilônia. No Egito, foi empregado no processo de embalsamamento e em construções monumentais, como as pirâmides. Gregos e romanos também o utilizaram para fins bélicos. Entretanto, somente a partir do século XVIII o petróleo passou a ter uso comercial mais amplo, especialmente na indústria farmacêutica e na iluminação pública. Os primeiros poços foram perfurados nos Estados Unidos, sendo considerado o primeiro sucesso de exploração o poço aberto em 1859 pelo coronel Edwin Drake, em Titusville, Pensilvânia. Esse poço atingiu cerca de 21 metros de profundidade e produzia aproximadamente 2 $m^3$ de óleo por dia (FARAH E ARAÚJO, 2012).

Com o avanço das técnicas de extração e refino, tornou-se possível obter diversos derivados do petróleo, ampliando sua rentabilidade e permitindo a substituição de outras fontes energéticas, como o carvão mineral e o óleo de baleia. Por meio de processos simples de destilação, produzia-se o querosene, amplamente utilizado na iluminação. Durante esse processo, identificaram-se também frações mais pesadas, posteriormente, denominada fração residual, que passaram a ser empregadas como óleo combustível em caldeiras. Assim, gradualmente, o carvão mineral foi sendo substituído pelo óleo combustível derivado do petróleo.

O mercado mundial de petróleo consolidou-se ao longo do tempo, tornando-se um dos principais pilares da matriz energética global. Atualmente, o petróleo figura entre as fontes de energia mais utilizadas no mundo. Além de seu papel energético, o avanço da indústria petroquímica ampliou significativamente suas aplicações. A partir dele, são produzidos inúmeros compostos empregados em diferentes setores, como a fabricação de polímeros, produtos farmacêuticos, adesivos, tintas, solventes, entre muitos outros materiais essenciais à indústria moderna (BORBA et al., 2007).

## 3.2 A química do petróleo

O petróleo é uma mistura complexa composta por diversos constituintes químicos, sendo formado majoritariamente por hidrocarbonetos, além de pequenas quantidades de impurezas. Para facilitar sua caracterização e processamento, costuma-se classificá-lo em frações conhecidas como SARA: saturados, aromáticos, resinas e asfaltenos. Sua composição pode variar significativamente, apresentando desde moléculas leves, que se encontram no estado gasoso, até compostos de elevado peso molecular, que podem estar no estado líquido ou sólido. Essa variação depende do tipo de petróleo e das condições de temperatura e pressão predominantes nos reservatórios (WU et al., 2013). Alguns compostos presentes no petróleo, como as porfirinas, podem se decompor em temperaturas elevadas, o que sugere que sua formação não ocorre sob condições térmicas extremas. De modo geral, o petróleo é gerado em faixas de temperatura entre aproximadamente 60 e 150°C.

As impurezas presentes no petróleo podem incluir compostos orgânicos contendo enxofre, nitrogênio e oxigênio, além de água e metais. Durante a produção, também podem estar associados ao petróleo bruto água, materiais inorgânicos e gases, os quais, embora presentes no processo produtivo, não integram sua composição química propriamente dita (SILVA et al., 2007).

A composição química do petróleo — isto é, a distribuição das diferentes famílias de hidrocarbonetos — é determinante para sua classificação. De modo geral, os hidrocarbonetos predominantes podem ser parafínicos, naftênicos ou aromáticos, e essa predominância influencia diretamente as etapas e as condições de processamento do óleo (DROZDOVA et al., 2013). Óleos mais claros e fluidos costumam apresentar maior proporção de frações leves, constituídas por hidrocarbonetos de menor peso molecular. Em contrapartida, óleos mais escuros e viscosos tendem a conter maior quantidade de frações pesadas, formadas por

compostos de maior peso molecular. A distinção entre petróleo leve e pesado está associada principalmente à sua densidade, que pode variar aproximadamente entre 0,75 e 1,0 g/cm³.

O petróleo é formado por séries homólogas de hidrocarbonetos, o que explica as pequenas variações observadas na análise elementar de óleos provenientes de diferentes origens (Tabela 3.1). Embora as diferenças na composição química e nas propriedades físicas possam parecer discretas, elas decorrem das variações na proporção dos elementos que compõem cada tipo de petróleo (MISITI et al., 2013).

A presença de gases dissolvidos pode aumentar sua inflamabilidade em temperatura ambiente, além de conferir odor característico e, por vezes, desagradável. A Figura 3.1 apresenta uma visão geral dos principais constituintes do petróleo bruto.

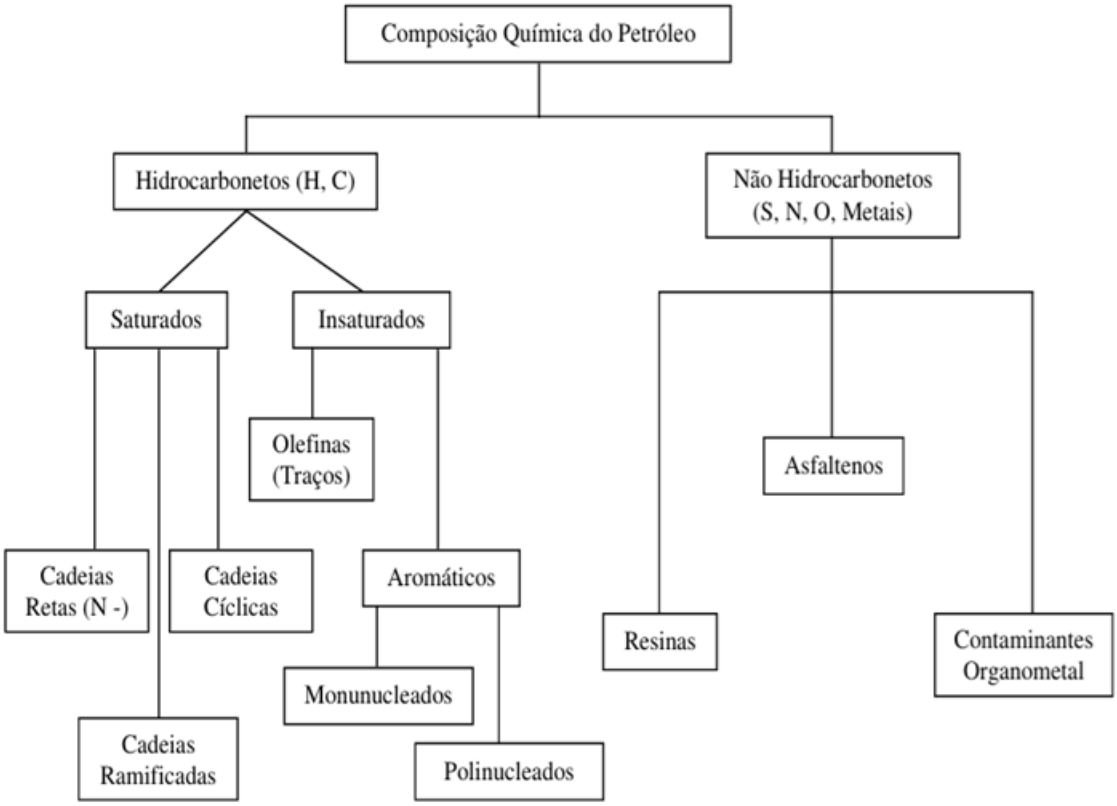
Tabela 3.1 – Análise elementar do petróleo

| **Elemento** | **Porcentagem mássica** |
|---|---|
| Carbono | 83,0 a 87,0 |
| Hidrogênio | 11,0 a 14,0 |
| Enxofre | 0,06 a 8,0 |
| Nitrogênio | 0,11 a 1,7 |
| Oxigênio | 0,5 |
| Metais (Fe, Ni, V etc.) | 0,3 |

Fonte: Farah e Araújo (2012)

Os hidrocarbonetos são compostos formados exclusivamente por átomos de carbono (C) e hidrogênio (H). De acordo com sua estrutura molecular, podem ser classificados em saturados, insaturados e aromáticos, estando presentes em grande proporção no petróleo. A quantidade de moléculas com elevado peso molecular é um dos fatores que determinam se o petróleo é considerado mais leve ou mais pesado. Os alcanos, cuja fórmula geral é $C_nH_{2n+2}$, são hidrocarbonetos saturados e podem ser encontrados no petróleo desde o metano, com apenas um átomo de carbono, até cadeias com 60 ou mais átomos de carbono (INES et al., 2013; ROSA et al., 2006). Nesses compostos, os átomos de carbono estão ligados apenas por ligações simples, podendo formar cadeias abertas lineares (parafinas normais ou n-parafinas), cadeias ramificadas ou ainda estruturas cíclicas.

Figura 3.1 – Constituintes do petróleo




Fonte: Farah e Araújo (2012)

Os hidrocarbonetos cíclicos apresentam estruturas em forma de anel, podendo conter radicais parafínicos que originam ramificações em sua cadeia (PANTOJA et al., 2013). Na indústria do petróleo, esses compostos são conhecidos como naftênicos e sua presença pode influenciar o perfil dos derivados a serem obtidos no refino. Já as olefinas são hidrocarbonetos insaturados de cadeia aberta que ocorrem apenas em pequenas quantidades no petróleo. Por possuírem pelo menos uma dupla ligação, são compostos mais instáveis e altamente reativos, o que dificulta sua preservação.

Os hidrocarbonetos aromáticos também são insaturados e caracterizam-se pela presença de uma ou mais estruturas com anel benzênico. Em alguns tipos de petróleo, especialmente os mais pesados, podem ocorrer cadeias do tipo aromático-naftênicas em maiores proporções, enquanto em petróleos leves sua presença tende a ser menos significativa (CORRÊA et al., 2012). Quanto à sua estrutura os aromáticos podem ser classificados como mononucleados, quando apresentam apenas um anel benzênico, ou polinucleados

(poliaromáticos), quando possuem dois ou mais anéis aromáticos condensados (CATALDO et al., 2013).

Os contaminantes presentes no petróleo podem apresentar desde estruturas moleculares simples até arranjos altamente complexos, formados por carbono, hidrogênio, enxofre (S), nitrogênio (N), oxigênio (O) e metais (ADEBIYI E THOSS, 2014; JAHROMI et al., 2013; DUARTE et al., 2011). Esses elementos organizam-se, em geral, em estruturas policíclicas aromáticas ou nafteno-aromáticas que incorporam heteroátomos e metais em sua composição.

As moléculas desses compostos tendem a se associar, formando agregados de diferentes tamanhos. Quando constituídos por um menor número de unidades estruturais, são denominados resinas; já os agregados com maior grau de associação recebem o nome de asfaltenos. Estes podem apresentar massa molar de até 2.900 g/mol (TAVAKKOLI et al., 2014; PEREIRA et al., 2014). Nos resíduos provenientes da destilação do petróleo, observa-se elevada concentração de asfaltenos, resinas e hidrocarbonetos aromáticos, frequentemente ligados a heteroátomos. Esses componentes são característicos das frações mais pesadas do petróleo, como o óleo combustível e o asfalto, que apresentam elevada massa molecular.

## 3.3 Impacto ambiental e toxicidade do petróleo

A produção mundial de petróleo bruto ultrapassa 3 bilhões de toneladas anuais, sendo que aproximadamente metade desse volume é transportada por via marítima, o que torna os oceanos e mares particularmente suscetíveis a acidentes envolvendo derramamentos. Um exemplo emblemático desse tipo de ocorrência é o desastre do Exxon Valdez, ocorrido no Alasca, o qual provocou impactos severos e prolongados sobre a biota marinha e costeira da região. A extração de petróleo em plataformas offshore constitui outra fonte significativa de contaminação, estimando-se que mais de 2 milhões de toneladas de petróleo sejam inadvertidamente lançadas no mar anualmente pela indústria (HARAYAMA, 1999).

O petróleo derramado apresenta tendência a flutuar e a se dispersar sobre a superfície aquática, formando extensas manchas de elevada persistência e potencial destrutivo. Além dos efeitos imediatos, as consequências de longo prazo são igualmente significativas. A contaminação de zonas costeiras compromete a fauna e a flora locais, provocando intoxicação em peixes, moluscos e mamíferos, e representando risco à saúde humana por meio da cadeia alimentar**.** Ademais, ocorrem impactos econômicos e sociais consideráveis, incluindo prejuízos à atividade pesqueira e ao turismo, uma vez que os resíduos petrolíferos, de difícil

remoção, podem impedir a utilização de praias por períodos prolongados (KORTE e BOEDEFELD, 1978; STARK et al., 2003; JIANG et al., 2010).

Os impactos ambientais relacionados ao petróleo e seus derivados também decorrem do descarte e armazenamento inadequados desses produtos (TAM e BYER, 2002). Diversas áreas apresentam contaminação por hidrocarbonetos, o que pode comprometer a saúde pública e alterar o equilíbrio dos ecossistemas locais, prejudicando, assim, o desenvolvimento econômico sustentável das regiões afetadas.

O uso inadequado de derivados do petróleo contribui para a liberação e inserção desses compostos no meio ambiente**.** A combustão incompleta da gasolina em motores automotivos resulta na emissão de hidrocarbonetos e outros poluentes para a atmosfera. De maneira similar, a exaustão de motores de embarcações facilita a dispersão e o transporte de substâncias em corpos d'água. Esses processos configuram exemplos de contaminação crônica de baixa intensidade. Por outro lado, a liberação concentrada de derivados do petróleo no ambiente está, em geral, associada a acidentes durante o transporte ou armazenamento, ocasionando impactos ambientais imediatos e localizados (EPA, 2003).

A migração de contaminantes derivados do petróleo para o subsolo ocorre de maneira semelhante a qualquer outro líquido influenciado pela gravidade, penetrando nas camadas mais profundas do solo. Durante esse processo, observa-se também um espalhamento lateral e vertical, decorrente das forças de capilaridade (SCHWILLE, 1988). À medida que o petróleo se infiltra, os poros do solo vão sendo progressivamente preenchidos, efeito resultante da tensão superficial entre o líquido e os grãos do solo.

Deve-se considerar também o impacto ambiental dos hidrocarbonetos voláteis. Grande parte das estatísticas disponíveis refere-se apenas às perdas líquidas e sólidas durante o refino, transporte e armazenamento do petróleo. No entanto, os componentes voláteis tendem a se dissipar na atmosfera**,** podendo ser transportados por correntes de ar para áreas significativamente distantes do ponto de contaminação original (PRINCE, 1993). Estudos de Squillace et al. (1996) demonstraram a presença frequente desses compostos voláteis na atmosfera de centros urbanos, resultantes de derramamentos de hidrocarbonetos.

Além de afetarem a atmosfera, os hidrocarbonetos voláteis podem impactar a geosfera, por meio de sorção em sedimentos, e a biosfera**,** pela bioacumulação em organismos. Por sua vez, as frações mais pesadas do petróleo exercem efeitos mais diretos e persistentes sobre sedimentos e organismos aquáticos, contribuindo para contaminação prolongada do ambiente (ABRAJANO et al., 1993).

Os compostos fenólicos representam uma ameaça significativa ao ambiente devido à sua elevada toxicidade, estabilidade química, capacidade de bioacumulação e persistência no meio (KAVITHA e PALANIVELU, 2004). Esses compostos são, em geral, carcinogênicos e podem causar danos substanciais à saúde humana quando alcançam corpos d'água, comprometendo a qualidade da água e a segurança dos ecossistemas aquáticos (YANG et al., 2008).

## 3.4 Biorremediação e biodegradação

O uso de microrganismos para a degradação de contaminantes em áreas poluídas, com o objetivo de restaurar a qualidade ambiental, é denominado biorremediação. O prefixo "bio" indica que se trata de uma ciência voltada à remediação por meio de organismos vivos. No entanto, o termo não traduz de forma totalmente precisa o escopo dessa prática. De maneira restrita, a biorremediação refere-se especificamente à ação de microrganismos**.** Assim, uma definição mais adequada é: *"o estudo, monitoramento e aplicação da capacidade biodegradativa de microrganismos para a remediação ambiental"*.

As técnicas de biorremediação podem ser aplicadas in situ**,** no próprio local do derramamento, ou ex situ, em áreas externas ao local contaminado, englobando diversos procedimentos, tais como biorremediação passiva, bioventilação, *landfarming*, compostagem, bioaumentação e bioestimulação (PEREIRA e LEMOS, 2004). Entretanto, é fundamental adotar critérios específicos na escolha da técnica, considerando a complexidade do ambiente e a concentração e natureza dos contaminantes (LANDIS e YU, 1995).

A biorremediação in situ é atualmente considerada uma alternativa promissora, pois utiliza microrganismos para reduzir a concentração de poluentes tóxicos. Esse processo é especialmente relevante em casos de derramamentos de petróleo em rios ou mares, além de fornecer soluções mais seguras para o manejo de resíduos potencialmente poluentes (ROSA e TRIGUIS, 2007).

Em sistemas aquáticos, os microrganismos tendem a se concentrar na interface óleo-água**,** local em que degradam diretamente as moléculas de óleo (BROCK e MADINGAN, 1991). Conforme demonstrado por Zobell (1969), a oxidação microbiana é maximizada quando os hidrocarbonetos estão em íntimo contato com a água, função que pode ser favorecida pelo uso de surfactantes**.**

A biorremediação ocorre quando os microrganismos utilizam os contaminantes como fonte de energia, promovendo simultaneamente a geração de biomassa. Essa capacidade

confere à biorremediação um grande potencial como ferramenta de defesa ambiental, passível de ser otimizada em processos de remediação. Originalmente, a biorremediação surgiu como uma tecnologia alternativa para o tratamento de locais impactados por poluentes orgânicos, fundamentando-se na utilização de populações microbianas capazes de modificar ou decompor compostos poluentes (CUNHA, 1996).

Segundo Kataoka (2003), por basear-se nas atividades metabólicas naturais dos microrganismos, a biorremediação apresenta vantagens significativas, especialmente quando os poluentes são de natureza orgânica. Nesses casos, os microrganismos constituem o principal e mais econômico meio de reduzir os impactos adversos ao meio ambiente causados pela introdução desses contaminantes.

A biodegradação é o processo pelo qual substâncias são degradadas por meio de reações enzimáticas promovidas por organismos vivos**.** O termo é comumente empregado em estudos relacionados à ecologia, manejo de resíduos e biorremediação. O material orgânico pode ser degradado tanto em condições aeróbias quanto anaeróbias**.** Um conceito relacionado é o de biomineralização**,** processo no qual a matéria orgânica é degradada e transformada em minerais inorgânicos (DIAZ, 2008).

A biodegradação consiste na eliminação de compostos orgânicos em um ecossistema por meio da atividade metabólica dos organismos presentes no local onde a substância está presente. Em teoria, caso o processo seja totalmente eficiente**,** os produtos finais da biodegradação seriam dióxido de carbono e água. Dois critérios fundamentais para avaliar o comportamento das substâncias no ambiente são a biodegradabilidade e a toxicidade, sendo que alguns autores estabelecem escalas de intensidade de biodegradação para mensurar essas características.

Segundo Aluyor et al. (2009), a biodegradação pode ser entendida como a transformação mínima capaz de alterar as propriedades físico-químicas de uma molécula. Entretanto, a geração de intermediários metabólicos durante o processo pode resultar em substâncias mais tóxicas que o composto original. A mineralização é considerada o estágio final da biodegradação, atingido quando o microrganismo utiliza completamente o substrato, produzindo $CO_2$, $CH_4$, sais minerais e água como produtos finais.

Os hidrocarbonetos são biodegradados principalmente por bactérias, leveduras e fungos**.** A eficiência desse processo pode variar amplamente, dependendo do microrganismo e das condições ambientais. Em solos, foram observadas taxas de biodegradação variando de 6% a 82% para fungos (PINHOLT et al., 1979) e de 0,13% a 50% para bactérias (HOLLAWAY et al., 1980). Em ambientes marinhos, a atividade bacteriana pode apresentar

variações ainda mais expressivas, entre 0,003% e 100% (MULKINS-PHILLIPS e STEWART, 1974). Diversos estudos indicam que populações mistas ou consórcios microbianos tendem a apresentar melhor desempenho e maior diversidade enzimática, favorecendo a degradação mais completa do petróleo em solos (BARTHA e BOSSERT, 1984), águas doces (COONEY, 1984) e ambientes marinhos (FLOODGATE, 1984).

As bactérias são consideradas os agentes mais ativos na biodegradação do petróleo, desempenhando papel central em processos naturais de atenuação, especialmente em casos de derramamentos (RAHMAN et al., 2002; ROB et al., 2009). Algumas espécies são capazes de metabolizar exclusivamente substratos constituídos apenas por hidrocarbonetos (YAKIMOV et al., 2007). Bartha e Bossert (1984) relataram a existência de 22 gêneros bacterianos e 31 gêneros de fungos com capacidade de degradar hidrocarbonetos.

Entre os microrganismos estudados, o gênero *Acinetobacter* demonstrou capacidade de utilizar n-alcanos com cadeias entre C10 e C40 como única fonte de carbono (HOLST et al., 2007). Outros gêneros bacterianos isolados de solos contaminados por petróleo, como *Gordonia*, *Brevibacterium*, *Aeromicrobium*, *Dietzia*, *Burkholderia* e *Mycobacterium*, também apresentaram potencial para degradação de hidrocarbonetos (CHAILLAN et al., 2004). A degradação de hidrocarbonetos policíclicos aromáticos por *Sphingomonas* foi descrita por Daugulis e McCraken (2003).

No grupo dos fungos, gêneros como *Amorphoteca* e *Neosartorya*, bem como leveduras dos gêneros *Candida*, *Yarrowia* e *Pichia*, foram considerados eficientes biodegradadores de petróleo (CHAILLAN et al., 2004). Singh (2006) também identificou, em solos, fungos com potencial biodegradador, como *Aspergillus*, *Cephalosporium* e *Penicillium*. Além disso, Cerniglia et al. (1980) observaram que nove cianobactérias, cinco algas verdes, uma alga vermelha e uma alga marrom apresentaram capacidade de oxidar naftaleno. Entretanto, até o momento, não há estudos que proponham a utilização de protozoários na metabolização de hidrocarbonetos.

## 3.5 Degradação microbiana de hidrocarbonetos do petróleo e principais enzimas envolvidas

Sabe-se que os hidrocarbonetos podem ser degradados por meio de três principais vias metabólicas: respiração aeróbia, respiração anaeróbia e fermentação (RATLEDGE, 1994). Na via aeróbia, a etapa inicial da biodegradação envolve a oxidação do hidrocarboneto**,** catalisada por enzimas do tipo oxigenases**.** Nesse processo, o oxigênio atua como aceptor final de

elétrons, e os produtos finais predominantes são $CO_2$ e $H_2O$**.** Quando ocorre a incorporação de uma única molécula de oxigênio ao substrato, a enzima envolvida é denominada monoxigenase, frequentemente associada ao ataque a grupos metil, como na degradação de compostos como tolueno e xilenos. Por outro lado, quando há incorporação de duas moléculas de oxigênio, a reação é catalisada por dioxigenases**,** que promovem a abertura de anéis aromáticos, sendo essa via provavelmente responsável pela degradação do benzeno.

Na respiração anaeróbia, compostos inorgânicos atuam como aceptores finais de elétrons. Nesse contexto, o $CO_2$ pode ser reduzido a metano, o sulfato a sulfeto e o nitrato a nitrogênio molecular ou íon amônio. Já na via fermentativa, os aceptores finais de elétrons são compostos orgânicos fosforilados, resultando na formação de produtos como $CO_2$, acetato, etanol, propionato e butirato (ENGLERT et al., 1993).

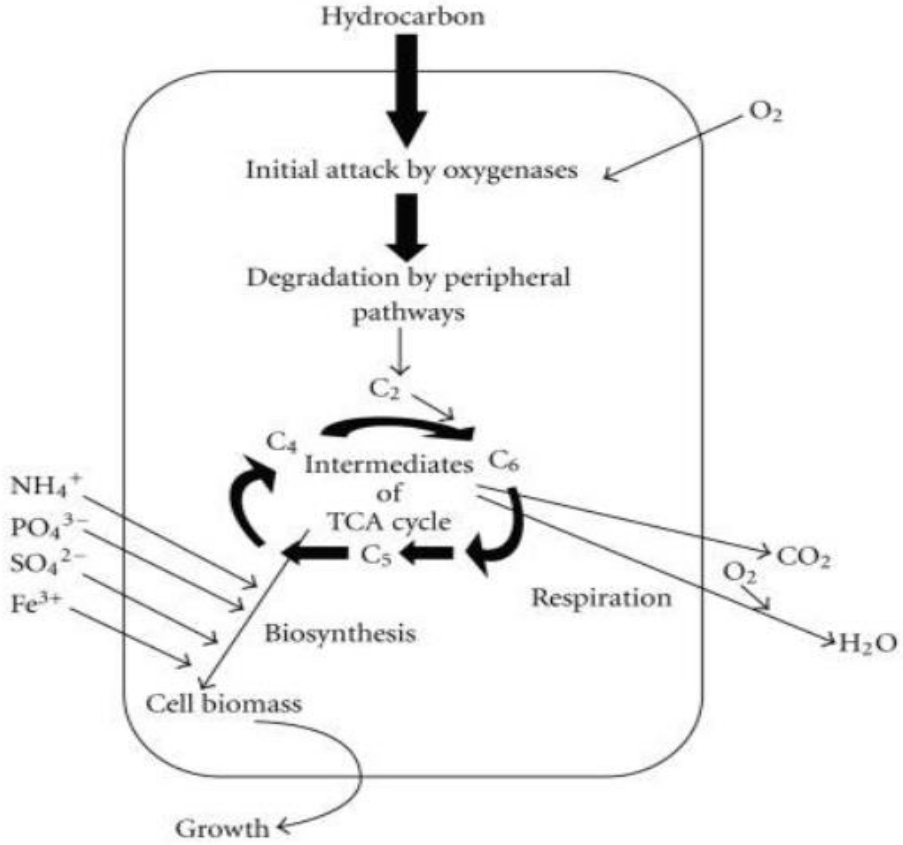
Para que a biodegradação ocorra de forma completa, é necessária a presença de aceptores de elétrons**,** como oxigênio, nitrato, sulfato ou dióxido de carbono. De acordo com Haack e Bekins (2000), áreas contaminadas em aquíferos rasos tendem a apresentar condições mais favoráveis à degradação, em virtude da maior disponibilidade de oxigênio e outros agentes oxidantes. De modo semelhante, Tang et al. (2005) observaram o estímulo à biodegradação anaeróbia mediante a adição de sulfato e nitrato como aceptores alternativos de elétrons.

Além dos aceptores de elétrons, é indispensável a presença de nutrientes essenciais mesmo que os hidrocarbonetos constituam uma fonte abundante de carbono e energia, geralmente não fornecem, em quantidades adequadas, outros elementos fundamentais à manutenção da atividade microbiana, como nitrogênio, fósforo e metais traço. Essa limitação nutricional pode restringir o processo de biodegradação. Assim, estratégias que visem suprir tais deficiências representam abordagens eficazes para viabilizar a aplicação bem-sucedida da biorremediação**,** tanto em solos contaminados quanto em derramamentos de petróleo em ambientes marinhos (PRINCE e CLARK, 2004).

A degradação da maioria dos poluentes orgânicos tende a ocorrer de maneira mais rápida e eficiente em condições aeróbias. A Figura 3.2 ilustra o princípio fundamental da degradação aeróbia de hidrocarbonetos. O ataque intracelular inicial aos compostos orgânicos consiste em um processo oxidativo, no qual a ativação e incorporação de oxigênio representam etapas enzimáticas essenciais, catalisadas principalmente por oxigenases e peroxidases**.** As chamadas vias periféricas de degradação promovem a conversão gradual dos poluentes orgânicos em intermediários que passam a integrar o metabolismo central, como aqueles envolvidos no ciclo do ácido tricarboxílico (ciclo de Krebs). A partir desses

intermediários, ocorre a biossíntese da biomassa celular, utilizando metabólitos precursores centrais, tais como acetil-CoA, succinato e piruvato. Os açúcares necessários para os processos biossintéticos e para o crescimento celular são produzidos por meio da gliconeogênese, garantindo a continuidade do metabolismo microbiano (FRITSCHE W, 2000).

Figura 3.2 – Princípio da degradação aeróbia de hidrocarbonetos por microrganismos

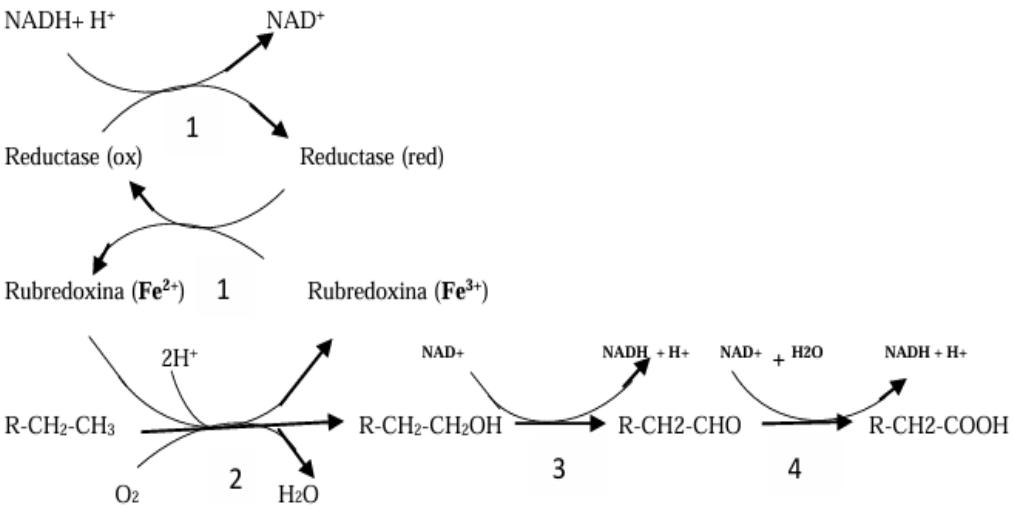



Fonte: N, Das e P. Chandran (2011)

A utilização de hidrocarbonetos pelos microrganismos em condições aeróbicas envolve a participação de oxigênio molecular como reagente, na presença de co-substrato oxidável, esta reação é catalisada por uma monoxigenase (HERNÁNDEZ-LÓPEZ et al., 2016). Nos fungos, o processo de assimilação dos hidrocarbonetos reside na ocorrência da oxidação do substrato no microssoma, o processo é intercedido pela CPR como parceiro redox, NADPH como doador de elétrons e enzimas monoxigenases do citocromo P450 (CYP) que desempenha o papel no metabolismo oxidativo de metabolitos endógenos para todos os

domínios (YANG et al., 2024). O sistema CYP nos fungos catalisa a reação de monoxigenase RH + O2 + 2e- + 2H+ ROH + H2O, através de inserção de dois átomos de oxigênio molecular no substrato, enquanto o secundo átomo de oxigênio é reduzido a uma molécula de água, figura 3.3 (DURAIRAJ et al., 2016).

Figura 3.3 – Mecanismo de oxidação de um n-alcano do diesel pelo sistema CYP. 1, Rubredoxina: NADH oxirredutase; 2, n-alcano monoxigenase; 3, álcool desidrogenase; 4, aldeído desidrogenase




Fonte: Gottschalk e Gottschalk (1986)

Os hidrocarbonetos são inicialmente oxidados no retículo endoplasmático, sendo posteriormente convertidos em seus respectivos ácidos graxos. Em seguida, ocorre a ativação das vias metabólicas associadas, com a oxidação dos ácidos graxos por meio da β-oxidação**,** resultando na formação de acetil-CoA. A partir da geração de acetil-CoA, as reações metabólicas envolvidas na síntese dos precursores da fração hidrofílica dos biossurfactantes**,** como a glicose-6-fosfato**,** correspondem essencialmente ao sentido inverso das etapas da glicólise, caracterizando a ativação de vias como a gliconeogênese (AMARAL; COELHO, 2008; SANTOS et al., 2016).

## 3.6 Biossurfactantes

Muitos resíduos, solos e efluentes contaminados por hidrocarbonetos apresentam baixa solubilidade em água**,** o que limita sua biodisponibilidade e, consequentemente, torna o processo de biodegradação mais lento. Para superar essa limitação, diversas estratégias têm

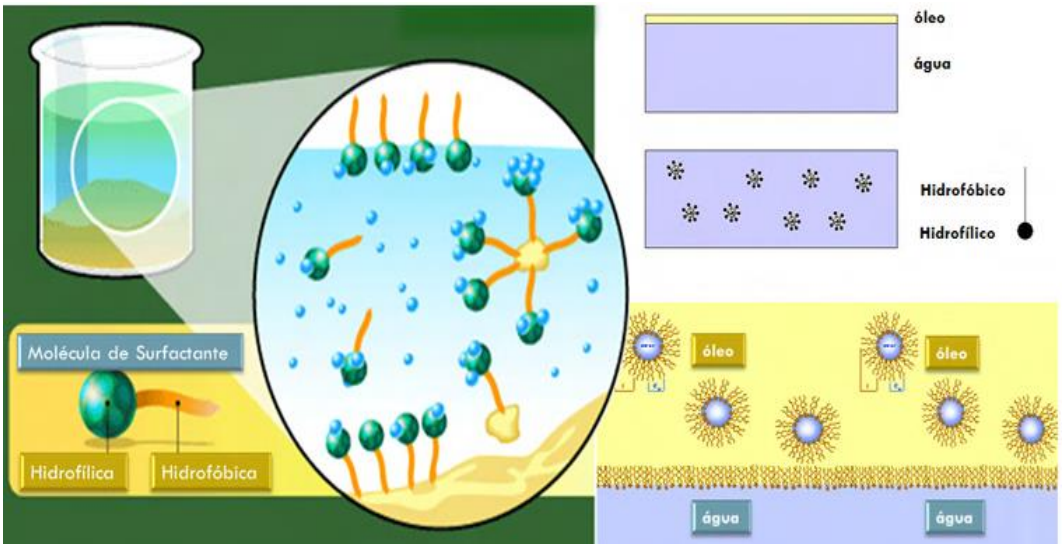
sido propostas, como o uso de biossurfactantes (TIEHM et al., 1997), pré-tratamentos químicos, processos de ozonização (KORNMÜLLER e WIESMANN, 1999) e a elevação controlada da temperatura.

De modo geral, o aumento da eficiência da biodegradação de compostos hidrofóbicos envolve medidas que promovam: (i) o aumento da solubilidade dos poluentes, (ii) a redução da viscosidade da matriz contaminada, (iii) a intensificação da difusão dos compostos no meio e (iv) a elevação da temperatura, quando aplicável. A adoção dessas estratégias favorece o aumento da biodisponibilidade dos contaminantes, potencializando a atividade microbiana e aprimorando o processo de biodegradação.

Os biossurfactantes apresentam como principal propriedade a capacidade de formar micelas e microemulsões, estruturas nas quais hidrocarbonetos podem ser solubilizados em água, assim como a água pode ser dispersa em fases hidrofóbicas (Figura 3.4). Essa característica contribui significativamente para o aumento da biodisponibilidade de compostos hidrofóbicos**.**

De modo geral, os biossurfactantes possuem uma estrutura anfifílica, composta por uma porção hidrofílica e outra hidrofóbica. A fração hidrofílica pode ser constituída por aminoácidos, peptídeos, grupos aniônicos ou catiônicos, além de mono-, di- ou polissacarídeos. Já a porção hidrofóbica é formada, em geral, por ácidos graxos saturados, insaturados ou hidroxilados (GEORGIOU et al., 1992), podendo também incluir cadeias peptídicas de natureza hidrofóbica.

Figura 3.4 – Estrutura dos biossurfactantes e produção de micelas




Fonte: Adaptado de Wilson (2000)

Os surfactantes apresentam ampla gama de aplicações, incluindo processos de detergência, emulsificação, lubrificação, formação de espuma, umectação, solubilização e dispersão de fases (NITSCHKE; PASTORE, 2002). Em razão dessas propriedades, são amplamente empregados em diversos setores industriais, como nas indústrias de cosméticos, alimentos, produtos de higiene pessoal e limpeza, entre outros. A produção mundial de surfactantes ultrapassa três milhões de toneladas por ano, sendo a maior parte destinada à fabricação de produtos de limpeza para uso industrial e doméstico (BANAT; MAKKAR; CAMEOTRA, 2000).

Apesar de sua ampla utilização, a maioria dos tensoativos comerciais é sintetizada quimicamente a partir de fontes petroquímicas (aproximadamente 70–75%), e parte desses compostos apresenta características recalcitrantes, dificultando sua degradação no ambiente (GEYS; SOETAERT; VAN BOGAERT, 2014). Nos últimos anos, tem-se intensificado a preocupação com os impactos ambientais associados aos surfactantes sintéticos**,** especialmente devido à sua toxicidade e à persistência ambiental após o descarte (SANTOS et al., 2016).

Microrganismos são capazes de sintetizar uma ampla diversidade de biossurfactantes**,** que podem ser classificados de acordo com sua massa molecular em compostos de alta e de baixa massa molecular. Os biossurfactantes de alta massa molecular consistem, em geral, de biopolímeros anfipáticos, como polissacarídeos, proteínas, lipopolissacarídeos, lipoproteínas ou combinações complexas desses componentes. Por outro lado, os biossurfactantes de baixa massa molecular incluem principalmente compostos derivados de glicolipídeos e lipopeptídeos**.**

Do ponto de vista funcional, os biossurfactantes de alta massa molecular são mais eficazes como agentes estabilizantes de emulsões água/óleo, enquanto aqueles de baixa massa molecular apresentam maior eficiência na redução da tensão superficial e interfacial em sistemas líquidos (ROSENBERG; RON, 1999).

Segundo Kosaric (1992) e Banat (1997), os biossurfactantes podem ser classificados com base em sua estrutura química nas seguintes categorias: glicolipídeos; lipopeptídeos e lipoproteínas; ácidos graxos, lipídeos neutros e fosfolipídeos; lipopolissacarídeos; surfactantes poliméricos; e surfactantes particulados**.** Entretanto, dentre essas classes, apenas os glicolipídeos e os lipopeptídeos são atualmente considerados de maior relevância industrial e econômica (GEYS; SOETAERT; VAN BOGAERT, 2014)

Os biossurfactantes são, em geral, produzidos por microrganismos aeróbios cultivados em meio líquido, utilizando diferentes tipos de substratos, como carboidratos (EL-

SHESHTAWY et al., 2016; MOUAFI; ABO ELSOUD; MOHARAM, 2016; FADHILE ALMANSOORY et al., 2017), hidrocarbonetos (FOOLADI et al., 2016; BEZZA; CHIRWA, 2017) e óleos e gorduras (SANTOS et al., 2016a; BAGHERI LOTFABAD et al., 2017; RADZUAN; BANAT; WINTERBURN, 2017). A busca por biossurfactantes com propriedades específicas tem impulsionado a investigação de diferentes microrganismos capazes de produzi-los sob variadas condições de cultivo. Diversos gêneros bacterianos são amplamente explorados para a produção desses compostos, tanto em escala laboratorial quanto industrial. Entre os principais tensoativos bacterianos já consolidados destacam-se o ramnolipídeo e a surfactina, atualmente aplicados em diferentes setores industriais.

Entre as leveduras, espécies do gênero *Candida* têm sido amplamente utilizadas na produção de biossurfactantes a partir de hidrocarbonetos e óleos vegetais. Santos et al. (2016) avaliaram a produção em larga escala por *Candida lipolytica*, obtendo cerca de 40 $g \cdot L^{-1}$ de um biossurfactante do tipo glicolipídeo, com potencial tecnológico e viabilidade econômica para diversas aplicações industriais.

A produção de biossurfactantes por fungos filamentosos, entretanto, ainda é considerada incipiente, havendo relativamente poucos estudos direcionados a esses microrganismos. Apesar disso, pesquisas recentes demonstram que fungos podem sintetizar tensoativos com propriedades promissoras (COLLA et al., 2010; SAJNA et al., 2015; VELİOĞLU; ÖZTÜRK ÜREK, 2015). Sabe-se que diferentes espécies fúngicas possuem a capacidade de produzir glicolipídeos**;** contudo, os mecanismos genéticos envolvidos na biossíntese de biossurfactantes por fungos ainda não estão completamente elucidados (DAS; MUKHERJEE; SEN, 2008).

## 3.7 Microrganismos degradadores de petróleo

De modo geral, bactérias e leveduras apresentam menor eficiência na degradação de hidrocarbonetos de cadeia longa**,** enquanto os fungos filamentosos não demonstram preferência acentuada quanto ao comprimento da cadeia carbônica. As bactérias, além de sua atividade degradadora, destacam-se por características como alta variabilidade genética, rápida taxa de crescimento, elevada capacidade degradativa e facilidade de adaptação a diferentes condições ambientais. Ademais, bactérias Gram-negativas apresentam maior tolerância a solventes orgânicos, atribuída à presença de uma membrana externa que atua como barreira protetora (ROSATO et al., 1998).

As bactérias também são capazes de emulsificar hidrocarbonetos em solução por meio da produção de biossurfactantes, agentes tensoativos que favorecem a adesão celular à fase oleosa e aumentam a biodisponibilidade dos compostos hidrofóbicos (MULLIGAN, 2005).

Entre os microrganismos empregados no tratamento biológico de efluentes de refinarias de petróleo, os fungos têm demonstrado elevada capacidade de degradar compostos xenobióticos e moléculas de alta massa molecular, geralmente recalcitrantes e de difícil degradação. Esses organismos são capazes de sobreviver e se desenvolver em ambientes com altas concentrações de contaminantes, utilizando-os como fonte de energia (EGGEN, 1998; ESPOSITO, 2004; OLIVEIRA et al., 2006; SANTOS, 2004). Tal habilidade está associada à produção de enzimas oxidativas extracelulares, que promovem a degradação de compostos aromáticos policíclicos de cadeia longa em moléculas assimiláveis ao metabolismo fúngico. Essa atividade enzimática pode ser intensificada pela adição de um substrato primário de fácil assimilação, como a glicose (GRIFFIN, 1994; SAMPAIO et al., 2004a).

## 3.8 Fungos coprinóides

Os fungos coprinoides estão atualmente distribuídos em quatro gêneros: *Coprinus* Pers. (1797), *Coprinellus* P. Karst., *Coprinopsis* P. Karst. e *Parasola* Redhead, Vilgalys & Hopple. Esses organismos passaram por um processo evolutivo denominado “coprinização”, que corresponde a um morfotipo surgido ao longo da evolução da ordem Agaricales. Tal morfotipo é caracterizado pela deliquescência do himenóforo e do píleo durante a esporulação, associada à presença de pseudoparáfises — células estéreis localizadas no himênio — e ao desenvolvimento de himênio do tipo inaequihymeniferous (NAGY et al., 2011).

A deliquescência refere-se à liquefação do píleo, que passa do estado sólido ao líquido. Nesse processo, as estruturas himeniais sofrem autólise mediada por enzimas como a quitinase, responsável pela degradação da parede celular, resultando na formação de um líquido escuro quando misturado à massa de esporos. Evidências indicam que essa característica surgiu independentemente em diferentes linhagens, configurando um caso de evolução convergente, e não um agrupamento monofilético (NAGY et al., 2011).

Nas espécies coprinoides, o píleo torna-se intensamente plissado na maturidade, a esporada apresenta coloração variando de marrom a preta e os esporos são pigmentados, com poro germinativo evidente recoberto por uma capa hialina (Redhead et al., 2001). O himênio é composto por basídios, pseudoparáfises — estruturas estéreis, hialinas e de paredes delgadas

que atuam como elementos espaçadores entre basídios e basidíolos — e pode apresentar cistídios alongados e inflados (LARGENT, 1977).

A maturação dos basidiósporos inicia-se na margem da lamela e progride em direção à base, ocorrendo concomitantemente ao processo de deliquescência (LARGENT, 1977).

Atualmente, os fungos coprinoides encontram-se inseridos na ordem Agaricales, distribuídos em quatro gêneros: *Coprinus* sensu stricto, pertencente à família Agaricaceae, e *Coprinellus*, *Coprinopsis* e *Parasola*, alocados na família Psathyrellaceae.

De acordo com dados do Index Fungorum (consultado em 20 de fevereiro de 2019), são reconhecidas mundialmente 261 espécies distribuídas entre esses quatro gêneros, sendo: *Coprinus* s.s. com 3 espécies, *Coprinellus* com 80 espécies, *Coprinopsis* com 151 espécies e *Parasola* com 27 espécies descritas.

O gênero *Coprinus* caracteriza-se por apresentar píleo carnoso, com coloração variando do branco ao cinza e umbo marrom-claro. Quando jovem, o píleo possui formato parabólico, tornando-se expandido na maturidade, com margens revolutas, laceradas e deliquescentes. O véu universal está sempre presente, manifestando-se sob a forma de escamas flocosas firmemente aderidas à superfície do píleo.

Observa-se a presença de anel conspícuo, espesso e flocoso, que pode estar livre ao redor do estípite ou aderido à base, formando uma estrutura semelhante a uma pseudovolva. O estípite é bulboso na base e apresenta um cordão filamentoso em seu interior. O himenóforo adquire coloração rosada durante a maturação das lamelas, tornando-se posteriormente negro. Pleurocistídios estão ausentes nesse gênero. A espécie-tipo é *Coprinus comatus* (REDHEAD et al., 2001).

### 3.8.1 O gênero *Coprinopsis*

O gênero *Coprinopsis* apresenta píleos com coloração variável, de formato ovoide a elipsoide, cujas margens tornam-se revolutas e laceradas durante a deliquescência. O véu, geralmente flocoso, é composto por células alongadas ou filamentosas e, ocasionalmente, globosas, deixando escamas efêmeras ou manchas membranosas sobre o píleo. As lamelas tornam-se completamente deliquescentes no processo de esporulação, enquanto pileocistídios e caulocistídios estão ausentes. Os basídios são dimórficos e pseudorrizas podem ocorrer em algumas espécies (REDHEAD et al., 2001). A espécie-tipo do gênero é *Coprinopsis friesii* (Quél.) P. Karst.

O gênero é subdividido em cinco seções, diferenciadas principalmente pela anatomia do véu. Na seção *Atramentarii* (Fr.) D.J. Schafer, o véu apresenta escamas finas, planas e sedosas, frequentemente pouco perceptíveis, deixando, por vezes, vestígios em forma de anel no estípite. A seção *Lanatuli* (Fr.) D.J. Schafer inclui espécies com véu floculoso, disposto em tufos pontiagudos, composto por elementos alongados, inflados e constritos nos septos, com fíbulas sempre presentes. Em *Alachuani* (Singer) D.J. Schafer, o véu é flocoso, formado por elementos inflados e diverticulosos, sem presença de células globosas ou subglobosas. A seção *Narcotici* (Uljé & Noordel.) D.J. Schafer apresenta véu pulverulento no umbo, disperso em pequenos aglomerados, constituído por elementos subglobosos e incrustados; os esporos podem exibir mixosporium, uma rede mucilaginosa envolvendo o esporo. Por fim, na seção *Nivei* (Citérin) D.J. Schafer, o píleo é branco a cinza, totalmente recoberto por um véu pulverulento de células subglobosas, lisas ou incrustadas, eventualmente com hifas diverticulosas, e os esporos não apresentam mixosporium (SCHAFER, 2010).

Com base em análises filogenéticas publicadas, *Coprinopsis calospora* (Figura 3.5) está filogeneticamente associada ao mesmo clado que *Coprinopsis cinerea*, denominado informalmente de “Cinerea clade” nas reconstruções moleculares de Nagy et al. (2013). Isso significa que, embora a taxonomia seccional dentro de *Coprinopsis* ainda não esteja totalmente formalizada, *C. calospora* se agrupa com espécies relacionadas a esse clado, em vez de estar claramente em seções como *Lanatuli*, *Atramentarii*, *Narcotici* ou *Nivei* conforme tradicionalmente definidas pela morfologia do véu.

Figura 3.5 – Fotografia de *Coprinopsis calospora* em casca de café

Fonte: Da autora (2026)

## 3.9 *Agaricus subrufescens*

O *Agaricus subrufescens* também conhecido como *A. blazei* Murril é um fungo do gênero *Agaricus*, pertencente a família Agaricacea e está inserido no filo Basidiomycota. Este gênero foi dividido em três subgêneros devido a sua ampla diversidade, sendo esses subgêneros: *Agaricus, Conioagaricus* e *Lanagaricus,* sendo as espécies mais estudadas pertencentes ao subgênero *Agaricus* (ABREU, 2023).

Morfologicamente o A. subrufescens (Figura 3.6) possui um basidioma diversificado, em decorrência do seu genótipo e das influências ambientais locais, podendo apresentar corpo de frutificação robusto ou delicado. O píleo mede de 20 a 70 mm de largura, quando em fase de crescimento, e de 60-150 mm de largura quando já estão maduros, e seu formato tende a ser plano-convexa. O estipe apresenta uma espessura constante e uma coloração que pode variar de branco a amarelo quando friccionado. Este possui vestígios de véu parcial (anel), o qual é esbranquiçado com pequenos flocos amarelados na face inferior (ABREU, 2023).

Figura 3.6 – Fotografias da espécie *Agaricus subrufescens* linhagem ABL 04/49

Legenda: (A) ABL 49 em crescimento micelial em placa de petri, meio Ágar Composto. (B) Basidiocarpos de ABL 49 em frutificação. (C) Basidiocarpo de ABL 49 pós-colheita. (D) Corte longitudinal de um basidiocarpo de ABL 49.

Fonte: Abreu (2023)

A espécie desenvolve-se preferencialmente em **c**ondições de clima subtropical úmido**,** com temperaturas variando entre 25 e 30 °C. Trata-se de um fungo decompositor secundário, cujo cultivo é realizado em substratos compostados à base de diferentes resíduos agrícolas, de modo semelhante ao empregado para *Agaricus bisporus* (ABREU, 2023).

*Agaricus subrufescens* é uma espécie de basidiomiceto de origem brasileira que ganhou projeção internacional tanto pelo seu valor gastronômico quanto por suas propriedades funcionais. Popularmente denominado “cogumelo do sol”, também é conhecido no mercado externo como *Royal Sun Agaricus* ou *Almond Portobello* (WISITRASSAMEEWONG et al., 2012).

Além de ser apreciado como alimento, esse cogumelo tem sido amplamente investigado por seu potencial biológico, sendo empregado em diferentes países como suplemento com finalidade terapêutica. Relatos na literatura indicam sua utilização complementar na prevenção e no manejo de diversas enfermidades, incluindo distúrbios metabólicos, doenças cardiovasculares, hepatopatias, processos inflamatórios, alterações dermatológicas e diferentes tipos de neoplasias (ABREU, 2023)

O interesse científico nessas aplicações está associado à presença de compostos bioativos, entre os quais se destacam β-glucanas, ergosterol, lectinas e determinados aminoácidos com ação imunomoduladora, como arginina e glutamina. Esses constituintes têm sido relacionados a atividades antioxidantes e moduladoras do sistema imune, o que pode explicar parte dos efeitos biológicos atribuídos à espécie (ABREU, 2023).

Embora não existam registros na literatura sobre produção de biossurfactantes por *Agaricus subrufescens*, há evidências de que o micélio dessa espécie pode atuar na degradação de certos contaminantes químicos. Em estudo laboratorial, o micélio de *A. subrufescens* foi capaz de degradar aproximadamente 44,7 % de β-cypermethrin, um pesticida organoclorado, em 15 dias, indicando potencial para o uso em reabilitação de solos contaminados por compostos orgânicos complexos. Até o momento, não há evidências na literatura científica disponível de que *Agaricus subrufescens* produza biossurfactantes capazes de reduzir a tensão superficial ou ajudar diretamente a degradar hidrocarbonetos como diesel ou petróleo. A produção de tais compostos é conhecida em outros fungos ou bactérias isoladas de ambientes contaminados, mas não foi relatada para essa espécie em particular (HU, YUWEI; BANDARA, ASANKA, 2022).

# REFERÊNCIAS

ABREU, CARLOS GODINHO DE. ***Agaricus subrufescens: do cultivo ao genoma***. 2023. Tese (Doutorado em Microbiologia Agrícola) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2023.

ABRAJANO, T. A.; MURPHY, D. E.; FANG, J.; COMET, P.; BROOKS, J. M. ***Petroleum contamination in sediments: Characterization and environmental implications*.** Organic Geochemistry, v. 20, n. 7, p. 873-885, 1993.

ADEBIYI, F. M.; THOSS, V. **Organic and elemental elucidation of asphaltene fraction of Nigerian crude oils.** Fuel, v. 118, p. 426 – 431, 2014.

ALUYOR, E. O.; OBIH, I. P.; OGHENEROBO, O.; ORI-JESU, M. **Biodegradation of crude oil and the influence of surfactants on the process.** Scientific Research and Essay, v. 4, n. 6, p. 551–558, 2009.

BORBA, R. C.; OLIVEIRA, V. M.; NETO, R, S. **A influência do petróleo na dinâmica econômica das cidades: um estudo comparativo entre Macaé (Brasil) e Aberdeen (Reino Unido).** II Jornada Nacional da Produção Científica em Educação Profissional e Tecnológica, São Luis – Ma, 2007.

CATALDO, F.; ANGELINI, G.; GARCÍA-HERNÁNDEZ, D. A.; MANCHADO, A. **Far infrared (terahertz) spectroscopy of a series of polycyclic aromatic hydrocarbons and application to structure interpretation of asphaltenes and related compounds.** Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy, v. 111, p. 68 –79, 2013.

CORRÊ, R. J.; SEVERINO, D.; SOUZA, R. S.; SANTANA, E. .F. S.; MAURO, L. L.; ALVARENGA, S. D. S.; NICODEM, D. E. **The generation of singlet oxygen by petroleum and its fractions.** Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry, v. 236, p. 9 – 13, 2012.

CUNHA, R. C. A. Biorremediação. In: MELO, I. S.; AZEVEDO, J. L. **Microbiologia ambiental.** Jaguariúna: Embrapa Meio Ambiente, 1996

DIAZ, M. R.; EBERLI, G. P. **Microbial control on carbonate precipitation in hypersaline environments.** Sedimentolog*y*, v. 55, n. 6, p. 1545–1563, 2008.

DONG, B., NIU, Q., ZHANG, W., GENG, S., LI, P., YUAN, W., ... & LIANG, K. (2015). **Expression and characterization of *Coprinuscinereus* peroxidase**. Wei Sheng wu xuebao= Acta Microbiologica Sinica, *55*(3), 321-329. (2015).

DUARTE, F. A.; MELLO, P. A.; BIZZI, C. A.; NUNES, M. A. G.; MOREIRA, E. M.; ALENCAR, M. S.; MOTTA, H. N.; DRESSLER, V. L.; FLORES, E. M. M. **Sulfur removal from hydrotreated petroleum fractions using ultrasound-assisted oxidative desulfurization process.** Fuel,v. 90, p. 2158 – 2164, 2011.

DROZDOVA, S.; RITTER, W.; LENDL, B.; ROSENBERG, E. **Challenges in the determination of petroleum hydrocarbons in water by gas chromatography (hydrocarbon index).** Fuel, v. 113, p. 527 – 536, 2013.

FARAH, M. A.; ARAÚJO, M. A. S. **Petróleo e seus Derivados.** 1 ed. Rio de Janeiro, Editora Livros Técnicos e Científicos, 2012.

FARIAS, C. B. B., ALMEIDA, F. C., SILVA, I. A., SOUZA, T. C., MEIRA, H. M., RITA DE CÁSSIA, F., ... & SARUBBO, L. A. **Production of green surfactants: Market prospects.** Electronic Journal of Biotechnology, *51*, 28-39. (2021).

HARAYAMA, S.; KISHIRA, H.; KASAI, Y.; SHUTSUBO, K. **Petroleum biodegradation in marine environments.** Journal of Molecular Microbiology and Biotechnology, v. 1, n. 1, p. 63-70, 1999.

HU, YUWEI; BANDARA, ASANKA R.; XU, JIANCHU; KAKUMYAN, PATTANA; HYDE, KEVIN D.; MORTIMER, PETER E. **The use of** *Agaricus subrufescens* **for rehabilitation of agricultural soils.** Agronomy**,** v. 12, n. 9, p. 2034, 27 ago. 2022.

JAHROMI, H.; FAZAELIPOOR, M. H.; AYATOLLAHI, S.; NIAZI, A. **Asphaltenes biodegradation under shaking and static conditions.** Fuel,v. 117, p. 230 – 235, 2014.

JIANG, Y.; WEN, J.; BAI, J.; JIA, X.; HU, Z. **Biodegradation of crude oil by a marine bacterial consortium in a series of mesocosm experiments.** International Biodeterioration & Biodegradation, v. 64, n. 6, p. 495-501, 2010.

KAVITHA, V.; PALANIVELU, K. **The role of bacteria in the degradation of phenol and its derivatives.** Indian Journal of Environmental Protection, v. 24, n. 5, p. 355-359, 2004.

KORTE, F.; BOEDEFELD, E. **Fate of petroleum and petroleum products in the environment.** Pure and Applied Chemistry, v. 50, n. 10-11, p. 1331-1344, 1978.

LEONOWICZ, A.; CHO, N.S.; LUTEREK, J.; WILKOLAZKA. A.; WOJTAS WASILEWSKA, M; HOFRICHTER, M.; WESENBERG, D; ROGALSKI, J. **Fungal laccase: Properties and Activity on Lignin.** Journal of Basic Microbiology, v.41.p.185-227.2001.

MA, K., & RUAN, Z. **Productionof a lignocellulolyticenzyme system for simultaneousbio-delignificationandsaccharificationofcornstoveremployingco-cultureof fungi.** Bioresource Technology, *175*, 586-593. (2015).

LARGENT, D. L. **How to Identify Mushrooms to Genus I: Macroscopic Features**. Mad River Press, 1977.

MATSUBARA, M.; LYNCH, J. M.; DE LEIJ, F. A. A. M. **A simplescreening procedure for selecting fungi withpotential for use in the bioremediation of contaminatedland.** Enzymeand Microbial Technology, 39.7: 1365-1372. 2006.

MISITI, T.; TEZEL, U.; PAVLOSTATHIS, S. G. **Fate and effect of naphthenic acids on oil refinery activated sludge wastewater treatment systems.** Water r e s e arch, v. 47, p. 449 – 460, 2013.

MGBECHIDINMA, C. L., AKAN, O. D., ZHANG, C., HUANG, M., LINUS, N., ZHU, H., & WAKIL, S. M. **Integration of green economy concepts for sustainable biosurfactant production-A review.** Bioresource Technology, 128021. (2022).

NAGY, L. G., KOCSIS, M., KRIZSAN, K., et al. (2013). **Systematics and phylogeny of *Coprinopsis* and related taxa: a multigene approach.** Mycologia*,* 105(5), 1187-1204.

NAGY, L. G., et al. **Understanding the Evolutionary Processes of Fungal Fruiting Bodies: Correlated Evolution and Divergence Times in the Psathyrellaceae**. Systematic Biology, 60 (3), 303 317, 2011.

NAGY, L. G., et al. **Phylogeny and species delimitation in the genus Coprinellus with special emphasis on the haired species**. Mycologia, 104, 2012.

PEREIRA, T. M. C.; VANINI, G.; OLIVEIRA, E. C. S.; CARDOSO, F. M. R.; FLEMING, F. P.; NETO, A. C.; LACERDA JÚNIOR, V.; CASTRO, E. V. R.; VAZ, B. G.; ROMÃO, W. **An evaluation of the aromaticity of asphaltenes using atmospheric pressure photoionization Fourier transform ion cyclotron resonance mass spectrometry – APPI(±)FT-ICR MS.** Fuel, v. 118, p. 348 – 357, 2014.

PEREIRA, D.D.F; DUVOISIN, J.R.S; ALBUQUERQUE, P. M. **O estudo da produção de biossurfactantes por fungos amazônicos.** The JournalofEngineeringandExactSciences, 3(4):688-695, 2017.

PEREIRA, J. L.; LEMOS, J. L. S. **Biorremediação de áreas contaminadas.** In: MELO, I. S.; AZEVEDO, J. L. (org.). Microbiologia ambiental. Jaguariúna: Embrapa Meio Ambiente, 2004.

REDHEAD, S. A. et al. **Coprinus Pers. and the disposition of Coprinus species sensu latu.** Taxon, 50, 2001.

ROSA, A. J.; CARVALHO, R. S.; XAVIER, J. A. D. **Engenharia de Reservatórios de Petróleo.** 1° ed. Rio de Janeiro, Editora Interciência, 2006.

SILVA, A. L. F.; SOUZA FILHO, J. E.; RAMALHO, J. B. V. S.; MELO, M. V.; LEITE, M. M.; BRASIL, N. I.; PEREIRA JÚNIOR, O. A.; OLIVEIRA, R. C. G.; ALVES, R. B.; COSTA, R. F. D.; KUNET, R.; GOMES, W. **Processamento primário de petróleo.** Universidade Petrobras, 2007.

SCHAFER, D. J. **Keys to sections of Parasola, Coprinellus, Coprinosis and Coprinus in Britain.** Field Mycology, 11 (2), 2010.

SOARES, I. A., FLORES, A. C., MENDONÇA, M. M., BARCELOS, R. P., & BARONI, S. **Fungos na biorremediação de áreas degradadas.** Arquivos do Instituto Biológico, 78, 341-350. 2011.

SQUILLACE, PAUL J.; MORAN, MICHAEL J.; LAPHAM, WAYNE W.; PRICE, CURTIS V.; CLAWGES, ROGER M.; ZOGORSKI, JOHN S. **Volatile organic compounds in untreated ambient groundwater of the United States, 1985–1995**. Reston: U.S. Geological Survey, 1999.

STARK, A.; LOZINA, I.; DOROSHENKO, T.; KAZAKEVICH, Y. **Biodegradation of petroleum hydrocarbons in contaminated soils.** Chemosphere, v. 52, n. 6, p. 1041-1048, 2003.

TAVAKKOLI, M.; PANUGANTI, S.; TAGHIKHANI, V.; PISHVAIE, M. R.; CHAPMAN, W. G. **Understanding the polydisperse behavior of asphaltenes during Precipitation.** Fuel, v. 117, p. 206 – 217, 2014.

TIBURTIUS, E. R. L., PERALTA-ZAMORA, P., & LEAL, E. S. **Contaminação de águas por BTXs e processos utilizados na remediação de sítios contaminados.** Química nova, 27, 441-446. (2004).

UNITED STATES ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY (EPA). **Oil Spill Response Techniques.** Washington, DC: EPA, 2003.

VERMA, C., HUSSAIN, C. M., QURAISHI, M. A., & ALFANTAZI, A. **Green surfactants for corrosioncontrol: Design, performance andapplications.** Advances in Colloidand Interface Science, 102822. (2022).

WISITRASSAMEEWONG, KOMSIT; KARUNARATHNA, SAMANTHA C.; THONGKLANG, NARITSADA; ZHAO, RUILIN; CALLAC, PHILIPPE; MOUKHA, SERGE; FÉRANDON, CYRIL; CHUKEATIROTE, EKACHAI; HYDE, KEVIN D. **Agaricus subrufescens: A review.** Saudi Journal of Biological Sciences, v. 19, n. 2, p. 131-146, 2012. DOI: 10.1016/j.sjbs.2012.01.003.

WU, G.; HE, L.; CHEN, D. **Sorption and distribution of asphaltene, resin, aromatic and saturate fractions of heavy crude oil on quartz surface: Molecular dynamic Simulation**. Chemosphere, v. 92, p. 1465 – 1471, 2013.

# SEGUNDA PARTE - ARTIGOS

| **Artigo 1 - Elaborado conforme a norma NBR 6022** | |
|---|---|
| Título do artigo: | POTENCIAL BIOEMULSIFICANTE DE EXTRATOS OBTIDOS EM DIFERENTES SUBSTRATOS DE CULTIVO DE *Coprinopsis calospora* |
| Autores: | Marília Santiago de Brito de Paula<br><br>Carlos Godinho de Abreu<br><br>Danilo José Machado de Abreu<br><br>Silvia Juliana Martinez Gelvez<br><br>Héctor José Valério Ardon<br><br>Eustáquio Souza Dias |

# ARTIGO 1

## POTENCIAL BIOEMULSIFICANTE DE EXTRATOS OBTIDOS EM DIFERENTES SUBSTRATOS DE CULTIVO DE *Coprinopsis calospora*

## BIOEMULSIFYING POTENTIAL OF EXTRACTS OBTAINED FROM DIFFERENT CULTIVATION SUBSTRATES OF *Coprinopsis calospora*[1]

**Marília Santiago de Brito de Paula**
https://orcid.org/ 0009-0002-1736-7610

**Carlos Godinho de Abreu**
https://orcid.org/0000-0001-6735-8283

**Danilo José Machado de Abreu**
https://orcid.org/0000-0002-6165-4361

**Silvia Juliana Martinez Gelvez**
https://orcid.org/0000-0002-8518-8211

**Héctor José Valério Ardon**
https://orcid.org/0000-0002-8070-5873

**Eustáquio Souza Dias**
https://orcid.org/0000-0002-3030-3825

**Resumo:** O petróleo é um composto orgânico, gerado por processos biogeoquímicos, constituído em sua maior parte por uma mistura complexa de hidrocarbonetos, que se transportado de forma incorreta pode poluir o meio ambiente. Biossurfactantes, são emulsificantes naturais de hidrocarbonetos que favorecem a diminuição da tensão superficial configurando alta capacidade emulsionante. Podem ser produzidos através do metabolismo de microrganismos e possuem baixa toxicidade e alta biodegradabilidade, e biocompatibilidade conferindo alta vantagem sobre uso de surfactantes químicos e eficiência quando utilizado em baixas concentrações, além de possibilitar uma síntese a partir de substratos naturais em condições ambientais amenas e longo tempo de armazenamento. São produzidos majoritariamente por bactérias, no entanto, já existem relatos da produção de biossurfactantes por fungos. Usando microrganismos adequados degradantes de petróleo, alguns poluentes tóxicos e nocivos de hidrocarbonetos de petróleo podem ser degradados em substâncias inofensivas ou até desaparecer do ambiente. Os fungos *Coprinopsis* sp são basidiomicetos apresentam excelente desempenho na produção de enzimas ligninolíticas, são exímios acumuladores de metais pesados e atuam na degradação de hidrocarbonetos aromáticos policíclicos, em função disso, mais espécies desse gênero devem ser estudadas e avaliadas para sua aplicação na recuperação de áreas contaminadas com petróleo e seus derivados. Dessa forma, considerando o potencial dos fungos na produção de biossurfactantes e a

importância desses compostos para vários processos biológicos, os quais podem ser aplicados na indústria, o substrato residual resultante do processo de cultivo de cogumelos comestíveis é valioso. O objetivo deste estudo foi avaliar as propriedades emulsificantes de um substrato ideal utilizando casca de café adequado para cultivo de *Coprinopsis calospora,* busca-se verificar a aplicação do extrato bruto desse fungo em processos de remoção de resíduos oleosos, contribuindo para o desenvolvimento de estratégias biotecnológicas voltadas à recuperação de ambientes contaminados por derivados do petróleo. O presente trabalho mostra a capacidade do fungo *C. calospora* em produzir um biossurfactante capaz de promover uma emulsificação de 63%, sendo considerado promissor para produção de biossurfactantes e biemulsificantes visando aplicação em processos de biorremediação.

Palavras-chave: petróleo; biodegradação; fungos.

**Abstract:** Petroleum is an organic compound generated through biogeochemical processes and is mainly composed of a complex mixture of hydrocarbons which, when improperly transported, can cause environmental pollution. Biosurfactants are natural emulsifiers of hydrocarbons that promote the reduction of surface tension, resulting in a high emulsifying capacity. These compounds can be produced through the metabolism of microorganisms and present low toxicity, high biodegradability, and biocompatibility, providing significant advantages over chemical surfactants. In addition, they are effective even at low concentrations and can be synthesized from natural substrates under mild environmental conditions, allowing long storage periods. Biosurfactants are predominantly produced by bacteria; however, there are also reports of their production by fungi. By using appropriate petroleum-degrading microorganisms, some toxic and harmful petroleum hydrocarbon pollutants can be degraded into harmless substances or even completely removed from the environment. Fungi of the genus Coprinopsis are basidiomycetes that show excellent performance in the production of ligninolytic enzymes, are capable of accumulating heavy metals, and play an important role in the degradation of polycyclic aromatic hydrocarbons. Therefore, more species within this genus should be studied and evaluated for their potential application in the recovery of areas contaminated with petroleum and its derivatives. Considering the potential of fungi in biosurfactant production and the importance of these compounds in several biological processes with possible industrial applications, the residual substrate resulting from the cultivation of edible mushrooms represents a valuable resource. The aim of this study is to evaluate the emulsifying properties of an ideal substrate based on coffee husk suitable for the cultivation of Coprinopsis calospora, as well as to investigate the application of the crude extract of this fungus in processes of oily residue removal, contributing to the development of biotechnological strategies aimed at the recovery of environments contaminated by petroleum derivatives. The present study demonstrates the ability of *C. calospora* to produce a biosurfactant capable of achieving an emulsification index of 63%, indicating its promising potential for the production of biosurfactants and bioemulsifiers for use in bioremediation processes.

Keywords: petroleum; biodegradation; fungi.

---

[1] Artigo científico apresentado à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Microbiologia Agrícola, área de concentração em Microbiologia Agrícola.

# 1 INTRODUÇÃO

Apesar do crescimento das tecnologias de energia renovável, o petróleo continua a ser a principal fonte de energia na sociedade atual. Sendo assim, ele é o motor da economia global sustentando uma ampla gama de atividades, incluindo: agricultura, indústria e extração de recursos naturais, além de ser a matéria-prima fundamental para a produção anual de aproximadamente três bilhões de toneladas de produtos químicos, como: combustíveis, solventes, asfaltos, óleos lubrificantes e outros derivados (PEDROZO *et al*., 2002).

O petróleo é uma mistura complexa de hidrocarbonetos, com pequenas quantidades de compostos orgânicos que contêm enxofre, nitrogênio e oxigênio, além de traços de compostos metálicos, como níquel e vanádio. Sua composição varia conforme o reservatório e o país produtor. O derramamento de petróleo e seus derivados no meio ambiente pode ocorrer devido a acidentes durante operações de carga, transporte e refino, resultando em conseqüências ambientais catastróficas, afetando gravemente a vida aquática e terrestre (KNIE & KNIE, 2004).

Os danos ambientais causados pelos vazamentos de petróleo e derivados exigem a busca por tecnologias capazes de recuperar áreas contaminadas. Nas últimas duas décadas, os processos biológicos têm se destacado como alternativas promissoras aos métodos tradicionais de remediação ambiental. Para controlar a contaminação por petróleo, é necessário remover a camada de óleo por meios mecânicos ou físico-químicos, em seguida, a biorremediação é utilizada como principal estratégia para degradar os poluentes, transformando-os em substâncias não tóxicas (MAIER, 2000).

A biorremediação é um conjunto de técnicas biotecnológicas onde são empregados microrganismos ou produtos de processos microbianos para a redução de impactos causados ao meio ambiente por contaminantes (ATLAS, 1995). Estas técnicas permitem a remoção de poluentes orgânicos, tais como componentes do petróleo e combustíveis, através do favorecimento da ação dos processos naturais de biodegradação por microrganismos. Esta atividade de degradação é potencializada pela da adição de substratos, pelo melhoramento das condições do meio e, em certos casos, através da introdução de microrganismos específicos, em particular, bactérias e fungos (KORDA *et al*., 1997). Este processo é feito por intermédio de microrganismos que possuem a capacidade enzimática de degradação ou transformação dos hidrocarbonetos de petróleo (HEAD *et al*., 1999 e KORDA *et al*., 1997), utilizando-os como fonte de energia e carbono (RON *et al*., 2002).

Os fungos coprinoides estão atualmente incluídos na ordem Agaricales em quatro gêneros, Coprinus stricto sensu (Agaricaceae), Coprinellus, Coprinopsis e Parasola (Psathyrellaceae), e se referem a um morfotipo caracterizado pela liquefação do píleo, que se transforma em um líquido escuro misturado à massa de esporos como parte de seu processo de esporulação. São cosmopolitas e saprófitos, e embora seu substrato natural seja o esterco, crescem e frutificam bem em madeira, solos de áreas campestres e florestais, e em meios artificiais. Estudos mostram que isolados desses fungos coprinoides (basidiomicetos) apresentaram alto Índice de Emulsificação de 73,45% em meio de cultivo contendo óleo de milho e sulfato de amônio, e 67,71% para meio de cultivo contendo glicerol e glicose portando se mostram como potenciais na degradação de hidrocarbonetos (MARTINS *et al.,* 2021).

A produção industrial de biossurfactantes é ainda considerada incipiente, principalmente pelo alto custo envolvido em sua produção. Estratégias para tornar a tecnologia economicamente mais competitiva residem na aplicação de matérias-primas de baixo custo, em especial os resíduos agroindustriais, medida que também contribui para a redução de compostos que podem causar danos ambientais.

# 2 MATERIAIS E MÉTODOS

## 2.1 Preparação do substrato base para cultivo do fungo *Coprinopsis calospora* utilizando resíduos da indústria cafeeira

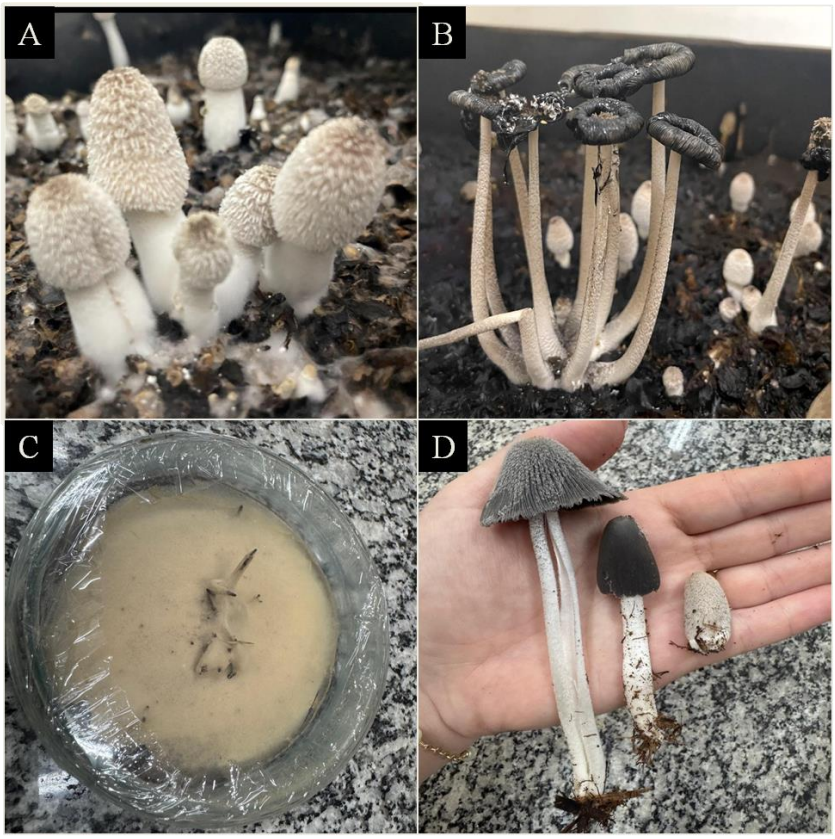
### 2.1.1 Preparo das cascas de café para compostagem e pasteurização

A casca de café do tipo arábica foi umedecida com água e suplementadas a 1%(m/m) de $CaCo_3$ e 1%(m/m) de $CaSO_4$. A pilha para compostagem, com volume inicial de $1m^3$, foi montada a céu aberto usando sombrite para sua proteção e em contato direto com piso cimentado. A compostagem aconteceu durante 7 dias, com revolvimento a cada dois dias para sua homogeneização. Após a compostagem, as cascas de café compostadas foram esterilizadas por pasteurização a 60±10°C por 12h. Após a pasteurização, as cascas de café compostadas e pasteurizadas foram colocadas sobre uma superfície inerte até atingir a temperatura ambiente. A cada reviragem, amostras foram retiradas para aferir pH, e quantificar umidade e matéria seca.

### 2.1.2 Preparo do inóculo do fungo *Coprinopsis calospora*

O fungo *Coprinopsis calospora* foi cultivado em meio sólido constituído de 15g/L de ágar, 15g/L de glicose e 500g/L das cascas de café compostadas e pasteurizadas, como descrito anteriormente. As cascas de café foram trituradas em liquidificador para homogeneização. A mistura foi coada em peneira plástica para remoção dos fragmentos maiores e o líquido resultante foi misturado com glicose e o volume completado para 1L. Após distribuir os volumes em frascos Erlenmeyers, adicionou-se o ágar na proporção adequada. Os frascos foram autoclavados a 121°C por 30 min e após o resfriamento até 50°C foi vertido em placas de Petri, quando então um quadrado de aresta 10mm contendo hifas de *Coprinopsis calospora* foi inoculado no centro da placa. A matriz primária do *Coprinopsis calospora* foi obtida após um período de incubação de 7 dias a 25°C, até a colonização completa da placa.

Figura 01 – Fotografias da espécie *Coprinopsis calospora*




Legenda: (A e B) Basidiocarpos de *Coprinopsis Calospora* em frutificação (C) Crescimento micelial de *Coprinopsis calospora* em placa de Petri contendo meio Ágar Composto (D) Basidiocarpo de *C. calospora* pós-colheita.

Fonte: Da autora (2026)

### 2.1.3 Preparo do inoculante (Spawn) de fungo *Coprinopsis calospora*

Grãos de trigo foram utilizados como substrato para a preparação do Spawn de *Coprinopsis calospora.* Para amenizar os problemas de contaminação os grãos foram imersos em solução de cloro (1g/L) durante 2 horas. Os grãos foram lavados, drenados e então cozidos. Após o cozimento, os grãos foram resfriados a temperatura ambiente e então suplementados com calcário calcítico (20g/kg de grãos). A mistura foi acondicionada em potes de vidro tipo Berlim (100g/pote) os quais foram protegidos com a tampa própria. Os potes foram autoclavados a 121°C por 1 hora e o processo foi repetido após 24 horas de repouso. Cerca de 5 discos de 10mm de diâmetro obtidos a partir das placas em meio ágar composto colonizado por *C. calospora* foram utilizados para inoculação em cada pote. Os potes foram incubados a temperatura ambiente até a completa colonização do substrato.

### 2.1.4 Cultivo do fungo

O substrato a base de casca de café, obtido conforme descrito anteriormente, foi inoculado utilizando uma proporção de 3% de Spawn e acondicionado em sacos próprios para o cultivo de cogumelos, com capacidade para 2 kg. Os sacos foram incubados em temperatura ambiente até que surgissem os primeiros primórdios, foram abertos para permitir a emissão dos basidiocarpos e posterior liquefação do píleo.

### 2.1.5 Obtenção do tensoativo biológico

Para cada bloco, adicionou-se água proporcional a massa inicial do substrato e o conteúdo dos blocos foi revolvido para sua completa homogeneização. O tensoativo biológico foi obtido após a prensagem à frio dos blocos homogeneizados. O conteúdo foi coado através de peneira plástica para remoção dos fragmentos e o líquido armazenado para ensaios posteriores.

### 2.1.6 Uso do extrato do fungo *Coprinopsis calospora* após frutificação e avaliação dos compostos presentes

Para a avaliação da produção de biossurfactantes pelo extrato bruto do fungo *Coprinopsis calospora* foram realizados testes de emulsificação e produção enzimática. O extrato bruto foi obtido através do substrato colonizado.

### 2.1.7 Preparação do extrato bruto de *Coprinopsis calospora*

A massa dos blocos foi pesada, e a perda de biomassa correspondente a colonização do fungo foi ajustada para 2kg com água e o conteúdo dos blocos foi revolvido para sua completa homogeneização. O tensoativo biológico foi obtido após a prensagem à frio dos blocos homogeneizados os quais foram esporulados após a frutificação dos cogumelos, com posterior filtração do extrato em papel filtro qualitativo redondo de gramatura de 80 g/m$^2$ e porosidade de 14μm.

### 2.1.8 Avaliação do índice de emulsificação

O índice de emulsificação foi determinado pelo método de Cooper e Goldenberg (1987). O extrato bruto do fungo *Coprinopsis calospora* (2 mL) foi transferido para tubos de ensaio e 2 mL de querosene foram adicionados a ele. A mistura foi agitada em vórtex por 2 min e os tubos deixados sem perturbação por 24 h. O índice de emulsificante percentual foi calculado de acordo com a Equação:

**Índice de emulsificação (%) = (He x 100) / Ht (1)**

Onde, He = altura da emulsão (cm);e, Ht = altura total da solução (cm)

# 3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

## 3.1 Resultados do uso do extrato do fungo Coprinopsis calospora na emulsificação do petróleo

Segundo DA SILVA 2021, os fungos, embora possuam a mais ampla variante estrutural química de biossurfactantes e sejam produtores exclusivos de soforolipídios, manosileritritol lipídios, celobiose lipídios, xilolipídios, poliol lipídios e hidrofobinas, ainda são pouco explorados para a produção de biossurfactantes e bioemulsificantes, principalmente os fungos basidiomicetos. Recentemente, fungos coprinoides (basidiomicetos) isolados do substrato pós-cultivo de cogumelos apresentaram Índice de Emulsificação de 73,45% em meio de cultivo contendo óleo de milho e sulfato de amônio, e 67,71% para meio de cultivo contendo glicerol e glicose (MARTINS et al., 2021).

A tabela 01 mostra os resultados que foram obtidos nos testes realizados para verificação da produção de biossurfactantes. Pode-se observar que o maior índice de emulsificação ocorreu quando o extrato foi obtido de substratos a base de casca de café apenas colonizado por *Coprinopsis calospora*. Foram testados também: extratos com a esporada produzida pelo fungo, extratos com o basidioma do fungo macerado e diluído em água e extratos com substratos a base de serragem colonizados por *Pleurotus* sp porém sem a presença da casca de café; nesses casos não foi observada a formação de emulsão que indica produção de biossurfactantes. A casca de café pura e pura autoclavada, ou seja, sem ação do fungo em estudo, apresentou um baixo índice de emulsificação. E a produção de biossurfactantes também ocorreu na colonização de substratos a base de serragem e casca de café por outra espécie de basidiomiceto, porém em menor quantidade.

Tabela 01 – Resultado da avaliação do índice de emulsificação do extrato bruto do fungo *Coprinopsis calospora*

| Amostra | % He (altura da emulsão) |
|---|---|
| ***Coprinopsis* + substrato a base de casca de café colonizado** | 63 |
| **Basidioma macerado de *Coprinopsis calospora*** | 0 |
| **Esporada de *Coprinopsis calospora*** | 0 |
| **Casca de café pura autoclavada** | 16 |
| **Casca de café pura** | 28 |
| ***Pleurotus* sp + Substrato a base de serragem colonizado** | 0 |
| ***Pleurotus* sp + Substrato a base de serragem e casca de café** | 46 |

Fonte: Da autora (2026)

A análise dos resultados obtidos na Tabela 01 indica que a formação de bioemulsões está fortemente associada à interação entre o fungo *Coprinopsis calospora* e o substrato à base de casca de café. O maior índice de emulsificação observado (63%) ocorreu quando o extrato foi obtido a partir do substrato colonizado pelo fungo, enquanto amostras contendo apenas basidioma macerado ou esporos apresentaram ausência de emulsificação. Esse resultado sugere que o composto responsável pela formação da emulsão não está diretamente associado às estruturas celulares do fungo, mas sim a metabólitos extracelulares produzidos durante o crescimento do micélio no substrato lignocelulósico. De acordo com a literatura, microrganismos cultivados em processos de fermentação, especialmente em fermentação em estado sólido, podem produzir biossurfactantes ou bioemulsificantes, moléculas anfifílicas capazes de reduzir a tensão superficial e estabilizar emulsões entre fases aquosas e hidrocarbonetos (SILVA et al., 2021; MUCOR HIEMALIS STUDY, 2020). Estudos demonstram que esses compostos podem apresentar índices de emulsificação entre 20% e 78%, valores semelhantes aos observados em diversos sistemas microbianos produtores de biossurfactantes.

Outro aspecto relevante observado nos resultados é a influência do substrato utilizado no processo fermentativo. A casca de café apresentou capacidade emulsificante mesmo na ausência do fungo (28%), embora inferior ao sistema colonizado. Esse resultado pode estar relacionado à composição química desse resíduo agroindustrial, que contêm compostos como polifenóis, cafeína, taninos, açúcares e frações lipídicas, além de grande quantidade de material lignocelulósico. Esses componentes podem atuar como precursores metabólicos ou favorecer a produção de metabólitos extracelulares durante o crescimento microbiano. Estudos demonstram que fungos cultivados em casca de café são capazes de degradar compostos como cafeína e taninos durante fermentação em estado sólido, transformando o

resíduo e liberando compostos solúveis no meio (BRAND et al., 2000). Além disso, a fermentação fúngica em resíduos de café pode modificar o perfil de compostos fenólicos presentes no substrato, gerando metabólitos com diferentes propriedades químicas e biológicas.

A comparação entre diferentes sistemas de cultivo também reforça a importância da composição do substrato. O cultivo de fungos do gênero *Pleurotus* em substrato de serragem não apresentou atividade emulsificante detectável, enquanto a mistura de serragem com casca de café resultou em índice de emulsificação de 46%. Esse resultado sugere que a casca de café pode atuar como indutora metabólica ou fonte de compostos que favorecem a produção de moléculas anfifílicas pelos microrganismos. Diversos estudos demonstram que resíduos agrícolas ricos em compostos orgânicos complexos podem estimular a produção de biossurfactantes ou bioemulsificantes durante fermentação microbiana, aumentando a biodisponibilidade de compostos hidrofóbicos e facilitando processos de biodegradação (SILVA et al., 2021).

A formação de emulsões está diretamente relacionada aos processos de biodegradação de hidrocarbonetos. Compostos hidrofóbicos, como querosene ou frações de petróleo, apresentam baixa solubilidade em água, o que limita sua disponibilidade para degradação microbiana. A produção de biossurfactantes por microrganismos aumenta a área de contato entre a fase aquosa e os hidrocarbonetos, facilitando a ação enzimática e acelerando os processos de biodegradação. Assim, a presença de bioemulsificantes produzidos durante o cultivo fúngico pode explicar a capacidade observada de degradação de hidrocarbonetos utilizando o extrato obtido do substrato colonizado. Em diversos sistemas biotecnológicos, microrganismos produtores de biossurfactantes têm sido utilizados para aumentar a eficiência da biorremediação de ambientes contaminados por hidrocarbonetos, reforçando o potencial desse tipo de biomolécula em aplicações ambientais (BRAND et al., 2000).

Dessa forma, os resultados obtidos sugerem que a fermentação do fungo *Coprinopsis calospora* em casca de café pode favorecer a produção de metabólitos extracelulares com propriedades bioemulsificantes. A interação entre o micélio fúngico e o substrato lignocelulósico parece desempenhar papel fundamental na geração dessas moléculas, as quais podem aumentar a biodisponibilidade de hidrocarbonetos e contribuir para processos de biodegradação.

A casca de café, embora rica em matéria orgânica e nutrientes, contém compostos como cafeína, taninos e polifenóis, os dois últimos de natureza tóxica. Tendo em vista que cerca de 50% do café colhido é casca, o descarte desse subproduto deve ser adequado para

evitar contaminações ambientais. A compostagem é uma alternativa amigável para o descarte das cascas de café (SHEMEKITE et al., 2014).

O presente trabalho traz um processo para produção de um bioemulsificante a partir de um fungo coprinoide crescido em meio para indução de tolerância aos polifenóis, taninos e cafeína do café seguida da fermentação em estado sólido em cascas de café pré-tratadas mediante compostagem e pasteurização.

A lignina é um polímero de constituição difícil de ser estabelecida, por causa não somente da complexidade de sua formação baseada em unidades fenilpropanóides interligadas por diferentes tipos de ligações, como também porque sofre modificações estruturais durante seu isolamento das paredes celulares (MORAIS et al., 1992).

Wang 2021 traz o conceito de auto-hidrólise da lignina que é um processo químico no qual a lignina sofre degradação por meio da ação da água, em geral isso acontece em altas temperaturas (entre 150 ºC e 250 ºC) resultando na quebra parcial das ligações químicas da lignina, especialmente das ligações éter e carbono-carbono, o que pode explicar a boa produção de biossurfactantes nos substratos à base de casca de café colonizados, pois passaram por um processo de compostagem onde provavelmente já há uma auto-hidrólise.

O sistema de degradação microbiana por fungos lignolíticos tem sido amplamente estudado, pois os fungos filamentosos podem produzir enzimas extracelulares que apresentam pouca especificidade, devido à estrutura irregular da lignina e sua natureza recalcitrante. Isso faz com que eles sejam capazes de biodegradar compostos diferentes. Existem experimentos realizados com essas enzimas purificadas que mostram a capacidade que elas possuem de transformar e mineralizar contaminantes ambientais através da ação dessas enzimas extracelulares (BONUGLI-SANTOS *et al*., 2010)

A degradação de vários compostos por enzimas degradadoras de lignina, ocorre pelo fato delas não serem substrato-específicas, podendo oxidar outros compostos com estruturas aromáticas similares a da lignina como hidrocarbonetos policíclicos, compostos orgânicos, substratos sintéticos e polímeros (WINQUIST *et al*., 2008).

Alguns fungos possuem capacidade de metabolizar hidrocarbonetos do petróleo. Tanto fungos filamentosos quanto fungos leveduriformes, são capazes de utilizar petróleo e seus derivados para produção de biomassa. A biodegradação de alcanos ocorre em etapas sucessivas de oxidação promovidas por enzimas do tipo monoxigenases e desoxigenases, sendo que o principal fator que vai influenciar na velocidade com que isso ocorre é a capacidade dos micro-organismos de biodegradar cadeias de tamanhos diferentes. As enzimas

extracelulares microbianas lignolíticas são um meio efetivo de degradação de poluentes, sendo relatadas na literatura a produção por basidiomicetos (JUIKAR, et al., 2017; BRZONOVA, et al., 2017).

# 4 CONCLUSÃO

O presente trabalho mostra a capacidade do fungo *Coprinopsis calospora* em produzir um biossurfactante capaz de promover uma emulsificação de 63%, sendo considerado promissor para produção de biossurfactantes e biemulsificantes visando aplicação em processos de biorremediação.

Conclui-se também que o poder biossurfactante não está na esporada nem no basidioma do fungo e que substratos a base de serragem sem a casca de café, não apresentaram capacidade emulsificante. A emulsificação só aconteceu na presença da casca de café e foi melhorada com a colonização do fungo *Coprinopsis calospora*.

# REFERÊNCIAS

ATLAS, R. M. **Petroleum Biodegradation and Oil Spill Bioremediation.** Marine Pollution Bulletin, v. 31, p. 178-182. 1995.

BRAND, D.; PANDEY, A.; ROUSSOS, S.; SOCCOL, C. R. **Biological detoxification of coffee husk by filamentous fungi using a solid-state fermentation system.** Enzyme and Microbial Technology, v. 27, p. 127-133, 2000.

BRZONOVA, Ivana *et al*. **Fungal biotransformation of insoluble kraft lignin into a water soluble polymer.** Industrial & Engineering Chemistry Research, v. 56, n. 21, p. 6103-6113, 2017.

DA SILVA, A. F., BANAT, I. M., GIACHINI, A. J., & ROBL, D. **Fungal biosurfactants, from nature to biotechnological product: bioprospection, production and potential applications.** Bioprocess and Biosystems Engineering, *44*(10), 2003-2034. (2021).

GARCÍA, L. R. P.; DEL BIANCHI, V. L. **The effect of fungal fermentation in phenolics content in robusta coffee husk.** Semina: Ciências Agrárias, v. 36, n. 2, p. 777-786, 2015

JUIKAR, Siddhi J.; VIGNESHWARAN, N**. Extraction of nanolignin from coconut fibers by controlled microbial hydrolysis.** Industrial crops and products, v. 109, p. 420-425, 2017.

KNIE, J. L. W.; KNIE, E. W. B. L. **Testes Ecotoxicológicos: Métodos, Técnicas e Aplicações.** Florianópolis: FATMA. 2004.

KNIE, Joachim L. W.; LOPES, Esther W. B. **Testes ecotoxicológicos: métodos, técnicas e aplicações.** Florianópolis: FATMA/GTZ, 2004. 289 p.

KORDA, A., SANTAS, A., TENENTE, A., SANTAS, R. **Petroleum hydrocarbon bioremediation: sampling and analytical techniques, in situ treatments and commercial microorganisms currently used.** Applied Microbiology and Biotechnology, 48, pp 677 686, 1997.

MAIER, R. M. 2000. **Microorganisms and organics pollutants.** In: MAIER, R. M.; PEPPER, I. L.; GERBA, C.P. IN: Environmental Microbiology. New York: Academic Press, Cap. 16, pp. 363-402.

MARTINS, R. C., BRAVO, C. E. C., VILELA, L. D. F., COSTA, L. M. A. S., & DIAS, E. S. **Multivariate analysis of nutritional parameters required for the submerged cultivation of three coprinaceous fungi for biosurfactant production**. Ciência e Agrotecnologia, *45*. (2021).

MASSI, J.; CAMILIOS NETO, D.; REZENDE, M. I. **Production of biosurfactants using soybean meal and rice husk by solid state fermentation.** BMC Proceedings, v. 8, suppl. 4, p. P223, 2014.

PEDROZO, M. F. M.; Barbosa, E. M.; CORSEUIL, H. X.; SCHNEIDER, M. R.; LINHARES, M. M. **Ecotoxicologia e Avaliação de Risco do Petróleo.** Salvador: CRA, 2002.

PIROLLO, M P. S. **Estudo da Produção de Biossur factantes Utilizando Hidrocarbonetos.** Dissertação apresentada ao Instituto da Biociências da Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", para obtenção do título de Mestre em Ciências Biológicas – São Paulo, 2008.

SANTOS, D. K. F. et al. **Biosurfactant and bioemulsifier produced by *Mucor hiemalis* isolated from soil.** Electronic Journal of Biotechnology, v. 47, p. 51-58, 2020.

SILVA, M. E. T. et al. **Biosurfactant production of *Piper hispidum* endophytic fungi.** Journal of Applied Microbiology, v. 130, n. 2, p. 561-569, 2021.

SHEMEKITE, Fekadu *et al*. **Coffee husk composting: an investigation of the process using molecular and non-molecular tools**. Waste management, v. 34, n. 3, p. 642-652, 2014)

SHIM,S.S; KAWAMOTO,K. **Enzyme production activity of Phanerochaete chrysosporium and degradation of penatachloropherophenol in a bioreactor.** Water Research,v.36,p.4445-4454,2002.

| **Artigo 2 - Elaborado conforme a norma NBR 6022** | |
|---|---|
| Título do artigo: | DEGRADAÇÃO DE COMPOSTOS DO PETRÓLEO POR *Coprinopsis calospora* |
| Autores: | Marília Santiago de Brito de Paula<br><br>Carlos Godinho de Abreu<br><br>Danilo José Machado de Abreu<br><br>Silvia Juliana Martinez Gelvez<br><br>Héctor José Valério Ardon<br><br>Eustáquio Souza Dias |

# ARTIGO 2

## DEGRADAÇÃO DE COMPOSTOS DO PETRÓLEO POR *Coprinopsis calospora*

## DEGRADATION OF PETROLEUM COMPOUNDS BY *Coprinopsis calospora*[2]

**Marília Santiago de Brito de Paula**
https://orcid.org/ 0009-0002-1736-7610

**Carlos Godinho de Abreu**
https://orcid.org/0000-0001-6735-8283

**Danilo José Machado de Abreu**
https://orcid.org/0000-0002-6165-4361

**Silvia Juliana Martinez Gelvez**
https://orcid.org/0000-0002-8518-8211

**Héctor José Valério Ardon**
https://orcid.org/0000-0002-8070-5873

**Eustáquio Souza Dias**
https://orcid.org/0000-0002-3030-3825

**Resumo:** O petróleo é um recurso natural formado por processos geológicos e biogeoquímicos ao longo de milhões de anos, sendo composto principalmente por uma complexa mistura de hidrocarbonetos. Apesar de sua grande importância econômica e energética, vazamentos e descarte inadequado desse material podem causar sérios impactos ambientais, contaminando solos e corpos d'água. Nesse contexto, biossurfactantes e bioemulsificantes têm despertado interesse científico por sua capacidade de reduzir a tensão superficial e facilitar a dispersão de compostos hidrofóbicos, como os hidrocarbonetos presentes no petróleo. Esses compostos são produzidos por diferentes microrganismos e apresentam vantagens em relação aos surfactantes sintéticos, como menor toxicidade, maior biodegradabilidade e eficiência mesmo em baixas concentrações, além da possibilidade de produção utilizando substratos renováveis. Embora a produção desses compostos seja frequentemente associada a bactérias, diversos fungos também demonstram potencial para sua síntese. Entre eles destacam-se espécies do gênero Coprinopsis, basidiomicetos conhecidos pela produção de enzimas ligninolíticas e pela capacidade de atuar na transformação de compostos orgânicos complexos, incluindo hidrocarbonetos aromáticos policíclicos. Além disso, esses fungos podem apresentar tolerância a metais pesados e desempenhar papel relevante em processos de biorremediação. Diante desse potencial biotecnológico, torna-se relevante investigar novas espécies desse grupo. O objetivo deste projeto foi avaliar o potencial de degradação do petróleo da espécie de *Coprinopsis calospora* encontrada em resíduos agrícolas e suas propriedades emulsificantes através de um substrato ideal utilizando

casca de café adequado para cultivo de *Coprinopsis calospora*, verificar a degradação final dos hidrocarbonetos do petróleo analisando a fração aromática e alifática por *Coprinopsis calospora* + Petróleo em diferentes tempos de degradação. Os resultados demonstraram que o substrato proveniente do cultivo de *Coprinopsis calospora* apresentou capacidade de degradar compostos presentes no petróleo, indicando potencial para aplicações em processos de biorremediação de ambientes contaminados. No presente trabalho, tivemos uma taxa de degradação de 57% de undecane, 65% de heptadecane, 66% de decane, 68% de octadecane e outros compostos, porém, o fungo não apresentou capacidade de degradação de hidrocarbonetos como benzeno e naftaleno devido à natureza recalcitrante desses compostos.

Palavras-chave: petróleo; biodegradação; *Coprinopsis calospora.*

**Abstract:** Petroleum is a natural resource formed through geological and biogeochemical processes over millions of years, being mainly composed of a complex mixture of hydrocarbons. Despite its great economic and energy importance, spills and improper disposal of this material can cause serious environmental impacts, contaminating soils and water bodies. In this context, biosurfactants and bioemulsifiers have attracted scientific interest due to their ability to reduce surface tension and facilitate the dispersion of hydrophobic compounds, such as hydrocarbons present in petroleum. These compounds are produced by different microorganisms and present advantages over synthetic surfactants, such as lower toxicity, higher biodegradability, and efficiency even at low concentrations, in addition to the possibility of production using renewable substrates. Although the production of these compounds is often associated with bacteria, several fungi have also demonstrated potential for their synthesis. Among them, species of the genus Coprinopsis stand out, basidiomycetes known for the production of ligninolytic enzymes and for their ability to transform complex organic compounds, including polycyclic aromatic hydrocarbons. Furthermore, these fungi may exhibit tolerance to heavy metals and play an important role in bioremediation processes. Given this biotechnological potential, it becomes relevant to investigate new species within this group. The aim of this study was to evaluate the petroleum degradation potential of the species Coprinopsis calospora found in agricultural residues and to investigate its emulsifying properties using an ideal substrate based on coffee husk suitable for the cultivation of *Coprinopsis calospora*. Additionally, the final degradation of petroleum hydrocarbons was evaluated by analyzing the aromatic and aliphatic fractions in treatments containing *Coprinopsis calospora* and petroleum at different degradation times. The results demonstrated that the substrate obtained from the cultivation of *Coprinopsis calospora* showed the ability to degrade compounds present in petroleum, indicating its potential for applications in bioremediation processes of contaminated environments. In the present study, the fungus achieved degradation rates of 57% for undecane, 65% for heptadecane, 66% for decane, and 68% for octadecane, in addition to degrading other compounds. However, no degradation of hydrocarbons such as benzene and naphthalene was observed, which may be attributed to the recalcitrant nature of these compounds.

Keywords: petroleum; biodegradation; *Coprinopsis calospora.*

---

[2] Artigo científico apresentado à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Microbiologia Agrícola, área de concentração em Microbiologia Agrícola.

# 1 INTRODUÇÃO

A crescente demanda por energia e produtos petroquímicos tem intensificado a exploração e o transporte de petróleo em escala global. Embora esse recurso seja fundamental para diversos setores da economia, sua utilização e manejo estão frequentemente associados a episódios de contaminação ambiental. Vazamentos durante atividades de extração, armazenamento, refino ou transporte podem resultar na liberação de hidrocarbonetos no solo e em ambientes aquáticos, provocando alterações físicas, químicas e biológicas nos ecossistemas afetados. Esses compostos apresentam elevada persistência ambiental e podem causar efeitos tóxicos em diferentes organismos, além de comprometer a qualidade dos recursos naturais (ATLAS & HAZEN, 2011; SPEIGHT, 2014).

Os hidrocarbonetos presentes no petróleo compreendem uma ampla variedade de compostos orgânicos, incluindo frações alifáticas, aromáticas e estruturas mais complexas, como resinas e asfaltenos. Devido à sua natureza hidrofóbica, muitos desses compostos apresentam baixa solubilidade em água, o que dificulta sua dispersão e degradação natural no ambiente. Em decorrência disso, a presença desses contaminantes pode persistir por longos períodos, tornando necessária a aplicação de estratégias eficientes para sua remoção ou transformação (HEAD et al., 2006; CUI, J.; DORMANN, 2025).

Entre as abordagens utilizadas para o tratamento de ambientes contaminados por hidrocarbonetos destaca-se a biorremediação, uma tecnologia baseada na capacidade metabólica de microrganismos de degradar compostos orgânicos complexos. Nesse processo, bactérias, fungos e outros microrganismos são capazes de utilizar determinados poluentes como fonte de carbono e energia, promovendo sua transformação em moléculas menos tóxicas ou completamente mineralizadas. Em comparação com métodos físico-químicos tradicionais, a biorremediação apresenta vantagens como menor impacto ambiental, possibilidade de aplicação in situ e custos operacionais relativamente reduzidos (ATLAS, 1995; MAIER et al., 2009).

Diversos microrganismos têm sido investigados quanto ao seu potencial para degradar hidrocarbonetos derivados do petróleo. Bactérias pertencentes aos gêneros *Pseudomonas*, *Rhodococcus* e *Acinetobacter* são frequentemente relatadas como importantes agentes de biodegradação desses compostos. Paralelamente, fungos filamentosos e basidiomicetos têm demonstrado capacidade de produzir enzimas extracelulares e metabólitos capazes de atuar na transformação de moléculas orgânicas complexas. Além disso, alguns microrganismos produzem biossurfactantes ou bioemulsificantes, compostos que aumentam a

biodisponibilidade de hidrocarbonetos ao promover sua dispersão no meio, facilitando assim sua degradação microbiana (RON & ROSENBERG, 2002; BANAT et al., 2014).

Entre os fungos basidiomicetos com potencial biotecnológico destacam-se os chamados fungos coprinoides, pertencentes à ordem Agaricales e atualmente distribuídos em diferentes gêneros, como Coprinopsis, *Coprinellus*, *Parasola* e *Coprinus*. Esses fungos são amplamente distribuídos em ambientes terrestres e desempenham importante papel ecológico na decomposição de matéria orgânica. Uma característica marcante desse grupo é o fenômeno de deliquescência, no qual o píleo do corpo de frutificação se liquefaz durante o processo de maturação, liberando esporos em uma massa escura característica (REDHEAD et al., 2001).

Espécies pertencentes a esse grupo têm despertado interesse científico devido à sua capacidade de produzir metabólitos extracelulares com potencial aplicação em processos biotecnológicos. Entre elas destaca-se *Coprinopsis calospora*, um basidiomiceto saprófito encontrado em substratos ricos em matéria orgânica. Estudos recentes indicam que fungos coprinoides podem apresentar capacidade de produzir compostos com propriedades emulsificantes, que podem favorecer a interação entre microrganismos e compostos hidrofóbicos, como os hidrocarbonetos derivados do petróleo (MARTINS et al., 2021).

Nesse contexto, a investigação do potencial bioemulsificante de extratos fúngicos obtidos a partir de diferentes substratos de cultivo representa uma abordagem relevante para a identificação de novos agentes biotecnológicos aplicáveis à degradação de hidrocarbonetos. A utilização de fungos coprinoides, como *Coprinopsis calospora*, pode contribuir para o desenvolvimento de estratégias sustentáveis voltadas à biorremediação de ambientes contaminados por derivados do petróleo.

# 2 MATERIAIS E MÉTODOS

## 2.1 Preparação do substrato base para cultivo do fungo *Coprinopsis calospora* utilizando resíduos da indústria cafeeira

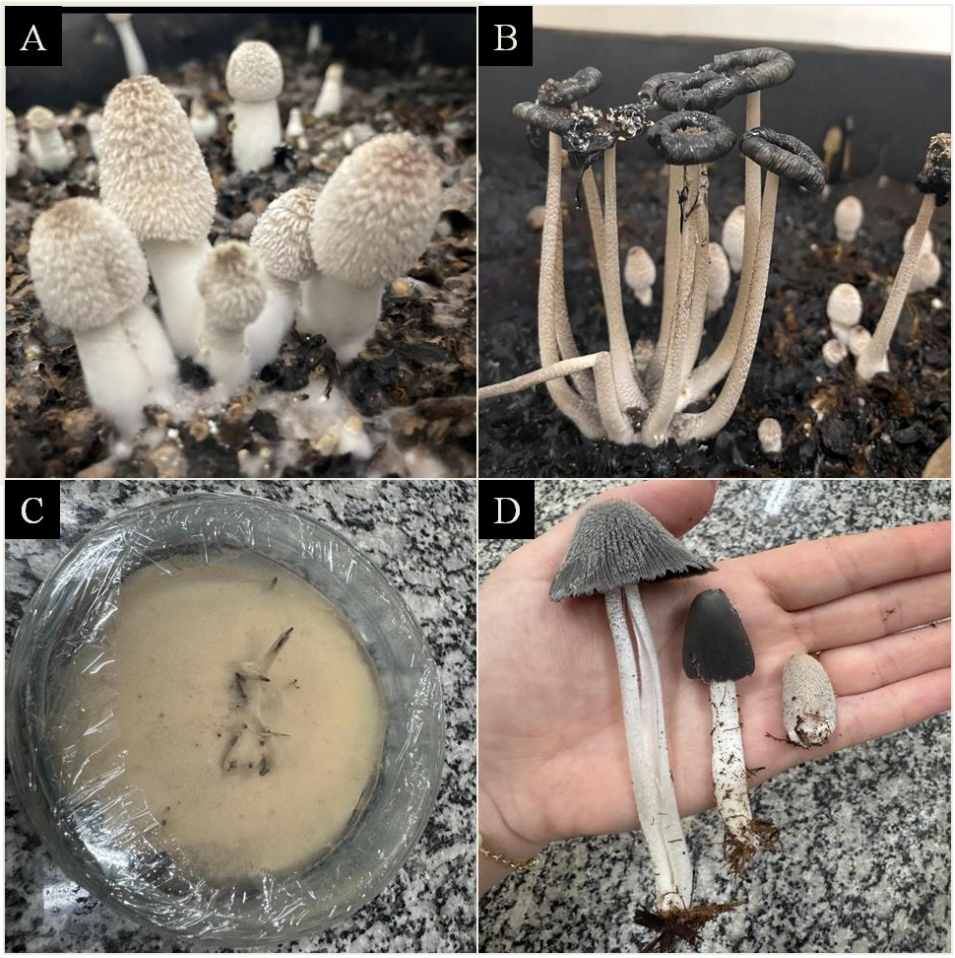
### 2.1.1 Preparo das cascas de café para compostagem e pasteurização

A casca de café do tipo arábica foi umedecida com água e suplementadas a 1%(m/m) de $CaCo_3$ e 1%(m/m) de $CaSO_4$. A pilha para compostagem, com volume inicial de $1m^3$, foi montada a céu aberto usando sombrite para sua proteção e em contato direto com piso cimentado. A compostagem aconteceu durante 7 dias, com revolvimento a cada dois dias para sua homogeneização. Após a compostagem, as cascas de café compostadas foram esterilizadas por pasteurização a 60±10°C por 12h. Após a pasteurização, as cascas de café compostadas e pasteurizadas foram colocadas sobre uma superfície inerte até atingir a temperatura ambiente. A cada reviragem, amostras foram retiradas para aferir pH, e quantificar umidade e matéria seca.

### 2.1.2 Preparo do inóculo do fungo *Coprinopsis calospora*

O fungo *Coprinopsis calospora* foi cultivado em meio sólido constituído de 15g/L de ágar, 15g/L de glicose e 500g/L das cascas de café compostadas e pasteurizadas, como descrito anteriormente. As cascas de café foram trituradas em liquidificador para homogeneização. A mistura foi coada em peneira plástica para remoção dos fragmentos maiores e o líquido resultante foi misturado com glicose e o volume completado para 1L. Após distribuir os volumes em frascos Erlenmeyers, adicionou-se o ágar na proporção adequada. Os frascos foram autoclavados a 121°C por 30 min e após o resfriamento até 50°C foi vertido em placas de Petri, quando então um quadrado de aresta 10mm contendo hifas de *Coprinopsis calospora* foi inoculado no centro da placa. A matriz primária do *Coprinopsis calospora* foi obtida após um período de incubação de 7 dias a 25°C, até a colonização completa da placa.

Figura 01 – Fotografias da espécie *Coprinopsis calospora*




Legenda: (A e B) Basidiocarpos de *Coprinopsis Calospora* em frutificação (C) Crescimento micelial de *Coprinopsis calospora* em placa de Petri contendo meio Ágar Composto (D) Basidiocarpo de *C. calospora* pós-colheita

Fonte: Da autora (2026)

### 2.1.3 Preparo do inoculante (Spawn) de fungo *Coprinopsis calospora*

Grãos de trigo foram utilizados como substrato para a preparação do Spawn de *Coprinopsis calospora.* Para amenizar os problemas de contaminação os grãos foram imersos em solução de cloro (1g/L) durante 2 horas. Os grãos foram lavados, drenados e então cozidos. Após o cozimento, os grãos foram resfriados a temperatura ambiente e então suplementados com calcário calcítico (20g/kg de grãos). A mistura foi acondionada em potes de vidro tipo Berlim (100g/pote) os quais foram protegidos com a tampa própria. Os potes foram autoclavados a 121°C por 1 hora e o processo foi repetido após 24 horas de repouso. Cerca de 5 discos de 10mm de diâmetro obtidos a partir das placas em meio ágar composto

colonizado por *C. calospora* foram utilizados para inoculação em cada pote. Os potes foram incubados a temperatura ambiente até a completa colonização do substrato.

### 2.1.4 Cultivo do fungo

O substrato a base de casca de café, obtido conforme descrito anteriormente, foi inoculado utilizando uma proporção de 3% de Spawn e acondicionado em sacos próprios para o cultivo de cogumelos, com capacidade para 2 kg. Os sacos foram incubados em temperatura ambiente até que surgissem os primeiros primórdios, foram abertos para permitir a emissão dos basidiocarpos e posterior liquefação do píleo.

## 2.2 Teste de degradação de petróleo utilizando o substrato do fungo *Coprinopsis calospora*

### 2.2.1 Substratos utilizados

Para a realização dos ensaios de degradação do petróleo foi utilizado o substrato de *Coprinopsis calospora* (frutificado e esporulado). A umidade foi ajustada para equilibrar a porcentagem de água presente em cada substrato de cultivo de cogumelos.

### 2.2.2 Tratamentos e repetições

Os tratamentos foram feitos em triplicata em potes de vidro padronizados, cobertos com papel filtro e alumínio, com 100g de substrato. Os tratamentos foram os seguintes:

CT0 – Substrato de *Coprinopsis calospora* + 20g de petróleo, tempo 0 dias
CCT0 – Substrato de *Coprinopsis calospora* autoclavado + 20g de petróleo (CONTROLE), tempo 0 dias
CT30 - Substrato de *Coprinopsis calospora* + 20g de petróleo, tempo 30 dias
CCT30 – Substrato de *Coprinopsis calospora* autoclavado + 20g de petróleo (CONTROLE), tempo 30 dias
CT60 – Substrato de *Coprinopsis calospora* + 20g de petróleo, tempo 60 dias
CCT60 – Substrato de *Coprinopsis calospora* autoclavado + 20g de petróleo (CONTROLE), tempo 60 dias
CT90 – Substrato de *Coprinopsis calospora* + 20g de petróleo, tempo 90 dias
CCT90 – Substrato de *Coprinopsis calospora* autoclavado + 20g de petróleo (CONTROLE), tempo 90 dias

Posteriormente foram coletadas amostras de 2g nos tempos de 0, 30, 60 e 90 dias para a análise de degradação de hidrocarbonetos por cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas (GC-MS) nos tempos de 0, 30, 60 e 90 dias a fim de se avaliar a degradação final dos hidrocarbonetos do petróleo analisando a fração aromática e alifática da mistura Substrato + Petróleo em diferentes tempos de degradação

### 2.2.3 Análises de biodegradabilidade dos hidrocarbonetos presentes no resíduo de petróleo bruto por gc-ms (cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas gc-ms)

Para determinar alguns dos componentes presentes nas amostras de petróleo bruto e das amostras que sofreram degradação, foram realizadas análises cromatográficas em cromatógrafo gasoso acoplado ao espectrômetro de massas (GC-MS).

As amostras do conteúdo de SMS e resíduos de petróleo foram maceradas com nitrogênio líquido para extração por headspace. Dois gramas de SMS com o petróleo foram colocados em frascos de 15 ml hermeticamente fechados e aquecidos durante 15 minutos à 60ºC para atingir o equilíbrio do headspace da amostra. A adsorção dos compostos voláteis na fibra foi feita através da inserção do SPME no topo do frasco durante 30 minutos a 60ºC. Para adsorção do composto, a fibra foi colocada na porta de injeção do cromatógrafo aquecido a 230°C durante 2 minutos. A fibra de SPME a ser utilizada foi a de carboxen/poli (dimetilsiloxano) (DVB/CAR/PDMS) de 75mm (Supelco Co., Bellefonte, PA, EUA).

A análise de compostos voláteis das amostras foi realizada utilizando um cromatógrafo de fase gasosa (CG) acoplado a um espectrômetro de massa modelo QP-2010 SE e uma coluna capilar de sílica RTX-5MS. O programa de temperaturas se iniciou com 50°C por 2min, seguido por um gradiente de 40 ° C a 200 ° C a 10 ° C / min; A temperatura foi então mantida a 250°C por 8min. As temperaturas do injector e do detector foram mantidas a 250 ° C. O gás transportador (He) foi usado a uma taxa de fluxo de 1,2 mL / min. Os compostos voláteis foram identificados por comparação dos espectros de massa e índice de retenção de alcanos e com o banco de dados da Shimadzu.

# 3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

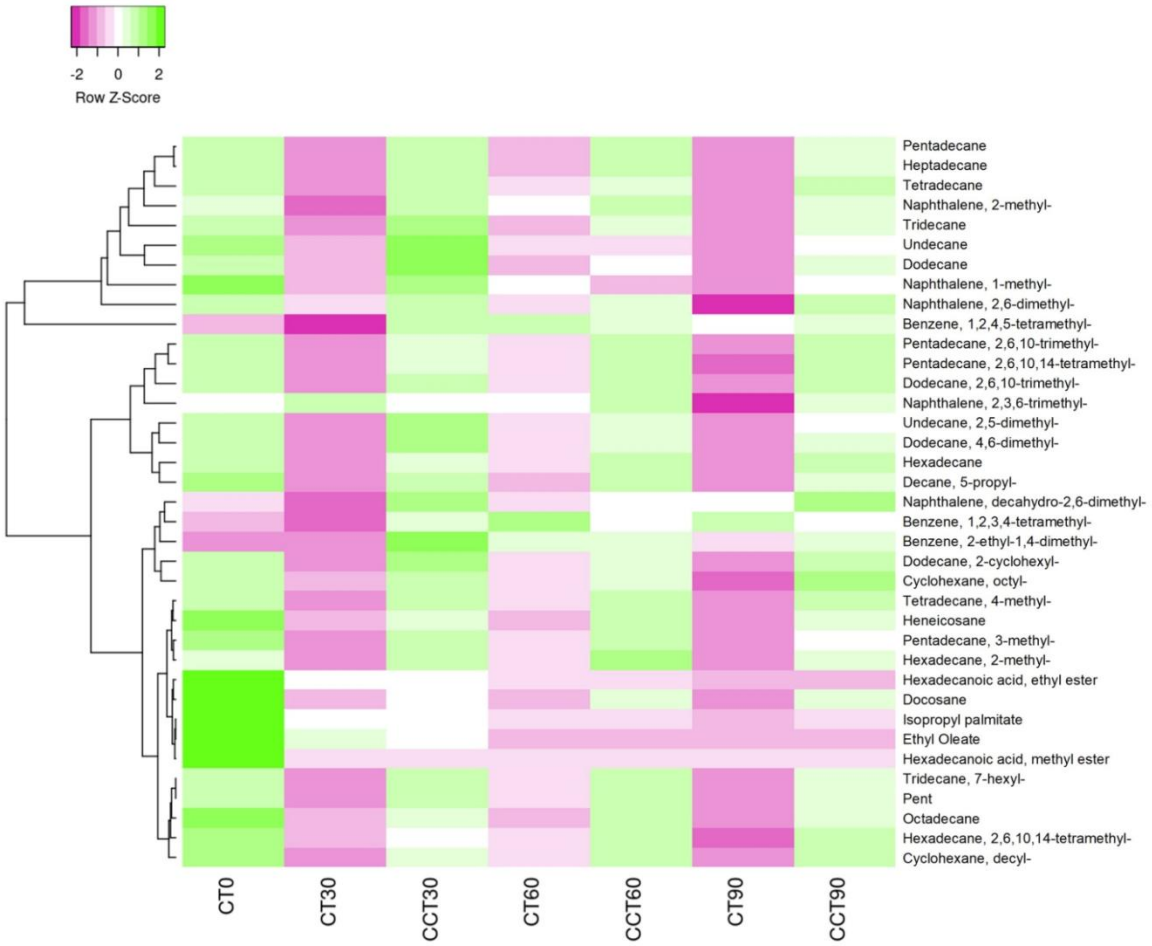
## 3.1 Resultados da análise de biodegradabilidade dos hidrocarbonetos presentes no resíduo de petróleo bruto feito por gc-ms em *Coprinopsis calospora*

A biodegradação do petróleo foi avaliada após análises cromatográficas em cromatógrafo gasoso acoplado ao espectrômetro de massas (GC-MS) através do decaimento dos picos de concentração dos componentes da fração alifática do petróleo em função da degradação. De maneira geral, o fungo apresentou capacidade de degradação em quase todos os constituintes, com exceção de Benzene, 1,2,4,5-tetramethyl e Naphthalene, 2,6-dimethyl que aumentaram sua concentração significativamente e foram os compostos mais abundantes ao longo do tempo.

Foram encontrados no total 41 hidrocarbonetos que se repetiram nos controles e durante os tempos desde o momento da mistura do substrato de *Coprinopsis calospora* com o petróleo que se deu no CT0, até o findar do experimento com 90 dias (CT90).

Na figura 02 pode-se observar que há uma similaridade entre CT0 e os controles, o que era esperado, já que os controles foram feitos a partir do substrato de *Coprinosis calolspora* autoclavado e no CT0 ainda não havia ação do fungo na degradação dos hidrocarbonetos.

Figura 02 – Perfil de degradação dos constituintes do petróleo por *C. calospora* obtidos através da cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massa




Fonte: Da autora (2026)

Os tempos CT30, CT60 e CT90 apresentam similaridade entre si e uma composição diferente dos controles e de CT0 o que indica que houve uma mudança na abundância dos hidrocarbonetos durante os tempos, sendo mais abundantes nos controles e em CT0 do que nos outros tempos.

A análise dos compostos da amostra de substrato de *Coprinospsis calospora* + petróleo evidenciou que o óleo em estudo é constituído por 80,5% de hidrocarbonetos saturados e 19,6% de hidrocarbonetos aromáticos.

Dos 41 compostos, 7 não foram detectados ao findar do processo tendo sido consumidos 100%, vale ressaltar que esses compostos também apresentavam uma baixa concentração variando entre 0,03% e 1,12% como mostra a Tabela 1. Desses 7 compostos, os 4 que apresentaram as mais baixas concentrações não foram detectados nos seus respectivos

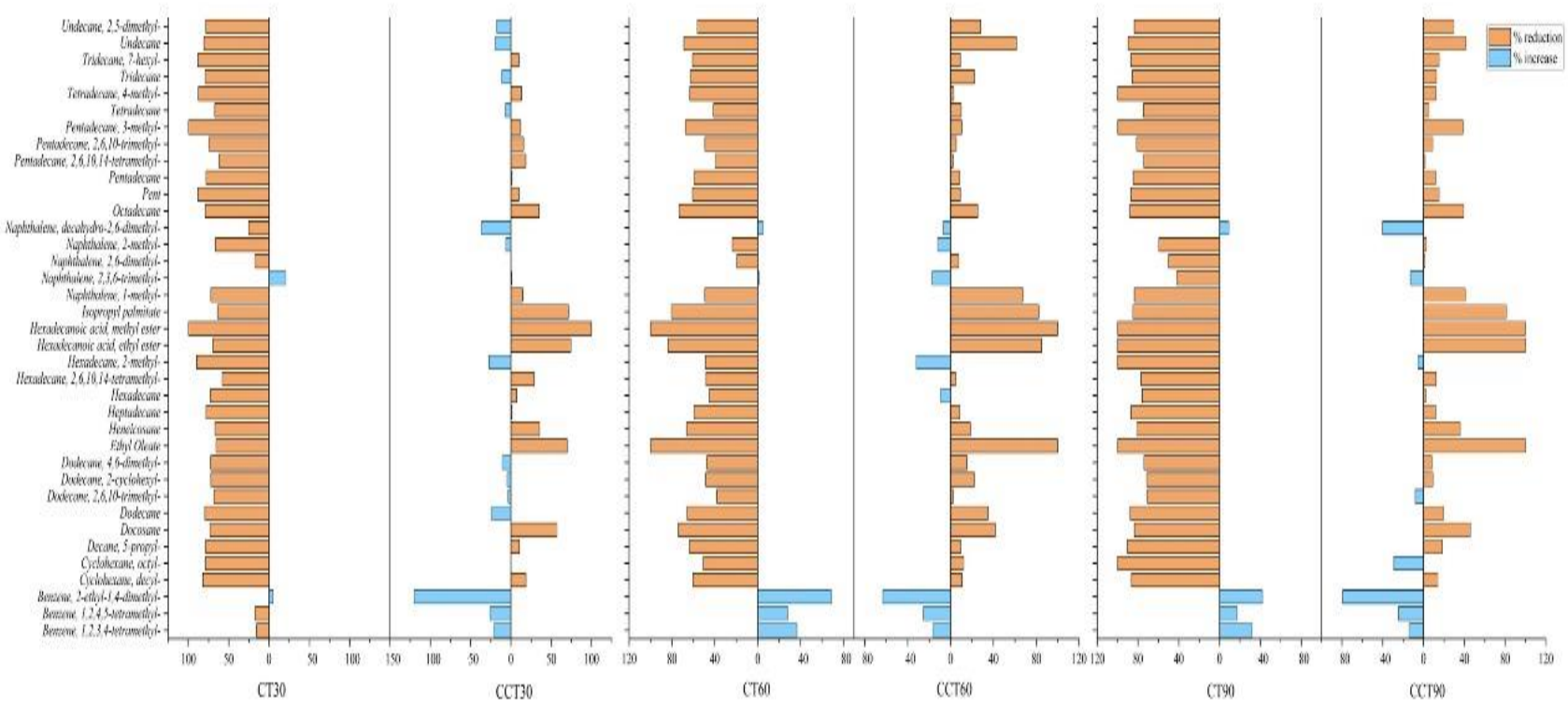
controles também (Tabela 01). Do restante dos compostos, 15 tiveram uma taxa de degradação acima de 40%.

Os fungos são microrganismos capazes de degradar compostos orgânicos complexos, incluindo hidrocarbonetos presentes em efluentes de petróleo. Eles são eficazes na degradação de compostos xenobióticos e de grandes cadeias moleculares, que são recalcitrantes e difíceis de degradar. Além disso, os hidrocarbonetos saturados são mais facilmente biodegradados pelos fungos do que os hidrocarbonetos aromáticos, tornando-os uma fonte de substrato potencial para o desenvolvimento desses microrganismos (SANTAELLA et at., 2009).

A degradação de hidrocarbonetos complexos pode ser realizada com mais eficiência por consórcios de microrganismos mistos, em vez de linhagens isoladas. Essa abordagem combina as habilidades metabólicas de diferentes microrganismos, permitindo uma degradação mais completa e eficiente. Estudos têm demonstrado que a ação conjunta de fungos e bactérias pode degradar hidrocarbonetos por meio de cometabolismo, onde os produtos da degradação são utilizados como fonte de energia. Além disso, consórcios microbianos tem se mostrado mais eficazes do que microrganismos isolados na degradação de hidrocarbonetos complexos (PIROLLO, 2008).

A análise da variação percentual dos hidrocarbonetos derivados do petróleo ao longo do período experimental demonstrou que o fungo *Coprinopsis calospora* apresentou capacidade significativa de modificar o perfil químico desses compostos. Os resultados obtidos por cromatografia gasosa evidenciaram uma predominância de redução na abundância relativa de diversos hidrocarbonetos nas amostras tratadas com o fungo, indicando a ocorrência de processos de biodegradação (Figura 03).

Figura 03 – Variação percentual na abundância relativa de hidrocarbonetos derivados do petróleo ao longo do tempo de incubação




Fonte: Da autora (2026)

Foi observado que 29 dos 41 compostos voláteis identificados por cromatografia gasosa são comuns em todos os tempos e se mantiveram presentes desde o início do experimento em CT0 até o final dos 90 dias em CT90, não havendo o aparecimento de novos compostos durante os

tempos, mas havendo a completa degradação de alguns compostos que estavam presentes em CT0. Em CT0 há o aparecimento de um composto que é único desse tempo (Hexadecanoic acid, methyl ester) e de seu respectivo controle e que já em CT30 foi totalmente degradado inclusive no controle.

A biodegradação de alcanos por microrganismos é um processo complexo que ocorre em etapas sequenciais, envolvendo a oxidação promovida por enzimas específicas, como monoxigenases e desoxigenases. O processo inicia com a formação de alcoóis, que são subseqüentemente oxidados a aldeídos e, em seguida, a ácidos graxos. Esses ácidos graxos são então oxidados novamente, resultando na formação de propionato e acetato. O tempo necessário para esse processo pode variar dependendo principalmente da capacidade dos microrganismos de degradar cadeias de diferentes tamanhos (TRINDADE *et al*., 2005).

Os hidrocarbonetos aromáticos, como benzeno, tolueno, etilbenzeno e xileno, são componentes comuns nas frações leves do petróleo, incluindo gasolina e óleo diesel. Devido ao seu tamanho molecular reduzido e ponto de ebulição baixo, esses compostos podem se volatilizar facilmente em temperatura ambiente, tornando-se uma fonte significativa de contaminação do ar. Além disso, sua capacidade de ser transportado para locais distantes do ponto de origem aumenta o risco de contaminação ambiental (BAKER,*et al*.,1995).

Diversos estudos têm demonstrado o potencial dos fungos basidiomicetos lignocelulolíticos na biodegradação de substâncias químicas recalcitrantes. Esses organismos possuem a capacidade de degradar uma ampla gama de moléculas de poluentes orgânicos e substâncias tóxicas persistentes, incluindo: DDT, dioxinas, hidrocarbonetos aromáticos, bifenilas policloradas, pentaclorofenol, hexaclorobenzeno, compostos aromáticos polinucleares de alto peso molecular como benzopireno, plásticos como polietileno e pesticidas. Essa capacidade torna esses fungos uma ferramenta promissora para a remediação de ambientes contaminados (AUST, 1990; BAAR & AUST, 1994; DURÁN & ESPÓSITO, 1997; LEE *et al*. 1998; MACHADO *et al*., 2005; MATHEUS *et al*, 2000; REDDY & GOLD, 2000; SHIM & KAWAMOTO, 2002; TORTELLA *et al*., 2005).

A biodegradação de hidrocarbonetos por fungos da podridão branca da madeira, como o *Phanerochaete chrysosporium*, tem sido amplamente estudada, sendo este fungo considerado um organismo modelo na maioria destes estudos. Embora a lignina seja o substrato natural desses fungos, eles são capazes de degradar uma variedade de poluentes recalcitrantes, graças à sua capacidade de produzir ligninases com baixa especificidade. Essa habilidade se deve à similaridade estrutural entre os poluentes e a lignina (BRODKRB & LEGGE, 1992).

Nos primeiros 30 dias de incubação, já foi possível observar redução expressiva de vários compostos, sugerindo que o microrganismo apresenta atividade metabólica eficiente desde as fases iniciais do desenvolvimento. Esse comportamento indica rápida adaptação do fungo ao ambiente contaminado, possivelmente associada à produção de enzimas extracelulares capazes de atuar na oxidação de hidrocarbonetos complexos. A presença de redução em diferentes classes de compostos, incluindo hidrocarbonetos lineares, ramificados e aromáticos, demonstra que o fungo possui baixa especificidade enzimática, característica comum em organismos envolvidos na degradação de substâncias orgânicas persistentes.

Com o avanço do tempo de incubação, especialmente aos 60 e 90 dias, observou-se intensificação da redução dos hidrocarbonetos, evidenciando que a atividade degradadora se torna mais eficiente ao longo do crescimento micelial. Esse padrão sugere que a produção enzimática pode ser estimulada progressivamente, favorecendo a transformação de compostos de maior complexidade estrutural. A redução mais acentuada observada em períodos mais prolongados indica que o fungo apresenta potencial para atuar na biodegradação contínua desses poluentes.

A biodegradação de hidrocarbonetos é um processo fundamental no ciclo natural do carbono e desempenha papel central na biorremediação de ambientes contaminados por petróleo e seus derivados. Diversos microrganismos, incluindo bactérias e fungos, possuem a capacidade de utilizar hidrocarbonetos como fonte de carbono e energia, graças à presença de sistemas enzimáticos especializados que catalisam reações de oxidação dessas moléculas relativamente estáveis. Entre os microrganismos mais frequentemente associados à degradação de hidrocarbonetos destacam-se gêneros bacterianos como *Pseudomonas*, *Rhodococcus*, *Alcanivorax* e *Acinetobacter*, que apresentam vias metabólicas capazes de transformar hidrocarbonetos alifáticos e aromáticos em compostos intermediários assimiláveis pelas vias metabólicas centrais da célula (WANG; DING; YUAN, 2023).

No caso específico dos alcanos, a etapa inicial da biodegradação geralmente envolve reações de oxidação catalisadas por enzimas conhecidas como monooxigenases de alcanos**,** sendo a AlkB (alkane monooxygenase) uma das mais estudadas. Essa enzima é uma monooxigenase de membrana que catalisa a hidroxilação terminal da cadeia de alcanos, convertendo-os em álcoois primários por meio da incorporação de um átomo de oxigênio molecular. O sistema enzimático associado à AlkB normalmente inclui proteínas auxiliares envolvidas na transferência de elétrons, como rubredoxina (AlkG) **e** rubredoxina redutase (AlkT)**,** que possibilitam a ativação do oxigênio necessário para a reação oxidativa. Após essa etapa inicial, os álcoois formados são convertidos em aldeídos por ação de álcool

desidrogenases, e posteriormente em ácidos graxos por aldeído desidrogenases**,** os quais podem ser metabolizados através da via de β-oxidação, gerando acetil-CoA que entra no ciclo do ácido cítrico (PETRIKOV et al., 2025; WANG; LIU, 2024).

Além do sistema AlkB, outros sistemas enzimáticos também participam da degradação microbiana de alcanos, ampliando o espectro de substratos que podem ser metabolizados. Entre eles destacam-se as monooxigenases do citocromo P450 (CYP450)**,** que apresentam ampla especificidade e são capazes de oxidar hidrocarbonetos de diferentes comprimentos de cadeia. Da mesma forma, enzimas solúveis dependentes de flavina, como LadA (long-chain alkane monooxygenase) e AlmA**,** têm sido descritas como importantes catalisadoras da oxidação de alcanos de cadeia longa em diversos microrganismos. Esses sistemas enzimáticos contribuem significativamente para a adaptação metabólica de bactérias degradadoras de hidrocarbonetos em ambientes contaminados, permitindo a utilização de diferentes frações do petróleo como fonte de energia (LIBISCH, 2024; ZHANG et al., 2026).

A diversidade de enzimas envolvidas na biodegradação de hidrocarbonetos reflete a grande plasticidade metabólica dos microrganismos, bem como a importância ecológica desses processos na remoção natural de contaminantes orgânicos persistentes. Dessa forma, o estudo das vias enzimáticas responsáveis pela oxidação de alcanos e outros hidrocarbonetos têm recebido crescente atenção na literatura científica, especialmente devido ao seu potencial de aplicação em estratégias de biorremediação**,** biotecnologia ambiental e recuperação de ecossistemas impactados por derramamentos de petróleo (WANG; DING; YUAN, 2023).

Além da redução predominante dos compostos, o gráfico na figura 03 também revelou aumento relativo na abundância de alguns hidrocarbonetos específicos. Esse comportamento pode estar associado à formação de metabólitos intermediários resultantes da fragmentação de moléculas maiores durante o processo degradativo. A formação desses intermediários é frequentemente observada em processos de biodegradação e representa etapas metabólicas que precedem a completa mineralização dos compostos orgânicos.

Nos controles experimentais, nos quais não houve inoculação do fungo, foram observadas alterações menos expressivas na abundância dos hidrocarbonetos, indicando que as variações mais significativas estão relacionadas à atividade biológica do microrganismo. Esse resultado reforça o papel do fungo como agente ativo na transformação dos compostos derivados do petróleo.

Outro aspecto relevante observado foi a degradação seletiva dos hidrocarbonetos. Alguns compostos apresentaram redução mais intensa, enquanto outros demonstraram maior resistência ao processo degradativo. Essa seletividade pode estar relacionada à estrutura

química dos hidrocarbonetos, ao grau de ramificação molecular, ao peso molecular e à biodisponibilidade dos compostos no substrato. Hidrocarbonetos de cadeia linear geralmente são mais suscetíveis à degradação biológica, enquanto compostos aromáticos mais complexos tendem a apresentar maior persistência ambiental.

Os resultados obtidos demonstram que *Coprinopsis calospora* possui potencial para aplicação em processos de biorremediação, devido à sua capacidade de reduzir a concentração de diferentes hidrocarbonetos ao longo do tempo. A eficiência observada sugere que o fungo pode contribuir para a recuperação de ambientes contaminados por derivados do petróleo, representando uma alternativa biotecnológica promissora e ambientalmente sustentável.

Tabela 1 – Compostos voláteis (%) determinados por GC-MS em substrato de *Coprinopsis calospora* com 20% de petróleo

(Continua)

| **Nº** | **Class** | **Volatile compounds** | **CT0** | | **CT30** | | **CT60** | | **CT90** | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | Alkanes | | Sample | Control | Sample | Control | Sample | Control | Sample | Control |
| **1** | | Undecane | 5,73 | 7,75 | 3,73 | 7,75 | 3,75 | 3,06 | 2,43 | 4,44 |
| **2** | | Benzene, 1,2,4,5-tetramethyl- | 5,34 | 6,41 | 14,17 | 7,14 | 13,54 | 8,72 | 24,7 | 8,27 |
| **3** | | Dodecane | 5,68 | 5,97 | 3,45 | 7,00 | 3,59 | 4,50 | 2,52 | 5,30 |
| **4** | | Undecane, 2,5 dimethyl | 3,81 | 3,88 | 2,42 | 4,37 | 3,02 | 3,28 | 2,20 | 3,06 |
| **5** | | Dodecane, 4,6 dimethyl | 3,83 | 3,44 | 2,95 | 3,91 | 3,46 | 3,66 | 3,31 | 3,79 |
| **6** | | Tridecane | 7,08 | 6,55 | 4,13 | 7,36 | 4,57 | 6,31 | 3,45 | 6,76 |
| **7** | | Dodecane 2-cyclohexyl | 1,56 | 1,32 | 1,18 | 1,47 | 1,34 | 1,33 | 1,45 | 1,48 |
| **8** | | Tetradecane | 5,45 | 5,17 | 5,06 | 5,51 | 5,63 | 5,70 | 4,73 | 5,71 |
| **9** | | Cyclohexane, octyl | 1,12 | 0,90 | 0,63 | 0,98 | 0,90 | 1,05 | ND | 1,48 |
| **10** | | Hexadecane | 3,91 | 2,95 | 2,77 | 3,10 | 3,41 | 4,47 | 2,91 | 3,83 |
| **11** | | Pentadecane | 6,04 | 5,52 | 3,69 | 5,53 | 4,23 | 6,30 | 3,10 | 5,77 |
| **12** | | Pentadecane,2-methyl | 0,83 | 0,76 | 0,27 | 0,70 | 0,56 | 0,86 | 0,37 | 0,76 |
| **13** | | Pentadecane, 3-methyl | 0,41 | 0,37 | ND | 0,33 | 0,23 | 0,41 | ND | 0,30 |
| **14** | | Decane, 5-propyl | 3,76 | 3,60 | 2,31 | 3,19 | 2,41 | 3,96 | 1,26 | 3,04 |
| **15** | | Tetradecane, 4-methyl | 0,24 | 0,23 | 0,08 | 0,20 | 0,16 | 0,27 | ND | 0,23 |

Tabela 1 – Compostos voláteis (%) determinados por GC-MS em substrato de *Coprinopsis calospora* com 20% de petróleo

(Conclusão)

| Nº | Class | Volatile compounds | CT0 | | CT30 | | CT60 | | CT90 | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | Alkanes | | Sample | Control | Sample | Control | Sample | Control | Sample | Control |
| **16** | | Hexadecane, 2-methyl | 0,32 | 0,28 | 0,09 | 0,37 | 0,28 | 0,46 | ND | 0,35 |
| **17** | | Cyclohexane, decyl | 0,61 | 0,54 | 0,30 | 0,46 | 0,41 | 0,61 | 0,28 | 0,56 |
| **18** | | Heptadecane | 2,12 | 2,12 | 1,18 | 1,57 | 1,17 | 2,15 | 0,74 | 1,73 |
| **19** | | Pentadecane, 2,6,10-trimethyl | 2,57 | 2,38 | 1,84 | 2,02 | 2,27 | 2,78 | 1,61 | 2,55 |
| **20** | | Pentadecane, 2,6,10,14-tetramethyl | 2,32 | 2,22 | 2,51 | 1,79 | 2,47 | 2,63 | 2,04 | 2,53 |
| **21** | | Octadecane | 0,92 | 0,89 | 0,55 | 0,57 | 0,43 | 0,80 | 0,38 | 0,62 |
| **22** | | Hexadecane, 2,6,10,14-tetramethyl | 0,72 | 0,72 | 0,88 | 0,49 | 0,67 | 0,81 | 0,58 | 0,71 |
| **23** | | Heneicosane | 0,32 | 0,37 | 0,33 | 0,22 | 0,21 | 0,33 | 0,23 | 0,25 |
| **24** | | Hexadecanoic acid, methyl ester | 0,11 | 0,04 | ND | ND | ND | ND | ND | ND |
| **25** | | Hexadecanoic acid, ethyl Ester | 0,33 | 0,16 | 0,22 | 0,06 | 0,07 | 0,04 | ND | ND |
| **26** | | Dodecane, 2,6,10-trimethyl | 2,96 | 2,35 | 2,46 | 2,67 | 2,98 | 3,09 | 2,74 | 3,27 |
| **27** | | Naphthalene,2,6-dimethyl | 5,09 | 5,65 | 12,98 | 5,17 | 7,79 | 5,88 | 9,41 | 5,98 |
| **28** | | Heptadecane | 6,04 | 5,52 | 3,69 | 5,53 | 4,23 | 6,30 | 2,68 | 5,77 |
| **29** | | Naphthalene, 2,3,6-trimethyl | 1,59 | 1,84 | 6,05 | 1,64 | 3,13 | 2,38 | 3,49 | 2,19 |
| **30** | | Tridecane, 7-hexyl | 0,83 | 0,76 | 0,27 | 0,70 | 0,56 | 0,86 | 0,37 | 0,76 |
| **31** | | Heneicosane | 0,10 | 0,10 | 0,23 | 0,06 | 0,10 | 0,11 | 0,08 | 0,09 |
| **32** | | Docosane | 0,13 | 0,17 | 0,12 | 0,06 | 0,07 | 0,13 | 0,09 | 0,09 |
| **33** | | Naphthalene, 2-methyl | 4,70 | 5,06 | 4,81 | 5,01 | 6,72 | 6,50 | 6,92 | 5,37 |
| **34** | | Naphtalene, 1methyl | 7,81 | 8,68 | 6,70 | 6,80 | 7,51 | 3,14 | 4,71 | 5,50 |
| **35** | | Tetradecane, 4-methyl | 0,89 | 0,79 | 0,28 | 0,85 | 0,36 | 0,81 | ND | 0,75 |
| **36** | | Benzene, 2-ethyl-1,4-dimethyl | 0,46 | ND | 1,47 | 1,02 | 1,45 | 0,92 | 2,39 | 0,97 |
| **37** | | Pentadecane, 2,6,10-trimethyl | 2,57 | 2,38 | 1,84 | 2,02 | 2,27 | 2,78 | 1,44 | 2,55 |
| **38** | | Bemzene, 1,2,3,4-tetramethyl | 0,71 | 1,00 | 2,10 | 1,00 | 2,09 | 1,17 | 3,94 | 1,09 |
| **39** | | Naphthalene, decahydro-2,6-dimethyl | 0,93 | 1,15 | 2,27 | 1,37 | 1,96 | 1,31 | 3,97 | 1,64 |
| | Éster | | | | | | | | | |
| **40** | | Isopropyl palmitate | 0,04 | 0,02 | 0,03 | 0,01 | 0,01 | ND | 0,01 | ND |
| **41** | | Ethyl oleate | 0,03 | 0,02 | 0,02 | 0,01 | ND | ND | ND | ND |

Fonte: Da autora (2026)

Os fungos dos gêneros *Aspergillus, Penicillium, Trichoderma, Acremonium, Beauveria, Fusarium, Cladosporium* e *Gongronella*, isolados de ambientes contaminados ou não, são citados por serem capazes de degradar hidrocarbonetos do petróleo (saturados e aromáticos) em taxas de degradação variando de 5 a 49%. Dentre as espécies de fungos testadas, *Beauvaria alba, Penicillium simplicissimum, P. brevicompactum, P. fenophilium* e *Acremonium* strictum apresentaram as maiores taxas de degradação, cujos valores corresponderam a 49%, 45%, 40%, 33% e 33%, respectivamente (CHAÎNEAU *et al*, 1999).

Também, Araújo e Lemos (2002), selecionaram fungos com capacidade de degradar petróleo. Das oitenta linhagens obtidas, sessenta possuem a capacidade de degradar hidrocarbonetos do petróleo e foram agrupadas em quatro gêneros, *Aspergillus, Penicillium, Paecilomyces* e *Fusarium*. Na pesquisa realizada Pena *et al*. (2008), utilizaram biofiltros, um sistema contendo micélio do fungo *Paecilomyces variotii* CBS115145, com o objetivo de comprovar a sua capacidade em metabolizar os compostos BTEX. Nos ensaios, o tolueno foi completamente degradado, seguido de etilbenzeno, e o benzeno foi parcialmente degradado, com taxa de degradação de 45%, à semelhança dos compostos m- xilemo e p-xilenos para o-xileno, a taxa de degradação foi de apenas 30% na cultura líquida. Sendo, que a recuperações de carbono como CO2 foram de 48, 40 e 53% para tolueno, benzeno e etilbenzeno, respectivamente.

No presente trabalho, tivemos uma taxa de degradação de 57% de undecane, 65% de heptadecane, 66% de decane, 68% de octadecane e outros compostos, porém, o fungo não apresentou capacidade de degradação de hidrocarbonetos como benzeno e naftaleno devido à natureza recalcitrante desses compostos além do que, eles aparecem aumentados no fim do processo.

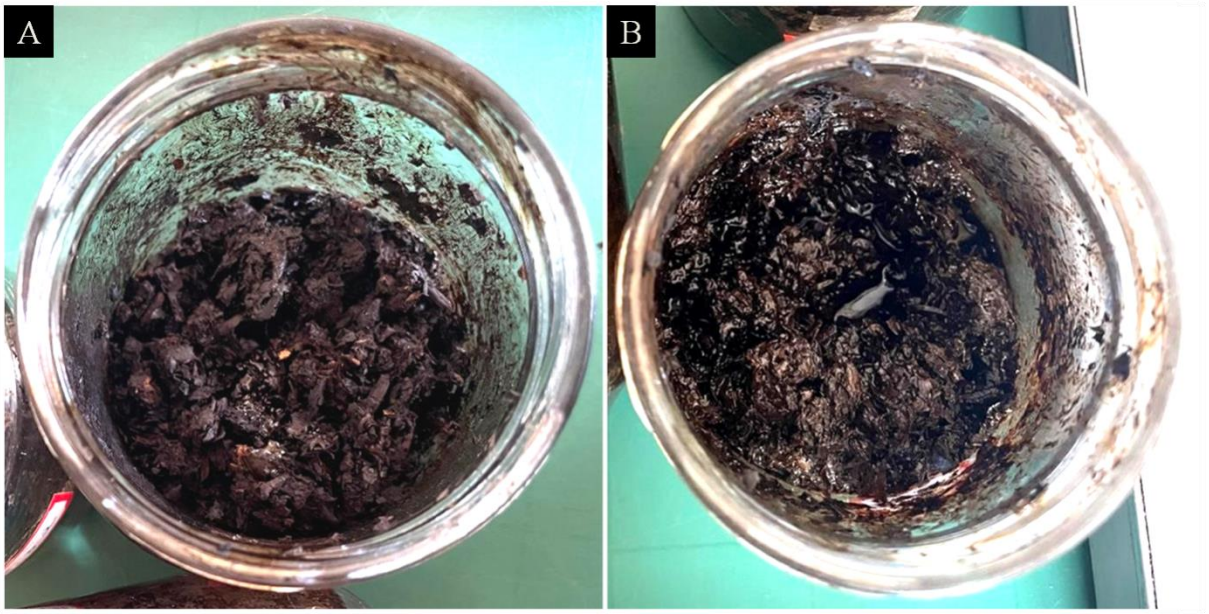
O aumento aparente de compostos aromáticos como benzeno e naftalenos em amostras de petróleo submetidas à biodegradação por fungos do gênero *Coprinopsis* pode ser explicado principalmente pela degradação diferencial das frações de hidrocarbonetos presentes no petróleo. Durante processos de biodegradação, microrganismos frequentemente metabolizam preferencialmente hidrocarbonetos alifáticos, como alcanos lineares e ramificados, que apresentam maior biodisponibilidade e menor estabilidade química quando comparados aos compostos aromáticos. Como consequência, a remoção dessas frações mais facilmente degradáveis leva a um aumento relativo da proporção de compostos aromáticos na mistura residual, mesmo que sua concentração absoluta permaneça estável ou diminua em menor intensidade (HEAD; JONES; RÖLING, 2006; PRINCE; WALTON, 2018).

Além disso, fungos ligninolíticos, incluindo espécies do gênero *Coprinopsis*, produzem enzimas oxidativas extracelulares, como lacases, manganês peroxidase e lignina peroxidase**,** que possuem baixa especificidade de substrato e são capazes de oxidar uma ampla variedade de compostos aromáticos e hidrocarbonetos complexos. Essas enzimas podem promover reações de oxidação parcial e rearranjos estruturais em moléculas maiores presentes no petróleo, incluindo hidrocarbonetos aromáticos policíclicos (PAHs), resultando na formação de compostos aromáticos de menor massa molecular, como derivados de benzeno ou naftaleno (HARMS; SCHLOSSER; WICK, 2011; DAS; CHANDRAN, 2011). Dessa forma, a degradação parcial de estruturas aromáticas mais complexas pode contribuir para o aumento detectável desses compostos em análises cromatográficas.

Outro fator que pode contribuir para esse comportamento é a quebra oxidativa de hidrocarbonetos aromáticos policíclicos de maior peso molecular**,** processo que pode gerar intermediários aromáticos mais simples durante a biodegradação fúngica. Esse fenômeno tem sido frequentemente observado em estudos de biorremediação, nos quais compostos aromáticos menores podem aparecer como produtos intermediários da transformação de moléculas mais complexas antes de sua completa mineralização (HARITASH; KAUSHIK, 2009). Portanto, o aumento relativo de benzenos e naftalenos em petróleo biodegradado por *Coprinopsis* pode resultar da combinação de degradação preferencial de hidrocarbonetos alifáticos, transformação parcial de compostos aromáticos complexos e efeitos de concentração relativa decorrentes da remoção de outras frações do petróleo.

Na Figura 04 pode-se observar a diferença visual entre CT30, ou seja, o substrato de *Coprinopsis calospora* após 30 dias em contato com petróleo e seu respectivo controle CCT30, o substrato autoclavado sem ação do fungo, nitidamente observa-se que o petróleo permaneceu inalterado no controle ao contrário do tratamento com 30 dias de ação do fungo, no qual não se observa mais o petróleo de forma aparente.

Figura 04 – Fotografias do substrato de *Coprinopsis calospora* acrescido de 20% de petróleo




Legenda: **(A)** Susbtrato de *Coprinopsis calospora* + 20% de petróleo que sofreu ação do fungo durante 30 dias (CT30) **(B)** Substrato de *Coprinopsis calospora* autoclavado + 20% de petróleo (CCT30).

Fonte: Da autora (2026)

Os fungos ligninolíticos possuem vias alternativas para a degradação de compostos aromáticos, ao contrário das bactérias eles produzem enzimas extracelulares. A produção dessas enzimas é fundamental para a aplicação destes fungos em processos de biorremediação e biodegradação desses compostos (TSAO *et al*., 1998). As principais enzimas extracelulares envolvidas nos processos de degradação da lignina e de compostos aromáticos de estruturas similares são a lignina peroxidase ( LiP), a manganês peroxidase (MnP), lacase e a glucose-1 oxidase (LEONOWICZ *et al*., 1999).

# 4 CONCLUSÃO

A amostra de substrato de *Coprinopsis calospora* + 20% de petróleo apresentou um maior número de alcanos, aonde estes foram mais biodegradados que os esterenos. Os esterenos embora em menor número apresentaram maior abundância, o que pode explicar a dificuldade da biodegradação.

Os resultados demonstram que *Coprinopsis calospora* apresentou degradação mais intensa nos estágios iniciais do experimento, possivelmente associada à indução enzimática promovida pela composição química da casca de café, rica em compostos fenólicos.

Apesar dos resultados promissores, são necessários estudos adicionais para elucidar os mecanismos metabólicos específicos envolvidos na degradação dos hidrocarbonetos por *Coprinopsis calospora*. Investigações envolvendo análise enzimática, identificação de metabólitos intermediários e avaliação da mineralização completa dos compostos são fundamentais para confirmar o potencial biotecnológico das espécies.

Além disso, estudos em condições ambientais reais podem contribuir para validar a aplicação desses fungos em processos de biorremediação em larga escala.

## REFERÊNCIAS

ATLAS, R. M. **Bioremediation of petroleum pollutants.** International Biodeterioration & Biodegradation, Barking, v. 35, n. 1–3, p. 317–327, 1995.

ATLAS, R. M.; HAZEN, T. C. **Oil biodegradation and bioremediation: a tale of the two worst spills in U.S. history.** Environmental Science & Technology, Washington, v. 45, n. 16, p. 6709–6715, 2011.

BAAR, H.A; Johnson, M. Reinhard; A.M. **Spormann. Initial reactions in anaerobic ethylbenzene oxidation by a denitrifying bacterium, strain EB1.** Journal Bacteriol. V. 178 , p. 5755-5761, 1995.

BAKER, K.H., HERSON, D.S. **Ed. Biorremediation.** McGraw – Hill Inc., New York (1), 376p, 1995.

BANAT, I. M. et al. **Microbial biosurfactants production, applications and future potential.** Applied Microbiology and Biotechnology, Berlin, v. 87, n. 2, p. 427–444, 2010.

BRODKORB, T. S; LEGGER, R. **Enhanced biodegradation of phenantrene in oil tarte contaminated soils supplemented with Phanerochae chrysosporium.** Appl. Environ.Microbiol.v.58, p.3117-3121,1992.

CHAÎNEAU C.H; MOREL, J; DUPONT, J; BURY, E; OUDOT, J. **Comparison of the fuel oil biodegradation potential of hydrocarbon-assimilating microorganisms isolated from a temperate agricultural soil.** Sci. Tot. Environ., v.227, p. 237-247, 1999.

CUI, J.; DÖRMANN, P. **Microbial degradation of hydrocarbons from petroleum assisted by biosurfactants: pathways and bioremediation potential.** Biochimie, Paris, v. 239, p. 103–119, 2025.

DAS, N.; CHANDRAN, P. **Microbial degradation of petroleum hydrocarbon contaminants: an overview.** Biotechnology Research International, London, v. 2011, p. 1-13, 2011.

DURÁN, N; ESPOSITO, E. **Biodegradação de Lignina e Tratamento de Efluentes por Fungos Ligninolíticos.** In: Melo, I.S.: AZEVEDO, J.L.( Ed.) Microbiologia Ambiental . CNPMA/EMBRAPA Editora. p. 269-292,1997.

HARITASH, A. K.; KAUSHIK, C. P. **Biodegradation aspects of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs): a review.** Journal of Hazardous Materials, Amsterdam, v. 169, n. 1-3, p. 1-15, 2009.

HARMS, H.; SCHLOSSER, D.; WICK, L. Y. **Untapped potential: exploiting fungi in bioremediation of hazardous chemicals.** Nature Reviews Microbiology, London, v. 9, p. 177-192, 2011.

HEAD, I. M.; JONES, D. M.; RÖLING, W. F. M. **Marine microorganisms make a meal of oil.** Nature Reviews Microbiology, London, v. 4, p. 173-182, 2006.

HEAD, I. M.; JONES, D. M.; RÖLING, W. F. M. **Marine microorganisms make a meal of oil.** Nature Reviews Microbiology, London, v. 4, n. 3, p. 173–182, 2006.

LEE, M.D.; THOMAS, J. M.; BORDEN, R. C.; BEDIENT, P.B.; WARD, C.H.; WILSON, J.T. **Biorestoration of aquifers contaminated with organic compounds.** CRC Crictical Reviews in Environmental control, v1.p.29-89.1998.

LEONOWICZ, A.; CHO, N.S.; LUTEREK, J.; WILKOLAZKA. A.; WOJTAS WASILEWSKA, M; HOFRICHTER, M.; WESENBERG, D; ROGALSKI, J. **Fungal laccase: Properties and Activity on Lignin.** Journal of Basic Microbiology, v.41.p.185-227.2001.

MA, K., & RUAN, Z. **Production of a lignocellulolytic enzyme system for simultaneous bio-delignification and saccharification of corn stoveremployingco-culture of fungi.** Bioresource Technology, *175*, 586-593. (2015).

LIBISCH, Balázs. **N-alkane assimilation by *Pseudomonas aeruginosa* and its interactions with virulence and antibiotic resistance**. Antibiotics*,* Basel, v. 13, n. 11, p. 1028, 2024.

MACHADO, K.M.G; MATHEUS, D.R; MONTEIRO, R.T.R & BONONI, V.L. **Biodegradation of penatachlorophenol by tropical basidiomycetes in soils contaminated with industrial residues.** World Journal of Microbiology and Bioctechnology, v.21, p.297-301,2005b.

MAIER, R. M.; PEPPER, I. L.; GERBA, C. P. **Environmental Microbiology**. 2. ed. Burlington: Academic Press, 2009.

MARTINS, R. C., BRAVO, C. E. C., VILELA, L. D. F., COSTA, L. M. A. S., & DIAS, E. S. **Multivariate analysis of nutritional parameters required for the submerged cultivation of three coprinaceous fungi for biosurfactant production.** Ciência e Agrotecnologia, *45*. (2021).

MATHEUS, D.R; OKINO, L.K. **Utilização de basidiomicetos em processos biotecnológicos.** In: BONONI, V.L.R; GRANDI, R.A.P. Zigomicetos, basidiomicetos e deutoremicetos – noções básicas de taxonomia e aplicações biotecnológicas. Instituto de Botânica/ SMA. São Paulo. p. 107-139.2000.

PETRIKOV, Kirill V. et al. **Generalization of classification of AlkB family alkane monooxygenases from *Rhodococcus* group based on phylogenetic analysis and genomic context comparison.** International Journal of Molecular Sciences, Basel, v. 26, n. 4, p. 1713, 2025.

PIROLLO, M P. S. **Estudo da Produção de Biossur factantes Utilizando Hidrocarbonetos.** Dissertação apresentada ao Instituto da Biociências da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, para obtenção do título de Mestre em Ciências Biológicas – São Paulo, 2008.

PRINCE, R. C.; WALTON, I. **Microbial biodegradation of oil hydrocarbons and its implications for oil spill cleanup.** Microbial Biotechnology, Oxford, v. 11, n. 2, p. 228-239, 2018.

REDDY, G.V.B; GOLD, M.H. **Degradation of pentachorophenol by Phanerochaete Chrysosporium: intermediates and reations involved.** Microbiology, v.146, p.405-413, 2000

REDHEAD, S. A.; VILGALYS, R.; MONCALVO, J. M.; JOHNSON, J.; HOPPLE, J. S. **Coprinus Pers and the disposition of Coprinus species sensu lato.** Taxon, Utrecht, v. 50, n. 1, p. 203–241, 2001.

RON, E. Z.; ROSENBERG, E. 2002. **Biosurfactants and oil bioremediation.** Current Opinion in Biotachnology 13: 249-252.

SANTAELLA, S. T. **Tratamento de efluentes de refinaria de petróleo em reatores com Aspergillus niger.** 2009

SPEIGHT, J. G. **The Chemistry and Technology of Petroleum.** 5. ed. Boca Raton: CRC Press, 2014.

TRINDADE, P. V. O.; SOBRAL, L. G.; RIZZO, A. C. L.; LEITE, S. G. F.; SORIANO, A. U. **Bioremediation of a weathered and a recently oil-contaminated soils from Brazil: a comparison study.** Chemosphere, v. 58, p. 515–522, 2005.

WANG, Minzhen; DING, Mingzhu; YUAN, Yingjin. **Bioengineering for the microbial degradation of petroleum hydrocarbon contaminants.** Bioengineering, Basel, v. 10, n. 3, p. 347, 2023.

WANG, Yue; LIU, Yongjun. **Computational insights into the non-heme diiron alkane monooxygenase enzyme** AlkB. Inorganic Chemistry, Washington, v. 63, n. 37, p. 17056-17066, 2024.

ZHANG, Y. et al. **Enhanced biodegradation of n-alkanes in crude oil by immobilized *Methylorubrum populi*.** Biochemical Engineering Journal, v. 226, 109977, 2026.

| **Artigo 3 - Elaborado conforme a norma NBR 6022** | |
|---|---|
| Título do artigo: | DEGRADAÇÃO DE COMPOSTOS DO PETRÓLEO UTILIZANDO SMS DO COGUMELO *Agaricus subrufescens* |
| Autores: | Marília Santiago de Brito de Paula<br><br>Carlos Godinho de Abreu<br><br>Danilo José Machado de Abreu<br><br>Silvia Juliana Martinez Gelvez<br><br>Héctor José Valério Ardon<br><br>Eustáquio Souza Dias |

## ARTIGO 3

# DEGRADAÇÃO DE COMPOSTOS DO PETRÓLEO UTILIZANDO SMS DO COGUMELO *Agaricus subrufescens*

# DEGRADATION OF PETROLEUM COMPOUNDS USING SMS FROM THE MUSHROOM *Agaricus subrufescens*[3]

**Marília Santiago de Brito de Paula**
https://orcid.org/ 0009-0002-1736-7610

**Carlos Godinho de Abreu**
https://orcid.org/0000-0001-6735-8283

**Danilo José Machado de Abreu**
https://orcid.org/0000-0002-6165-4361

**Silvia Juliana Martinez Gelvez**
https://orcid.org/0000-0002-8518-8211

**Héctor José Valério Ardon**
https://orcid.org/0000-0002-8070-5873

**Eustáquio Souza Dias**
https://orcid.org/0000-0002-3030-3825

**Resumo:** O petróleo é uma mistura complexa de compostos orgânicos constituída principalmente por hidrocarbonetos, amplamente utilizados como fonte de energia e matéria-prima para diversos processos industriais. Entretanto, derramamentos e descarte inadequado desse recurso podem causar sérios impactos ambientais, contaminando solos e corpos d'água e afetando diferentes organismos. Nesse contexto, a biorremediação tem se destacado como uma estratégia sustentável para a recuperação de áreas contaminadas, utilizando microrganismos capazes de degradar ou transformar compostos tóxicos em substâncias menos prejudiciais ao ambiente. Entre os mecanismos envolvidos nesses processos destaca-se a produção de biossurfactantes e bioemulsificantes, moléculas capazes de reduzir a tensão superficial e aumentar a biodisponibilidade de compostos hidrofóbicos, como os hidrocarbonetos presentes no petróleo. Esses compostos apresentam vantagens em relação aos surfactantes sintéticos, como menor toxicidade, maior biodegradabilidade e possibilidade de produção a partir de substratos naturais. Embora muitas bactérias sejam reconhecidas pela produção dessas moléculas, diversos fungos também apresentam potencial para sua síntese e aplicação biotecnológica. Entre eles destaca-se o basidiomiceto *Agaricus subrufescens*, amplamente conhecido por seu valor nutricional e medicinal, mas que também apresenta capacidade de produzir enzimas oxidativas e metabólitos de interesse biotecnológico. Nesse contexto, o presente estudo avaliou o potencial de degradação de hidrocarbonetos de petróleo

utilizando o substrato residual do cultivo desse fungo (Spent Mushroom Substrate – SMS). Os resultados demonstraram que o material proveniente do cultivo de *Agaricus subrufescens* apresentou capacidade de degradar compostos presentes no petróleo, indicando o potencial desse resíduo agrobiotecnológico como alternativa sustentável para aplicações em processos de biorremediação de ambientes contaminados.

Palavras-chave: petróleo; biodegradação; *Agaricus subrufescens.*

**Abstract:** Petroleum is a complex mixture of organic compounds mainly composed of hydrocarbons, widely used as an energy source and as a raw material for several industrial processes. However, spills and improper disposal of this resource can cause serious environmental impacts, contaminating soils and water bodies and affecting different organisms. In this context, bioremediation has emerged as a sustainable strategy for the recovery of contaminated areas, using microorganisms capable of degrading or transforming toxic compounds into less harmful substances for the environment. Among the mechanisms involved in these processes, the production of biosurfactants and bioemulsifiers stands out. These molecules are capable of reducing surface tension and increasing the bioavailability of hydrophobic compounds, such as the hydrocarbons present in petroleum. These compounds present advantages over synthetic surfactants, including lower toxicity, higher biodegradability, and the possibility of being produced from natural substrates. Although many bacteria are recognized for producing these molecules, several fungi also show potential for their synthesis and biotechnological application. Among them, the basidiomycete Agaricus subrufescens stands out, being widely known for its nutritional and medicinal value, but also for its ability to produce oxidative enzymes and metabolites of biotechnological interest. In this context, the present study evaluated the potential for degradation of petroleum hydrocarbons using the residual substrate from the cultivation of this fungus (Spent Mushroom Substrate – SMS). The results demonstrated that the material obtained from the cultivation of *Agaricus subrufescens* showed the ability to degrade compounds present in petroleum, indicating the potential of this agrobiotechnological residue as a sustainable alternative for applications in bioremediation processes of contaminated environments.

Keywords: petroleum; biodegradation; *Agaricus subrufescens.*

[3] Artigo científico apresentado à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Microbiologia Agrícola, área de concentração em Microbiologia Agrícola.

# 1 INTRODUÇÃO

A contaminação ambiental por hidrocarbonetos derivados do petróleo representa um dos principais problemas associados às atividades industriais modernas. Derramamentos de petróleo e vazamentos durante etapas de exploração, transporte, armazenamento e refino podem resultar na liberação de compostos tóxicos em solos e ambientes aquáticos. Esses hidrocarbonetos incluem frações alifáticas, aromáticas e hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (HPAs), muitos dos quais apresentam elevada persistência no ambiente e potencial toxicidade para organismos vivos, afetando a biodiversidade e a qualidade ambiental (HEAD; JONES; RÖLING, 2006).

Nesse contexto, estratégias sustentáveis para a recuperação de áreas contaminadas têm recebido crescente atenção. Entre essas estratégias destaca-se a biorremediação, que utiliza microrganismos ou seus metabólitos para degradar, transformar ou mineralizar contaminantes orgânicos. A biorremediação baseia-se na capacidade metabólica de diferentes microrganismos em utilizar compostos tóxicos como fonte de carbono e energia, promovendo sua conversão em substâncias menos nocivas ao ambiente. Esse processo é considerado uma alternativa promissora em comparação com métodos físico-químicos tradicionais, devido ao seu menor impacto ambiental e custo relativamente reduzido (ATLAS; HAZEN, 2011).

Diversos microrganismos apresentam potencial para degradar hidrocarbonetos de petróleo, incluindo bactérias, leveduras e fungos filamentosos. Em especial, fungos têm sido amplamente investigados devido à sua elevada capacidade de produzir enzimas extracelulares oxidativas, como lacases e peroxidases, que atuam na degradação de compostos orgânicos complexos. Esses sistemas enzimáticos permitem que diferentes espécies fúngicas degradem uma ampla variedade de poluentes orgânicos, incluindo hidrocarbonetos presentes em petróleo e diesel, sendo frequentemente utilizados em processos de micorremediação (mycoremediation) de solos contaminados (SINGH; HARBHAJAN, 2006). Além disso, estudos recentes demonstram que fungos isolados de solos contaminados podem apresentar elevada tolerância a hidrocarbonetos e capacidade significativa de reduzir a concentração de hidrocarbonetos totais em ambientes contaminados (SILVA, A. F. et al., 2021)

Entre os fungos com potencial biotecnológico destacam-se os basidiomicetos, grupo conhecido por sua capacidade de degradar compostos orgânicos complexos presentes na lignina e em outros polímeros naturais. Essa habilidade metabólica também permite que esses organismos atuem na transformação de compostos recalcitrantes presentes em poluentes ambientais. Diversas espécies pertencentes a diferentes gêneros de fungos têm demonstrado

eficiência na degradação de hidrocarbonetos, especialmente quando associadas à produção de biossurfactantes ou à interação com bactérias degradadoras, o que pode aumentar a biodisponibilidade dos contaminantes e acelerar os processos de biodegradação (SOUZA, GENYFER POLINE NERI DE et al., 2020)

Dentro desse contexto, fungos do gênero *Agaricus* têm despertado interesse em estudos biotecnológicos devido à sua capacidade de produzir enzimas extracelulares envolvidas em processos de degradação de compostos orgânicos. Esses fungos são amplamente conhecidos por sua importância econômica e nutricional, sendo utilizados tanto para consumo humano quanto para aplicações farmacêuticas e industriais. Além disso, espécies desse gênero possuem sistemas enzimáticos capazes de atuar na degradação de diferentes moléculas orgânicas complexas, o que sugere potencial aplicação em processos de biorremediação ambiental (LIMA, M. A. C. et al., 2020).

Entre essas espécies destaca-se *Agaricus subrufescens*, um basidiomiceto comestível também conhecido como cogumelo-do-sol ou *Agaricus blazei*. Esse fungo tem sido amplamente estudado devido às suas propriedades nutricionais, medicinais e biotecnológicas. Pesquisas demonstram que *A. subrufescens* é capaz de produzir enzimas oxidativas, como lacases, que apresentam atividade na degradação de compostos orgânicos complexos e poluentes ambientais. A produção dessas enzimas pode ser influenciada pelas condições de cultivo e pela composição do substrato, o que amplia as possibilidades de aplicação desse fungo em processos de biodegradação e tratamento de contaminantes orgânicos (SOUZA, GENYFER POLINE NERI DE et al., 2020).

Dessa forma, a investigação do potencial metabólico de fungos como *Agaricus subrufescens* pode contribuir para o desenvolvimento de novas abordagens biotecnológicas voltadas à degradação de hidrocarbonetos derivados do petróleo. A exploração dessas capacidades enzimáticas e metabólicas representa uma estratégia promissora para o desenvolvimento de tecnologias sustentáveis aplicadas à remediação de ambientes contaminados.

# 2 MATERIAIS E MÉTODOS

## 2.1 Teste de degradação de petróleo utilizando SMS do cogumelo *Agaricus subrufescens*

### 2.1.1 Substrato utilizado

Para a realização dos ensaios de degradação do petróleo foi utilizado o substrato pós cultivo (SMS) do cogumelo *A.subrufescens* (cultivado em substrato a base de bagaço de cana-de-açúcar e capim [coastcross, braquiária ou capim batatais] conforme descrito por Souza et al. (2014).

A umidade foi ajustada para equilibrar a porcentagem de água presente em cada substrato de cultivo de cogumelos.

### 2.1.2 Tratamentos e repetições

Os tratamentos foram feitos em triplicata em potes de vidro padronizados, cobertos com papel filtro e alumínio, com 100g de substrato. Os tratamentos foram os seguintes:

AT0 – SMS de *Agaricus subrufescens* + 20g de petróleo, tempo 0 dias
ACT0 – SMS de *Agaricus subrufescens* autoclavado + 20g de petróleo (CONTROLE), tempo 0 dias
AT30 - SMS de *Agaricus subrufescens* + 20g de petróleo, tempo 30 dias
ACT30 – SMS de *Agaricus subrufescens* autoclavado + 20g de petróleo (CONTROLE), tempo 30 dias
AT60 – SMS de *Agaricus subrufescens* + 20g de petróleo, tempo 60 dias
ACT60 – SMS de *Agaricus subrufescens* autoclavado + 20g de petróleo (CONTROLE), tempo 60 dias
AT90 – SMS de *Agaricus subrufescens* + 20g de petróleo, tempo 90 dias
ACT90 – SMS de *Agaricus subrufescens* autoclavado + 20g de petróleo (CONTROLE), tempo 90 dias

Posteriormente foram coletadas amostras de 2g nos tempos de 0, 30, 60 e 90 dias para a análise de degradação de hidrocarbonetos por cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas (GC-MS) nos tempos de 0, 30, 60 e 90 dias a fim de se avaliar a degradação final dos hidrocarbonetos do petróleo analisando a fração aromática e alifática da mistura SMS + Petróleo em diferentes tempos de degradação

### 2.1.3 Análises de biodegradabilidade dos hidrocarbonetos presentes no resíduo de petróleo bruto por gc-ms (cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas gc-ms)

Para determinar alguns dos componentes presentes nas amostras de petróleo bruto e das amostras que sofreram degradação, foram realizadas análises cromatográficas em cromatógrafo gasoso acoplado ao espectrômetro de massas (GC-MS).

As amostras do conteúdo de SMS e resíduos de petróleo foram maceradas com nitrogênio líquido para extração por headspace. Dois gramas de SMS com o petróleo foram colocados em frascos de 15 ml hermeticamente fechados e aquecidos durante 15 minutos à 60ºC para atingir o equilíbrio do headspace da amostra. A adsorção dos compostos voláteis na fibra foi feita através da inserção do SPME no topo do frasco durante 30 minutos a 60ºC. Para adsorção do composto, a fibra foi colocada na porta de injeção do cromatógrafo aquecido a 230°C durante 2 minutos. A fibra de SPME a ser utilizada foi a de carboxen/poli (dimetilsiloxano) (DVB/CAR/PDMS) de 75mm (Supelco Co., Bellefonte, PA, EUA).

A análise de compostos voláteis das amostras foi realizada utilizando um cromatógrafo de fase gasosa (CG) acoplado a um espectrômetro de massa modelo QP-2010 SE e uma coluna capilar de sílica RTX-5MS. O programa de temperaturas se iniciou com 50°C por 2min, seguido por um gradiente de 40 ° C a 200 ° C a 10 ° C / min; A temperatura foi então mantida a 250°C por 8min. As temperaturas do injector e do detector foram mantidas a 250 ° C. O gás transportador (He) foi usado a uma taxa de fluxo de 1,2 mL / min. Os compostos voláteis foram identificados por comparação dos espectros de massa e índice de retenção de alcanos e com o banco de dados da Shimadzu.

# 3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

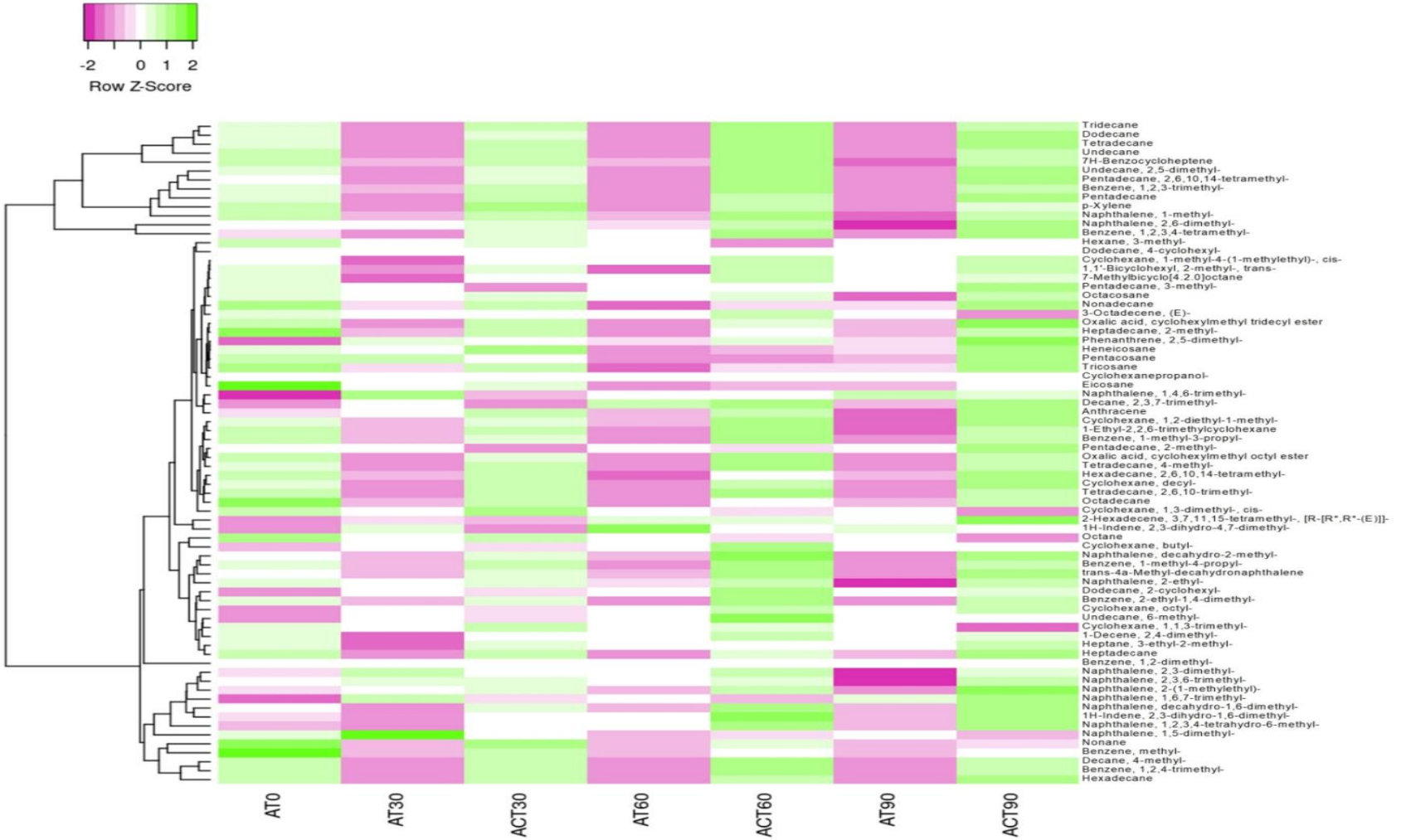
## 3.1 Resultados da análise de biodegradabilidade dos hidrocarbonetos presentes no resíduo de petróleo bruto feito por gc-ms em *Agaricus subrufescens*

Para *A. subrufesens* foram encontrados no total 74 hidrocarbonetos que se repetiram nos controles e durante os tempos desde o momento da mistura do SMS com o petróleo que se deu no AT0, até o findar do experimento com 90 dias (AT90) como mostra a Figura 01.

Desses 74 hidrocarbonetos, 18 foram completamente degradados durante os tempos, porém, todos esses apresentaram baixa concentração variando entre 0,16 e 1,4 como mostra a Tabela 1.

De maneira geral, o fungo apresentou capacidade de degradação em quase todos os constituintes, com exceção de Benzene, 1,2,4,5-tetramethyl e Naphthalene que aumentaram sua concentração significativamente e foram os compostos mais abundantes ao longo do tempo assim como para *C. calospora.* Porém diferente do que foi observado para *C. calospora*, o fungo *A. subrufesens* apresentou capacidade de degradação de todas as outras formas de Naphtalenos encontrados na amostra.

Figura 01 – Perfil de degradação dos constituintes do petróleo por *A. subrufescens* obtidos através da cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massa




Fonte: Da autora (2026)

Tabela 1 – Compostos voláteis (%) determinados por GC-MS em SMS de *Agaricus subrufesens* com 20% de petróleo

(Continua)

| Nº | Class | Volatile compounds | AT0 | | AT30 | | AT60 | | AT90 | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | Alkanes | | Sample | Control | Sample | Control | Sample | Control | Sample | Control |
| **1** | | 1,1'-Bicyclohexyl, 2-methyl-, trans- | 0,21 | 0,21 | 0,15 | 0,20 | 0,01 | 0,22 | ND | 0,22 |
| **2** | | 1-Decene, 2,4-dimethyl- | 1,19 | 1,19 | 0,17 | 1,03 | 0,00 | 1,17 | ND | 1,10 |
| **3** | | 1-Ethyl-2,2,6-trimethylcyclohexane | 0,48 | 0,48 | 0,67 | 0,51 | 0,49 | 0,51 | 0,26 | 0,44 |
| **4** | | 1H-Indene, 2,3-dihydro-1,6-dimethyl- | 1,00 | 1,00 | 2,79 | 1,11 | 4,05 | 1,28 | 5,14 | 1,31 |
| **5** | | 1H-Indene, 2,3-dihydro-4,7-dimethyl- | 0,34 | 0,34 | 2,71 | 0,37 | 4,33 | 0,56 | 4,59 | 0,62 |
| **6** | | 2-Hexadecene, 3,7,11,15-tetramethyl-, [R-[R*,R*-(E)]]- | 0,38 | 0,38 | 1,62 | 0,41 | 2,34 | 0,55 | 3,14 | 0,74 |
| **7** | | 3-Octadecene, (E)- | 0,24 | 0,24 | ND | ND | ND | 0,21 | ND | 0,16 |
| **8** | | 7H-Benzocycloheptene | 6,06 | 6,06 | 6,39 | 5,74 | 6,13 | 5,87 | 2,65 | 5,67 |
| **9** | | 7-Methylbicyclo[4.2.0]octane | 0,23 | 0,23 | 0,04 | 0,21 | ND | 0,24 | ND | 0,23 |
| **10** | | Anthracene | 0,20 | 0,20 | 0,71 | 0,25 | 0,67 | 0,21 | 0,75 | 0,25 |
| **11** | | Benzene, 1,2,3,4-tetramethyl- | 4,65 | 4,65 | 12,27 | 5,17 | 17,22 | 5,51 | 19,10 | 5,80 |
| **12** | | Benzene, 1,2,3-trimethyl- | 2,75 | 2,75 | 2,41 | 3,06 | 0,81 | 3,06 | 0,33 | 3,07 |
| **13** | | Benzene, 1,2,4-trimethyl- | 1,74 | 1,74 | 0,29 | 1,89 | 0,05 | 1,78 | 0,12 | 1,62 |
| **14** | | Benzene, 1,2-dimethyl- | 2,93 | 2,93 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 |
| **15** | | Benzene, 1-methyl-3-propyl- | 0,62 | 0,62 | 0,73 | 0,55 | 0,36 | 0,63 | 0,12 | 0,57 |
| **16** | | Benzene, 1-methyl-4-propyl- | 0,88 | 0,88 | 1,00 | 0,98 | 0,61 | 1,03 | 0,19 | 0,99 |
| **17** | | Benzene, 2-ethyl-1,4-dimethyl- | 1,04 | 1,04 | 0,88 | 1,10 | 0,79 | 1,29 | 0,77 | 1,24 |
| **18** | | Benzene, methyl- | 2,57 | 2,57 | 0,14 | 1,37 | 0,10 | 0,68 | 0,23 | 0,61 |
| **19** | | Cyclohexane, 1,1,3-trimethyl- | 1,16 | 1,16 | ND | 1,19 | ND | 1,00 | ND | 0,90 |
| **20** | | Cyclohexane, 1,2-diethyl-1-methyl- | 0,46 | 0,46 | 0,80 | 0,49 | 0,70 | 0,53 | 0,47 | 0,54 |
| **21** | | Cyclohexane, 1,3-dimethyl-, cis- | 0,73 | 0,73 | ND | 0,78 | ND | 0,45 | ND | 0,36 |
| **22** | | Cyclohexane, 1-methyl-4-(1-methylethyl)-, cis- | 0,21 | 0,21 | 0,16 | 0,20 | ND | 0,23 | ND | 0,24 |
| **23** | | Cyclohexane, butyl- | 0,98 | 0,98 | ND | 0,97 | ND | 1,09 | ND | ND |
| **24** | | Cyclohexane, decyl- | 0,32 | 0,32 | 0,13 | 0,32 | 0,08 | 0,28 | 0,22 | 0,41 |
| **25** | | Cyclohexane, octyl- | 0,67 | 0,67 | ND | 0,86 | ND | 1,15 | ND | 1,24 |
| **26** | | Cyclohexanepropanol- | 0,16 | 0,16 | ND | ND | ND | ND | ND | ND |
| **27** | | Decane, 2,3,7-trimethyl- | 0,16 | 0,16 | 0,85 | 0,17 | 1,22 | 0,34 | 1,07 | 0,35 |
| **28** | | Decane, 4-methyl- | 1,69 | 1,69 | 0,04 | 1,65 | 0,01 | 1,58 | 0,03 | 1,35 |

Tabela 1 – Compostos voláteis (%) determinados por GC-MS em SMS de *Agaricus subrufesens* com 20% de petróleo

(Continua)

| Nº | Class | Volatile compounds | AT0 | | AT30 | | AT60 | | AT90 | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | Alkanes | | Sample | Control | Sample | Control | Sample | Control | Sample | Control |
| **29** | | **Dodecane** | **4,44** | **4,44** | **0,29** | **5,01** | **0,25** | **5,95** | **0,60** | **5,76** |
| **30** | | Dodecane, 2-cyclohexyl- | 0,96 | 0,96 | ND | 1,17 | ND | 1,41 | ND | 1,28 |
| **31** | | Dodecane, 4-cyclohexyl- | 0,67 | 0,67 | ND | ND | ND | ND | ND | ND |
| **32** | | Eicosane | 0,16 | 0,16 | 0,25 | 0,10 | 0,11 | 0,04 | 0,27 | 0,08 |
| **33** | | Heneicosane | 0,03 | 0,03 | 0,08 | 0,03 | 0,05 | 0,01 | 0,11 | 0,03 |
| **34** | | Heptadecane | 1,18 | 1,18 | 0,39 | 1,11 | 0,25 | 0,84 | 1,05 | 1,25 |
| **35** | | Heptadecane, 2-methyl- | 0,10 | 0,10 | 0,03 | 0,07 | 0,01 | 0,04 | 0,07 | 0,07 |
| **36** | | Heptane, 3-ethyl-2-methyl- | 1,07 | 1,07 | 0,41 | 1,09 | ND | 0,87 | ND | 1,21 |
| **37** | | Hexadecane | 2,10 | 2,10 | 0,44 | 2,15 | 0,31 | 1,87 | 0,94 | 2,43 |
| **38** | | Hexadecane, 2,6,10,14-tetramethyl- | 0,38 | 0,38 | 0,38 | 0,35 | 0,12 | 0,20 | 0,74 | 0,37 |
| **39** | | Hexane, 3-methyl- | 0,59 | 0,59 | ND | 0,55 | ND | 0,10 | ND | ND |
| **40** | | Naphthalene, 1,2,3,4-tetrahydro-6-methyl- | 1,56 | 1,56 | 4,58 | 1,68 | 6,42 | 1,86 | 8,28 | 1,96 |
| **41** | | Naphthalene, 1,4,6-trimethyl- | 0,22 | 0,22 | 1,22 | 0,27 | 1,13 | 0,25 | 1,89 | 0,30 |
| **42** | | Naphthalene, 1,5-dimethyl- | 2,02 | 2,02 | 9,47 | 1,73 | 4,69 | 1,44 | ND | 1,19 |
| **43** | | Naphthalene, 1,6,7-trimethyl- | 0,85 | 0,85 | 4,27 | 1,04 | 4,15 | 0,81 | 6,76 | 1,23 |
| **44** | | Naphthalene, 1-methyl- | 3,60 | 3,60 | 5,42 | 3,54 | 5,65 | 3,53 | 1,00 | 3,38 |
| **45** | | Naphthalene, 2-(1-methylethyl)- | 1,17 | 1,17 | 4,18 | 1,36 | 3,86 | 1,34 | 5,02 | 1,60 |
| **46** | | Naphthalene, 2,3,6-trimethyl- | 1,20 | 1,20 | 4,56 | 1,33 | 4,73 | 1,23 | 3,16 | 1,38 |
| **47** | | Naphthalene, 2,3-dimethyl- | 1,31 | 1,31 | 5,14 | 1,37 | 4,92 | 1,36 | 4,78 | 1,33 |
| **48** | | Naphthalene, 2,6-dimethyl- | 3,98 | 3,98 | 12,76 | 4,27 | 12,18 | 4,25 | 10,77 | 4,66 |
| **49** | | Naphthalene, 2-ethyl- | 0,80 | 0,80 | 2,55 | 0,85 | 2,29 | 0,80 | 1,29 | 0,84 |
| **50** | | Naphthalene, decahydro-1,6-dimethyl- | 0,89 | 0,89 | 1,71 | 1,05 | 2,39 | 1,26 | 3,27 | 1,31 |
| **51** | | Nap48hthalene, decahydro-2-methyl- | 0,71 | 0,71 | 1,05 | 0,78 | 1,42 | 1,06 | 1,39 | 0,96 |
| **52** | | Nonadecane | 0,21 | 0,21 | 0,33 | 0,19 | 0,14 | 0,09 | 0,55 | 0,18 |
| **53** | | Nonane | 3,19 | 3,19 | 0,04 | 2,82 | 0,06 | 1,28 | 0,11 | 0,78 |
| **54** | | Octacosane | 0,20 | 0,20 | 0,00 | 0,21 | ND | 0,16 | 0,10 | 0,21 |
| **55** | | Octadecane | 0,57 | 0,57 | 0,42 | 0,42 | 0,18 | 0,24 | 0,78 | 0,43 |
| **56** | | Octane | 1,42 | 1,42 | ND | 1,20 | ND | 0,56 | ND | 0,31 |
| **57** | | Oxalic acid, cyclohexylmethyl octyl ester | 0,52 | 0,52 | 0,13 | 0,41 | 0,09 | 0,51 | 0,05 | 0,52 |

Tabela 1 – Compostos voláteis (%) determinados por GC-MS em SMS de *Agaricus subrufesens* com 20% de petróleo

(Conclusão)

| Nº | Class | Volatile compounds | AT0 | | AT30 | | AT60 | | AT90 | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | Alkanes | | Sample | Control | Sample | Control | Sample | Control | Sample | Control |
| **58** | | Oxalic acid, cyclohexylmethyl tridecyl ester | 0,02 | 0,02 | 0,05 | 0,01 | 0,03 | 0,01 | 0,06 | 0,02 |
| **60** | | Pentadecane | 3,53 | 3,53 | 0,40 | 3,90 | 0,26 | 3,65 | 0,78 | 4,22 |
| **61** | | Pentadecane, 2,6,10,14-tetramethyl- | 2,27 | 2,27 | 0,61 | 2,65 | 0,74 | 3,45 | 1,16 | 3,67 |
| **62** | | Pentadecane, 2-methyl- | 0,51 | 0,51 | ND | 0,42 | ND | 0,41 | ND | 0,56 |
| **63** | | Pentadecane, 3-methyl- | 0,25 | 0,25 | ND | 0,17 | ND | 0,20 | ND | 0,26 |
| **64** | | Phenanthrene, 2,5-dimethyl- | 0,02 | 0,02 | 0,09 | 0,03 | 0,09 | 0,02 | 0,14 | 0,03 |
| **65** | | p-Xylene | 3,01 | 3,01 | 0,15 | 3,47 | 0,11 | 2,62 | 0,30 | 2,28 |
| **66** | | Tetradecane | 4,54 | 4,54 | 1,14 | 5,50 | 0,84 | 5,98 | 1,34 | 6,19 |
| **67** | | Tetradecane, 2,6,10-trimethyl- | 0,40 | 0,40 | 0,18 | 0,42 | 0,22 | 0,41 | 0,30 | 0,39 |
| **68** | | Tetradecane, 4-methyl- | 0,48 | 0,48 | 0,12 | 0,55 | 0,16 | 0,58 | 0,22 | 0,53 |
| **69** | | trans-4a-Methyl-decahydronaphthalene | 0,58 | 0,58 | 1,17 | 0,66 | 1,34 | 0,77 | 1,40 | 0,80 |
| **70** | | Tricosane | 0,05 | 0,05 | 0,09 | 0,05 | 0,03 | 0,02 | 0,18 | 0,05 |
| **71** | | Tridecane | 4,76 | 4,76 | 0,51 | 5,33 | 0,43 | 5,99 | 0,81 | 5,76 |
| **72** | | Undecane | 5,67 | 5,67 | 0,17 | 5,86 | 0,14 | 6,06 | 0,62 | 5,16 |
| **73** | | Undecane, 2,5-dimethyl- | 2,73 | 2,73 | 0,22 | 3,14 | 0,21 | 3,85 | 0,33 | 3,96 |
| **74** | | Undecane, 6-methyl- | 0,94 | 0,94 | 0,00 | 1,03 | ND | 1,09 | ND | 0,96 |

Fonte: Da autora (2026)

Os resultados obtidos neste estudo demonstram que o fungo *Agaricus subrufescens* apresentou potencial para degradar hidrocarbonetos derivados do petróleo, evidenciado pela redução na abundância relativa de diversos compostos ao longo do período experimental. A análise por cromatografia gasosa, representada pelo mapa de calor, mostrou diminuição progressiva de hidrocarbonetos lineares, ramificados e aromáticos nas amostras inoculadas com o fungo, principalmente nos tempos mais prolongados de incubação. Esse comportamento sugere que o metabolismo do microrganismo contribuiu para a transformação ou mineralização parcial desses compostos.

Diversos fungos têm demonstrado capacidade de biodegradar hidrocarbonetos aromáticos de baixo peso molecular, como o naftaleno. Por exemplo, *Phanerochaete chrysosporium* foi relatado por degradar naftaleno em solo por meio de atividades enzimáticas específicas, evidenciando o potencial de fungos na biorremediação de ambientes contaminados por HAPs (MOLLEA et al., 2005).

A capacidade de fungos em degradar hidrocarbonetos, especialmente compostos aromáticos policíclicos (PAHs), tem sido amplamente associada à produção de enzimas ligninolíticas extracelulares, como lacases e peroxidases. Essas enzimas apresentam baixa especificidade de substrato, permitindo a oxidação de diversos poluentes orgânicos persistentes. Estudos demonstram que essas enzimas atuam no ataque inicial das moléculas aromáticas, gerando metabólitos intermediários que posteriormente são incorporados ao metabolismo celular (POZDNYAKOVA, et al., 2018). Esse mecanismo pode explicar a redução observada em compostos aromáticos identificados neste trabalho, incluindo derivados do naftaleno e outros hidrocarbonetos complexos, os quais são reconhecidamente recalcitrantes no ambiente.

Embora existam poucos estudos específicos envolvendo *Agaricus subrufescens* na biodegradação de hidrocarbonetos, pesquisas realizadas com outras espécies do mesmo gênero corroboram os resultados encontrados neste estudo. Embora o fungo Agaricus subrufescens seja amplamente estudado por suas propriedades nutricionais, medicinais e pela produção de metabólitos bioativos, ainda existem poucos trabalhos demonstrando diretamente sua participação na degradação de hidrocarbonetos derivados do petróleo. A maioria das evidências disponíveis está relacionada ao seu potencial enzimático para transformação de compostos orgânicos complexos. Estudos mostram que esse fungo é capaz de produzir enzimas oxidativas extracelulares, como lacases, que apresentam baixa especificidade de substrato e podem oxidar compostos aromáticos recalcitrantes. Por exemplo, foi demonstrado que lacases produzidas por *A. subrufescens* conseguem promover a degradação ou

descoloração de corantes sintéticos aromáticos, indicando atividade oxidativa compatível com processos de transformação de poluentes orgânicos persistentes (COLAUTO et al., 2020).

Além disso, há evidências de que o fungo *A. subrufescens* pode atuar na transformação de xenobióticos em solos agrícolas, como observado em estudos que reportaram degradação significativa de pesticidas durante o crescimento micelial (MOYA-RAMOS et al., 2022). Embora esses compostos não sejam hidrocarbonetos de petróleo, os resultados sugerem que o metabolismo oxidativo de *A. subrufescens* possui potencial para participar da transformação de moléculas hidrofóbicas complexas. Adicionalmente, pesquisas envolvendo outras espécies do gênero Agaricus, como *Agaricus campestris*, demonstraram capacidade de degradar hidrocarbonetos presentes em óleo de motor em condições laboratoriais (ADEBOWALE et al., 2014). Dessa forma, apesar da escassez de estudos específicos com *A. subrufescens* na degradação direta de hidrocarbonetos, a produção de enzimas oxidativas e evidências obtidas em espécies relacionadas indicam que esse fungo pode apresentar potencial para aplicação em processos de biorremediação de contaminantes orgânicos.

Alguns fungos basidiomicetos possuem potencial para participar da degradação de hidrocarbonetos, principalmente devido à produção de enzimas oxidativas extracelulares envolvidas na degradação de lignina. Embora o gênero *Agaricus* seja mais conhecido por seu uso alimentício e medicinal, estudos sugerem que algumas espécies também podem atuar na transformação de compostos derivados do petróleo. Por exemplo, pesquisas demonstraram que o fungo *Agaricus campestris* é capaz de utilizar óleo de motor como fonte de carbono em condições laboratoriais, apresentando elevada eficiência na remoção de hidrocarbonetos totais durante o processo de biodegradação (ADEBOWALE et al., 2014). Esse comportamento está relacionado à produção de enzimas oxidativas, como lacases e peroxidases, que apresentam baixa especificidade de substrato e podem oxidar diferentes compostos aromáticos e hidrocarbonetos presentes em contaminantes orgânicos (HARMS; SCHLOSSER; WICK, 2011).

Além disso, estudos envolvendo o composto residual do cultivo de cogumelos, especialmente o substrato colonizado por *Agaricus bisporus*, demonstraram capacidade de promover a degradação de hidrocarbonetos aromáticos policíclicos (PAHs) em solos contaminados. Esses efeitos são atribuídos tanto à atividade enzimática do micélio quanto à microbiota associada ao substrato fúngico, que pode contribuir para processos de biodegradação (GĄSECKA et al., 2012). Embora existam poucos trabalhos específicos avaliando diretamente a degradação de hidrocarbonetos por *Agaricus subrufescens*, a

proximidade filogenética com outras espécies do gênero e a capacidade conhecida de produzir enzimas ligninolíticas sugerem que esse fungo também pode apresentar potencial para participar de processos de biorremediação e transformação de hidrocarbonetos em ambientes contaminados (VARJANI; UPASANI, 2016).

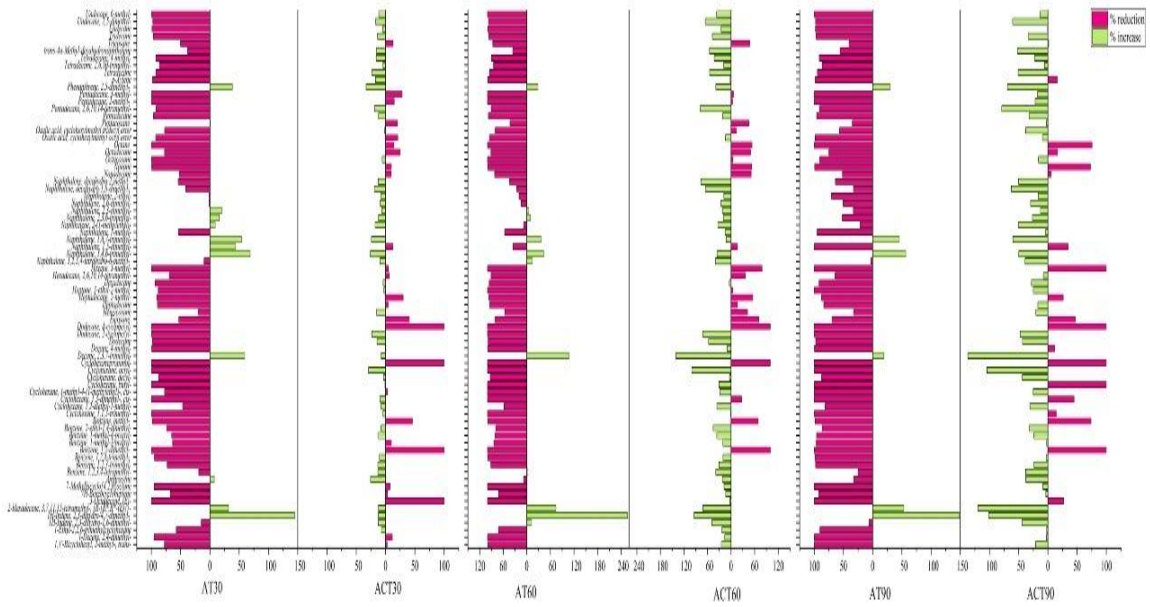
O fungo *Agaricus bisporus*, por exemplo, já foi descrito por sua capacidade de degradar hidrocarbonetos aromáticos, como fenantreno e antraceno, utilizando vias metabólicas associadas a enzimas oxidativas. Esses processos resultam na formação de quinonas intermediárias e posterior metabolização dos compostos, evidenciando a capacidade degradadora do gênero (POZDNYAKOVA, et al., 2018).

Esses resultados reforçam que espécies do gênero *Agaricus* apresentam potencial relevante na biorremediação ambiental, sugerindo que o comportamento observado em *Agaricus subrufescens* pode estar associado a mecanismos metabólicos semelhantes.

Fungos degradadores de madeira são considerados os organismos mais eficientes na degradação de hidrocarbonetos e compostos aromáticos persistentes. Trabalhos mostram que espécies como *Ganoderma lucidum* podem degradar mais de 99% de determinados PAHs, associando essa capacidade à intensa produção de enzimas ligninolíticas (PANDEY & GUPTE, 2018). Da mesma forma, pesquisas envolvendo diferentes fungos degradadores demonstram que a combinação de enzimas oxidativas e sistemas intracelulares, como citocromos P450, contribui para a biotransformação desses poluentes.

A Figura 02 representa o percentual de redução (rosa) e aumento (verde) dos compostos químicos identificados por cromatografia gasosa nas amostras tratadas com o fungo *Agaricus subrufescens* e nos controles sem fungo. AT30, AT60 e AT90 correspondem às amostras inoculadas com o fungo após 30, 60 e 90 dias, respectivamente, enquanto ACT30, ACT60 e ACT90 representam os respectivos controles experimentais sem inoculação fúngica. A variação percentual foi calculada em relação ao tempo inicial (AT0). Os resultados demonstram alterações no perfil químico dos hidrocarbonetos ao longo do experimento, evidenciando padrões distintos entre os tratamentos e controle.

Figura 02 – Variação percentual na abundância relativa de hidrocarbonetos derivados do petróleo ao longo do tempo de incubação




Fonte: Da autora (2026)

O gráfico demonstra que a presença do fungo promove alterações significativas no perfil químico dos hidrocarbonetos, indicando atividade biodegradadora. A redução progressiva ao longo do tempo sugere adaptação metabólica do microrganismo e possível indução enzimática. A formação de compostos com aumento relativo pode estar associada à geração de produtos intermediários durante a degradação. As barras rosas mostram que a quantidade dos compostos diminuiu, indicando degradação. Observamos que quanto maior o tempo de contato com o fungo, maior foi à redução. Nos controles sem fungo, essa redução foi muito menor, mostrando que o fungo teve papel importante na biodegradação dos hidrocarbonetos.

Nos cultivos de cogumelos do gênero *Agaricus,* incluindo *Agaricus subrufescens* e *Agaricus bisporus*, o substrato de cultivo — frequentemente composto por resíduos lignocelulósicos como bagaço de cana-de-açúcar, palhas e esterco — e a camada de cobertura (casing layer) constituem um microambiente biologicamente ativo, rico em microrganismos. Diversos estudos demonstram que essa camada abriga uma microbiota complexa composta principalmente por bactérias e actinobactérias, sendo frequentemente relatados gêneros como *Pseudomonas, Bacillus, Paenibacillus, Flavobacterium, Sphingomonas e Streptomyces*

(NOBLE; DOBROVIN-PENNINGTON, 2005; FIRTH et al., 2011). Essas comunidades microbianas desempenham papel importante no desenvolvimento do micélio e na indução da frutificação dos cogumelos, além de participarem da decomposição de compostos orgânicos presentes no substrato.

Muitos dos microrganismos presentes nesse sistema também apresentam capacidade metabólica para degradar compostos orgânicos complexos, incluindo hidrocarbonetos. Bactérias dos gêneros *Pseudomonas*, *Bacillus* e *Sphingomonas*, isoladas de substratos de cultivo de *Agaricus*, são reconhecidas por sua capacidade de degradar hidrocarbonetos alifáticos e aromáticos presentes em derivados de petróleo, por meio da produção de enzimas oxidativas como monooxigenases de alcanos e dioxygenases (DAS; CHANDRAN, 2011; HEAD; JONES; RÖLING, 2006). Dessa forma, a microbiota presente no substrato e na camada de cobertura pode contribuir para processos de transformação e mineralização de compostos hidrofóbicos no ambiente de cultivo.

Além disso, a interação entre o micélio fúngico e as bactérias associadas pode gerar processos metabólicos sinérgicos. Enquanto o fungo produz enzimas extracelulares oxidativas, como lacases e peroxidases, capazes de oxidar compostos orgânicos complexos, as bactérias associadas podem metabolizar os intermediários gerados durante essas reações. Esse tipo de cooperação metabólica entre fungos e bactérias é frequentemente observado em sistemas naturais de decomposição e tem sido descrito como um mecanismo importante em processos de biorremediação e degradação de contaminantes orgânicos persistentes (HARMS; SCHLOSSER; WICK, 2011).

# 4 CONCLUSÃO

Os resultados da análise cromatográfica de *Agaricus subrufescens* sugerem que o fungo apresenta capacidade significativa de degradar hidrocarbonetos derivados do petróleo, comportamento semelhante ao observado em outras espécies do gênero e em fungos ligninolíticos amplamente estudados. Dessa forma, o fungo representa um microrganismo promissor para aplicação em estratégias sustentáveis de biorremediação ambiental.

Os resultados demonstram que *Agaricus subrufescens* demonstrou atividade degradadora progressiva ao longo do tempo, possivelmente relacionada ao crescimento micelial favorecido pelo bagaço de cana e pela presença da camada de cobertura. Esses resultados sugerem que fatores como substrato de cultivo e características metabólicas específicas influenciam diretamente a eficiência da biodegradação fúngica.

O uso do mesmo petróleo como contaminante experimental indica que as diferenças observadas na degradação dos hidrocarbonetos estão associadas principalmente às características metabólicas dos fungos e às condições de cultivo. O substrato pode atuar como modulador da atividade enzimática e da biodisponibilidade dos compostos, influenciando diretamente a eficiência da biodegradação. Além disso, diferenças nas vias metabólicas utilizadas pelos fungos podem resultar em padrões distintos de transformação dos hidrocarbonetos, mesmo quando expostos ao mesmo contaminante.

# REFERÊNCIAS

ADEBOWALE, A. et al. **Biodegradation of engine oil by *Agaricus campestris*.** Journal of Bioremediation & Biodegradation, v. 5, p. 262, 2014.

AGRAWAL, T., & SHAHI, S. K. (2017). **Biodegradation of polycyclic aromatic hydrocarbons by ligninolytic fungi: Mechanisms and applications.** Egyptian Journal of Basic and Applied Sciences, 4(3), 196–205.

ATLAS, Ronald M.; HAZEN, Terry C. **Oil biodegradation and bioremediation: a tale of the two worst spills in U.S. history**. Environmental Science & Technology, Washington, v. 45, n. 16, p. 6709–6715, 2011.

COLAUTO, N. B. et al. **Laccase of *Agaricus subrufescens* cultivated with sugarcane molasses promotes the decolorization of synthetic dyes.** Research, Society and Development, v. 9, n. 9, 2020.

DAS, N.; CHANDRAN, P. **Microbial degradation of petroleum hydrocarbon contaminants: an overview.** Biotechnology Research International, v. 2011, p. 1-13, 2011.

FIRTH, A. et al. **Bacterial populations associated with the casing layer during the cultivation of *Agaricus bisporus*.** Applied Microbiology and Biotechnology, v. 89, p. 1179-1189, 2011.

GĄSECKA, M. et al. **Degradation of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) by spent mushroom substrates of *Agaricus bisporus* and *Lentinula edodes*.** Acta Scientiarum Polonorum Hortorum Cultus, v. 11, n. 6, p. 39-47, 2012.

HARMS, H.; SCHLOSSER, D.; WICK, L. Y. **Untapped potential: exploiting fungi in bioremediation of hazardous chemicals.** Nature Reviews Microbiology, v. 9, p. 177-192, 2011.

HEAD, Ian M.; JONES, David M.; RÖLING, Wilfred F. M. **Marine microorganisms make a meal of oil.** Nature Reviews Microbiology, London, v. 4, n. 3, p. 173–182, 2006.

LIMA, M. A. C. et al. **Enzymatic activity and biotechnological potential of the mushroom *Agaricus subrufescens*.** Research, Society and Development, v. 9, n. 9, e109429967, 2020.

MOYA-RAMOS, I. et al. **The use of *Agaricus subrufescens* for rehabilitation of agricultural soils.** Agronomy, v. 12, n. 9, 2034, 2022.

MOLLEA, C.; BOSCO, F.; RUGGERI, B. **Fungal biodegradation of naphthalene: microcosm studies.** Chemosphere, Oxford, v. 60, n. 5, p. 636–643, 2005.

NOBLE, R.; DOBROVIN-PENNINGTON, A. **Microbial populations in mushroom casing soils and their role in mushroom production.** Scientia Horticulturae, v. 107, p. 109-116, 2005

PANDEY, P., & GUPTE, A. **Biodegradation of petroleum hydrocarbons by fungi.** International Journal of Environmental Bioremediation & Biodegradation, 6(2), 47–60, 2018.

POZDNYAKOVA, N. N., NIKIFOROVA, S. V., TURKOVSKAYA, O. V., & MAKAROV, O. E. **Degradation of polycyclic aromatic hydrocarbons by *Agaricus bisporus* and *Pleurotus ostreatus*.** International Biodeterioration & Biodegradation, 131, 52–59, 2018.

RON, E. Z.; ROSENBERG, E. **Biosurfactants and oil bioremediation.** Current Opinion in Biotachnology 13: 249-252. 2002.

SINGH, Harbhajan. **Mycoremediation: fungal bioremediation.** Hoboken: John Wiley & Sons, 2006.

SILVA, A. F. et al. **Fungal biosurfactants: from nature to biotechnological product – bioprospection, production and potential applications.** Bioprocess and Biosystems Engineering, Berlin, v. 44, p. 2003–2034, 2021.

SOUZA, T. P. et al. **Analysis of thermophilic fungal populations during phase II of composting for the cultivation of *Agaricus subrufescens*.** World Journal of Microbiology and Biotechnology**,** Dordrecht, v. 30, n. 9, p. 2419–2426, 2014.

SOUZA, Genyfer Poline Neri de et al. **Laccase of** *Agaricus subrufescens* **cultivated with sugarcane molasses promotes the decolorization of synthetic dyes.** Research, Society and Development, v. 9, n. 12, p. e12391210942, 2020.

VARJANI, S. J.; UPASANI, V. N. **Bioremediation of petroleum hydrocarbons contaminated soil using fungi: a review.** Journal of Environmental Health Science and Engineering, v. 14, p. 1-12, 2016.

# TERCEIRA PARTE

## CONSIDERAÇÕES FINAIS

De forma integrada, os resultados demonstram que fungos basidiomicetos e seus substratos pós-cultivo constituem ferramentas promissoras para a biorremediação de contaminantes derivados do petróleo. Além da capacidade de degradação de hidrocarbonetos, esses organismos apresentam potencial para produção de biossurfactantes capazes de aumentar a biodisponibilidade dos poluentes, favorecendo os processos biodegradativos. Dessa forma, a combinação entre produção de bioemulsificantes, atividade enzimática extracelular e aproveitamento de resíduos agroindustriais configura uma estratégia inovadora, sustentável e alinhada às demandas atuais por tecnologias ambientais de baixo impacto.

Os resultados obtidos abrem perspectivas para estudos futuros envolvendo a caracterização química dos biossurfactantes produzidos, a identificação das enzimas responsáveis pelos processos degradativos, a investigação dos mecanismos moleculares envolvidos na biodegradação dos hidrocarbonetos e a validação dessas tecnologias em condições de campo. Tais avanços poderão consolidar a utilização de fungos basidiomicetos e de seus resíduos de cultivo como importantes agentes biotecnológicos para recuperação de áreas impactadas por derivados do petróleo.

Por fim, degradação observada para grande parte dos compostos identificados reforça o potencial dos resíduos da cadeia produtiva de cogumelos como materiais biologicamente ativos para tratamento de ambientes contaminados. Os resultados obtidos indicam que o aproveitamento desses resíduos pode representar uma alternativa de baixo custo e elevada sustentabilidade para programas de recuperação ambiental.