INDICADOR BIOLÓGICO DE BIODEGRADABILIDADE E QUALIDADE DA ÁGUA EM ENSAIOS SÓLIDOS E AQUOSOS

João Vitor Isidoro dos Santos[1]; Vânia Nascimento Tenório Silva[2]; Ana Stephany da Silva Duarte[3];

RESUMO – A biodegradação da matéria orgânica influencia a dinâmica dos ecossistemas aquáticos e a qualidade da água. Este estudo avaliou o potencial do crescimento de Aspergillus sp. como indicador biológico da biodegradabilidade de um polímero derivado de amido de batata (Solanum tuberosum) obtido por hidrólise ácida com HCl, em condições simuladas de meio sólido e aquoso. Os ensaios foram conduzidos em laboratório durante 21 dias, monitorando-se o crescimento fúngico e parâmetros físico-químicos da água. Em meio sólido, o tratamento com substrato atingiu 97% de colonização, enquanto o grupo Padrão apresentou 72%. Em meio aquoso, observou-se redução do pH e do oxigênio dissolvido, acompanhada pelo aumento da turbidez, dos sólidos dissolvidos totais e da biomassa aparente, indicando atividade metabólica compatível com processos de biodegradação. Os resultados demonstram o potencial de Aspergillus sp. como indicador biológico indireto em estudos de biodegradabilidade e monitoramento ambiental sob condições controladas.

Palavras-Chave – *Aspergillus sp.;* Biodegrabilidade; Indicador biológico;

ABSTRACT– The biodegradation of organic matter influences aquatic ecosystem dynamics and water quality. This study evaluated the potential of Aspergillus sp. growth as a biological indicator of the biodegradability of a potato starch (Solanum tuberosum)-derived polymer obtained by acid hydrolysis with HCl under simulated solid and aqueous conditions. Laboratory assays were conducted over 21 days, monitoring fungal growth and water physicochemical parameters. In solid medium, the substrate treatment reached 97% colonization, whereas the control group reached 72%. In aqueous medium, decreases in pH and dissolved oxygen were accompanied by increases in turbidity, total dissolved solids, and apparent biomass, indicating metabolic activity compatible with biodegradation processes. The results demonstrate the potential of Aspergillus sp. as an indirect biological indicator for biodegradability studies and environmental monitoring under controlled conditions.

Keywords – *Aspergillus sp.*; Biodegradability; Biological indicator;

1. INTRODUÇÃO

A decomposição biológica da matéria orgânica representa um processo essencial para a reciclagem de compostos e a manutenção dos ciclos biogeoquímicos em ecossistemas terrestres e aquáticos (Widdel, 2001). A atuação de comunidades microbianas em diferentes condições

[1]) Mestrando do Programa de Pós-Graduação em Recursos Hídricos e Saneamento, Universidade Federal de Alagoas, Campus A. C. Simões, Av. Lourival Melo Mota, s/n, Tabuleiro do Martins, Maceió – AL, (82) 3214-1461, vitorisidoro.rhs@gmail.com
[2]) Docente do Instituto Federal de Alagoas - IFAL, R. Mizael Domingues, 530 - Centro, Maceió - AL, 57020-600, Maceió – AL, (82) 98899-6993, vaniantsilva@gmail.com.
[3]) Graduanda da Universidade Federal de Alagoas, Campus A. C. Simões, Av. Lourival Melo Mota, s/n, Tabuleiro do Martins, Maceió – AL, (82) 3214-1461, anastephanysilvaduarte8@gmail.com.

ambientais influencia diretamente os processos de qualidade e renovação da água (Nzila, 2018), e a degradação de compostos orgânicos em ambientes aquáticos depende da atividade metabólica de microrganismos capazes de utilizar diferentes substratos como fonte de energia e carbono (Dhar et al., 2019). Como consequência, alterações em parâmetros físico-químicos refletem a intensidade dos processos biológicos associados à decomposição da matéria orgânica (Fredrickson, 1996).

Em comparação com bactérias, fungos filamentosos como Aspergillus sp. apresentam maior tolerância a baixo oxigênio e capacidade de degradar polímeros, embora crescimento mais lento e variabilidade interespécies limitam sua reprodutibilidade como indicador (Nasrabadi, 2023). Métodos quantitativos mais precisos (análise de imagem, biomassa seca e quantificação de ergosterol) superam o CFU tradicional, e ainda são escassos estudos que avaliam Aspergillus sp. como indicador biológico da biodegradabilidade em ambientes aquosos simulados integrando crescimento e parâmetros físico-químicos (Bera et al., 2023).

Sob essa perspectiva, o uso de organismos indicadores tem se destacado como ferramenta complementar para a avaliação de processos de biodegradação, por integrar respostas biológicas às condições ambientais (De Paoli, 2008). Diante disso, compreender a relação entre atividade microbiológica e qualidade da água é relevante para o monitoramento de ecossistemas aquáticos.

Assim, o presente estudo, desenvolvido como desdobramento de atividades de pesquisa vinculadas ao PIBIC do Instituto Federal de Alagoas (IFAL), Campus Maceió, avaliou o potencial do crescimento de Aspergillus sp. como indicador biológico da biodegradabilidade em meio sólido e aquoso. Esta pesquisa contribui com uma abordagem que integra ensaios em meio aquoso simulado com substrato polimérico específico, correlacionando área colonizada de Aspergillus sp. com variações de pH, oxigênio dissolvido, turbidez e sólidos dissolvidos totais (Yang et al., 2018).

2. QUALIDADE DA ÁGUA E INDICADORES BIOLÓGICOS EM AMBIENTES AQUÁTICOS

A qualidade da água resulta da interação entre características físicas, químicas e biológicas que determinam as condições de equilíbrio dos ecossistemas aquáticos (Rocha, 2015). A presença e a transformação da matéria orgânica constituem fatores diretamente relacionados às variações desses parâmetros, influenciando processos ecológicos e a dinâmica dos ciclos biogeoquímicos em ambientes aquáticos (Gimenes, 2010).

Dessa perspectiva, alterações na qualidade da água podem ser avaliadas por meio de indicadores físico-químicos associados à atividade biológica do meio. Entre os parâmetros mais utilizados destacam-se o pH, o oxigênio dissolvido, a turbidez e os sólidos dissolvidos totais, uma vez que essas variáveis respondem às transformações promovidas pelos organismos decompositores durante a degradação da matéria orgânica (Lucas et al., 2008).

Além dos parâmetros físico-químicos, os microrganismos desempenham papel fundamental nesses processos, atuando na decomposição de compostos orgânicos e contribuindo para a renovação natural dos ambientes aquáticos (DE PAOLI, 2008). Entre eles, os fungos filamentosos do gênero Aspergillus destacam-se pela capacidade de colonizar diferentes substratos e desenvolver-se sob variadas condições ambientais, sendo frequentemente empregados em estudos relacionados à biodegradação, biorremediação e monitoramento ambiental (Nasrabadi, 2023).

Sob essa ótica, de acordo com DE PAOLI (2008), indicadores biológicos constituem ferramentas complementares para a avaliação da qualidade da água, pois permitem identificar respostas dos organismos frente às condições do meio. Dessa forma, o acompanhamento do crescimento de *Aspergillus sp.*, associado ao monitoramento de parâmetros físico-químicos, possibilita avaliar alterações ambientais em sistemas aquosos controlados, fornecendo informações sobre a dinâmica biológica relacionada à decomposição da matéria orgânica.

3. OBJETIVO

3.1 Objetivo geral

Avaliar o potencial do crescimento de *Aspergillus sp.* como indicador biológico da biodegradabilidade de substratos orgânicos em condições simuladas de ambiente sólido e aquático, por meio do monitoramento do desenvolvimento fúngico e das alterações físico-químicas do meio.

3.2 Objetivos específicos

- Quantificar a evolução do crescimento de *Aspergillus sp.* em meio sólido contendo substrato orgânico, utilizando a área colonizada como parâmetro de desenvolvimento biológico.
- Monitorar as variações dos parâmetros físico-químicos do meio aquoso (pH, oxigênio dissolvido, turbidez, sólidos dissolvidos totais e biomassa aparente) ao longo do período experimental, relacionando-as à atividade metabólica do fungo.

4. METODOLOGIA

4.1 Caracterização da pesquisa

O presente estudo caracteriza-se como uma pesquisa experimental, desenvolvida no Instituto Federal de Alagoas (IFAL), Campus Maceió, com o objetivo de avaliar de forma indireta o potencial biodegradativo de um substrato orgânico por meio do crescimento fúngico de Aspergillus sp.

4.2 Preparação do meio de cultura

Foram utilizadas placas de Petri de 100 mm × 15 mm previamente esterilizadas em autoclave. O meio de cultura foi preparado pela dissolução de 7,4 g de ágar-ágar em 500 mL de água destilada,

seguido de autoclavagem a 121 °C por 20 minutos. Após esterilização, o meio foi vertido assepticamente em capela de fluxo laminar previamente desinfetada com álcool 70% e radiação UV. As placas foram incubadas a 30 °C por 48 horas para verificação de esterilidade.

4.3 Delineamento experimental

O delineamento experimental foi composto por três grupos: Branco (meio de cultura sem inoculação), “Padrão” (meio de cultura inoculado com Aspergillus sp.) e “Teste” (meio de cultura inoculado com Aspergillus sp. e adição de substrato orgânico). Cada condição experimental foi realizada em triplicata (n = 3).

4.4 Inoculação do microrganismo e aplicação do substrato orgânico

O microrganismo utilizado foi isolado previamente a partir de amostras ambientais e cultivado em meio Ágar Sabouraud, sendo obtido em cultura pura por repiques sucessivos. A identificação foi realizada com base em características morfológicas macroscópicas e microscópicas, incluindo coloração, textura colonial, presença de hifas septadas e conidióforos compatíveis com o gênero *Aspergillus sp.*, observados por microscopia óptica após coloração com azul de lactofenol, conforme chaves taxonômicas micológicas clássicas.



Figura 1 – Polímero derivado de amido de batata (*Solanum tuberosum)* por hidrólise ácida com HCl

A ausência de sequenciamento molecular da região ITS limitou a identificação ao nível de gênero, sendo classificado como Aspergillus sp. A inoculação foi realizada pela transferência de discos miceliais de 5 mm de diâmetro para os meios de cultura correspondentes aos grupos “Padrão” e “Teste”, utilizando-se um disco por placa, equivalente a uma concentração inicial de um inóculo. Em cada placa de Petri (100 × 15 mm) foram vertidos aproximadamente 20 mL de meio de cultura, volume suficiente para preencher cerca de metade da altura da placa. O substrato orgânico utilizado no grupo “Teste” consistiu em um polímero derivado de amido de Solanum tuberosum, previamente esterilizado por filtração e adicionado na concentração de 1% (m/v) ao meio experimental. Todos os

procedimentos foram realizados sob condições assépticas em capela de fluxo laminar, sendo as placas incubadas a 30 °C durante 21 dias.

4.5 Ensaio de interação em meio aquoso simulado

Para simulação de ambiente aquático, foram utilizados frascos estéreis contendo água destilada autoclavada, nos quais foram inoculados discos de *Aspergillus sp.* e adicionado o substrato orgânico em concentração controlada. Os sistemas foram mantidos a 30 °C por 21 dias em condição estática. O crescimento fúngico foi acompanhado visualmente e por formação de biomassa micelial aderida, sendo utilizados como parâmetros qualitativos complementares. A biomassa aparente foi estimada por determinação gravimétrica após filtração e secagem do material biológico, sendo os resultados expressos em mg L^{-1}.

4.6 Avaliação do crescimento fúngico como indicador biológico

O crescimento fúngico foi monitorado em intervalos de 72 horas ao longo de 21 dias. A avaliação quantitativa foi realizada pela mensuração do diâmetro das colônias em milímetros, utilizando paquímetro digital estéril, além da observação da densidade micelial. Os valores de diâmetro obtidos foram convertidos em área colonizada (%) com base na relação entre a área da colônia ($A = \pi r^2$) e a área total da placa de Petri, permitindo a comparação padronizada entre os tratamentos.

5. RESULTADOS E DISCUSSÕES

As placas pertencentes ao grupo Branco permaneceram sem crescimento microbiano durante todo o período experimental, evidenciando a eficiência dos procedimentos de esterilização adotados e a ausência de contaminações externas. Esse resultado confirma a adequação das condições experimentais e assegura a confiabilidade dos ensaios realizados com Aspergillus sp.

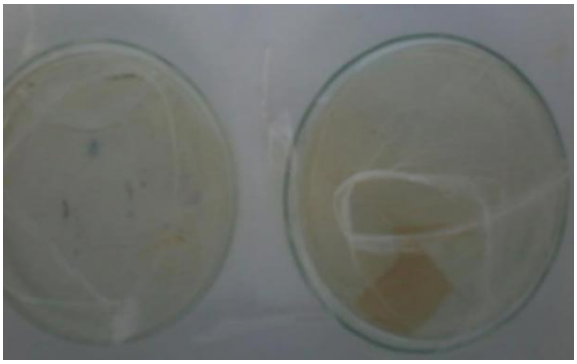


Figura 2 – Aspecto visual das placas do grupo Branco após 21 dias de incubação

A evolução do crescimento de Aspergillus sp. ao longo do período experimental é apresentada na Tabela 1. Observou-se aumento progressivo da área colonizada em ambos os tratamentos, com crescimento consistentemente superior no grupo Teste em comparação ao grupo Padrão. Nos primeiros três dias de incubação, a cobertura micelial foi de 8% no grupo Padrão e de 10% no grupo Teste. Essa diferença tornou-se mais evidente ao longo do experimento, alcançando valores de 48% e 68% aos 12 dias e de 53% e 84% aos 15 dias, respectivamente.

Ao final dos 21 dias de incubação, o grupo Padrão atingiu 72% de cobertura da superfície da placa, correspondendo a aproximadamente 56,5 cm² da área total disponível, enquanto o grupo Teste alcançou 97% de cobertura, equivalente a aproximadamente 76,1 cm². Esse resultado indica que a presença do substrato orgânico favoreceu o desenvolvimento fúngico e sugere maior atividade metabólica do Aspergillus sp., compatível com processos de biodegradação. Entretanto, os parâmetros avaliados não permitem comprovar diretamente a biodegradação do polímero, evidenciando apenas uma resposta biológica compatível com esse processo.

Tabela 1 – Evolução do crescimento fúngico com valores expressos como média ± desvio-”Padrão” (n = 3)

Tempo (dias)	Área colonizada – Grupo “Padrão” (%)	Área colonizada – Grupo “Teste” (%)	Incremento associado ao substrato orgânico (%)
3	8,0 ± 1,2	10,0 ± 0,8	25,0
6	18,0 ± 2,1	24,0 ± 1,5	33,3
9	32,0 ± 2,8	45,0 ± 3,2	40,6
12	48,0 ± 3,5	68,0 ± 4,0	41,7
15	53,0 ± 4,1	84,0 ± 3,8	58,5
18	64,0 ± 3,7	95,0 ± 2,4	48,4
21	72,0 ± 3,0	97,0 ± 1,5	34,7

O incremento percentual associado à presença do substrato orgânico foi calculado pela diferença relativa entre os grupos Teste e Padrão, conforme apresentado na Equação 1. Em que I corresponde ao incremento percentual associado ao substrato orgânico (%), T representa a área colonizada observada no grupo Teste (%) e P representa a área colonizada observada no grupo Padrão (%).

$$I = \frac{T - P}{P} \; x100 \qquad (1)$$

A Figura 3 apresenta a comparação visual entre os tratamentos ao final do período experimental. A área colonizada foi estimada a partir dos valores de diâmetro das colônias convertidos em percentual de cobertura da superfície da placa de Petri, tomando-se como referência a área total disponível para crescimento. A placa localizada à esquerda corresponde ao grupo Padrão (meio de cultura inoculado com *Aspergillus sp*.), enquanto a placa à direita corresponde ao grupo Teste (meio de cultura inoculado com Aspergillus sp. e acrescido de substrato orgânico). Visualmente, observa-

se maior ocupação da superfície da placa no grupo Teste, corroborando os resultados quantitativos apresentados na Tabela 1.

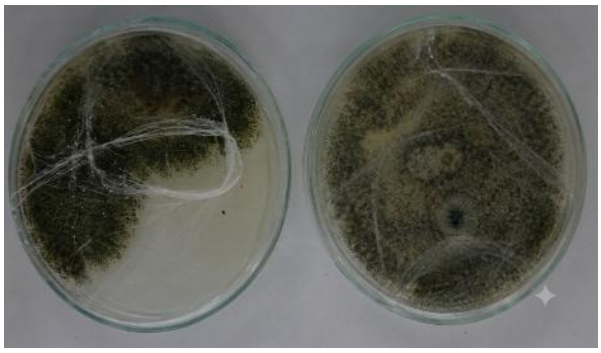


Figura 3 – Comparação visual entre as placas dos grupos “Padrão” e “Teste” após 21 dias de incubação

Os resultados obtidos no ensaio em meio aquoso simulado são apresentados na Tabela 2. As determinações foram realizadas nos tempos de 0, 7, 14 e 21 dias, contemplando parâmetros físico-químicos associados à atividade metabólica do microrganismo e às alterações promovidas no meio experimental.

Tabela 2 – Valores médios dos parâmetros físico-químicos observados durante o ensaio em meio aquoso (n = 3)

Tempo (dias)	pH	Oxigênio Dissolvido (mg L^{-1})	Turbidez (NTU)	SDT (mg L^{-1})	Biomassa Aparente (mg L^{-1})	Temperatura
0	7,02	7,85	5,2	38	0	30,0
7	6,74	6,92	12,6	56	42	29,2
14	6,38	5,87	24,8	73	86	30,2
21	6,12	4,95	37,5	89	127	30,1

Observou-se redução gradual do pH ao longo do experimento, passando de 7,02 para 6,12 após 21 dias de incubação. Paralelamente, ocorreu diminuição da concentração de oxigênio dissolvido, de 7,85 mg L^{-1} para 4,95 mg L^{-1}, indicando consumo de oxigênio associado à atividade respiratória do fungo. Em sentido oposto, verificou-se aumento da turbidez, dos sólidos dissolvidos totais e da biomassa aparente, refletindo o crescimento do microrganismo e a transformação da matéria orgânica presente no sistema.

A Figura 4 apresenta o aspecto visual do ensaio meio aquoso do fungo durante o período experimental. Os valores obtidos variaram de 0 mg L^{-1} no início do ensaio para 127 mg L^{-1} ao final dos 21 dias de incubação.



Figura 4 – Aspecto visual do ensaio em meio aquoso nos tempos 0, 7, 14 e 21 dias respectivamente

A variação percentual acumulada dos parâmetros monitorados encontra-se apresentada na Tabela 3. Em relação à condição inicial, observou-se redução de 12,8% no pH e de 36,9% no oxigênio dissolvido. Em contrapartida, foram registrados aumentos de 621,5% na turbidez e de 134,2% nos sólidos dissolvidos totais. A biomassa aparente atingiu 127 mg L^{-1} ao final do período experimental.

Tabela 3 – Variação percentual acumulada dos parâmetros físico-químicos ao final de 21 dias

Parâmetro	Valor Inicial	Valor Final	Variação (%)
pH	7,02	6,12	-12,8
Oxigênio dissolvido	7,85	4,95	-36,9
Turbidez	5,2	37,5	+621,5
SDT	38	89	+134,2
Biomassa aparente	0	127	N/A

As alterações observadas sugerem resposta dos parâmetros físico-químicos ao desenvolvimento de *Aspergillus sp*., indicando o potencial do microrganismo como ferramenta complementar para avaliação indireta de processos de biodegradação em sistemas aquáticos controlados. Entretanto, tais resultados devem ser interpretados com cautela, uma vez que não se pode descartar a contribuição de outros fatores, como a lixiviação de compostos do substrato, a liberação de metabólitos extracelulares ou processos de morte celular.

Adicionalmente, o crescimento de *Aspergillus sp*. como indicador indireto de biodegradação está sujeito à influência de fatores ambientais, incluindo temperatura, pH e disponibilidade de oxigênio, os quais podem afetar diretamente a atividade metabólica dos microrganismos e a velocidade dos processos degradativos (DE PAOLI, 2008).

6. CONCLUSÃO

Os resultados obtidos indicaram que o crescimento de Aspergillus sp. apresentou potencial como indicador biológico indireto da biodegradabilidade do substrato orgânico avaliado, atendendo

ao objetivo proposto neste estudo. O maior desenvolvimento fúngico observado no grupo Teste, tanto em meio sólido quanto em meio aquoso, sugere que o substrato favoreceu a atividade metabólica do microrganismo. Além disso, as alterações verificadas nos parâmetros físico-químicos da água, associadas ao aumento da biomassa fúngica, reforçam a aplicabilidade do método como ferramenta complementar para a avaliação de processos de biodegradação em condições controladas. Contudo, os parâmetros avaliados não permitem comprovar diretamente a biodegradação do polímero, sendo necessários estudos complementares com análises específicas para sua confirmação.

AGRADECIMENTOS

Ao Instituto Federal de Alagoas (IFAL), Campus Maceió, e ao Programa Institucional de Bolsas de Iniciação Científica (PIBIC) pelo apoio institucional e científico concedido ao projeto de pesquisa sobre biopolímeros.

REFERÊNCIAS

BERA, S.; CHOWDHURY, D.; HAN, J.; SINGH, J. (2023). “Editorial: Applied and sustainable methods to manage environmental contaminants with natural and fortified microbial biosorbents”. Frontiers in Microbiology 14, 1220337. DOI: 10.3389/fmicb.2023.1220337.

DE PAOLI, M.A. (2008). Degradação e estabilização de polímeros. São Paulo: Artliber.

DHAR, K.; SUBASHCHANDRABOSE, S.R.; VENKATESWARLU, K.; KRISHNAN, K.; MEGHARAJ, M. (2020). “Anaerobic Microbial Degradation of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons: A Comprehensive Review”. Reviews of Environmental Contamination and Toxicology 251, pp. 25-108. DOI: 10.1007/398_2019_29.

FREDRICKSON, J.K.; GORBY, Y.A. (1996). “Environmental processes mediated by iron-reducing bacteria”. Current Opinion in Biotechnology 7(3), pp. 287–294.

GIMENES, K.Z.; CUNHA-SANTINO, M.B.; BIANCHINI JÚNIOR, I. (2010). “Decomposição de matéria orgânica alóctone e autóctone em ecossistemas aquáticos”. Oecologia Australis 14(4), pp. 1036–1073.

LUCAS, N.; BIENAIME, C.; BELLOY, C.; QUÉNÉE, P.; SILVESTRE, F.; NAVARD, P. (2008). “Polymer biodegradation: Mechanisms and estimation techniques – A review”. Chemosphere 73(4), pp. 429–442.

MARINHO, G.M.; BARBOSA, B.C.A.; PESSOA, K.A.R.; BRASIL, R.B.S. (2024). “Micorremediação de efluente do processamento da mandioca em batelada dispersa”. Conexões - Ciência e Tecnologia 18, e022023. DOI: 10.21439/conexoes.v18i0.3427.

NASRABADI, A.E.; RAMAVANDI, B.; BONYADI, Z. (2023). “Recent advances in biodegradation of microplastics by Aspergillus sp. in aquatic environments”. Colloid and Interface Science Communications 57, 100754.

NZILA, A. (2018). “Biodegradation of high-molecular-weight polycyclic aromatic hydrocarbons under anaerobic conditions: Overview of studies, proposed pathways and future perspectives”. Environmental Pollution 239, pp. 788-802. DOI: 10.1016/j.envpol.2018.04.074.

ROCHA, F.C.; ANDRADE, E.M.; LOPES, F.B. (2015). “Water quality index calculated from biological, physical and chemical attributes”. Environmental Monitoring and Assessment 187, art. 4163.

WIDDEL, F.; RABUS, R. (2001). “Anaerobic biodegradation of saturated and aromatic hydrocarbons”. Current Opinion in Biotechnology 12(3), pp. 259-276. DOI: 10.1016/S0958-1669(00)00209-3.

YANG, Z.; SHI, Y.; ZHANG, Y.; CHENG, Q.; LI, X.; ZHAO, C.; ZHANG, D. (2018). “Different pathways for 4-n-nonylphenol biodegradation by two Aspergillus strains derived from estuary sediment: Evidence from metabolites determination and key-gene identification”. Journal of Hazardous Materials 359, pp. 203–212.