



UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
FACULDADE DE ENGENHARIA QUÍMICA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA QUÍMICA



**Associação de Bactérias Fototróficas para o Tratamento de Efluentes
com Metais Pesados**

DANIELA APARECIDA SANTOS

Uberlândia – MG

2023

DANIELA APARECIDA SANTOS

**Associação de Bactérias Fototróficas para o Tratamento de Efluentes
com Metais Pesados**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Engenharia Química da Universidade Federal de Uberlândia como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Engenharia Química.

Orientadora: Prof^ª. Dr^ª. Fabiana Regina Xavier Batista

Coorientadora: Prof^ª. Dr^ª. Larissa Nayhara Soares Santana Falleiros

Uberlândia – MG

2023

Ficha Catalográfica Online do Sistema de Bibliotecas da
UFU com dados informados pelo(a) próprio(a) autor(a).

S237 Santos, Daniela Aparecida, 1996-
2023 Associação de Bactérias Fototróficas para o Tratamento
de Efluentes com Metais Pesados [recurso eletrônico] : -
/ Daniela Aparecida Santos. - 2023.

Orientadora: Fabiana Regina Xavier Batista.

Coorientadora: Larissa Nayhara Soares Santana
Falleiros.

Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal de
Uberlândia, Pós-graduação em Engenharia Química.

Modo de acesso: Internet.

Disponível em: <http://doi.org/10.14393/ufu.di.2023.57>

Inclui bibliografia.

Inclui ilustrações.

1. Engenharia química. I. Batista, Fabiana Regina
Xavier, 1976-, (Orient.). II. Falleiros, Larissa Nayhara
Soares Santana, 1988-, (Coorient.). III. Universidade
Federal de Uberlândia. Pós-graduação em Engenharia
Química. IV. Título.

CDU: 66.0

Bibliotecários responsáveis pela estrutura de acordo com o AACR2:

Gizele Cristine Nunes do Couto -
CRB6/2091 Nelson Marcos Ferreira -
CRB6/3074



UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA

Coordenação do Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química
Av. João Naves de Ávila, 2121, Bloco 1K, Sala 206 - Bairro Santa Mônica, Uberlândia-MG, CEP 38400-902
Telefone: (34)3239-4249 - www.ppgeq.feq.ufu.br - secppgeq@feq.ufu.br



ATA DE DEFESA - PÓS-GRADUAÇÃO

Programa de Pós-graduação em:	Engenharia Química				
Defesa de:	Mestrado Acadêmico, 01/2023, PPGEQ				
Data:	3 de fevereiro de 2023	Hora de início:	09:30	Hora de encerramento:	12:20
Matrícula do Discente:	12112EQU003				
Nome do Discente:	Daniela Aparecida Santos				
Título do Trabalho:	Associação de bactérias fototróficas para o tratamento de efluentes com metais pesados				
Área de concentração:	Desenvolvimento de Processos Químicos				
Linha de pesquisa:	Engenharia Ambiental				
Projeto de Pesquisa de vinculação:	Tratamento de efluentes empregando processos oxidativos e processos biológicos				
ODS-ONU:	6. Água potável e saneamento; 9. Indústria, inovação e infraestrutura				

Reuniu-se por meio de webconferência, a Banca Examinadora, designada pelo Colegiado do Programa de Pós-graduação em Engenharia Química, assim composta: Doutora: Vânia Santos Braz - Startup Glycovam, Professoras Doutoras: Patrícia Angélica Vieira - FEQUI/UFU, Miriam Maria de Resende - PPGEQ/UFU, Larissa Nayhara Soares Santana Falleiros - PPGEQ/UFU, coordenadora, e Fabiana Regina Xavier Batista - PPGEQ/UFU, orientadora da candidata.

Iniciando os trabalhos a presidente da mesa, Profª Drª Fabiana Regina Xavier Batista, apresentou a Comissão Examinadora e a candidata, agradeceu a presença do público, e concedeu à discente a palavra para a exposição do seu trabalho. A duração da apresentação da discente e o tempo de arguição e resposta foram conforme as normas do Programa.

A seguir, a presidente concedeu a palavra, pela ordem sucessivamente às examinadoras, que passaram a arguir a candidata. Ultimada a arguição, que se desenvolveu dentro dos termos regimentais, a Banca, em sessão secreta, atribuiu o resultado final, considerando a candidata:

Aprovada

Esta defesa faz parte dos requisitos necessários à obtenção do título de Mestre.

O competente diploma será expedido após cumprimento dos demais requisitos, conforme as normas do Programa, a legislação pertinente e a regulamentação interna da UFU.

Nada mais havendo a tratar foram encerrados os trabalhos. Foi lavrada a presente ata que após lida e achada conforme foi assinada pela Banca Examinadora.



Documento assinado eletronicamente por **Fabiana Regina Xavier Batista, Professor(a) do Magistério Superior**, em 03/02/2023, às 12:14, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



Documento assinado eletronicamente por **Patricia Angelica Vieira, Professor(a) do Magistério Superior**, em 03/02/2023, às 12:14, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



Documento assinado eletronicamente por **Miriam Maria de Resende, Professor(a) do Magistério Superior**, em 03/02/2023, às 12:15, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



Documento assinado eletronicamente por **Larissa Nayhara Soares Santana Falleiros, Professor(a) do Magistério Superior**, em 03/02/2023, às 12:15, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



Documento assinado eletronicamente por **Vânia Santos Braz, Usuário Externo**, em 08/02/2023, às 08:39, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



A autenticidade deste documento pode ser conferida no site https://www.sei.ufu.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0, informando o código verificador **4222907** e o código CRC **E945FF18**.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente, agradeço a Deus por tudo que Ele faz por mim e por ter me dado tanta força durante este trabalho. Neste período, muitas coisas aconteceram, mas graças a Ele, percebi ainda mais a dádiva de viver e a simples oportunidade de sorrir mesmo nos momentos difíceis. Somente o Senhor sabe o quanto é importante para a minha existência.

Aos meus pais, Valéria e Jésio, por sempre me apoiarem, pelo amor incondicional de cada um e por dedicarem tanto de suas vidas para me oferecer as melhores oportunidades mesmo nas dificuldades. Amo muito vocês e espero poder transmitir o que os dois me ensinaram de tão valioso para as pessoas ao meu redor.

À minha irmã Gabriela que tanto me apoiou, me inspirou, me escutou e é tão importante em minha vida. A você meu eterno agradecimento.

Aos meus amigos do mestrado, Diogo, Erisson, Mayara e Rayelle, que me ajudaram em tantos momentos, transmitiram muito carinho e fizeram tudo parecer mais leve, mesmo nos momentos mais caóticos.

Aos meus amigos Carina, Gabriela Gil, Marcelo, Pedro, Taoana e Washington que estiveram presentes comigo na EQ e estão até hoje sendo tão importantes em minha vida e me fazendo sorrir em tantos momentos. A vocês minha eterna gratidão.

À minha amiga Isabela, que me deu apoio diariamente e que foi uma luz enviada por Deus para me ajudar a me adaptar à nova realidade da minha vida.

À minha orientadora Fabiana, por todo o carinho, paciência, apoio e ensinamentos durante a graduação, Iniciação Científica e agora no mestrado.

Às professoras, Larissa e Miriam, pela ajuda e considerações valiosas com o meu trabalho.

Aos demais professores, técnicos e outros servidores da FEQUI que foram cruciais em tantos momentos.

Aos órgãos de fomento CNPq, FAPEMIG e Capes, pelo auxílio financeiro que permitiu a boa realização desse trabalho.

À UFU e ao programa de Pós-Graduação em Engenharia Química da Universidade Federal de Uberlândia, pela oportunidade concedida e estrutura proporcionada.

Sumário

Simbologia e Abreviaturas	i
Lista de Figuras	ii
Lista de Tabelas.....	iv
Resumo	vi
Abstract	vii
Capítulo 1 – Introdução	11
Capítulo 2 - Objetivos	13
2.1 Objetivo Geral	13
2.1.1 Objetivos Específicos.....	13
Capítulo 3 – Revisão Bibliográfica.....	14
3.1 Poluição hídrica por Metais Pesados	14
3.2 Metais Pesados	15
3.2.1 Características Gerais	15
3.2.2 Cromo	16
3.2.2.1 Toxicidade do Cromo.....	18
3.2.3 Cádmio.....	20
3.2.3.1 Toxicidade do cádmio	21
3.2.4 Chumbo	23
3.2.4.1 Toxicidade do chumbo.....	24
3.3 Legislação Ambiental	25
3.4 Recuperação de efluentes contaminados com metais pesados	27
3.4.1 Processos Convencionais: Físicos e Químicos	27
3.4.2 Processos Biológicos	29
3.4.2.1 Biorremediação por microrganismos.....	29
3.5 Bactérias púrpuras não sulfurosas.....	31
3.5.1 Habitat Natural.....	32
3.5.2 Pigmentação	33
3.5.3 Variedade metabólica	33
3.5.4 <i>Rhodobacter capsulatus</i> e <i>Rhodospirillum rubrum</i>	34
3.5.5 Aplicações biotecnológicas e mecanismos de biorremediação	36
Capítulo 4 – Materiais e Métodos	39
4.1 Bactéria e meio de cultivo	39

4.2 Cultivo do inóculo da bactéria.....	40
4.3 Fonte de cromo, cádmio e chumbo.....	41
4.4 Bioprocesso empregado na recuperação do efluente.....	41
4.5 Metodologia Analítica.....	43
4.5.1 Determinação do crescimento celular.....	43
4.5.2 Determinação do cromo hexavalente.....	45
4.5.3 Determinação do cromo total, cádmio e chumbo	45
4.5.4 Determinação do pH.....	46
4.5.5 Determinação da bacterioclorofila.....	46
4.5.6 Determinação dos carotenoides.....	46
4.5.7 Eficiência de remoção de cromo hexavalente e total, cádmio e chumbo	47
4.5.8 Delineamento Composto Central	47
Capítulo 5 - Resultados e Discussões.....	50
5.1 Experimento 1 - Avaliação da cinética de crescimento celular.....	50
5.2 Experimento 2 - Avaliação da remoção de cromo hexavalente, cromo total, cádmio e chumbo	52
5.3. Experimento 3 - Delineamento Composto Central 2³	60
5.3.1 Remoção de cromo total	62
5.3.2 Remoção de Cádmio.....	66
5.3.3 Remoção de Chumbo	69
5.4. Micrografia eletrônica de varredura (MEV)	Erro! Indicador não definido.
Capítulo 6 - Conclusão	74
Capítulo 7 – Sugestões para futuros trabalhos	75
Capítulo 8 - Referências Bibliográficas	75

SIMBOLOGIA E ABREVIATURAS

BPNS – Bactérias Púrpuras não Sulfurosas

Cádmio – Cd

Chumbo - Pb

Cromato – CrO_4^{-2}

Cromo – Cr

Cromo hexavalente – Cr (VI)

Cromo trivalente – Cr (III)

Dicromato – $\text{Cr}_2\text{O}_7^{-2}$

Dicromato de potássio – $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$

Óxido de cromo (III) – Cr_2O_3

Partes por milhão – ppm

Potencial hidrogeniônico – pH

Rhodobacter capsulatus V minimal médium – RCV

Rhodobacter capsulatus – *R. capsulatus*

Rhodospirillum rubrum – *R. rubrum*

Rotações por minuto – rpm

Sólidos voláteis – SV

LISTA DE FIGURAS

Figura 3.1. Representação das principais indústrias causadoras de poluição ambiental por metais tóxicos.	14
Figura 3.2. Produtos de consumo do cádmio.	20
Figura 3.3. Representação esquemática da ingestão e inalação de cádmio no corpo humano.	22
Figura 3.4. Efeitos causados pela exposição ao chumbo.....	25
Figura 3.5. Métodos físico-químicos para o tratamento de efluentes com metais pesados.	28
Figura 3.6. Células da bactéria <i>Rhodobacter capsulatus</i> , em vista microscópica.....	35
Figura 3.7. Micrografia eletrônica de varredura de <i>R. rubrum</i> S1T gerada a partir de uma cultura de DMS 467.....	36
Figura 3.8. Interação do $\text{Cr}^{+3}/\text{Cr}^{+6}$ com diferentes exopolissacarídeos (EPS).	37
Figura 3.9. Etapas de assimilação do enxofre e como o cromo é reduzido.....	38
Figura 4.1. Fluxograma das etapas desenvolvidas no trabalho.	39
Figura 4.2. BPNS, <i>R. rubrum</i> (direita) e <i>R. capsulatus</i> (esquerda) cultivadas em frascos reagente de 500 mL a 2400 lux.....	41
Figura 4.3. Fotofermentação realizada com a co-cultura (<i>R. rubrum</i> : <i>R. capsulatus</i>) inoculada no efluente sintético.	43
Figura 4.4. Espectrofotômetro de Absorção Atômica.	45
Figura 4.5. Experimentos realizados para o planejamento composto central.	49
Figura 5.1. Cinética de crescimento celular das bactérias <i>R. capsulatus</i> , <i>R. rubrum</i> e da co-cultura (1:1) nas condições de cultivo dos inóculos.....	50
Figura 5.2. Cinética de crescimento celular das bactérias <i>R. capsulatus</i> , <i>R. rubrum</i> e da co-cultura (1:1) no meio RCV sem os metais (controle experimental).....	52
Figura 5.3. Cinética de crescimento celular para a <i>R. capsulatus</i> , <i>R. rubrum</i> e a co-cultura (1:1) inoculadas no efluente sintético.....	52
Figura 5.4. Teor de bacterioclorofila <i>a</i> (mg/m^3) para as bactérias <i>R. capsulatus</i> , <i>R. rubrum</i> e co-cultura (1:1) no efluente sintético (meio RCV + metais).	53
Figura 5.5. Teor de carotenoides <i>a</i> (mg/m^3) para as bactérias <i>R. capsulatus</i> , <i>R. rubrum</i> e co-cultura (1:1) no efluente sintético (meio RCV + metais).	54
Figura 5.6. Cinética da concentração de cromo (a) de cádmio (b) e de chumbo (c).....	55
Figura 5.7 Avaliação do pH da fotofermentação para remoção dos metais pelas bactérias púrpuras não sulfurosas.	60

Figura 5.8. Gráfico de Pareto dos efeitos das variáveis da equação de regressão para a remoção de cromo.	63
Figura 5.9. Gráfico de Pareto dos efeitos das variáveis significativas da equação de regressão para a remoção de cromo.....	64
Figura 5.10 Curva de contorno e superfície de resposta para a remoção de cromo em função da concentração inicial de cádmio e cromo (a-b) e em função da concentração inicial de chumbo e cromo (c-d)	65
Figura 5.11. Gráfico de Pareto dos efeitos das variáveis da equação de regressão para a remoção de cádmio.....	67
Figura 5.12. Gráfico de Pareto dos efeitos das variáveis significativas da equação de regressão para a remoção de cádmio.	68
Figura 5.13. Curva de contorno e superfície de resposta para a remoção de cádmio em função da concentração inicial de cádmio e cromo (a-b) e em função da concentração inicial de cádmio e chumbo (c-d)	68
Figura 5.14. Gráfico de Pareto dos efeitos das variáveis da equação de regressão para a remoção de chumbo.....	70
Figura 5.15. Gráfico de Pareto dos efeitos das variáveis significativas da equação de regressão para a remoção de chumbo.	71
Figura 5.16. Curva de contorno e superfície de resposta para a remoção de chumbo em função da concentração inicial de cromo e chumbo (a-b) e em função da concentração inicial de chumbo e cádmio (c-d)	72
Figura 5.17. Micrografia eletrônica de varredura (MEV) da co-cultura (<i>R. rubrum</i> : <i>R. capsulatus</i>) antes (a) e depois (b) do tratamento com Cr (VI), Cd ²⁺ e Pb ²⁺ (c-e) Mapeamento elementar por EDX após tratamento com metais pelas bactérias.....	Erro!
Indicador não definido.	

LISTA DE QUADROS E TABELAS

Quadro 3.1. Classificação dos elementos no corpo humano com base em sua concentração.	16
Quadro 3.2. Propriedades e usos do cromo.	17
Quadro 3.3. Efeitos causados pelo cromo hexavalente no organismo.	19
Quadro 3.4. Propriedades e usos do cádmio.	21
Quadro 3.5. Propriedades e usos do chumbo.	23
Tabela 3.6. Limites máximos permitidos de cromo, cádmio e chumbo conforme algumas legislações.	26
Quadro 3.7. Principais características das bactérias púrpuras não sulfurosas (BPNS).	34
Tabela 4.1. Componentes do meio RCV.	40
Tabela 4.2. Componentes da solução de micronutrientes utilizada no meio RCV.	40
Tabela 4.3. Sumarização dos experimentos desenvolvidos.	42
Tabela 4.4. Níveis adotados para as variáveis do planejamento composto central 2^3 ...	48
Tabela 4.5. Matriz do planejamento composto central 2^3 com os valores codificados e decodificados das variáveis dependentes.	48
Tabela 5.1. Eficiência de remoção de 20 mg/L de cromo hexavalente pelas bactérias isoladas e associadas (co-cultura).	55
Tabela 5.2. Eficiência de remoção de 20 mg/L de cromo pelas bactérias no efluente sintético.	57
Tabela 5.3. Eficiência de remoção de 10 mg/L de cádmio pelas bactérias no efluente sintético.	57
Tabela 5.4. Eficiência de remoção de 10 mg/L de chumbo no efluente sintético.	57
Tabela 5.5. Planejamento composto central 2^3 dos experimentos realizados para tratamento do efluente sintético pelas bactérias.	61
Tabela 5.6. Parâmetros para o modelo completo para a remoção de cromo (%).	62
Tabela 5.7. Parâmetros para o modelo reduzido e significativo para a remoção de cromo (%)	64
Tabela 5.8. Parâmetros para o modelo completo para a remoção de cádmio (%).	66
Tabela 5.9. Parâmetros para o modelo reduzido e significativo para a remoção de cádmio (%).	67
Tabela 5.10. Parâmetros para o modelo completo para a remoção de chumbo (%).	69

Tabela 5.11. Parâmetros para o modelo reduzido e significativo para a remoção de chumbo (%) 70

Tabela 5.12. Valores para as remoções de cromo, cádmio e chumbo encontradas pelos modelos e experimentalmente. **Erro! Indicador não definido.**

Tabela 5.13. Correlação dos valores de remoção encontrados no presente estudo e pela literatura para os metais pesados. 73

RESUMO

A biorremediação tem sido vista como um método promissor para a remoção de metais pesados em efluentes contaminados. Com o uso de diversos microrganismos, pesquisadores afirmam a eficiência desses para o tratamento de efluentes, os quais garantem a redução de custos e o aumento da sustentabilidade em relação aos processos convencionais. Neste contexto, este estudo teve como objetivo avaliar a potencialidade das bactérias púrpuras não sulfurosas *Rhodobacter capsulatus* e *Rhodospirillum rubrum* na remoção de cromo hexavalente e total, cádmio e chumbo, na produção de pigmentos, bacterioclorofila e carotenoides, e na produção de biomassa. Um planejamento composto central foi proposto e analisado para a obtenção dos modelos descrevendo o comportamento das variáveis dependentes (concentração inicial de cromo, cádmio e chumbo) e independentes (remoção de cromo, cádmio e chumbo). Em seguida, as bactérias, *Rhodobacter capsulatus*, *Rhodospirillum rubrum* associadas (co-cultura), foram inoculadas em erlenmeyers de 500 mL na presença de efluente sintético constituído pelo meio RCV acrescido de metais pesados com concentrações iniciais de 20 mg/L de cromo (VI), 10 mg/L de cádmio e 10 mg/L de chumbo – condição ótima encontrada pelo planejamento experimental 2^3 - sob condições de anaerobiose, intensidade luminosa de 5760 lux e tempo de duração do tratamento biológico de 216 horas. Para a co-cultura, as máximas remoções dos metais foram de 83,2 % para o cromo total, 30,1 % para o cádmio e 80,2 % para o chumbo. Observou-se que após 216 horas a biomassa bacteriana sofreu um acréscimo de 68% em relação ao valor inicial da concentração celular de 1,0 g/L. Avaliando-se os teores de bacterioclorofila *a*, observou-se acréscimo de 44%. Por fim, para os teores iniciais e finais de carotenoides *a* obtidos, observou-se um aumento de 49% para a co-cultura nos experimentos contendo as concentrações iniciais de metais na condição do ponto central.

Palavras-chave: Biorremediação; cromo hexavalente; cádmio; chumbo; bactérias púrpuras não sulfurosas;

ABSTRACT

Bioremediation has been seen as a promising method for removing heavy metals in contaminated effluents. Using different microorganisms, researchers affirm its efficiency for the treatment of effluents, which guarantees the reduction of costs and the increase of sustainability concerning conventional processes. In this context, this study aimed to evaluate the potential of purple non-sulfur bacteria *Rhodobacter capsulatus* and *Rhodospirillum rubrum* to remove hexavalent chromium, total chromium, cadmium, and lead. In addition, pigments (bacteriochlorophyll and carotenoids) production and biomass increments. A composite central design was proposed and analyzed to obtain models describing the behavior of the dependent variables (initial concentration of chromium, cadmium, and lead) and independent variables (chromium, cadmium, and lead removal). Then, the co-culture (*R. capsulatus*: *R. rubrum*), were inoculated in 500 mL Erlenmeyer flasks in the presence of a synthetic effluent consisting of RCV medium plus heavy metals with initial concentrations of 20 mg/L of chromium (VI), 10 mg/L of cadmium and 10 mg /L of lead – an optimal condition found by the experimental design 2³ - under anaerobic conditions, the light intensity of 5760 lux and biological treatment duration of 216 hours. For the co-culture, the maximum removals were 83.2 % for total chromium, 30.1 % for cadmium, and 80.2 % for lead. After 216 hours the bacterial biomass increased by 68 % about the initial value of the cell concentration of 1.0 g/L. Evaluating the levels of bacteriochlorophyll *a*, an increase of 44% was observed. Finally, for the initial and final levels of carotenoids *a* obtained, an increase of 49% was observed for the co-culture in the experiments containing the initial concentrations of metals in the optimal condition found.

Keywords: Bioremediation; hexavalent chromium; cadmium; lead; purple non-sulfur bacteria;

CAPÍTULO 1 – INTRODUÇÃO

A poluição ambiental possui efeitos avassaladores ao meio ambiente e aos seres humanos, sendo sua principal causa o desenvolvimento industrial e urbano não planejado, que negligencia a importância de um meio ambiente saudável. Tais atividades aumentaram fortemente os níveis de poluição por metais pesados, o que perturba o equilíbrio ecológico (WANG et al., 2018; ABARIKWU et al., 2017; POSTHUMA et al., 2019).

Diversos metais pesados tóxicos, como cromo (Cr), cádmio (Cd), zinco (Zn), cobre (Cu), níquel (Ni), chumbo (Pb), mercúrio (Hg) etc são constantemente utilizados em processos industriais que acabam contaminando o ecossistema (JAISHANKAR et al., 2014).

Estudos em todo o mundo relatam que os metais pesados estão presentes no meio ambiente acima dos valores definidos por várias agências de monitoramento ambiental. A poluição por metais pesados no meio ambiente tem aumentado cada vez mais, ocasionando consequentemente uma maior exposição dos seres vivos. A natureza não degradável desses tipos de metais torna-os uma ameaça potencial ao ser vivo. Esses metais tendem a circular dentro do ecossistema e bioacumular em vários níveis tróficos. O metal pesado ao entrar em seres vivos através do ar, água ou comida pode ter efeitos letais (YAASHIKAA et al., 2019a; XU et al., 2018; MAJUMDER et al., 2017).

Dentre os metais pesados que possuem um alto nível de toxicidade, pode-se dar destaque ao cromo que é considerado um metal essencial envolvido no metabolismo da glicose em humanos e animais. Contudo, sua forma hexavalente é muito tóxica, possuindo propriedades carcinogênicas e mutagênicas (RAHMATY et al., 2011; MCNEILL et al. 2012). A forma trivalente é essencial ao metabolismo humano, sendo sua carência causadora de doenças (BATISTA; FREIRE, 2010).

Outros metais pesados que também estão na lista de prejudiciais aos seres vivos são o cádmio e o chumbo. Segundo a Agência de Controle de Substâncias Tóxicas e Registro de Doenças dos EUA (ATSDR, 2019), o cádmio ocupa a sétima posição na lista de substâncias perigosas aos seres humanos, portanto é considerado um dos metais mais ecotóxicos, que apresentam efeitos adversos sobre todos os processos biológicos dos seres humanos, animais e plantas (GUYTON; HALL, 2006). O chumbo também é considerado um dos metais mais perigosos devido a sua severidade tóxica. É classicamente uma substância acumulativa crônica, sendo que dos vários órgãos afetados, o grande

prejudicado é o sistema nervoso central, podendo levar a morte dependendo da concentração no sangue ([ATSDR, 2019](#)).

A redução da toxicidade de metais pesados é um grande desafio para todos os países desenvolvidos e em desenvolvimento. Muitas bactérias de ocorrência natural foram encontradas intimamente associadas ao processo de biorremediação, que remove metais pesados do ambiente e, assim, reduz a toxicidade. Devido à alta natureza adaptativa e mecanismo celular, as bactérias podem tolerar e absorver diferentes tipos de metais pesados ([NIES 1999](#); [FIGUEIRA et al. 2005](#)).

Assim, em comparação com os métodos de tratamento convencionais, a biossorção tem várias vantagens que incluem alta eficiência de remoção, capacidade de regeneração, baixo custo e probabilidade de recuperação de metal. A biossorção envolve materiais biológicos que são usados para formar complexos com metais pesados usando seus ligantes ou grupos funcionais ([KRISHNANI et al., 2008](#)). A alta relação área de superfície para volume demonstrada pelos microrganismos fornece uma grande interface de contato que permite uma maior interação entre os metais e o ambiente circundante ([ZOUBOULIS et al., 2004](#)).

A utilização de microrganismos na remediação de metais pesados é um campo popular devido a várias características atrativas das bactérias, como tamanho pequeno e capacidade de crescer sob condições controladas ([MOHAN et al., 2006](#)). Neste contexto, o estudo teve o intuito de estudar a biorremediação de efluentes contendo metais pesados como cromo, cádmio e chumbo por meio do uso das bactérias fototróficas, *Rhodobacter capsulatus* e *Rhodospirillum rubrum*, analisando a capacidade de remoção dos metais pelas bactérias, o comportamento metabólico, o crescimento celular e síntese de pigmentos.

CAPÍTULO 2 - OBJETIVOS

2.1 Objetivo Geral

O objetivo geral deste trabalho foi avaliar a biorremediação de efluente contendo cromo hexavalente, cádmio e chumbo, utilizando para tal as bactérias fototróficas *Rhodobacter capsulatus* e *Rhodospirillum rubrum* isoladamente e associadas na proporção de 1:1 (co-cultura).

2.1.1 Objetivos Específicos

Destacaram-se como objetivos específicos deste estudo:

- Avaliar o potencial de uso das bactérias fototróficas isoladas e associadas, para a recuperação do efluente sintético contendo metais pesados;
- Determinar a cinética de crescimento celular e a síntese de pigmentos;
- Obter a eficiência de remoção de cromo hexavalente, cromo total, cádmio e chumbo nos sistemas fotofermentativos utilizados;
- Verificar pelo planejamento experimental qual a condição ótima para recuperação dos efluentes contaminados contendo os metais cromo, cádmio e chumbo pela associação das bactérias púrpuras não sulfurosas;

CAPÍTULO 3 – REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1 Poluição hídrica por Metais Pesados

O crescimento da atividade industrial tem gerado grandes consequências, sendo uma delas o aumento da quantidade de efluentes contaminados no meio ambiente. Esses efluentes são muitas vezes descartados em corpos hídricos, os quais são afetados diretamente e negativamente.

Figura 3.1. Representação das principais indústrias causadoras de poluição ambiental por metais tóxicos.



Como mostrado na Figura 3.1, processos como a metalurgia, a mineração, o tratamento de superfícies metálicas na galvanoplastia, a aplicação de pesticidas e fertilizantes em abundância estão entre os principais causadores de poluição ambiental por metais tóxicos (BRAVO, 2018).

Produtos químicos perigosos, especialmente os que possuem metais pesados como arsênio (As), chumbo (Pb), zinco (Zn), selênio (Se), cobalto (Co), cromo (Cr), níquel (Ni), mercúrio (Hg), cádmio (Cd), cobre (Cu) e magnésio (Mn), são lançados nos corpos hídricos diariamente e mesmo em pequenas concentrações, geram riscos ao meio ambiente e à vida humana devido ao acúmulo e presença persistente nas cadeias alimentares, ingestão direta e absorção pelas plantas (EL-SHEIKH; ALSHAMALY, 2020; ENGWA et al., 2019; RIGBY; SMITH, 2020).

3.2 Metais Pesados

3.2.1 Características Gerais

Os metais são caracterizados como elementos que têm a capacidade de conduzir eletricidade, são brilhantes, têm maleabilidade e ductilidade, podem formar cátions e formar óxidos alcalinos. Dentre os 35 metais naturais existentes, 23 possuem alta densidade específica, acima de 5 g/cm^3 , sendo assim definidos como metais pesados com números atômicos entre 22-34 e 40-52 (DUFFUS, 2002; ZORODDU et al., 2019). Os metais pesados são tóxicos, afetam os organismos que entram em contato com esses, não são biodegradáveis na natureza e possuem a capacidade de alterar os sistemas enzimáticos e genéticos. Eles também são cancerígenos por natureza, ou seja, causam câncer (KUMAR; SAWHNEY; LAL, 2021).

No meio ambiente, os metais pesados são naturais, geogênicos, litogênicos ou antropogênicos. Esses metais, quando encontrados por fontes naturais, possuem energias de ligação mais altas em relação aos de fontes antropogênicas. Os processos naturais como erosões, erupções vulcânicas, cometas e intemperismo de minerais são alguns exemplos conhecidos por provocarem a presença desses metais no ecossistema (PUJARI; KAPOOR, 2021).

Na crosta terrestre, esses metais estão presentes em minérios que são recuperados durante as atividades de mineração como minerais. Os metais pesados que geralmente são liberados desses minérios durante essas atividades, acabam se espalhando no meio ambiente, sendo assim transportados pelos solos, corpos hídricos e pelo ar para outras áreas (KRISHNA; MOHAN, 2016).

Metais como magnésio (Mg), níquel (Ni), cromo (Cr^{3+}), cobre (Cu), cálcio (Ca), manganês (Mn), sódio (Na) e zinco (Zn) são elementos, os quais em pequenas quantidades, são considerados vitais para o bom funcionamento dos seres vivos. Já os metais pesados como alumínio (Al), chumbo (Pb), cádmio (Cd), cromo (Cr^{6+}) ouro (Au), mercúrio (Hg) e prata (Ag) são tóxicos e não essenciais para esses seres (LAKHERWAL, 2014; IGIRI et al., 2018; SIDDIQUEE et. al, 2015).

As propriedades tóxicas dos metais pesados permitem com que esses interajam com proteínas nucleares e DNA, fazendo que macromoléculas biológicas dos seres vivos se deterioreem oxidativamente. Alguns metais podem produzir radicais reativos que resultam em danos ao DNA, peroxidação lipídica, entre outros. Os efeitos adversos

tóxicos do metal incluem neurotoxicidade, hepatotoxicidade e nefrotoxicidade (BRIFFA et al., 2020).

Assim, um mesmo metal (dependendo da concentração) pode ser necessário ou prejudicial, sendo seus efeitos fisiológicos dependentes da dosagem no organismo. Por isso é possível encontrar elementos os quais não são considerados tóxicos, mais que em altas concentrações causam doenças e elementos que são tóxicos, porém em concentrações muito baixas nos seres vivos, são essenciais para esses (KUMAR et al., 2021).

Baseando-se em sua concentração no corpo humano, os elementos são classificados em três grupos, conforme descrito no Quadro 3.1.

Quadro 3.1. Classificação dos elementos no corpo humano com base em sua concentração.

Macroelementos	Concentração no organismo é superior a 0,01%
	Incluem hidrogênio, carbono, nitrogênio, oxigênio, cálcio, potássio, fósforo, enxofre, sódio, cloro e magnésio
	Encontrados no corpo em g a kg
Elementos-traço	Concentração no organismo varia de 0,00001% a 0,01%
	Incluem ferro, cobre, zinco, flúor, estrôncio, molibdênio, bromo, silício, cério, iodo, manganês, boro, alumínio, chumbo, cádmio e rubídio
	Encontrados no corpo em mg a g
Elementos-ultra-traços	Concentração no organismo é inferior a 0,000001%
	Incluem selênio, titânio, cromo, cobalto, vanádio, arsênico, níquel, lítio, bário, prata, estanho, berílio, gálio, germânio, mercúrio, escândio, zircônio, bismuto, antimônio, urânio, tório e rênio
	Encontrados no corpo em µg a mg

Fonte: KUMAR et al., 2021.

3.2.2 Cromo

O cromo entra no ecossistema por meio de fontes naturais ou antropogênicas e é reciclado pelo ciclo geoquímico para equilibrar seus níveis no meio ambiente

(PUSHKAR et al., 2021). Esse metal é o vigésimo primeiro elemento mais abundante na crosta terrestre, pertence ao grupo VI-B da tabela periódica e é conhecido como um elemento de transição. Devido a sua natureza altamente oxidante, o cromo costuma ser encontrado em combinação com o oxigênio (O) e o flúor (F) (KANAGARAJ; ELANGO, 2019; MATHUR; KALAJI; JAJOO, 2016; KUMAR et al., 2021). A Quadro 3.2 mostra as principais propriedades e utilizações do cromo.

Quadro 3.2. Propriedades e usos do cromo.

Propriedades	Densidade: 7,15 g/cm ³
	21º elemento mais abundante na superfície da Terra
	Extraído como um minério de cromita conhecido como chumbo vermelho siberiano
	Duro
	Brilhante, cinza-aço
	Metal ativo
	Reage com a maioria dos ácidos
	Forma uma camada de óxido de cromo (III) tornando o metal menos corrosivo
Usos	Ligas
	Cerâmicas metálicas
	Galvanoplastia
	Curtimento de couro
	Fabricação de rubis sintéticos
	Tintas
	Os sais de cromo são usados para colorir o vidro verde
Fonte alimentar	Frutas e legumes
	Leveduras
	Carnes
	Marisco
	Grãos

Fonte: Adaptado de BRIFFA et al., 2020.

Dentre as várias espécies desse elemento, estão o cromo hexavalente (Cr^{+6}) e o trivalente (Cr^{+3}), sendo esses predominantes na natureza, pois são mais estáveis do que as outras espécies do metal (MONALISA; KUMAR, 2013). O cromo trivalente (Cr^{+3}) é menos tóxico e é considerado um oligoelemento essencial necessário para glicose, lipídios e metabolismo de aminoácidos. Já o cromo hexavalente (Cr^{+6}) é mais tóxico e interage com as biomoléculas presentes no citoplasma da célula, permeando-se rapidamente na membrana biológica do organismo. Essa espécie, em condições ácidas, está presente na forma de dicromato ($\text{Cr}_2\text{O}_2^{-7}$) enquanto em condições alcalinas é encontrado principalmente como cromato (CrO^{-4}) (BHARAGAVA; MISHRA, 2018; MA et al., 2019; SRINATH et al., 2002).

3.2.2.1 Toxicidade do Cromo

O cromo hexavalente (Cr^{6+}) foi designado pela Agência de Proteção Ambiental dos EUA (USEPA) como um dos principais poluentes entre os metais (BHARAGAVA; MISHRA, 2018). As propriedades mutagênicas e cancerígenas do cromo permitem que o elemento receba o título de carcinogênico humano do Grupo A pela Agência Internacional de Pesquisa sobre o Câncer (IARC).

O cromo hexavalente (Cr^{+6}) pode ser reduzido para cromo pentavalente (Cr^{+5}), tetravalente (Cr^{+4}) ou trivalente (Cr^{+3}). O cromo hexavalente tem o caráter mais tóxico, pois pela alta solubilidade, atravessa a membrana celular com mais facilidade e assim afeta diretamente o DNA, enquanto o cromo trivalente acumula ao redor da célula alterando sua morfologia e danificando sua estrutura o que causa a interrupção da função celular. A dose letal (DL50 - dose necessária de uma dada substância ou tipo de radiação para matar 50% de uma população em teste) de Cr^{+6} por ingestão oral em ratos, varia de 50 a 100 mg/kg, valor menor quando comparado ao DL50 de Cr^{+3} entre 1900 e 3300 mg/kg (VENDRUSCOLO et al., 2017; WANG et al., 2017).

O cromo hexavalente (Cr^{+6}), quando inalado em altas concentrações, pode causar reações alérgicas, irritação no revestimento do nariz e úlceras nasais. Outras doenças geradas por esse metal são anemia, úlceras no intestino delgado e no estômago, danos no sistema reprodutor masculino, problemas cardiovasculares, respiratórios, hematológicos, renais, hepáticos e em casos mais graves morte do organismo (BALALI-MOOD et al., 2021; DENG et al., 2019; SHEKHAWAT et al., 2015).

Na Quadro 3.3, são expostos alguns dos efeitos causados pela inalação, contato ou ingestão de cromo hexavalente por humanos.

Quadro 3.3. Efeitos causados pelo cromo hexavalente no organismo.

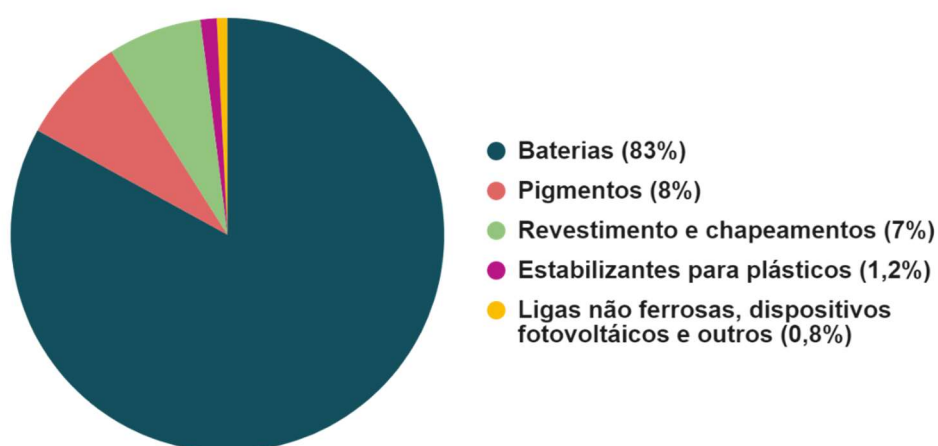
Efeitos do cromo hexavalente (VI) sobre humanos	
Ingestão oral	Úlcera gastrointestinal
	Náuseas e vômitos
	Febre
	Diarreia
	Vertigem
	Nefrite tóxica
	Danos no fígado
	Coma
	Morte (geralmente em 1-3g)
Inalação ou contato repetido com a pele	Dermatite de contato alérgica e eczema
	Gengivite
	Irritação das membranas mucosas
	Bronquite
	Doença hepática e renal
	Sinusite
	Pneumonia
	Câncer de pulmão
	Furos cromados, principalmente nos antebraços, mãos, dedos e nariz

Fonte: Adaptado de BRIFFA et al., 2020.

3.2.3 Cádmio

O cádmio (Cd) pode ser encontrado naturalmente no solo e em minerais como sulfeto, sulfato, carbonato, cloreto e sais de hidróxido, bem como na água. Sua presença nos corpos hídricos é elevada, devido a diversas atividades antropogênicas (mineração, emissão de resíduos, aplicação de fertilizantes) responsáveis pelo depósito do metal no meio ambiente (YANG et al., 2018). A Figura 3.2 mostra a distribuição dos produtos fabricados com o cádmio pelas indústrias.

Figura 3.2. Produtos de consumo do cádmio.



Fonte: ATSDR, 2012.

Por ser considerado tóxico, o cádmio pode causar sérios riscos à saúde humana. É um elemento não essencial e prejudicial ao homem e ao meio ambiente. Desde o surgimento da doença *Itai-itai*, na qual centenas de pessoas foram envenenadas por cádmio no Japão em 1912, a toxicidade do cádmio gerou grande atenção do público, governos e cientistas (LIU et al., 2015).

O tempo de meia-vida biológica desse metal é cerca de 5 a 30 anos. Os seres humanos que são expostos ao cádmio, podem sofrer danos no fígado, rins, ossos e testículos, os quais são considerados mais sensíveis (KHAN et al., 2019; WANG et al., 2021; XIE et al., 2021).

No Quadro 3.4 encontram-se as propriedades e usos do cádmio mais importantes.

Quadro 3.4. Propriedades e usos do cádmio.

Propriedades	Densidade: 8,69 g/cm ³
	64º metal mais abundante
	Encontrado frequentemente em combinação com zinco
	O único mineral encontrado é <i>Greenockite</i> , que é composto de cádmio e enxofre
	Metal prateado com tom azulado
Usos	Fertilizante fosfatado
	Pesticidas
	Baterias de níquel-cádmio
	Pigmentação de vidraria
	Revestimento resistente à corrosão
	Estabilizador na produção de plástico
	Reatores nucleares
Fonte de alimento	Marisco, mexilhões
	Algas secas
	Cogumelos
	Fígado
	Camarões

Fonte: Adaptado de BRIFFA et al., 2020.

3.2.3.1 Toxicidade do cádmio

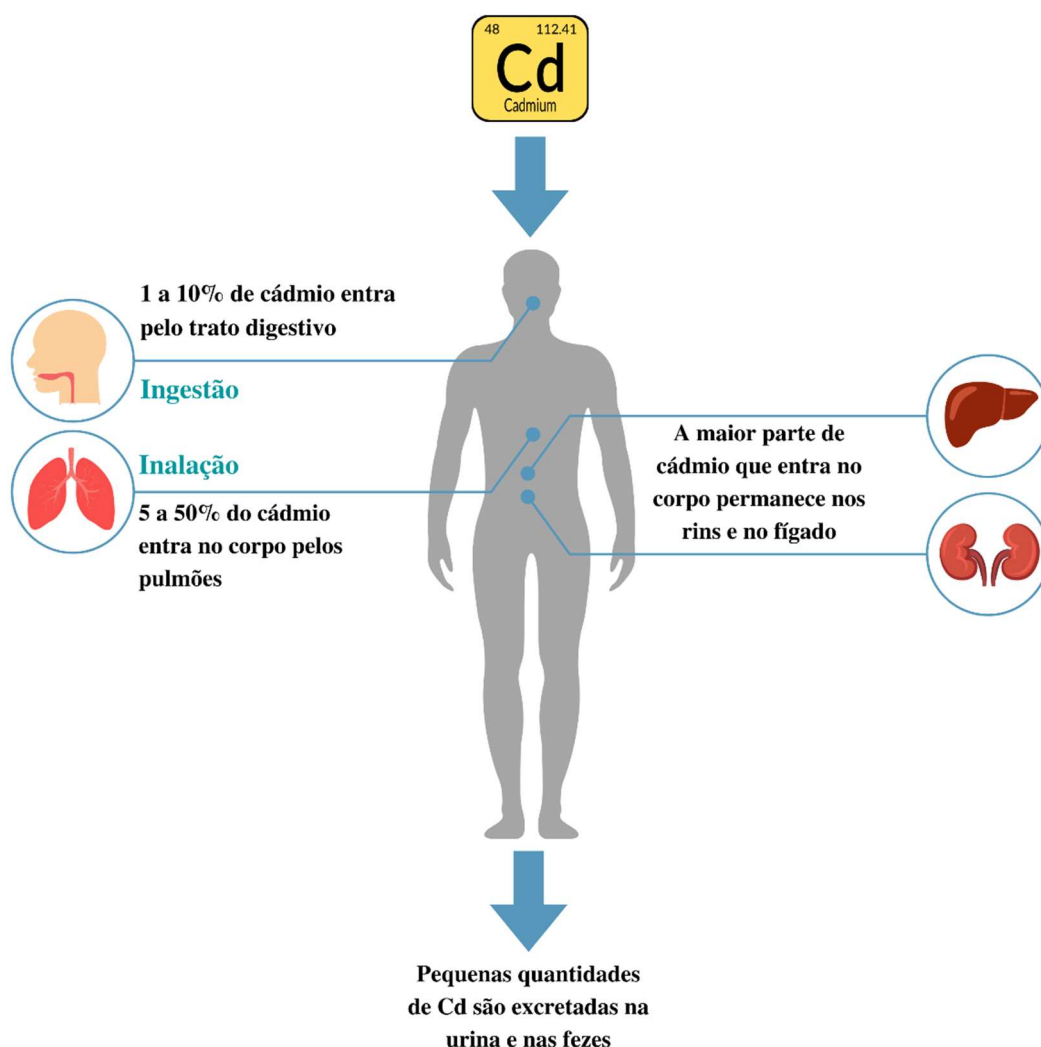
A Agência Internacional de Pesquisa sobre o Câncer (IARC) classificou o Cd em carcinógenos do grupo 1 ([ANDJELKOVIC et al., 2019](#)).

A exposição prolongada ou repetida de cádmio para os seres humanos pode causar danos nos testículos, distúrbios no fígado, nos rins, sistema respiratório e pulmões ([KUMAR et al., 2021](#)). Os mecanismos moleculares de toxicidade do Cd para o fígado são principalmente a inativação de sulfidrilas, estresse oxidativo, disfunção mitocondrial e apoptose celular ([HUANG et al., 2017](#)).

Os efeitos para a saúde humana devido ao cádmio são exacerbados, pois o organismo não consegue excretar grandes quantidade do metal. De fato, o cádmio é

reabsorvido pelo rim, limitando assim sua excreção. Em curto prazo, a inalação de cádmio pode causar graves danos aos pulmões e irritação respiratória, enquanto sua ingestão em doses mais altas pode causar irritação estomacal resultando em vômitos e diarreia. A exposição prolongada ao cádmio leva à sua deposição nos ossos e pulmões (BERNARD et al., 2008; ENGBA et al., 2019). A Figura 3.3 representa um esquema dos efeitos causados pela entrada de cádmio no corpo humano.

Figura 3.3. Representação esquemática da ingestão e inalação de cádmio no corpo humano.



Portanto, altas concentrações desse metal pode sobrecarregar a capacidade dos órgãos do corpo humano e dos animais de realizarem suas funções normalmente, sendo considerado um metal altamente nocivo a saúde e não essencial, o qual deve ser descartado no ecossistema de forma segura e regulamentada para que não haja futuros transtornos no meio ambiente (ATSDR et al., 2012).

3.2.4 Chumbo

O chumbo é caracterizado como um metal pesado, tóxico, com alta maleabilidade, ductilidade, baixo ponto de fusão, possuindo uma ampla gama de aplicações na indústria, agricultura e uso doméstico. Esse elemento consiste em um metal pesado não biodegradável, sendo um dos principais poluentes responsáveis pela poluição do solo, da água e da atmosfera, prejudicial à vida aquática e humana mesmo em baixa concentração (BLANCO et al., 2021; DASHARATHY et al., 2022).

O chumbo pode reagir com ácidos e bases formando, geralmente, ligações covalentes. A maioria de seus compostos são encontrados nos estados de oxidação +2, comum entre os membros mais leves de carbono. Com o carbono, o chumbo forma compostos orgânicos de chumbo, os quais possuem certa limitação devido aos efeitos tóxicos desses (ABDULLA, 2020).

Esse metal é amplamente utilizado como material inerte e em ligas. Aproximadamente 70% do chumbo usado como liga em baterias de armazenamento é recuperado e reciclado. Para ferro e aço, pigmentos de chumbo são comumente usados como tintas antiferrugem. O Pb_3O_4 é mais comumente usado como *primer*, mas o Ca_2PbO_4 é particularmente usado para aço galvanizado. O cromato de chumbo, $PbCrO_4$, é amplamente utilizado como ingrediente em muitas tintas verdes e plásticos coloridos (KUMAR et al., 2021). A seguir, o Quadro 3.5 exibe quais são as propriedades e utilizações do chumbo.

Quadro 3.5. Propriedades e usos do chumbo.

Propriedades	Densidade: 11,3 g/cm ³
	37º metal mais abundante
	Encontrado em um minério conhecido como galena, que é composto de sulfeto de chumbo e pode ser combinado com prata, zinco e cobre
	Metal cinza prateado fosco
	Macio
	Tóxico
	Facilmente trabalhado
	Não biodegradável

Usos	Tinturas de cabelo
	Esmaltes de chumbo de cerâmica
	Inseticidas
	Baterias de chumbo-ácido em carros
	Folhas de tela de computador para proteger da radiação
	Munições e projéteis
	Vidro de cristal de chumbo
	Cobertura de cabos
	Equipamentos esportivos
	Cintos de peso para mergulhadores
	Recipiente para líquidos corrosivos
	Em edifícios para coberturas
	Vitrais
	Tubulação de chumbo
Fonte alimentar	Grãos
	Frutos do mar
	Carne vermelha
	Vinho
	Refrigerantes
	Frutas e legumes

Fonte: Adaptado de BRIFFA et al., 2020.

3.2.4.1 Toxicidade do chumbo

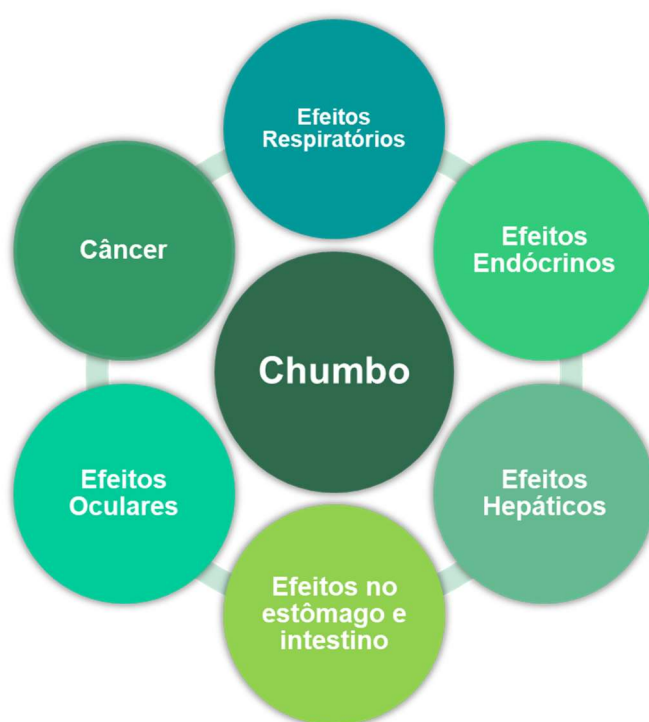
A Agência Internacional de Pesquisa sobre o Câncer e a Agência de Proteção Ambiental dos Estados Unidos (USEPA) distinguiram os compostos inorgânicos de chumbo no grupo 2A (prováveis carcinógenos humanos). A Diretiva da Comunidade Europeia e a Organização Mundial da Saúde estabeleceram os limites máximos aceitáveis de chumbo na água da torneira como 10 µg/L ([ABDULLA, 2020](#); [CHOWDHURY et al., 2022](#)).

O chumbo, quando presentes em altas concentrações no corpo humano, pode causar efeitos nocivos ao sistema nervoso, cérebro e rins. Em casos leves, perda de

apetite, insônia, inquietação e problemas gastrointestinais são observados (KUMAR et al., 2021). A intoxicação por chumbo está principalmente relacionada ao trato gastrointestinal e ao sistema nervoso central em crianças e adultos, podendo ser aguda ou crônica (MARTIN; GRISWOLD, 2009; ENGWA et al., 2019).

Segundo o perfil toxicológico para o chumbo fornecido pela Agência de Substâncias Tóxicas e Registro de Doenças (ATSDR), diversos efeitos são causados pela exposição do corpo humano ao metal, conforme exibe a Figura 3.4 (ATSDR, 2019).

Figura 3.4. Efeitos causados pela exposição ao chumbo.



3.3 Legislação Ambiental

Efluentes com metais pesados devem ser descartados de acordo com a legislação ambiental vigente para que não haja contaminação dos corpos hídricos e dos solos.

Dentre as legislações ambientais das cidades do Brasil, o Programa de Recebimento e Monitoramento de Efluentes não-domésticos no Município de Uberlândia-MG (PREMEND), é destinado às pessoas jurídicas instaladas nesse

município que produzem e lançam efluentes não-domésticos no Sistema Público de Esgoto provido de Estação de Tratamento.

Já o Conselho Nacional do Meio Ambiente (CONAMA) é o órgão consultivo e deliberativo do Sistema Nacional do Meio Ambiente (SISNAMA), foi instituído pela Lei 6.938/81, que dispõe sobre a Política Nacional do Meio Ambiente, regulamentada pelo Decreto 99.274/90. O órgão estabelece normas e critérios para o licenciamento de atividades efetiva ou potencialmente poluidoras no Brasil.

Na Tabela 3.6, estão os valores permitidos para os metais, cromo, cádmio e chumbo, na água doce e nos efluentes industriais de acordo com os órgãos do município de Uberlândia (PREMEND), do CONAMA e dos principais órgãos internacionais da Índia (*Bureau of Indian Standard*) e das Nações Unidas (*World Health Organization*).

Tabela 3.6. Limites máximos permitidos de cromo, cádmio e chumbo conforme algumas legislações.

Agências	Água	Efluente Industrial
CONAMA	0,001 mg/L (Cd total)	0,2 mg/L (Cd total)
	0,01 mg/L (Pb total)	0,5 mg/L (Pb total)
	0,05 mg/L (Cr ³⁺)	0,1 mg/L (Cr ⁶⁺)
		1,0 mg/L (Cr ³⁺)
PREMEND	-	1,5 mg/L (Cd total)
		1,5 mg/L (Pb total)
		0,5 mg/L (Cr ⁶⁺)
		5 mg/L (Cr total)
<i>Bureau of Indian Standard (BIS)</i>	0,003 mg/L (Cd total)	1,0 mg/L (Cd total)
	0,01 mg/L (Pb total)	1,0 mg/L (Pb total)
	0,05 mg/L (Cr total)	2,0 mg/L (Cr total)
<i>World Health Organization (WHO)</i>	0,003 mg/L (Cd total)	-
	0,01 mg/L (Pb total)	
	0,05 mg/L (Cr total)	

De acordo com os limites estabelecidos por cada legislação, é possível perceber que os valores para os metais pesados são baixíssimos, sendo assim necessário garantir que os efluentes descartados nos corpos hídricos e solos recebam o tratamento adequado, de forma que o meio ambiente não seja prejudicado com o acúmulo desses elementos.

Portanto, os tópicos a seguir demonstram quais são as formas de tratamento dos efluentes industriais e quais são ideias para a redução do impacto ambiental atualmente.

3.4 Recuperação de efluentes contaminados com metais pesados

A característica não-biodegradável dos metais pesados e seus efeitos tóxicos são vistos como uma ameaça para os seres vivos e para o meio ambiente que são diretamente afetados. A urgência para a remoção desses metais dos efluentes industriais aumenta a cada ano e, conseqüentemente, diversas tecnologias estão sendo desenvolvidas para diminuir suas concentrações ou eliminá-los dos corpos receptores de efluentes.

Processos químicos, físicos e biológicos fornecem diversas maneiras para a redução de poluentes tóxicos no meio ambiente, os quais possuem propriedades específicas, tanto quanto vantagens e desvantagens para o emprego no tratamento de resíduos contendo metais pesados.

3.4.1 Processos Convencionais: Físicos e Químicos

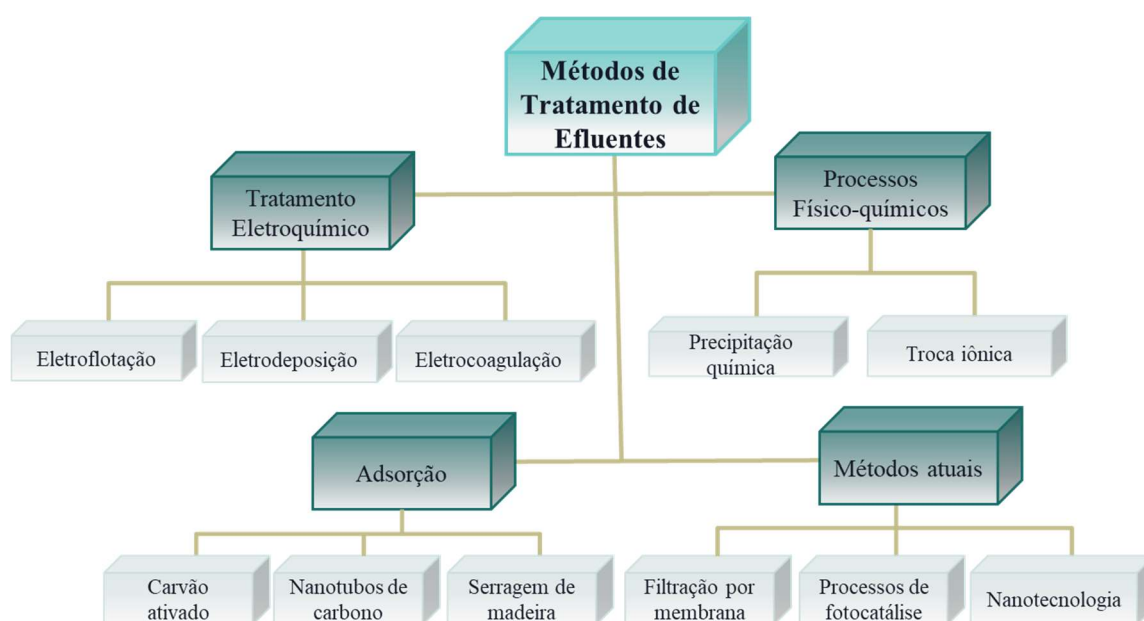
Com o avanço da tecnologia, diversas combinações de métodos foram desenvolvidas a fim de atingir o objetivo de uma remediação eficaz. Os métodos de remediação de metais pesados mais globalmente aceitos e usados rotineiramente são adsorção, precipitação, filtração, troca iônica e coagulação (EL-SHEIKH et al., 2019; KANAMARLAPUDI et al., 2018; MURNANE et al., 2019; KAPAHI; SACHDEVA, 2019; FATHOLLAHI et al., 2021).

Processos físico-químicos como a precipitação química, troca iônica, adsorção e métodos atuais (como a eletrodialise, nanofiltração, entre outros) mostrados na Figura 3.5, foram desenvolvidos para remover íons de metais pesados de áreas poluídas, que se concentram na redução da biodisponibilidade do metal, transformando o metal pesado em seu estado inativo (AZIMI et al., 2017; FANG et al., 2017).

A eletrodialise é uma técnica de separação que emprega membranas íon-seletivas como agente de separação. Os íons são transportados através das membranas íon-seletivas, de uma solução para outra, por ação do campo elétrico. O campo elétrico atua como força motriz para a migração da espécie e pode promover ou reduzir a migração, remoção e recuperação. Essa técnica possui suas vantagens, mas também desvantagens como grande consumo de energia e baixa seletividade (JUVE et al., 2022).

Já a precipitação química é considerada um método simples, tornando-se um dos mais utilizados para o tratamento de metais pesados. No entanto, esse método gera lodo de baixa densidade, induzindo a poluição secundária. A resina de troca iônica para tratamento de metais pesados tem alta eficiência de remoção, porém a maioria das técnicas é utilizada em meio ácido, limitando sua aplicação (ZAMRI et al., 2017).

Figura 3.5. Métodos físico-químicos para o tratamento de efluentes com metais pesados.



Fonte: Adaptado de AZIMI et al., 2017.

Portanto, os métodos tradicionais de remediação de metais pesados têm várias limitações, incluindo a produção de lodo químico tóxico e não ecologicamente correto além da geração de outros produtos químicos perigosos que, por sua vez, causam poluição. Assim, o custo elevado e o problema de descarte de resíduos associado a esses métodos os tornam inviáveis (VIJAYARAJ et al., 2018; ELAHI et al., 2019; YIN et al., 2019).

Por outro lado, os métodos biológicos para a remediação de metais pesados vêm se mostrando mais apropriados, os quais envolvem o uso de mecanismos e processos biológicos com a utilização de microrganismos vivos ou mortos visando uma tecnologia eficaz e ecologicamente sustentável (ELAHI et al., 2019).

3.4.2 Processos Biológicos

Processos que utilizam microrganismos para o tratamento de efluentes contaminados com metais pesados são caracterizados como biológicos. Esses seres possuem crescimento rápido e se adaptam a condições adversas, os quais têm sido amplamente utilizados em aplicações biotecnológicas como biosorventes.

O uso de biosorventes na remoção de Cr (VI), por exemplo, é uma técnica promissora quando comparada às técnicas convencionais citadas anteriormente. Bactérias, fungos, leveduras, microalgas e cianobactérias desempenham papel importante na biorremediação de solos, águas e efluentes contaminados, pois são ferramentas biotecnológicas de baixo custo para o tratamento de grandes volumes de efluentes (VENDRUSCOLO et al., 2017).

Esses processos biológicos são utilizados para a biorremediação de uma variedade de metais pesados. Dentre eles os principais são a bioacumulação, a biossorção, a fitorremediação e a bioaugmentação, os quais possuem caráter mais ecológico e mais econômicos do que os processos físico-químicos, devido à fácil disponibilidade no meio ambiente (CAI et al., 2019; ALAM et al., 2015; SAAVEDRA et al., 2019).

A biossorção, por exemplo, é um processo físico-químico no qual os metais pesados são removidos da água contaminada por troca iônica, complexação de superfície, quelação e coordenação de íons metálicos usando adsorventes biológicos. Em geral, a biossorção é considerada um método de remediação eficiente, barato e ambientalmente amigável para remoção de metais pesados de águas contaminadas (BILAL et al., 2018; MICHALAK et al., 2013).

Portanto, diversos microrganismos convertem formas ativas de metais pesados para um estágio inativo (YIN et al., 2019). Algumas bactérias e microalgas são potenciais biossorventes de compostos inorgânicos, incluindo metais pesados, devido à sua afinidade elevada e cinética de adsorção rápida (ASLAM et al., 2019; BILAL et al., 2018).

3.4.2.1 Biorremediação por microrganismos

A biorremediação depende de atividades microbianas e tem recebido atenção considerável devido à sua diversidade, versatilidade e adaptabilidade ambiental. Consequentemente, a biorremediação é considerada uma alternativa viável, mais

econômica e ecologicamente correta quando comparada aos processos convencionais, especialmente para o tratamento de baixas concentrações de Cr (VI), 10 - 200 mg/L (SU et al., 2021; TAN et al., 2020; ZHU et al., 2020).

A remediação microbiana de íons de metais pesados é realizada para minimizar sua toxicidade ao meio ambiente e corpos aquáticos, utilizando algas ou bactérias que captam íons metálicos através dos grupos funcionais presentes em sua superfície. Em certos casos, os íons metálicos podem ser transformados de sua forma tóxica para o estágio redox inativo. Como resultado, a toxicidade pode ser eficientemente reduzida pela biorremediação microbiana (UMMALYMA; SINGH, 2021).

A remoção de metais pesados do tratamento de efluentes por biossorção se deve principalmente à ocorrência de muitos grupos funcionais nas paredes celulares de organismos que auxiliam na absorção, degradação e neutralização de elementos tóxicos da água (ZERAATKAR et al., 2016). Dentre esses grupos funcionais, amina, hidroxila, carbonila, sulfidril e fosfonatos são os responsáveis pela adsorção dos metais nos revestimentos viscosos de polissacarídeos bacterianos. Metais como chumbo (II), cromo (IV) e cobre (II) podem ser acumulados via grupos carboxila e amino com a ajuda do deslocamento de prótons (DOBROWOLSKI et al., 2017).

Estudos mostraram que grupos carboxila associados a substâncias poliméricas extracelulares auxiliam na ligação de metais pesados e o bloqueio do grupo carbonila resultou em diminuição na ligação do metal. Durante a protonação, o grupo amina pode ser carregado positivamente e formar complexos metálicos que são carregados negativamente. Esse grupo é geralmente encontrado associado à quitina e polissacarídeos que contribuem para a adsorção do metal (LIU et al., 2017; YUE et al., 2015).

Existem bactérias que possuem a habilidade de modificar o estado redox de um metal para uma forma segura (menos inativa). Elas catalisam essa reação convertendo os metais em metalóides. Assim o tratamento de efluentes contaminados com cromo, por exemplo, consiste na modificação de Cr (VI) para Cr (III) por esses microrganismos, os quais realizam transformações enzimáticas para a remediação do metal pesado (HAN et al., 2017).

A biomassa da bactéria *Arthrobacter viscosus*, foi utilizada para converter Cr (VI) em Cr (III) na água. Quando a concentração inicial de cromo foi inferior a 100 mg/L, 100% de eficiência de remoção foi obtida em pH altamente ácido (HLIHOR et al., 2017).

A bactéria *Afifella marina* foi utilizada para bioremediar mercúrio de efluentes, a qual demonstrou ser resistente a esse metal (MUKKATA et al., 2019). A resistência ao

arsênio em *Rhodopseudomonas palustris* C1 (NOOKONGBUT et al., 2020) e resistência ao chumbo por *Rhodobacter sphaeroides* também foram relatadas nos estudos (LI et al., 2016).

Alguns fatores são cruciais para uma alta eficiência de remoção dos metais pesados e para o bom funcionamento do metabolismo dos microrganismos. Entre esses, se encontram a concentração inicial dos metais desejados para a biorremediação, pH do meio em que esses se encontram, temperatura, tempo de contato e concentração dos biosorventes.

A concentração de metais pode ter caráter inibitório ou estimulante para os microrganismos, sendo determinado pela concentração de íons metálicos, suas formas químicas etc. Já o pH é um fator muito importante, pois quando esse se encontra mais baixo, os metais formam espécies iônicas livres com mais prótons disponíveis para saturar os sítios de ligação do metal e quando mais alto, a superfície do adsorvente é carregada positivamente, o que reduz a interação entre os cátions metálicos e o adsorvente (IGIRI et al., 2018).

Os sítios de ligação ativos e grupos funcionais disponíveis na superfície de biosorventes, são afetados pela concentração inicial de íons metálicos. Assim, concentrações mais altas de metais pesados possuem maior toxicidade para a biomassa bacteriana viva (RATHNAYAKE et al., 2013; FASHOLA et al., 2016, SANKARAMMAL et al., 2014).

Em um estudo de meta-análise, foram avaliadas as eficiências de bioissorção de diferentes cepas bacterianas para Cu (II), Cd (II), Zn (II), Cr (III), Mn (II), Pb (II) e Ni (II). As eficiências da biomassa bacteriana para remoção de metal pesado resultaram que $Cd(II) > Cr(III) > Pb(II) > Zn(II) > Cu(II) > Ni(II) > Mn(II)$. A máxima eficiência de bioissorção das cepas bacterianas para Cd (II), Pb (II) e Zn (II) foi alcançada em valores de pH entre 6 e 7,5 e em altas temperaturas ($>35^{\circ}C$) as eficiências de remoção de Cu (II) e Zn (II) foram reduzidas enquanto as eficiências de íons de Cd (II) e Cr (III) aumentaram (FATHOLLAHI et al., 2021).

3.5 Bactérias púrpuras não sulfurosas

Capazes de biosorver metais pesados, as bactérias são microrganismos pequenos que sobrevivem em condições ambientais adversas e estão abundantemente disponíveis na natureza. Devido à sua alta taxa de multiplicação, tempo de cultivo relativamente curto

e crescimento favoráveis em espaços pequenos, esses seres são vistos como vantajosos para o tratamento de efluentes considerados tóxicos (UMMALYMA; SINGH, 2021).

Dentre os diversos tipos de bactérias, existe uma classe que merece destaque: as bactérias fotossintéticas, as quais são divididas em quatro famílias principais (BLANKENSHIP et al., 1995):

- *Rhodospirillaceae* (bactérias púrpuras não sulfurosas, BPNS);
- *Chromatiaceae* (bactérias púrpuras sulfurosas, BPS);
- *Chlorobiaceae* (bactérias sulfurosas verdes, BSV);
- *Chloroflexaceae* (bactérias de enxofre verde filamentosas deslizantes, BFV);

As bactérias fotossintéticas não são tóxicas e são utilizadas como fertilizantes, ração animal e ingredientes funcionais nas indústrias agrícolas, alimentícias e farmacêuticas (BLANKENSHIP et al., 1995).

Esses microrganismos são os primeiros procariontes com sistema primitivo de síntese de fotoenergia na Terra. Elas têm a capacidade de crescer fototroficamente ao invés de fotossinteticamente, sendo sua característica mais notável o uso da luz como condutor de energia e de compostos orgânicos de carbono, sulfetos (como S^{-2} ou $S_2O_3^{-2}$) ou H_2 como doadores de hidrogênio para fixar CO_2 ou H_2 como doadores de hidrogênio para fixar CO_2 para fotossíntese anoxigênica. Todo o processo não requer H_2O como doador de elétrons, nem libera O_2 (CHEN et al., 2020; PUYOL et al., 2017).

São conhecidos, aproximadamente, cerca de 50 gêneros de bactérias púrpuras, as quais 20 gêneros pertencem à família das BPNS.

As BPS e BPNS diferem entre si quanto ao metabolismo e filogenia. As BPS podem realizar fotoautotrofia de forma mais eficaz em comparação com a fotoheterotrofia, mas não podem crescer no escuro. Já as BPNS conseguem crescer na ausência de luz, pois são capazes de realizar ambos os tipos de vias metabólicas, ou seja, fotoautotrofia e fotoheterotrofia (MADIGAN; JUNG, 2009).

3.5.1 Habitat Natural

As bactérias púrpuras não sulfurosas (BPNS) habitam cerca de 11% dos habitats marinhos. Elas estão amplamente distribuídas nos solos, lodo ativado, pântanos e regiões costeiras (IDRIS, 2014; OVERMANN; GARCIA-PICHEL, 2006).

Habitats considerados incomuns para essas bactérias incluem ambientes quentes, altamente salinos, ácidos e alcalinos. Além disso, fatores como quantidade de luz, concentrações de oxigênio, nutrientes e compostos orgânicos disponíveis no meio são cruciais para o crescimento e desenvolvimento das BPNS.

3.5.2 Pigmentação

As BPNS possuem pigmentos característicos que são conhecidos como bacterioclorofilas e carotenóides. Esses pigmentos auxiliam no reconhecimento macroscópico e na caracterização desses microrganismos além de apontarem sobre as condições operacionais empregadas no cultivo (ASIF et al., 2021).

Esses dois pigmentos são os principais captadores de luz dessas bactérias e desempenham um papel importante na captura e transferência de energia luminosa em energia química para o crescimento dessas. Assim, as condições de luz podem ter grandes efeitos na produção de biomassa de BPNS, carotenoides e bacterioclorofila (CHEN et al., 2006; ZHOU et al., 2015).

As cores desses pigmentos variam de marrom a marrom-avermelhado a vermelho e rosa. Os tipos de bacterioclorofilas incluem a, b, c e d, e cada uma tem comprimento de onda entre 714 e 1050 nm. Os carotenóides são pigmentos captadores de luz que ampliam o espectro de utilização das BPNS, os quais possuem comprimento de onda entre 450 e 550 nm (HUNTER et al., 2009).

3.5.3 Variedade metabólica

As BPNS são capazes de se adaptarem a diversas condições para sobreviver, sendo essa característica um diferencial em relação as outras famílias, tornando-as metabolicamente versáteis. Assim, elas conseguem atuar entre diferentes modos de metabolismo, alternando entre fotoautotrófico a fotoheterotrófico e quimioautotrófico. Predominantemente, elas são fotoheterotróficas em condições anaeróbicas. Nesse modo, elas utilizam compostos orgânicos como doadores de elétrons na presença de luz (ASIF et al., 2021; PORETSKY, 2003). O Quadro 3.7 traz um resumo das características específicas das BPNS e de suas variabilidades metabólicas.

Quadro 3.7. Principais características das bactérias púrpuras não sulfurosas (BPNS).

Itens	<i>Rhodospirillaceae</i> (bactérias púrpuras não sulfurosas - BPNS)
Habitats típicos	Efluentes orgânicos (lagoas de resíduos, esgoto), solo, ambiente rico em substâncias orgânicas, pântanos e regiões costeiras
pH ideal	Ampla faixa, de 6,0 a 9,0
Temperatura	25 – 30°C
Tipos de Bacterioclorofilas (Bchls)	Bchls a,b
Metabolismo	Fotoautotrofia/ Mixotrofia/ Fotoheterotrofia/ Heterotrofia
Vias metabólicas do carbono	Ciclo de três ácidos carboxílicos (TAC) Entner-Doudoroff (ED) Via Embden-Meyerhof-Parnas (EMP)
Demanda de iluminação-oxigênio	Luz-anaeróbio/ luz-microaeróbio/ luz-aeróbio/ escuro-aeróbio/ escuro-anaeróbio
Fonte de carbono	Todos os tipos de carbono orgânico de ácido graxo volátil molecular pequeno
Doador de hidrogênio	Todos os tipos de carbono orgânico
Doador de elétrons	Matérias inorgânicas: não pode utilizar S; Matérias orgânicas: ácidos graxos de moléculas pequenas, etanol
Utilização de S	Não pode utilizar S
Sensibilidade	Sensível ao H ₂ S
Gêneros típicos de bactérias	<i>Rhodospirillum</i> , <i>Rhodopseudomonas</i> , <i>Rhodobacter</i>
Forma e motilidade	Varetas, esféricas e móveis

Fonte: Adaptado de LU et al., 2019.

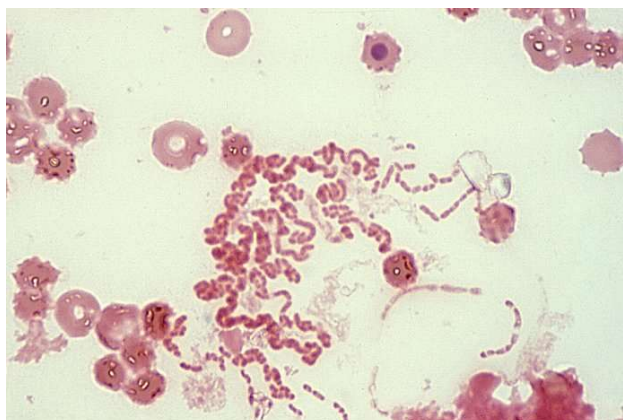
3.5.4 *Rhodobacter capsulatus* e *Rhodospirillum rubrum*

As bactérias púrpuras não sulfurosas, *Rhodobacter capsulatus* e *Rhodospirillum rubrum* foram utilizadas no presente estudo para a remoção de metais pesados.

A *Rhodobacter capsulatus* é uma bactéria Gram-negativa púrpura não-sulfurosa. Segundo [Madigan & Jung \(2009\)](#), a *R. capsulatus*, Figura 3.6, é considerada versátil, devido a sua variedade metabólica alternando-se facilmente de acordo com seus ambientes. Esta espécie cresce fototroficamente utilizando compostos orgânicos na presença de luz. Ela muda seu metabolismo para quimiotrofia e fermentação em condições escuras.

No modo de crescimento fotoheterotrófico, a *R. capsulatus* pode converter pequenos ácidos orgânicos em biohidrogênio pela atividade da enzima nitrogenase ([SAĞIR et al., 2018](#)). A principal função da nitrogenase é fixar o nitrogênio molecular em amônia e o hidrogênio é gerado como subproduto dessa reação. Na ausência de nitrogênio molecular, no entanto, a nitrogenase produz exclusivamente hidrogênio ([MCKINLAY; HARWOOD, 2010](#)).

Figura 3.6. Células da bactéria *Rhodobacter capsulatus*, em vista microscópica.

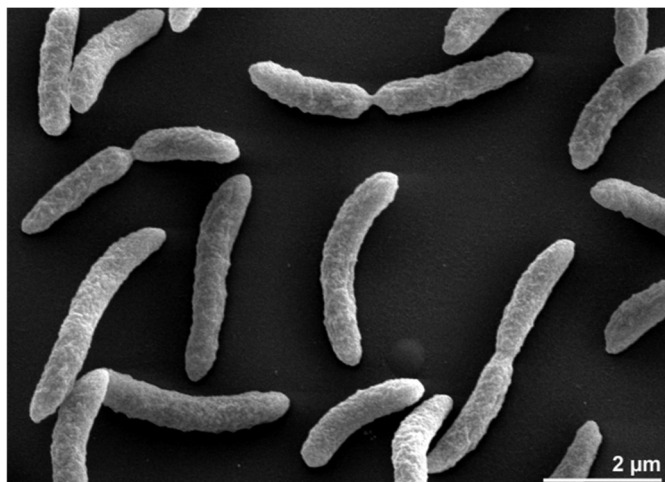


Fonte: Microbewiki, 2010.

De acordo com [Munk et al. \(2011\)](#), as células bacterianas da espécie *Rhodospirillum rubrum*, do gênero *Rhodospirillum*, que é o gênero da família *Rhodospirillaceae* na classe *Alphaproteobacteria* são caracterizadas como Gram-negativa, móveis, vibrióides e curtas em forma de espiral com um tamanho de 0,8-1 μm , conforme exibe a Figura 3.7. As colônias são de cor púrpura porque as células contêm um pigmento carotenóide necessário para coletar energia luminosa para a fotossíntese. Essa bactéria não produz oxigênio, mas enxofre elementar como subproduto da fotossíntese, utilizando a bacterioclorofila, que permite a absorção de luz em comprimentos de onda maiores que os absorvidos pelas plantas.

A *Rhodospirillum rubrum*, é uma bactéria anaeróbia facultativa. Sendo assim, dependendo da presença de oxigênio, pode sofrer fermentação alcoólica ou respiração aeróbica. Por isso, ela pode ser encontrada em muitos ambientes aquáticos naturais, como lagoas, lagos, riachos e água parada (RESLEWIC et. al, 2005).

Figura 3.7. Micrografia eletrônica de varredura de *R. rubrum* S1T gerada a partir de uma cultura de DMS 467.



Fonte: Munk et al, (2011).

3.5.5 Aplicações biotecnológicas e mecanismos de biorremediação

Os microrganismos são capazes de remover metais pesados presentes em efluentes por diversas maneiras. O mecanismo utilizado pelas bactérias fototróficas para a remoção de partículas metálicas é o processo de bioissorção e bioacumulação. Algumas podem usar mais de um mecanismo para a remoção de partículas metálicas. O tipo de mecanismo a ser utilizado pelo organismo depende das propriedades do íon metálico ao qual se apresenta no meio (TALAIEKHOZANI; REZANIA, 2017).

Em um estudo, a bactéria gram-negativa, púrpura não sulfurosa, *Rhodobacter sphaeroides*, atraiu considerável interesse para remediação pois demonstrou ter crescimento com respiração aeróbia ou anaeróbia e fotossíntese anoxigênica ou fermentação (ITALIANO et al., 2012; SU et al., 2021).

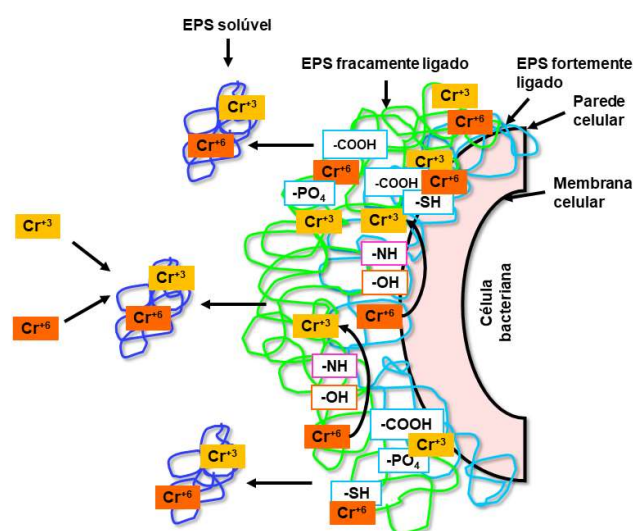
Sendo assim, diversas bactérias exibem uma série de mecanismos para superar o estresse induzido pelos metais, a fim de garantir sua sobrevivência. Esses mecanismos incluem bioissorção, bioacumulação, biotransformação, efluxo, redução enzimática,

redução não enzimática, precipitação, ligação citosólica, formação de biofilme etc. (BANERJEE et al., 2019).

Dentre esses mecanismos para remoção do metal pesado, a superfície celular é o primeiro local de interação para várias moléculas presentes no entorno da célula. Também serve como a primeira linha de defesa contra o ambiente externo e transmite sinais dentro da célula. O envelope da célula bacteriana contém várias moléculas, como lipopolissacarídeos aniônicos (LPS), fosfolipídios e proteínas de membrana. Bactérias gram-negativas podem reduzir eficientemente Cr^{+6} extracelularmente em comparação com bactérias gram-positivas devido à presença de lipopolissacarídeos, lipoproteínas e fosfolipídios na membrana externa (FAISAL; HASNAIN, 2004).

Outro mecanismo de defesa das bactérias na presença de ambientes tóxicos é conhecido como exopolissacarídeo (EPS). O exopolissacarídeo é composto principalmente de proteínas e carboidratos, ácidos nucleicos, lipídios, lipoproteínas, glicoproteínas, lipopolissacarídeos, fosfolipídios, ácido urônico e ácido húmico (VU et al., 2009; CHUG et al., 2016). A proteína e o polissacarídeo presentes no EPS, conforme na Figura 3.8, atuam como um doador de elétrons durante a redução do Cr^{+6} pela enzima extracelular. O EPS imobiliza o Cr^{+3} após a redução por meio de seus grupos funcionais carregados negativamente, como carboxil e hidroxil (YU et al., 2019).

Figura 3.8. Interação do $\text{Cr}^{+3}/\text{Cr}^{+6}$ com diferentes exopolissacarídeos (EPS).



Fonte: Adaptado de Pushkar et al. 2021.

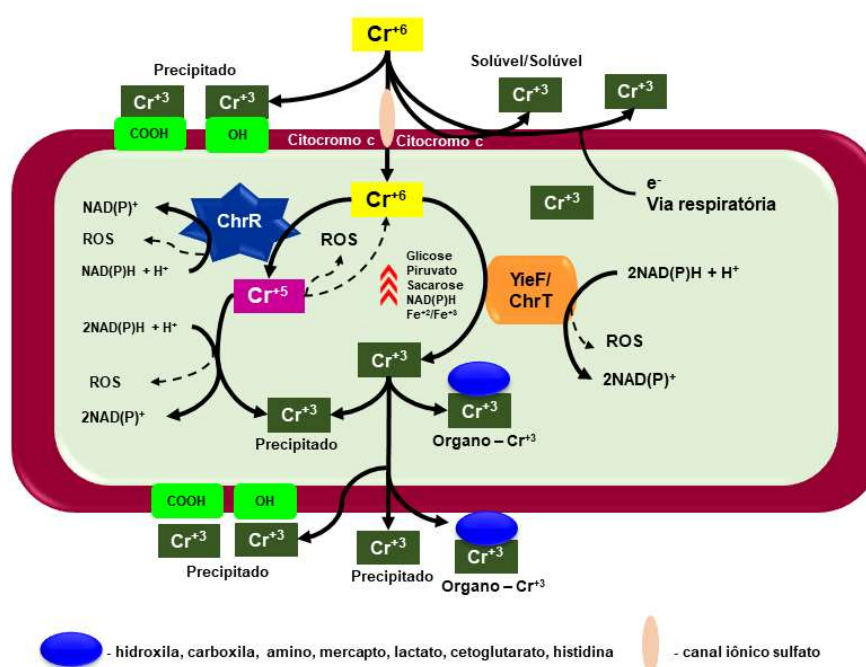
O processo de biorredução em bactérias envolve a presença da enzima redutase do cromo, sendo que existem dois tipos: a redutase associada à membrana e a redutase

intracelular, dependendo da localização que ocorre a redução do cromo. A redutase associada à membrana envolve canais de transporte de sulfato disponíveis na superfície bacteriana, a qual é responsável pelo transporte do íon Cr^{+6} no citoplasma, e durante o processo de transporte, ocorre a redução do Cr^{+6} em Cr^{+3} no envelope celular, conforme a Figura 3.9 (LI et al., 2019). O tempo de redução do cromo aumenta com o aumento da concentração de cromo, o que pode ser devido à saturação da enzima (JEYASINGH; PHILIP, 2005).

As etapas presentes na redução do cromo intracelular são:

- Bioissorção de cromo na superfície celular: O Cr^{+6} disponível no meio é adsorvido na superfície celular bacteriana através dos grupos funcionais como alceno, amina, amida e outros;
- Transporte de Cr^{+6} : o Cr^{+6} existe na forma iônica tetraédrica CrO_4^{2-} que é semelhante a ânions fisiologicamente importantes, como SO_4^{2-} e PO_4^{2-} , sendo transportado via canal SO_4^{2-} e PO_4^{2-} ;
- Redução de Cr^{+6} : o Cr^{+6} intracelular é reduzido a Cr^{+3} por moléculas citosólicas;
- Bioacumulação de Cr^{+3} : o Cr^{+3} reduzido sofre acúmulo no citosol (KARTHIK et al., 2017);

Figura 3.9. Etapas de assimilação do enxofre e redução do cromo (VI) na bactéria.

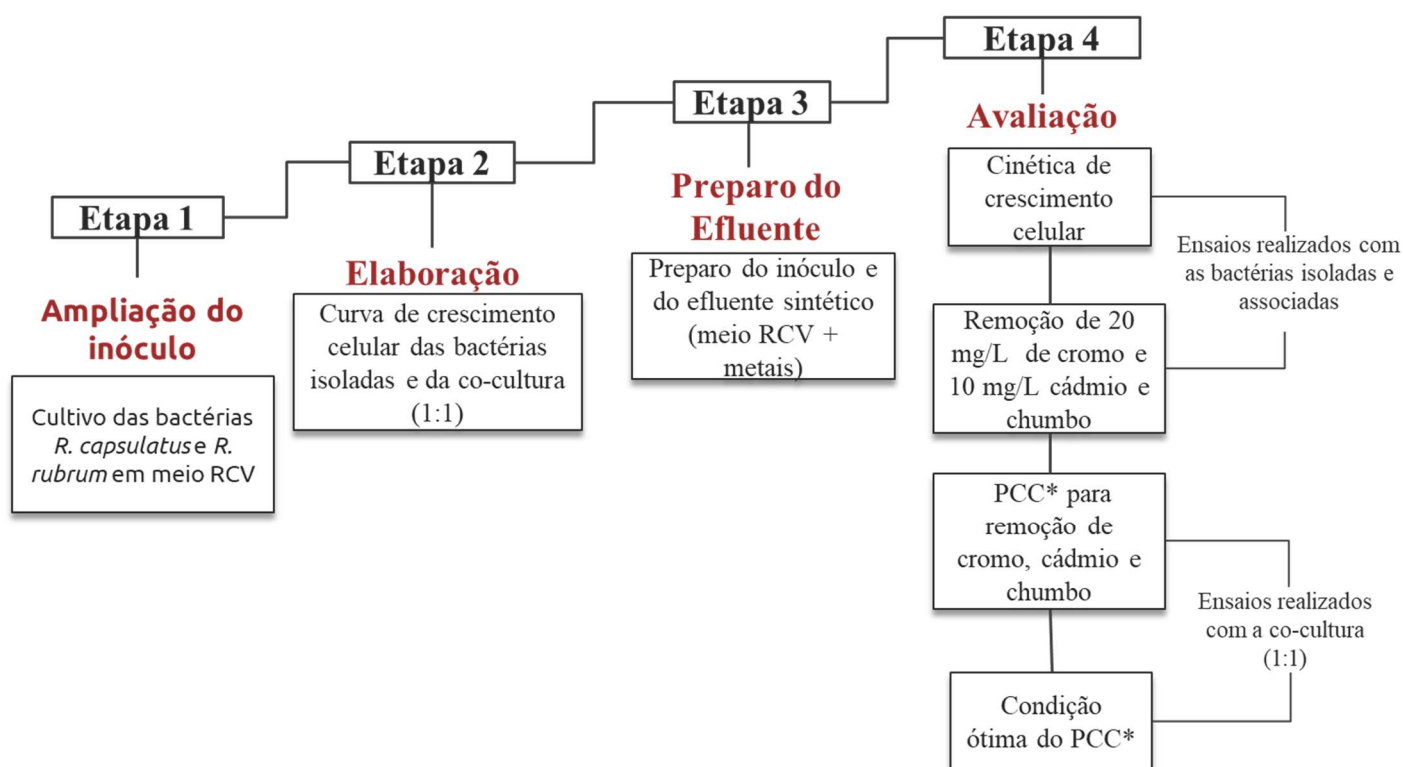


Fonte: Adaptado de Thorgersen et al., 2017.

CAPÍTULO 4 – MATERIAIS E MÉTODOS

Neste capítulo foram especificados os materiais, procedimentos e as variáveis envolvidas para a biorremediação dos metais pesados, cromo, cádmio e chumbo, utilizando as bactérias púrpuras não sulfurosas, *Rhodobacter capsulatus* e *Rhodospirillum rubrum*. No fluxograma representado na Figura 4.1 estão as etapas desenvolvidas no trabalho.

Figura 4.1. Fluxograma das etapas desenvolvidas no trabalho.



*PCC: Planejamento Composto Central.

4.1 Bactéria e meio de cultivo

As bactérias púrpuras não sulfurosas, *Rhodobacter capsulatus* DSM 1710 e *Rhodospirillum rubrum* DSM 467, foram adquiridas do banco alemão DSMZ (*German Collection of Microorganisms and Cell Culture*) e mantidas em meio basal RCV (WEAVER et al., 1975). O meio RCV é composto pelos reagentes apresentados na Tabela 4.1, enquanto os componentes da solução de micronutrientes encontram-se na Tabela 4.2. Após a dissolução dos reagentes em água destilada, o pH do meio basal foi ajustado para $6,8 \pm 0,2$ com NaOH (1N) e, em seguida, esterilizado a 121 ± 1 °C, a 1 kgf/cm² por 20 minutos.

Tabela 4.1. Componentes do meio RCV.

Reagentes	Concentração (g/L)
Ácido Málico - $C_4H_6O_5$	4,02
Fosfato de potássio monobásico - KH_2PO_4	0,60
Fosfato de potássio dibásico - K_2HPO_4	0,90
Sulfato de magnésio - $MgSO_4 \cdot 7H_2O$	0,12
Cloreto de cálcio - $CaCl_2 \cdot 2H_2O$	0,075
Glutamato monossódico – $C_5H_8NO_4Na$	1,31
EDTA sal dissódico - $C_{10}H_{14}N_2Na_2O_8 \cdot 2H_2O$	0,02
Tiamina	0,001
Micronutrientes	1 mL

Tabela 4.2. Componentes da solução de micronutrientes utilizada no meio RCV.

Reagentes	Concentração (g/L)
Ácido bórico - H_3BO_3	2,80
Sulfato de manganês - $MnSO_4 \cdot H_2O$	1,59
Molibdato de sódio - $NaMoO_4 \cdot 2H_2O$	0,75
Sulfato de zinco - $ZnSO_4 \cdot 7H_2O$	0,24
Cloreto de cobre (II) - $CuCl_2 \cdot 2H_2O$	0,05

4.2 Cultivo do inóculo da bactéria

As bactérias foram cultivadas em frascos reagentes de 500 mL, Figura 4.2, mantidos em câmara de germinação sob temperatura de 30 ± 2 °C e iluminação de 2400 lux.

Os repiques das bactérias púrpuras não sulfurosas, *R. capsulatus* e *R. rubrum*, foram realizados no fluxo laminar a cada 10 dias. O procedimento consistiu em descartar uma fração do volume do inóculo e fazer a reposição, da mesma quantidade retirada, com

meio RCV fresco. O conteúdo do frasco foi, em seguida, borbuhlado com gás argônio por 3 min para conservar as células em condições de anaerobiose.

Figura 4.2. BPNS, *R. rubrum* (direita) e *R. capsulatus* (esquerda) cultivadas em frascos



reagente de 500 mL a 2400 lux.

4.3 Fonte de cromo, cádmio e chumbo

O efluente sintético dos experimentos realizados para remoção dos metais pesados utilizou como fonte de cromo hexavalente o dicromato de potássio ($K_2Cr_2O_7$), de cádmio o cloreto de cádmio ($CdCl_2$) e de chumbo o acetato de chumbo $Pb(C_2H_3O_2)_2$. Diferentes volumes das soluções de 1000 mg/L preparadas com os reagentes citados foram adicionados ao meio de cultura, descrito na Tabela 4.2, para gerar os efluentes sintéticos com as concentrações desejadas de cada metal mantendo o pH em 6,8. O meio foi esterilizado a uma temperatura de 121 ± 1 °C, a 1 atm por 20 minutos.

4.4 Bioprocesso empregado na recuperação do efluente

Para a realização das fermentações dos experimentos com as concentrações do ponto central foi fixada uma concentração inicial de inóculo das bactérias *R. capsulatus*, *R. rubrum* e da co-cultura (1:1) de 0,5 g/L. Posteriormente, para as fermentações do planejamento experimental e para a validação do ponto ótimo, foi utilizada uma concentração celular de 1 g/L das bactérias associadas (co-cultura).

O inóculo da bactéria utilizado nos experimentos foi obtido após 5 dias do procedimento do repique. A biomassa da bactéria foi inoculada em câmara de fluxo laminar utilizando reatores batelada de 500 mL (erlenmeyers) esterilizados a uma temperatura de 121 ± 1 °C, a 1 atm por 20 minutos, sendo o volume reacional de 400 mL. Após a inoculação das células no efluente sintético contendo as concentrações desejadas de cromo, cádmio e chumbo, os reatores foram dispostos em estufa a temperatura de 30 ± 2 °C sob iluminação contínua utilizando-se lâmpadas dimerizáveis a 5670 lux – intensidade luminosa ideal conforme estudo realizado por [Souza \(2021\)](#).

Na Tabela 4.3, são apresentados os experimentos desenvolvidos bem como suas respectivas condições avaliadas.

Tabela 4.3. Sumarização dos experimentos desenvolvidos.

Experimento	Avaliação
1	Cinética de crescimento celular para <i>R. rubrum</i> , <i>R. capsulatus</i> e co-cultura
2	Remoção de cromo, cádmio e chumbo pela <i>R. rubrum</i> , <i>R. capsulatus</i> e co-cultura
3	Planejamento Composto Central (PCC) com a co-cultura
4	Remoção dos metais (condição ótima do PCC) pela co-cultura

Os experimentos tiveram duração de 216 horas e foram realizados em duplicata. Além disso, para garantir a condição de anaerobiose nas fermentações foi purgado gás argônio durante 3 minutos após a coleta das amostras. Na Figura 4.3, observa-se a fotofermentação das bactérias empregadas para a remoção dos metais, cromo, cádmio e chumbo no efluente sintético.

Figura 4.3. Fotofermentação realizada com a co-cultura (*R. rubrum* : *R. capsulatus*) inoculada no efluente sintético.



Diariamente foram coletadas 5 mL de amostra do meio fermentescível para a determinação da concentração celular e para a determinação de cromo hexavalente e nos intervalos de 0, 72, 144 e 216 horas de experimento, as coletas consistiram em 30 mL de amostra, as quais foram centrifugadas a 8.000 rpm por 10 minutos para a análise dos metais presentes no meio. Ademais, para a análise da síntese de pigmentos (bacterioclorofila e carotenóides), foram coletadas 20 mL do meio fermentescível no início (0 horas) e no final da fermentação (216 horas).

4.5 Metodologia Analítica

4.5.1 Determinação do crescimento celular

A curva de calibração foi construída realizando-se duas etapas. A primeira consistiu na coleta de 20 mL de amostra do inóculo bacteriano e centrifugação dessa a 8000 rpm durante 20 minutos. Em seguida o sobrenadante foi descartado e o sedimento ressuspensionado com a mesma quantidade de água destilada para a remoção de possíveis impurezas e sais presentes do meio. Esse procedimento de lavagem das células foi feito duas vezes, no qual em cada uma houve a centrifugação da amostra para a separação das células do sobrenadante. Posteriormente, o sedimento foi transferido para um cadinho de porcelana previamente calcinado em mufla a 550°C e pesado (P_0). Por conseguinte, estas cápsulas foram mantidas na estufa a uma temperatura de 110 ± 1 °C, até a estabilidade do peso. Após essa etapa, as cápsulas foram destinadas a um dessecador para esfriarem e em

seguida foram pesadas. A próxima etapa consistiu em calcinar a amostra celular em mufla a uma temperatura de $550 \pm 1^\circ\text{C}$ por um período de 30 minutos, consequentemente foram levadas a um dessecador para seu resfriamento, sendo novamente pesadas.

Em seguida, com a massa de sólidos voláteis e a partir do volume da amostra coletada inicialmente, foi obtida a concentração de células em g/L. Em paralelo, alíquotas foram coletadas da mesma solução mãe das bactérias isoladas e foram preparadas diferentes diluições (1:5; 1:7,5; 1:10; 1:12,5; 1:15 e 1:20), na qual para cada uma das soluções diluídas fez-se a leitura da absorbância em Espectrofotômetro de UV-Visível da marca Shimadzu modelo UVmini-1240 a um comprimento de onda de 660 nm (OD_{660}), para *R. capsulatus* e *R. rubrum*. O mesmo procedimento foi realizado com solução mãe preparada com a associação (1:1) das culturas *R. capsulatus*: *R. rubrum*, obtendo-se assim com os valores as curvas de concentração celular para as bactérias isoladas e para a co-cultura.

Para o branco foi usado água destilada. As curvas de calibração obtidas são apresentadas nas equações 4.1 a 4.3.

$$\text{Concentração celular } \left(\frac{\text{g}}{\text{L}}\right) = 0,4592 * \text{OD}_{660} - 0,0281 \quad R^2 = 0,9969 \quad (R.\text{capsulatus}) \quad (4.1)$$

$$\text{Concentração celular } \left(\frac{\text{g}}{\text{L}}\right) = 0,5397 * \text{OD}_{660} - 0,0133 \quad R^2 = 0,9988 \quad (R.\text{rubrum}) \quad (4.2)$$

$$\text{Concentração celular } \left(\frac{\text{g}}{\text{L}}\right) = 0,5221 * \text{OD}_{660} - 0,0114 \quad R^2 = 0,9978 \quad (\text{Co-cultura}) \quad (4.3)$$

Assim, após obtenção das curvas, a quantificação do crescimento celular das bactérias foi realizada centrifugando, inicialmente, a amostra desejada a 8.000 rpm por 10 minutos a fim de separar o sobrenadante das células. Após o descarte do sobrenadante e a lavagem com água destilada do sedimento de bactéria formado, foi acrescentado novamente água destilada ao mesmo volume da solução inicial, com o objetivo de adquirir uma suspensão bacteriana. A partir dessa suspensão, o crescimento celular foi determinado pela análise da absorbância no espectrofotômetro a um comprimento de onda de 650 nm.

4.5.2 Determinação do cromo hexavalente

A quantificação da concentração de cromo hexavalente foi determinada pelo método colorimétrico utilizando o reagente difenilcarbazida e o uso do espectrofotômetro, com leitura de absorbância a 540 nm conforme a metodologia de [APHA \(2005\)](#). A curva de calibração obtida através das diluições contendo concentrações de cromo hexavalente entre 0,1 e 1,0 (mg/L) é representada na Equação 4.4.

$$\text{Cr (VI)} \left(\frac{\text{mg}}{\text{L}} \right) = 1,3338 * \text{OD}_{540} \quad R^2 = 0,9992 \quad (4.4)$$

4.5.3 Determinação do cromo total, cádmio e chumbo

A quantificação das concentrações de cromo total, cádmio e chumbo foi determinada por espectrometria de absorção atômica em chama, realizada no equipamento da marca Shimadzu, modelo AA-7000 (Figura 4.4). As curvas de calibração utilizadas para determinação das concentrações dos metais foram obtidas por meio de diluições das soluções padrões comerciais da SpecSol de cada metal com água deionizada. Em seguida, as amostras que foram submetidas para leitura no equipamento foram diluídas de acordo com o range das curvas de calibração para o cromo, cádmio e chumbo.

Figura 4.4. Espectrofotômetro de Absorção Atômica.



Fonte: Autoria Própria, 2023.

4.5.4 Determinação do pH

As medidas de pH foram realizadas com a utilização do pHmetro digital PG 2.000 da marca GEHAKA. O equipamento é composto por um eletrodo de vidro para medição de pH, o qual era previamente calibrado com soluções tampões pH 4 e pH 7.

4.5.5 Determinação da bacterioclorofila

Para a quantificação da bacterioclorofila, uma suspensão de 20 mL de amostra foi coletada e centrifugada a 8.000 rpm por 10 minutos, o sobrenadante foi descartado e lavado com água destilada, em seguida, o sedimento obtido foi ressuspensão em uma solução de acetona-metanol (7:2 V/V) a um volume de 10 mL (QI et al., 2017). O processo de abrasão foi realizado em agitador tipo vórtex utilizando pérolas de vidro, sendo empregado 1,1 g de pérola de vidro com diâmetro entre 0,6 e 0,8 mm para cada mililitro de suspensão celular. A suspensão foi agitada por 40 minutos, sendo que a cada 5 minutos sob agitação contínua foi realizado um intervalo de 2 minutos de repouso em banho de gelo, obtendo-se o extrato bruto com célula. Em seguida, o extrato foi analisado em espectrofotômetro a 771 nm. O conteúdo de bacterioclorofila (mg/mL) foi calculado de acordo com a Equação 4.5:

$$\text{Produção de Bacterioclorofila} \left(\frac{\text{mg}}{\text{L}} \right) : \frac{A_{771} * V_1 * N}{760 * V_2} \quad (4.5)$$

Sendo que A_{771} corresponde a absorbância do extrato a 771 nm, V_1 consiste no volume do extrato obtido, N compreende a razão de diluição, V_2 é o volume da amostra inicial e 760 representa o coeficiente de extinção da bacterioclorofila (WANG et al., 2017).

4.5.6 Determinação dos carotenoides

Para a quantificação de carotenoides, uma suspensão de 20 mL de células foi coletada e centrifugada a 10.000 rpm por 20 minutos, em seguida, o sobrenadante foi descartado e o sedimento foi submetido por duas vezes à lavagens com água destilada. Após a lavagem, as células foram secas a 65 °C até atingir peso constante. Para fins de

ruptura celular, foi acrescentado 10 mL de uma solução de HCl (3 mol/L) a 28 °C às células secas que foram submetidas a agitação por meio de uma mesa agitadora tipo *Shaker* a 100 rpm por 1,5 h, e, novamente, centrifugadas a 10.000 rpm por 20 minutos. O sobrenadante foi descartado e, posteriormente, foi adicionado 10 mL de acetona ao sedimento celular. Desta forma, a extração de carotenoides foi realizada através de agitação por meio de uma mesa agitadora tipo *Shaker* a 100 rpm por 30 min a 28 °C (WEN; JONG; CHENXI, 1993). O extrato de carotenoides foi obtido por centrifugação a 10.000 rpm por 20 minutos e determinado por espectrofotômetro a 473 nm. O conteúdo de carotenoides (mg/L) foi calculado conforme a Equação 4.6:

$$\text{Produção de Carotenoides } \left(\frac{\text{mg}}{\text{L}} \right) = \frac{A_{473} \cdot V_3 \cdot N \cdot 10}{2500 \cdot V_4} \quad (4.6)$$

Sendo que A_{473} compreende a absorbância da solução de extrato diluído a 473 nm, V_3 é o volume do extrato obtido, N consiste na razão de diluição e V_4 corresponde ao volume da amostra inicial e 2.500 representa o coeficiente de extinção do carotenoide (WANG et al., 2017).

4.5.7 Eficiência de remoção de cromo hexavalente e total, cádmio e chumbo

O cálculo para a porcentagem de remoção dos metais, cromo hexavalente, cromo total, cádmio e chumbo, foi calculado a partir da Equação 4.7 (PULIT et al., 2018):

$$R [\%] = \frac{C_0 - C_f}{C_0} * 100 \quad (1)$$

Onde C_0 e C_f são a concentração inicial e final do metal na solução (mg/L), respectivamente.

4.5.8 Delineamento Composto Central

O Delineamento Composto Central (DCC) é proposto para a geração de modelos quadráticos devido à ampliação natural do planejamento fatorial com ponto central, o qual pode ser realizado em uma primeira etapa. O valor de α depende de certas propriedades

desejáveis para o planejamento e da possibilidade de realização de experimentos ao longo do domínio experimental (BREITKREITZ; SOUZA; POPPI, 2014).

Um DCC de 3 variáveis, 6 pontos axiais e 3 pontos centrais (para determinar erro experimental), por exemplo, terá 17 experimentos. Em relação aos resultados obtidos nos testes preliminares, elaborou-se um DCC 2^3 . Os parâmetros avaliados foram: concentração inicial de cromo, cádmio e chumbo. Na Tabela 4.4 estão os valores para os níveis adotados e seus fatores.

Tabela 4.4. Níveis adotados para as variáveis do Delienamento Composto Central 2^3 .

Variáveis	Níveis				
	$-\alpha$	-1	0	+1	$+\alpha$
Cromo (mg/L)	-0,2	8,0	20,0	32,0	40,2
Cádmio (mg/L)	-0,1	4,0	10,0	16,0	20,1
Chumbo (mg/L)	-0,1	4,0	10,0	16,0	20,1

A Tabela 4.5 apresenta os valores reais e codificados das variáveis: concentração inicial de cromo (X_1), concentração inicial de cádmio (X_2) e concentração inicial de chumbo (X_3) para o planejamento.

Tabela 4.5. Matriz do planejamento composto central 2^3 com os valores codificados e decodificados das variáveis dependentes.

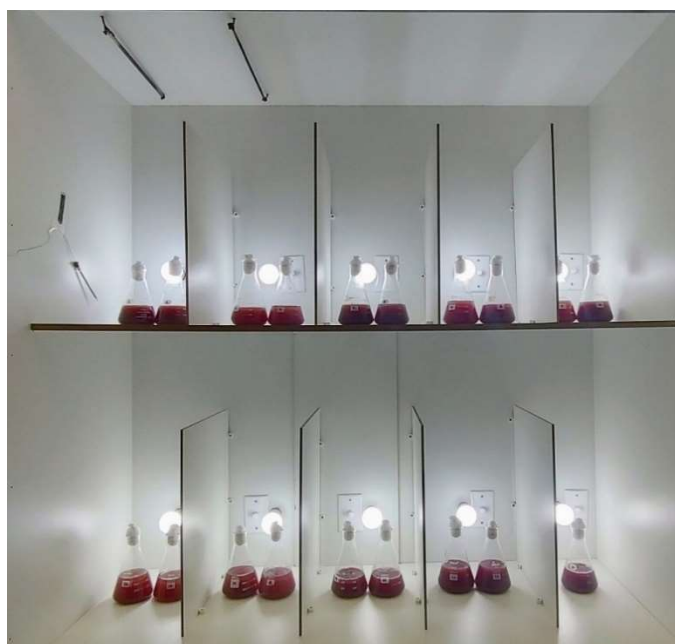
Experimento	Variáveis Independentes		
	Cromo (mg/L) (X_1)	Cádmio (mg/L) (X_2)	Chumbo (mg/L) (X_3)
1	8.0 (-1)	4.0 (-1)	4.0 (-1)
2	8.0 (-1)	4.0 (-1)	16.0 (+1)
3	8.0 (-1)	16.0 (+1)	4.0 (-1)
4	8.0 (-1)	16.0 (+1)	16.0 (+1)
5	32.0 (+1)	4.0 (-1)	4.0 (-1)
6	32.0 (+1)	4.0 (-1)	16.0 (+1)
7	32.0 (+1)	16.0 (+1)	4.0 (-1)
8	32.0 (+1)	16.0 (+1)	16.0 (+1)
9	-0.2 ($-\alpha$)	10.0 (0)	10.0 (0)

10	40.2 (+ α)	10.0 (0)	10.0 (0)
11	20.0 (0)	-0.1 (- α)	10.0 (0)
12	20.0 (0)	20.1(+ α)	10.0 (0)
13	20.0 (0)	10.0 (0)	-0.1 (- α)
14	20.0 (0)	10.0 (0)	20.1 (+ α)
15 (C)	20.0 (0)	10.0 (0)	10.0 (0)
16 (C)	20.0 (0)	10.0 (0)	10.0 (0)
17 (C)	20.0 (0)	10.0 (0)	10.0 (0)

Os 17 experimentos realizados para o planejamento composto central 2³ foram realizados pelas fotofermentações, Figura 4.5, cada uma contendo o efluente sintético com suas respectivas concentrações iniciais de cromo, cádmio e chumbo (conforme descrito na tabela acima) acrescido do meio RCV e de 1g/L de concentração celular da co-cultura (*Rhodobacter capsulatus*: *Rhodospirillum rubrum*).

Com isso, após 216 horas de fermentação, as amostras coletadas de cada Erlenmeyer foram centrifugadas a 8000 rpm por 10 minutos, a fim de separar o sobrenadante contendo os metais presentes no meio. Após feito isso, a concentração de cada metal foi analisada no Espectrofotômetro de Absorção Atômica e a remoção dos metais foi quantificada segundo descrito na Equação 4.7.

Figura 4.5. Experimentos realizados para o planejamento composto central.



Condições operacionais: Temperatura $30 \pm 2^\circ\text{C}$; condição anaeróbia; bactérias inoculadas em meio RCV + as concentrações de metais descritas pelo planejamento para cada experimento (efluente sintético); $\text{pH}_{\text{inicial}} \sim 6,8$; iluminação constante de **5670 lux** e duração da fermentação de **216 horas**.

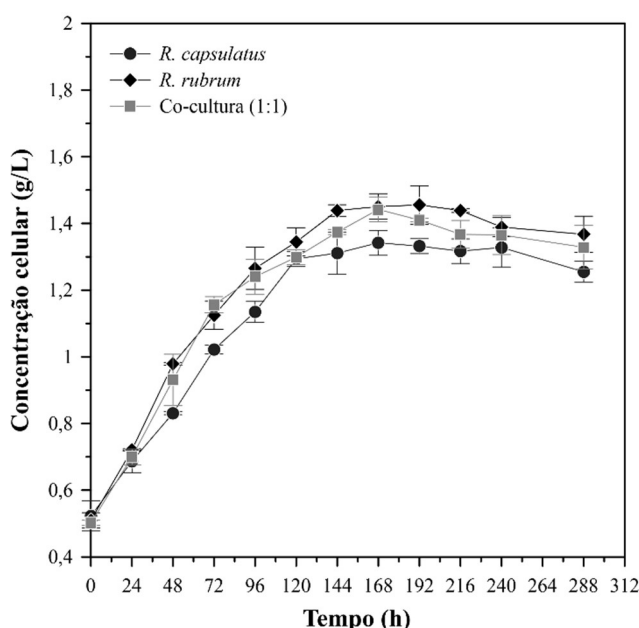
CAPÍTULO 5 - RESULTADOS E DISCUSSÕES

Neste tópico, foi abordado o detalhamento dos resultados obtidos avaliando o crescimento celular, a remoção de cromo hexavalente, cromo total, cádmio e chumbo e a síntese de pigmentos (bacterioclorofila e carotenoides), a fim de se investigar a potencialidade do uso das bactérias *Rhodobacter capsulatus*, *Rhodospirillum rubrum* e da co-cultura (1:1) no tratamento de efluentes.

5.1 Experimento 1 - Avaliação da cinética de crescimento celular

Inicialmente foi avaliado a cinética de crescimento celular de cada bactéria, *Rhodobacter capsulatus* e *Rhodospirillum rubrum* e da associação entre elas na proporção de 1:1. Para compreensão da produção de biomassa por essas ao longo da fermentação, são apresentadas as curvas de crescimento na Figura 5.1.

Figura 5.1. Cinética de crescimento celular das bactérias *R. capsulatus*, *R. rubrum* e da co-cultura (1:1) nas condições de cultivo dos inóculos.



Condições operacionais: Temperatura $30 \pm 2^\circ\text{C}$; condição anaeróbia; bactérias inoculadas em meio RCV; $\text{pH}_{\text{inicial}} \sim 6,8$; iluminação constante de **2400 lux** e duração da fermentação de **288 horas**.

De acordo com a Figura 5.1 a concentração celular final para a *R. rubrum*, *R. capsulatus* e co-cultura (1:1), nas condições de cultivo dos inóculos, foi de 1,37, 1,25 e 1,33 g/L, respectivamente. Assim em comparação com o valor inicial estipulado de 0,5 g/L de células, tanto as bactérias cultivadas isoladamente, quanto associadas na mesma proporção tiveram aumento celular, resultando em 173% para *R. rubrum*, 151% para *R. capsulatus* e 165% para co-cultura (1:1).

Observando o comportamento do crescimento de cada cultura, foi possível concluir que para as três fermentações realizadas as células bacterianas tiveram comportamento exponencial de crescimento em até 120 horas de experimento. Após esse período, as bactérias inoculadas isoladas e associadas começaram a entrar na fase estacionária.

Segundo [Tuchman et al. \(1979\)](#) alguns microrganismos que vivem em locais de lagos quentes com temperatura de 30,5°C, possuem uma taxa de crescimento maior em comparação com espécies semelhantes que vivem em locais com 27,5°C ou 23,1°C. Essa característica foi verificada no presente estudo, pois quando as bactérias foram cultivadas em locais com temperaturas na faixa de $30 \pm 2^\circ\text{C}$, foi possível notar que a produção de biomassa foi maior em relação ao cultivo dessas em temperaturas abaixo de 20°C. No Quadro 3.7, por exemplo, a temperatura ideal para as bactérias *R. capsulatus* e *R. rubrum* – BPNS – está entre 25 e 30°C ([LU et al, 2019](#)).

Logo, é interessante ressaltar que quando as bactérias fotossintéticas, utilizadas no presente trabalho, foram submetidas a iluminação de 2400 lux e cultivadas no meio RCV, essas tiveram produção acima de 150% em relação ao valor celular inicial. No trabalho de [Zhou et al. \(2015\)](#), a bactéria fotossintética *Rhodopseudomonas* (CP001151.1) foi utilizada para avaliar sua potencialidade na produção de biomassa. Nos experimentos com condições de 2000 lux de intensidade luminosa, a temperatura de 26 -30°C e pH 7,0, a bactéria atingiu 2,07 g/L de biomassa, chegando a aumentar a concentração celular acima de 200% em relação ao valor inicial. Assim, tanto as bactérias deste presente estudo (*Rhodobacter capsulatus* e *Rhodospirillum rubrum*) quanto a *Rhodopseudomonas* (CP001151.1) apresentaram aumento na produção de biomassa sob cultivo nas condições descritas para cada pesquisa.

A maioria das bactérias fotossintéticas são cultivadas em uma faixa de pH entre 6,8 e 8,5 e a área de adaptação é mais estreita com diferentes espécies. Estudos mostraram

que elas têm ótimo desempenho quando o pH inicial está em torno de 7,0, seja pela degradação do poluente ou pelo acúmulo de biomassa (CHEN et al., 2020).

5.2 Experimento 2 - Avaliação da remoção de cromo hexavalente, cromo total, cádmio e chumbo

No experimento 2, para a remoção dos metais pesados, cromo hexavalente, cromo total, cádmio e chumbo, foram utilizadas inicialmente 1,0 g/L das bactérias *R. rubrum* e *R. capsulatus* e da co-cultura (1:1), as quais foram inoculadas no efluente sintético (meio RCV contendo 20 mg/L de cromo (VI), 10 mg/L de cádmio e 10 mg/L de chumbo) e submetidas a intensidade luminosa por lâmpadas dimerizáveis a 5670 lux a $30 \pm 2^\circ\text{C}$ em pH 6,8 a 216 horas de experimento.

Avaliou-se, de acordo com a Figura 5.2, a concentração celular inicial e final para as bactérias cultivadas apenas no meio RCV (controle experimental) e no efluente sintético descrito anteriormente, segundo a Figura 5.3.

Figura 5.2. Cinética de crescimento celular das bactérias *R. capsulatus*, *R. rubrum* e da co-cultura (1:1) no meio RCV sem os metais (controle experimental)

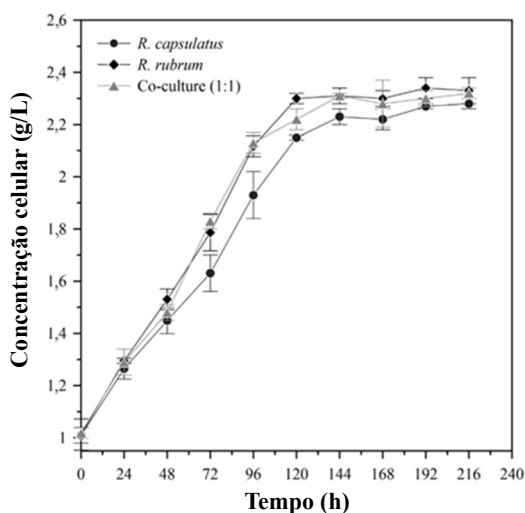
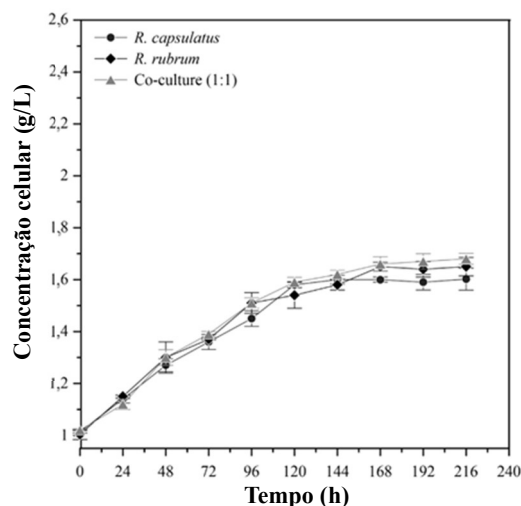


Figura 5.3. Cinética de crescimento celular para a *R. capsulatus*, *R. rubrum* e a co-cultura (1:1) inoculadas no efluente sintético.



Os valores obtidos após 216 horas de experimento para a produção de biomassa bacteriana no controle experimental (Figura 5.2) foram 2,30, 2,29, 2,33 g/L para *R. rubrum*, *R. capsulatus* e co-cultura, respectivamente. Portanto, as bactérias isoladas e a co-cultura tiveram um aumento de biomassa de até 133 %.

Avaliando-se a produção de biomassa nas fermentações com a presença dos metais, foi possível observar na Figura 5.3 que as bactérias tiveram uma produção cerca de 39 % menor em relação ao controle experimental (Figura 5.2). Os valores obtidos para a concentração celular final foram de 1,64 g/L para a *R. rubrum*, 1,60 g/L para a *R. capsulatus* e 1,67 g/L para a co-cultura.

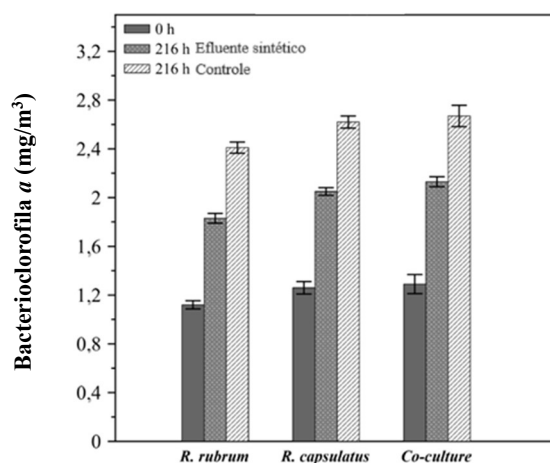
Estudos indicaram que íons tóxicos ou condições de estresse salino podem diminuir o metabolismo bacteriano e levar à inibição do crescimento (UPADHYAY et al., 2011; SU et al., 2020). Para fundamentar essa característica, fatores como condições ambientais, pH, temperatura e concentrações iniciais de metais pesados afetam significativamente a produção de biomassa e a capacidade de remoção dos metais pesados (FATHOLLAHI et al., 2020; AL-HOMAIDAN et al., 2014).

Assim, de acordo com a Figura 5.3, em relação a concentração inicial foi possível observar um acréscimo de biomassa cerca de 68 % para as bactérias expostas aos metais.

Su et al. (2020), utilizaram a bactéria púrpura não sulfurosa, *Rhodobacter sphaeroides* SC01 para a remoção de metais pesados em efluentes contaminados e apontaram que após 7 dias de fermentação as concentrações celulares foram significativamente reduzidas em cerca de 50% sob estresse com 1,0 mg/L de Hg e 6,0 mg/L de Cd, indicando que a bactéria sofreu danos significativos de estresse com os metais estudados.

Avaliou-se também a produção de pigmentos (bacterioclorofila *a* e carotenoides *a*) do experimento com as bactérias. Nas condições especificadas, os valores obtidos para bacterioclorofila e carotenoides estão exibidos nas Figuras 5.4 e 5.5, respectivamente.

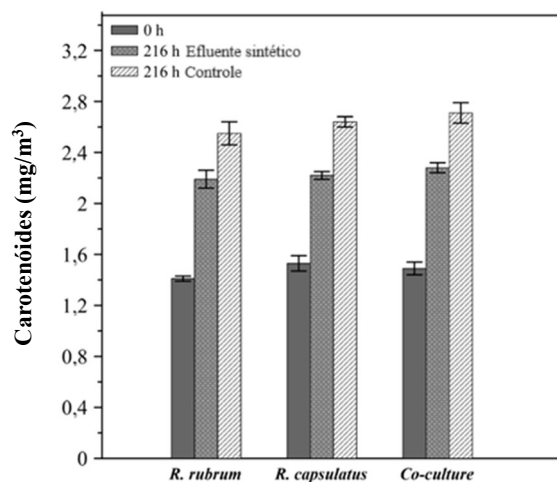
Figura 5.4. Bacterioclorofila *a* (mg/m³) para as bactérias *R. capsulatus*, *R. rubrum* e co-cultura (1:1) no efluente sintético (meio RCV + metais).



Condições operacionais: Temperatura $30 \pm 2^\circ\text{C}$; condição anaeróbica; bactérias inoculadas em efluente sintético (meio RCV + 20 mg/L de cromo (VI), 10 mg/L de cádmio e 10 mg/L de chumbo) e apenas em meio RCV (sem os metais) para o controle experimental; $\text{pH}_{\text{inicial}} \sim 6,8$; iluminação constante de 5670 lux e duração da fermentação de 216 horas.

Na Figura 5.4, é possível observar que inicialmente o teor de bacterioclorofila *a* foi de $1,18 \text{ mg/m}^3$ para a *R. rubrum*, $1,26 \text{ mg/m}^3$ para a *R. capsulatus* e $1,32 \text{ mg/m}^3$ para a co-cultura. Os valores observados indicaram uma redução de até 25% na bacterioclorofila em comparação com os valores finais obtidos sem exposição a metais pesados.

Figura 5.5. Teor de carotenóides *a* (mg/m^3) para as bactérias *R. capsulatus*, *R. rubrum* e co-cultura (1:1) no efluente sintético (meio RCV + metais).



Condições operacionais: Temperatura $30 \pm 2^\circ\text{C}$; condição anaeróbica; bactérias inoculadas em efluente sintético (meio RCV + 20 mg/L de cromo (VI), 10 mg/L de cádmio e 10 mg/L de chumbo) e apenas em meio RCV (sem os metais) para o controle experimental; $\text{pH}_{\text{inicial}} \sim 6,8$; iluminação constante de 5670 lux e duração da fermentação de 216 horas.

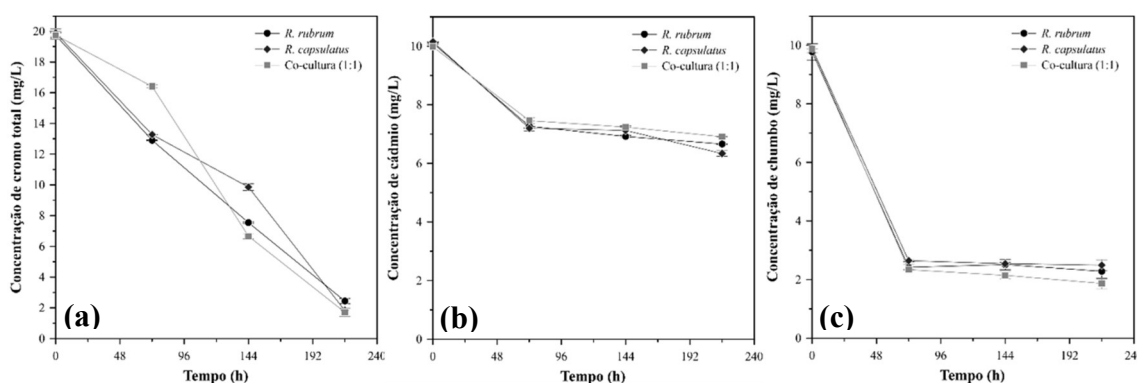
Já para os teores de carotenoides obtidos inicialmente foram 1,41, 1,62 e 1,57 mg/m^3 para *R. rubrum*, *R. capsulatus* e para co-cultura, respectivamente. Avaliando os teores finais obtidos no controle e no efluente sintético, pode-se observar uma diminuição de até 18% após o tratamento das bactérias com os metais pesados.

Simth et al. (2015), com o intuito de entender mais sobre a produção de pigmentos pelas bactérias púrpuras sulfurosas, *Marichromatium purpuratum* DSMZ 1591, *Marichromatium purpuratum* DSMZ 1711, *Thiocapsa marina* DSMZ 5653 e FGL21, relataram que essas dependem fortemente da intensidade luminosa para a produção de

carotenoides e bacterioclorofilas do tipo *a*. Tais pigmentos são os principais foto-coletores desses microrganismos e afetam a quantidade de energia produzida e no crescimento celular.

Nas Figuras 5.6 a, b e c são exibidas as concentrações dos metais, cromo, cádmio e chumbo, respectivamente presentes nas fermentações ao longo do experimento.

Figura 5.6. Cinética da concentração de cromo (a) de cádmio (b) e de chumbo (c)



Nas Tabelas 5.1, 5.2, 5.3 e 5.4 são apresentados os valores da eficiência de remoção dos metais - cromo hexavalente e total, cádmio e chumbo - presentes no efluente sintético com as bactérias púrpuras não sulfurosas utilizadas no estudo.

Tabela 5.1. Eficiência de remoção de 20 mg/L de cromo hexavalente pelas bactérias isoladas e associadas (co-cultura).

Tempo (h)	Eficiência de remoção de cromo hexavalente (%)		
	<i>R. capsulatus</i>	<i>R. rubrum</i>	Co-cultura
0	0,0	0,0	0,0
24	22,3 ± 0,5	15,9 ± 1,2	19,5 ± 0,3
48	30,2 ± 0,2	21,0 ± 0,4	26,2 ± 0,8
72	48,3 ± 0,8	36,7 ± 0,02	43,4 ± 0,1
96	80,6 ± 0,3	68,0 ± 0,2	78,2 ± 0,1
120	100,0 ± 0,0	100,0 ± 0,0	100,0 ± 0,0

Os valores demonstrados na tabela acima se referem a eficiência de remoção do cromo hexavalente pelas bactérias isoladas e em co-cultura. Assim, é possível observar

que após 120 horas, o cromo hexavalente presente em cada fotofermentação alcançou a máxima taxa de remoção possível, ou seja, 100%.

Su et al. (2018), demonstraram no estudo que para 25 mg/L de Cr (VI), a porcentagem de remoção de Cr (VI) nas fases logarítmica e estacionária foi quase a mesma para as cinco linhagens de bactérias púrpuras sulfurosas utilizadas - SC01, HN02, SC05, JS01, e YN01, sendo que a SC01 e a SC05 foram identificadas posteriormente como *Rhodobacter spheroids* e *Rhodocyclaceae thauera*.

Tabela 5.2. Eficiência de remoção de 20 mg/L de cromo pelas bactérias no efluente sintético.

Tempo (h)	Eficiência de remoção de cromo total (%)		
	<i>R. capsulatus</i>	<i>R. rubrum</i>	Co-cultura
0	0,0	0,0	0,0
72	16,1 ± 0,6	13,7 ± 0,2	15,1 ± 0,7
144	49,0 ± 0,8	61,8 ± 0,5	65,5 ± 0,2
216	83,6 ± 1,2	91,1 ± 0,4	83,2 ± 0,9

Tabela 5.3. Eficiência de remoção de 10 mg/L de cádmio pelas bactérias no efluente sintético.

Tempo (h)	Eficiência de remoção de cádmio (%)		
	<i>R. capsulatus</i>	<i>R. rubrum</i>	Co-cultura
0	0,0	0,0	0,0
72	26,6 ± 0,1	20,5 ± 0,4	24,2 ± 0,1
144	27,4 ± 0,3	24,3 ± 0,2	26,5 ± 0,2
216	30,4 ± 0,7	27,1 ± 0,9	29,8 ± 0,5

Tabela 5.4 Eficiência de remoção de 10 mg/L de chumbo no efluente sintético.

Tempo (h)	Eficiência de remoção de chumbo (%)		
	<i>R. capsulatus</i>	<i>R. rubrum</i>	Co-cultura
0	0,0	0,0	0,0
72	73,3 ± 0,5	75,2 ± 0,3	75,2 ± 0,1
144	74,4 ± 0,5	74,3 ± 0,1	77,5 ± 0,2
216	74,8 ± 0,4	79,8 ± 0,4	80,2 ± 0,8

Na Tabela 5.2, encontra-se a eficiência de remoção de cromo total pelas bactérias. É possível notar que para o cádmio e o chumbo a maior eficiência de remoção entre os experimentos realizados foi obtida pela co-cultura.

Um estudo feito por [Kang et al. \(2016\)](#) mostrou que a utilização de bactérias de cultura mista teve maior resistência aos íons metálicos do que as de uma única cultura. Essa cultura formada pelas bactérias, *Viridibacillus arenosi* B21, *Sporosarcina soli* B22, *Enterobacter cloacae* KJ-46 e *E. cloacae* KJ-47 obteve taxas de remoção de 98% Pb, 84% Cd e 5,6% para Cu.

Observando a Tabela 5.3 nota-se que a eficiência de remoção de 10 mg/L de cádmio foi em torno de 30% para os experimentos realizados com as bactérias isoladas e associadas. Observou-se que durante a fotofermentação, após aproximadamente 72 horas houve maior remoção do metal, sendo que depois desse período a taxa permaneceu praticamente constante como mostrado na Figura 5.6 (b). Esse fato pode ser explicado pela saturação dos sítios ativos presentes na superfície das células bacterianas.

Diversos estudos de bioissorção relataram que há uma taxa inicial rápida de remoção dos metais pelas bactérias utilizadas e que após um período a remoção atinge um valor de equilíbrio, ou seja, não se verifica grandes diferenças na remoção dos metais ([GARCIA et al., 2016](#); [KALITA; JOSHI, 2017](#); [GUPTA; BALOMAJUMDER, 2015](#); [PODDER; MAJUMDER, 2018](#); [MATHEW; KRISHNA; MURPHY, 2018](#); [CARVAJAL et al., 2012](#); [FANG et al., 2014](#)).

A razão para a rápida taxa de remoção no início do processo de bioissorção, é devida aos sítios de bioissorção ativos mais vagos e desocupados disponíveis na superfície da biomassa. Esses sítios de ligação ativos são preenchidos com íons metálicos durante o processo de bioissorção, o que leva a uma taxa mais lenta de adsorção antes de atingir o ponto de saturação e, finalmente, um estado de equilíbrio ([TSAI; CHEN, 2010](#); [DAS et al., 2014](#); [KUMAR et al., 2019](#)).

Em tempos de contato superiores a 24 h, alterações no pH da solução metálica devido aos processos metabólicos de bactérias vivas podem afetar a valência do metal, solubilidade e, finalmente, dessorção ou precipitação de íons metálicos ([RATZKE et al., 2018](#); [XIE et al., 2018](#)).

[Limcharoensuk et al. \(2015\)](#) relataram que a eficiência da bioissorção de Cd^{+2} e Zn^{+2} não foi significativamente maior em concentrações de metal superiores a 25 mg/L, o que foi explicado por uma insuficiência de sítios de ligação de metais na biomassa

microbiana. Por sua vez, o aumento da dose de biomassa causou maior eficiência de remoção de metais pesados.

Na Tabela 5.4 observou-se que após 216 horas de experimento, a co-cultura teve eficiência de remoção de 80,2% de chumbo. Foi possível notar o mesmo comportamento avaliado pelo cádmio, sobre a saturação dos sítios e a taxa de remoção atingir um equilíbrio após aproximadamente 72 horas de experimento. Assim a remoção foi mais acentuada no início da fermentação e ao longo do tempo permaneceu constante, conforme mostra a Figura 5.6 (c).

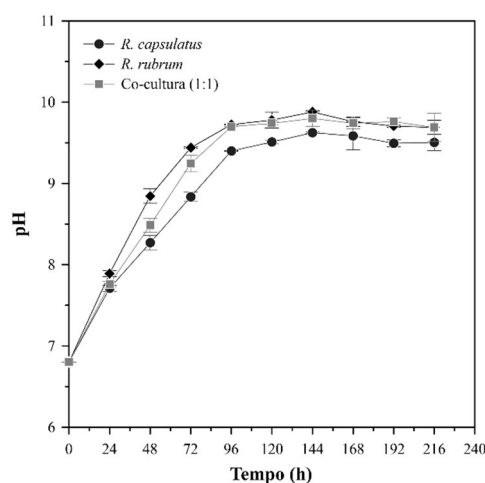
[Pulit et al. \(2018\)](#), utilizou uma metodologia baseada no Box-Behnken de 3 níveis para avaliar a remoção de metais pela bactéria *P. azotoformans* JAW1 em efluente contendo inicialmente 25 mg/L de cada metal, cádmio, chumbo e cobre, a 2 g/L de biomassa e pH 6. Após a condução do experimento nessas condições ótimas, a eficiência de bio sorção dos três metais pesados avaliados, Cd, Cu e Pb, foi de 44,67%, 63,32% e 78,23%, respectivamente.

Nos experimentos realizados por [Su et al. \(2020\)](#), a bactéria púrpura não sulfurosa, *Rhodobacter sphaeroides* SC01, foi avaliada para a biorremediação de 0,2 mg/L de mercúrio, 30 mg/L de chumbo e 0,2 mg/L de cádmio durante 7 dias, em pH 7,0 e intensidade luminosa de 4000 lux. As taxas de remoção foram de 57% de Hg, 98% de Pb e 67% de Cd.

Durante as 216 horas de experimento, foi-se avaliado o pH das fermentações. Os valores obtidos estão expressos na Figura 5.7.

Fazendo-se uma análise dos dados obtidos, é possível observar que o pH estabelecido inicialmente (pH = 6,8) sofreu acréscimos ao longo do tempo e assim chegou a um valor máximo de 9,69 após 216 horas de experimento para a co-cultura. Comportamento semelhante foi notado para as bactérias inoculadas apenas em meio RCV, sem a presença dos metais e no caso dos experimentos sem as bactérias (apenas o efluente sintético nas condições já mencionadas) o pH não variou. Estudos relataram que valores de pH entre 6 e 7,5 para Cd (II), Pb (II) e Zn (II) são considerados ótimos para o tratamento de efluentes com metais pesados ([PARK; CHON, 2016](#); [MALKOC et al., 2015](#); [HU et al., 2014](#)).

Figura 5.7 Avaliação do pH da fotofermentação para remoção dos metais pelas bactérias púrpuras não sulfurosas.



Alguns autores explicam que com o aumento do pH em meios os quais possuem metais como Pb e Cd é possível observar a formação de precipitados (WEI et al., 2016; KARIUKI et al., 2017).

Em pH 7,0, Xu et al. (2020) verificaram que a capacidade de bioadsorção da *Pseudomonas sp.* cepa 375 para a biomassa viva e não viva foram maximizadas. Já para os testes realizados em pH de 4 a 6, não houve aumento gradual da capacidade de bioadsorção da bactéria. Isso pode ter ocorrido porque os íons hidrogênio e os íons Cd^{+2} competem por sítios de ligação em soluções aquosas em pH baixo (KHADIVINIA et al., 2014; XU et al., 2020). Já em pH 8, o valor de adsorção diminuiu rapidamente. Isso pode ter sido causado pela precipitação de hidróxido de metal em condições alcalinas, resultando em diminuição da bioadsorção de Cd^{+2} .

Portanto é interessante destacar que com o aumento do pH geralmente ocorre a precipitação dos íons metálicos presentes no meio em estudo. Porém esse processo pode ser visto como uma possível vantagem na remoção de metais do meio em estudo, pois o aumento do pH não é alterado operacionalmente por meio de reagentes químicos e sim biologicamente, pelas bactérias. Assim ocorre o tratamento bioquímico do efluente, ou seja, há o tratamento biológico e químico ao mesmo tempo sem gastos com produtos químicos adicionais como vistos nos processos convencionais.

5.3 - Delineamento Composto Central 2³

O processo de tratamento do efluente contendo os três metais selecionados foi otimizado usando um planejamento experimental utilizando o software *Statistica* versão

7.0, tendo como variáveis independentes as concentrações iniciais desses metais pesados presentes no efluente sintético, a fim de determinar os efeitos principais e das interações das três variáveis independentes selecionadas sobre a porcentagem de remoção de Cr, Cd e Pb (variáveis dependentes). Os valores dos parâmetros codificados estão indicados em parênteses na Tabela 5.5 indicando os níveis ($-\alpha$, -1, 0, +1, α) utilizados na matriz do planejamento.

Tabela 5.5. Delineamento composto central 2^3 dos experimentos realizados para tratamento do efluente sintético pelas bactérias.

Exp.	Variáveis Independentes			Variáveis Dependentes					
	X ₁	X ₂	X ₃	Valores Atuais			Valores Preditos		
				Cr _{total}	Cd ²⁺	Pb ²⁺	Cr _{total}	Cd ²⁺	Pb ²⁺
1	8.0 (-1)	4.0 (-1)	4.0 (-1)	94.6	51.0	98.6	94.1	60.7	101.1
2	8.0 (-1)	4.0 (-1)	16.0 (+1)	95.7	49.8	71.2	94.9	58.3	72.3
3	8.0 (-1)	16.0 (+1)	4.0 (-1)	94.4	21.5	96.0	94.1	19.4	97.1
4	8.0 (-1)	16.0 (+1)	16.0 (+1)	93.8	18.7	67.0	92,5	18.1	68.2
5	32.0 (+1)	4.0 (-1)	4.0 (-1)	66.6	42.9	87.7	68,4	49.9	87.2
6	32.0 (+1)	4.0 (-1)	16.0 (+1)	68.0	37.6	69.3	68,7	45.9	69.3
7	32.0 (+1)	16.0 (+1)	4.0 (-1)	65.0	19.0	85.2	66.2	16.9	85.4
8	32.0 (+1)	16.0 (+1)	16.0 (+1)	63.2	17.4	69.4	64.1	14.1	67.5
9	-0.2 ($-\alpha$)	10.0 (0)	10.0 (0)	100.0	39.7	91.8	101.9	33.4	88.6
10	40.2 ($+\alpha$)	10.0 (0)	10.0 (0)	59.0	23.7	74.5	56.5	20.9	76.3
11	20.0 (0)	-0.1 ($-\alpha$)	10.0 (0)	85.4	100.0	85.3	84.8	82.9	83.9
12	20.0 (0)	20.1($+\alpha$)	10.0 (0)	81.0	14.3	79.0	80.9	22.1	79.1
13	20.0 (0)	10.0 (0)	-0.1 ($-\alpha$)	81.4	32.1	100.0	80.2	27.7	98.5
14	20.0 (0)	10.0 (0)	20.1 ($+\alpha$)	78.5	27.8	59.1	78.9	23.2	59.3
15	20.0 (0)	10.0 (0)	10.0 (0)	83.2	30.1	80.1	83.2	30.8	80.3
16	20.0 (0)	10.0 (0)	10.0 (0)	82.9	29.9	80.7	83.2	30.8	80.3
17	20.0 (0)	10.0 (0)	10.0 (0)	83.5	30.5	79.9	83.2	30.8	80.3

Exp. : Experimento

Condições operacionais: Concentração celular de 1,0 g/L; temperatura $30 \pm 2^\circ\text{C}$; condição anaeróbica; bactérias inoculadas em efluente sintético (meio RCV + concentrações iniciais dos metais de acordo com os valores definidos para cada experimento); $\text{pH}_{\text{inicial}} \sim 6,8$; iluminação constante de 5670 lux e duração da fermentação de 216 horas.

5.3.1 Remoção de cromo total

A partir dos valores obtidos para a remoção dos metais cromo, cádmio e chumbo no DCC e com a utilização do *software* Statistica 7.0, foram calculados os coeficientes de regressão para as variáveis e suas interações, expostos na Tabela 5.6.

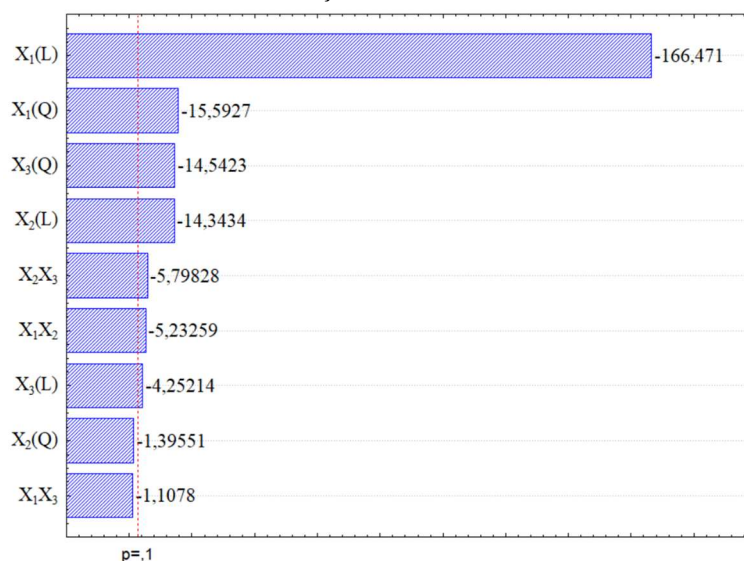
Tabela 5.6. Parâmetros para o modelo completo para a remoção de cromo (%)

Variáveis e interações	Coefficiente de regressão	Erro padrão	p- valor
Termo independente	96,87481	0,687348	0,000050
X₁ (L)	-0,64569	0,033251	0,002641
X₁ (Q)	-0,00973	0,000624	0,004088
X₂ (L)	0,20023	0,066502	0,094869
X₂ (Q)	-0,00348	0,002495	0,297615
X₃ (L)	0,87145	0,066502	0,005773
X₃ (Q)	-0,03628	0,002495	0,004695
X₁X₂	-0,00771	0,001473	0,034637
X₁X₃	-0,00163	0,001473	0,383338
X₂X₃	-0,01708	0,002946	0,028480
R² = 0,991			

Também foi analisado o efeito de significância via diagrama de Pareto, como pode ser observado na Figura 5.8, sendo consideradas significativas as variáveis que possuíram o valor de “t” maior que o de referência ($t_p = 0,1$).

As variáveis independentes X₁, X₂ e X₃ representam as concentrações iniciais de cromo, cádmio e chumbo respectivamente, as quais variam de acordo com os níveis estabelecidos para o planejamento. No software, o valor de “p” determina a significância dos parâmetros e termos no modelo. Um valor de p menor corresponde ao maior significado. Os resultados de $p \leq 0,10$ indicam que os modelos embutidos são significativos no nível de confiança de 90%.

Figura 5.8. Gráfico de Pareto dos efeitos das variáveis da equação de regressão para a remoção de cromo.



Após a regressão múltipla foi obtida a Equação 5.1 completa com todos os parâmetros:

$$Y = 96,874 - 0,645X_1 + 0,200X_2 + 0,871X_3 - 0,009X_1^2 - 0,003X_2^2 - 0,036X_3^2 - 0,007X_1X_2 - 0,001X_1X_3 - 0,017X_2X_3 \quad (5.1)$$

A partir da Tabela 5.6 e da Figura 5.8, percebe-se que as variáveis e interações são significativas, com exceção de $X_2(Q)$ e X_1X_3 , onde os valores de “p” são maiores do que 0,1 e os valores de “t” são menores do que o de referência na análise de Pareto. Essas variáveis representam a influência da variável quadrática concentração de cádmio, da variável quadrática concentração de chumbo e as interações entre a concentração de cádmio e chumbo, respectivamente.

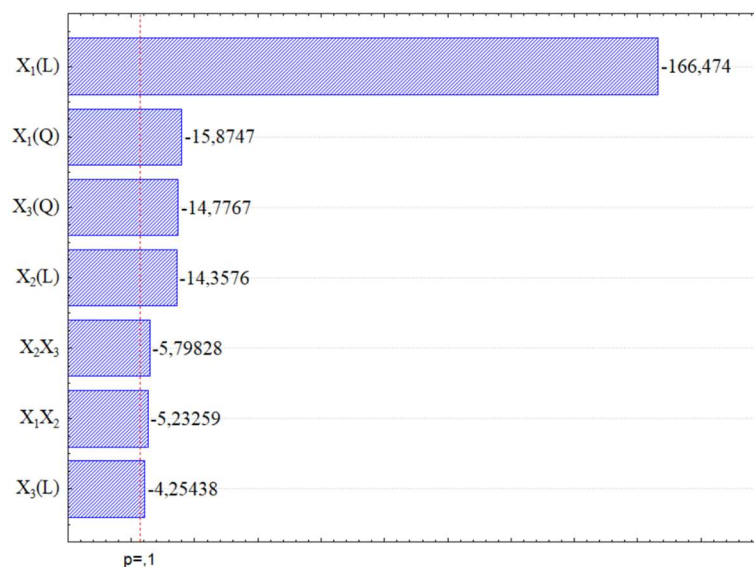
Isso indica que a remoção de cromo não é influenciada significativamente por essas variáveis, mas é influenciada por todas as outras variáveis e suas interações, ou seja, depende de $X_1(L)$, $X_1(Q)$, $X_2(L)$, $X_3(L)$, $X_3(Q)$, X_1X_2 , X_2X_3 .

Para obter o modelo com as variáveis e os efeitos significativos (com $p < 0,10$), foi feito o ajuste para considerar apenas esses parâmetros gerando assim um novo gráfico de Pareto, Figura 5.9, e um novo modelo com os coeficientes da Tabela 5.7.

Tabela 5.7. Parâmetros para o modelo reduzido e significativo para a remoção de cromo (%)

Variáveis e interações	Coefficiente de regressão	Erro padrão	p- valor
Termo independente	97,59581	0,552885	0,000032
X₁ (L)	-0,67217	0,028907	0,001844
X₁ (Q)	-0,00947	0,000597	0,003945
X₂ (L)	0,13042	0,043815	0,096763
X₃ (L)	0,81849	0,057814	0,004952
X₃ (Q)	-0,03527	0,002387	0,004549
X₁X₂	-0,00771	0,001473	0,034637
X₂X₃	-0,01708	0,002946	0,028480
R² = 0, 991			

Figura 5.9. Gráfico de Pareto dos efeitos das variáveis significativas da equação de regressão para a remoção de cromo.

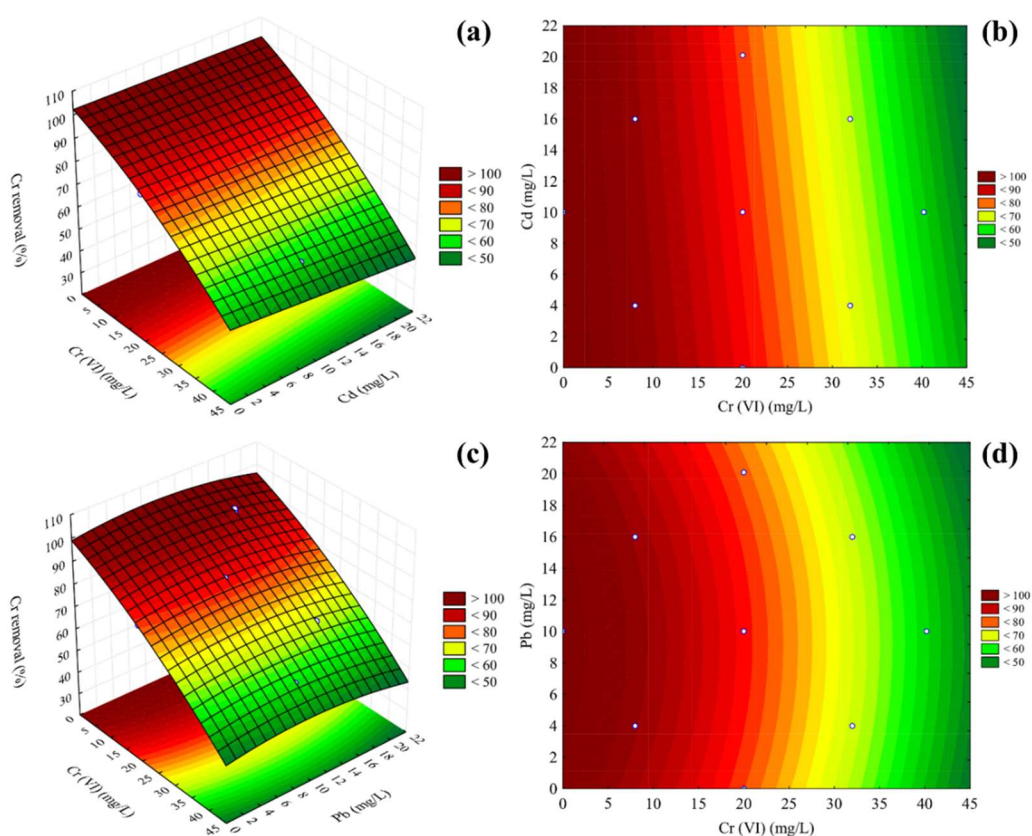


A partir dos resultados da regressão múltipla da Tabela 5.7, obteve-se a Equação 5.2 com os parâmetros significativos.

$$Y = 97,595 - 0,672X_1 + 0,130X_2 + 0,818X_3 - 0,009X_1^2 - 0,035X_3^2 - 0,007X_1X_2 - 0,017X_2X_3 \quad (5.2)$$

Nas Figuras 5.10 (a) e (b) foram apresentadas as superfícies de respostas e curvas de contorno para a resposta remoção de cromo em função da concentração inicial de cromo (X_1) e concentração inicial de cádmio (X_2) e em função da concentração inicial de cromo (X_1) e concentração inicial de chumbo (X_3), respectivamente.

Figura 5.10 Curva de contorno e superfície de resposta para a remoção de cromo em função da concentração inicial de cádmio e cromo (a-b) e em função da concentração inicial de chumbo e cromo (c-d).



Essas superfícies representaram a remoção de Cr (%) em relação à concentração de Cr (VI) (mg/L) e à concentração de Cd (mg/L) (Figura 5.10 a-b), e em relação à concentração de Cr (VI) (mg/L) e à concentração de Pb (mg/L) (Figura 5.10 c-d).

Portanto, a co-cultura (*R. rubrum*: *R. capsulatus*) forneceria mais de 90 % de remoção de cromo quando submetida a efluente sintético dentro da faixa de 0 a 10 mg/L de Cr (VI), 0 a 20 mg/L de Cd e 0 a 20 mg/L de Pb.

Nos experimentos realizados, a remoção de cromo atingiu valores acima de 50 % para testes empregando concentrações de Cr, Cd e Pb dentro dessas faixas, demonstrando concordância entre os valores experimentais e os valores do modelo.

5.3.2 Remoção de Cádmio

Avaliando-se agora a remoção de cádmio com a utilização do software *Statistica* versão 7.0, foram calculados os coeficientes de regressão para as variáveis e suas interações, assim como os valores dos níveis de significância para identificar quais delas eram estatisticamente significativos (com $p < 0,1$), esses valores são apresentados na Tabela 5.8. Também foi analisado o efeito de significância via diagrama de Pareto, como pode ser observado na Figura 5.11, sendo consideradas significativas as variáveis que possuíram o valor de “t” maior que o de referência ($t_p = 0,1$).

Tabela 5.8. Parâmetros para o modelo completo para a remoção de cádmio (%).

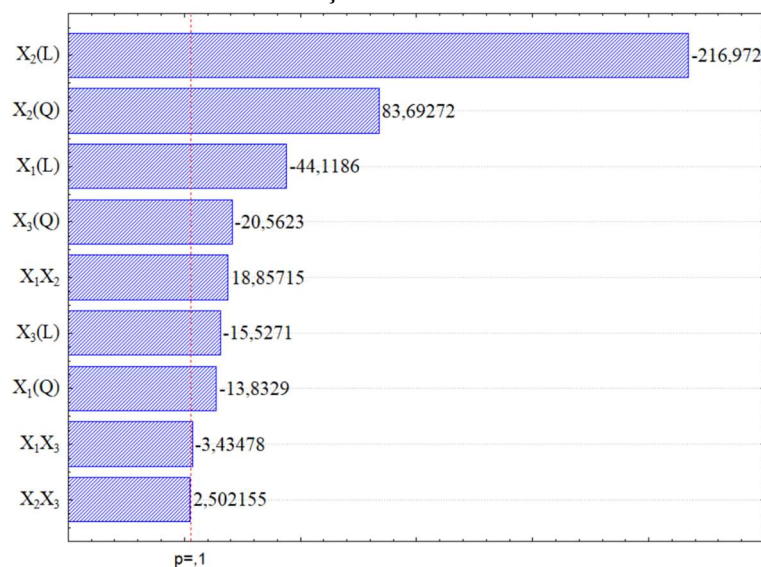
Variáveis e interações	Coefficiente de regressão	Erro padrão	p- valor
Termo independente	87,88834	0,712228	0,000066
X₁ (L)	-0,18762	0,034454	0,032109
X₁ (Q)	-0,00894	0,000646	0,005185
X₂ (L)	-8,02626	0,068909	0,000074
X₂ (Q)	0,21635	0,002585	0,000143
X₃ (L)	0,87353	0,068909	0,006165
X₃ (Q)	-0,05316	0,002585	0,002357
X₁X₂	0,02878	0,001526	0,002800
X₁X₃	-0,00524	0,001526	0,075312
X₂X₃	0,00764	0,003053	0,129430
R² = 0, 885			

Na Equação 5.3, o modelo matemático geral encontrado pelo software possui todas as variáveis e seus coeficientes.

$$Y = 87,888 - 0,187X_1 - 8,026X_2 + 0,873X_3 - 0,008X_1^2 + 0,216X_2^2 - 0,053X_3^2 + 0,028X_1X_2 - 0,005X_1X_3 + 0,007X_2X_3 \quad (5.3)$$

Assim, de acordo com os valores expressos na Tabela 5.8 e pelo diagrama de Pareto presente na Figura 5.11, a interação X_2X_3 possui valor de $p > 0,10$ sendo assim consideradas não significativas entre as demais expressas pelo modelo.

Figura 5.11. Gráfico de Pareto dos efeitos das variáveis da equação de regressão para a remoção de cádmio.



Logo, considerando-se apenas as variáveis e interações significativas tem-se os coeficientes gerados expressos na Tabela 5.9 e os efeitos significativos (Figura 5.12).

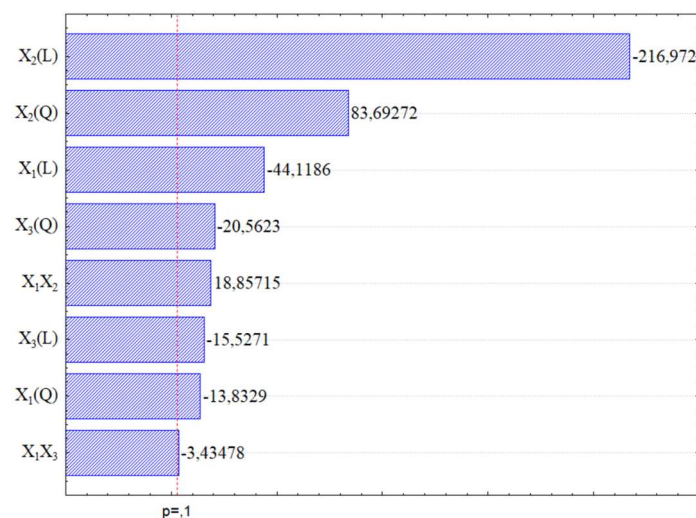
Tabela 5.9. Parâmetros para o modelo reduzido e significativo para a remoção de cádmio (%).

Variáveis e interações	Coefficiente de regressão	Erro padrão	p- valor
Termo independente	87,12445	0,643479	0,000055
X_1 (L)	-0,18762	0,034454	0,032109
X_1 (Q)	-0,00894	0,000646	0,005185
X_2 (L)	-7,94987	0,061777	0,000060
X_2 (Q)	0,21635	0,002585	0,000143
X_3 (L)	0,94992	0,061777	0,004203
X_3 (Q)	-0,05316	0,002585	0,002357
X_1X_2	0,02878	0,001526	0,002800
X_1X_3	-0,00524	0,001526	0,075312
$R^2 = 0,885$			

O coeficiente de correlação (R^2) obtido foi 88,0 % indicando boa correlação com os valores experimentais e com o modelo proposto. A interação $X_2 X_3$ foi desconsiderada no software para que fosse encontrado o modelo reduzido e significativo, conforme presente na Equação 5.4.

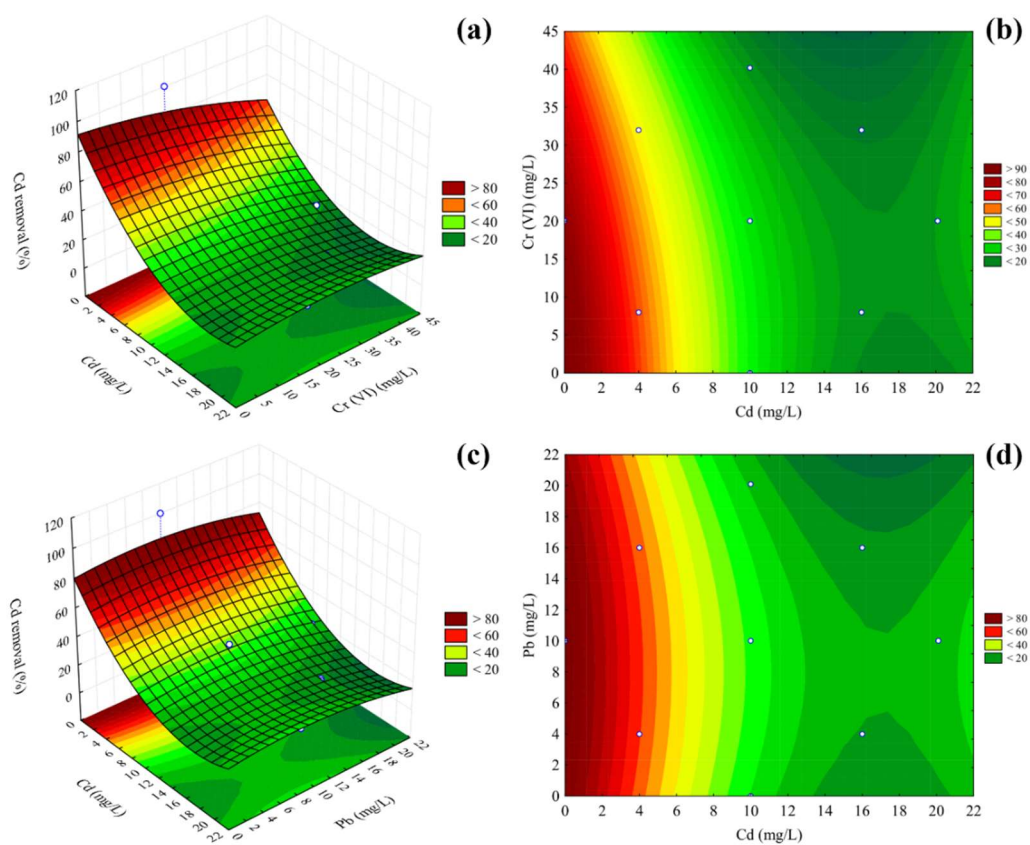
$$Y = 87,124 - 0,187X_1 - 7,949X_2 + 0,949X_3 - 0,008X_1^2 + 0,216X_2^2 - 0,053X_3^2 + 0,028X_1X_2 - 0,005X_1X_3 \quad (5.4)$$

Figura 5.12. Gráfico de Pareto dos efeitos das variáveis significativas da equação de regressão para a remoção de cádmio.



Logo, considerando-se o modelo significativo foram geradas as superfícies de resposta (Figuras 5.13 a-b e c-d).

Figura 5.13. Curva de contorno e superfície de resposta para a remoção de cádmio em função da concentração inicial de cádmio e cromo (a-b) e em função da concentração inicial de cádmio e chumbo (c-d).



Observando as superfícies de resposta apresentadas na Figura 5.13, torna-se aparente que dentro das faixas de concentração inicial de 0 a 20 mg/L para cromo, 0 a 20 mg/L para chumbo e 0 a 2 mg/L para cádmio no efluente sintético contendo os três metais simultaneamente, a remoção de cádmio pode atingir níveis de até 80%.

Vale ressaltar que em experimentos envolvendo a adição dos três metais, a remoção máxima de cádmio alcançou 51%, indicando que as bactérias associadas (co-cultura) poderiam remover uma parte desse metal do meio mesmo sob condições tóxicas.

5.3.3 Remoção de Chumbo

Por fim, para encontrar o modelo em relação a terceira variável dependente, remoção de chumbo (%), foram obtidos os seguintes coeficientes conforme a Tabela 5.10.

Tabela 5.10. Parâmetros para o modelo completo para a remoção de chumbo (%).

Variáveis e interações	Coefficiente de regressão	Erro padrão	p- valor
Termo independente	119,8170	0,953886	0,000063
X₁ (L)	-0,9775	0,046145	0,002221
X₁ (Q)	0,0053	0,000866	0,025849
X₂ (L)	-0,6573	0,092290	0,019150
X₂ (Q)	0,0115	0,003462	0,080530
X₃ (L)	-2,4781	0,092290	0,001384
X₃ (Q)	-0,0135	0,003462	0,059852
X₁X₂	0,0076	0,002044	0,065283
X₁X₃	0,0384	0,002044	0,002822
X₂X₃	0,0033	0,004089	0,508448
R² = 0,985			

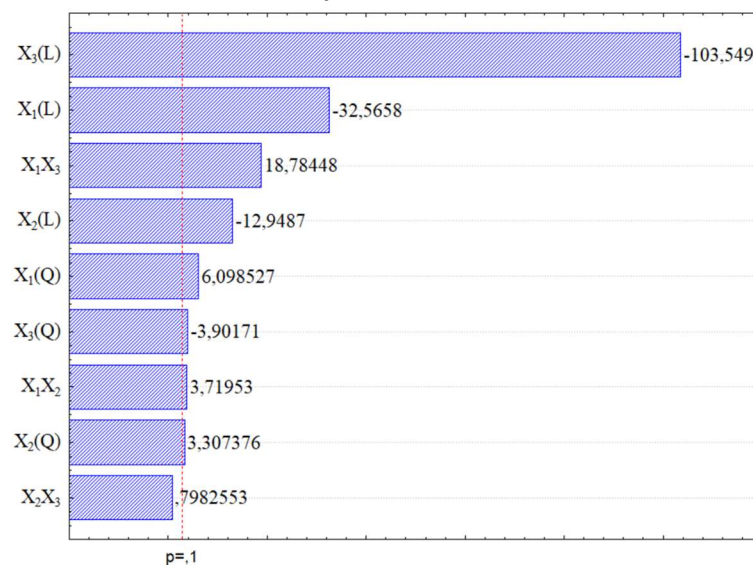
Assim, o modelo que descreve a remoção de chumbo em relação as variáveis independentes, X₁, X₂ e X₃ correspondentes a concentração inicial de cromo, cádmio e chumbo na ordem citada é expresso na Equação 5.5:

$$Y = 119,817 - 0,977X_1 - 0,657X_2 - 2,478X_3 + 0,005X_1^2 + 0,011X_2^2 - 0,013X_3^2 + 0,007X_1X_2 + 0,038X_1X_3 + 0,003X_2X_3 \quad (5.5)$$

É possível observar que entre as variáveis avaliadas, $X_1(L)$, $X_1(Q)$, $X_2(L)$, $X_2(Q)$, $X_3(L)$, $X_3(Q)$, X_1X_2 e X_1X_3 são descritas no modelo com valores de $p < 0,1$, ou seja, essas são consideradas significativas.

A Figura 5.14 exibe o diagrama de Pareto no qual foi avaliado as variáveis e interações entre essas significativas e não significativas.

Figura 5.14. Gráfico de Pareto dos efeitos das variáveis da equação de regressão para a remoção de chumbo.

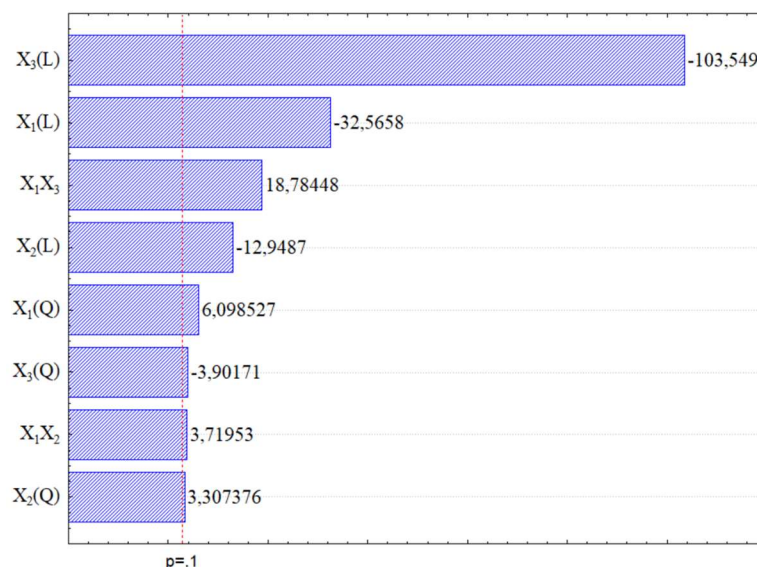


Logo, desconsiderando o efeito insignificativo, tem-se o novo modelo descrito na Equação 5.6, no qual os coeficientes podem ser observados na Tabela 5.11 e na Figura 5.15.

Tabela 5.11. Parâmetros para o modelo reduzido e significativo para a remoção de chumbo (%)

Variáveis e interações	Coefficiente de regressão	Erro padrão	p- valor
Termo independente	119,4906	0,861811	0,000052
X_1 (L)	-0,9775	0,046145	0,002221
X_1 (Q)	0,0053	0,000866	0,025849
X_2 (L)	-0,6247	0,082738	0,017096
X_2 (Q)	0,0115	0,003462	0,080530
X_3 (L)	-2,4455	0,082738	0,001143
X_3 (Q)	-0,0135	0,003462	0,059852
X_1X_2	0,0076	0,002044	0,065283
X_1X_3	0,0384	0,002044	0,002822
$R^2 = 0,985$			

Figura 5.15. Gráfico de Pareto dos efeitos das variáveis significativas da equação de regressão para a remoção de chumbo.



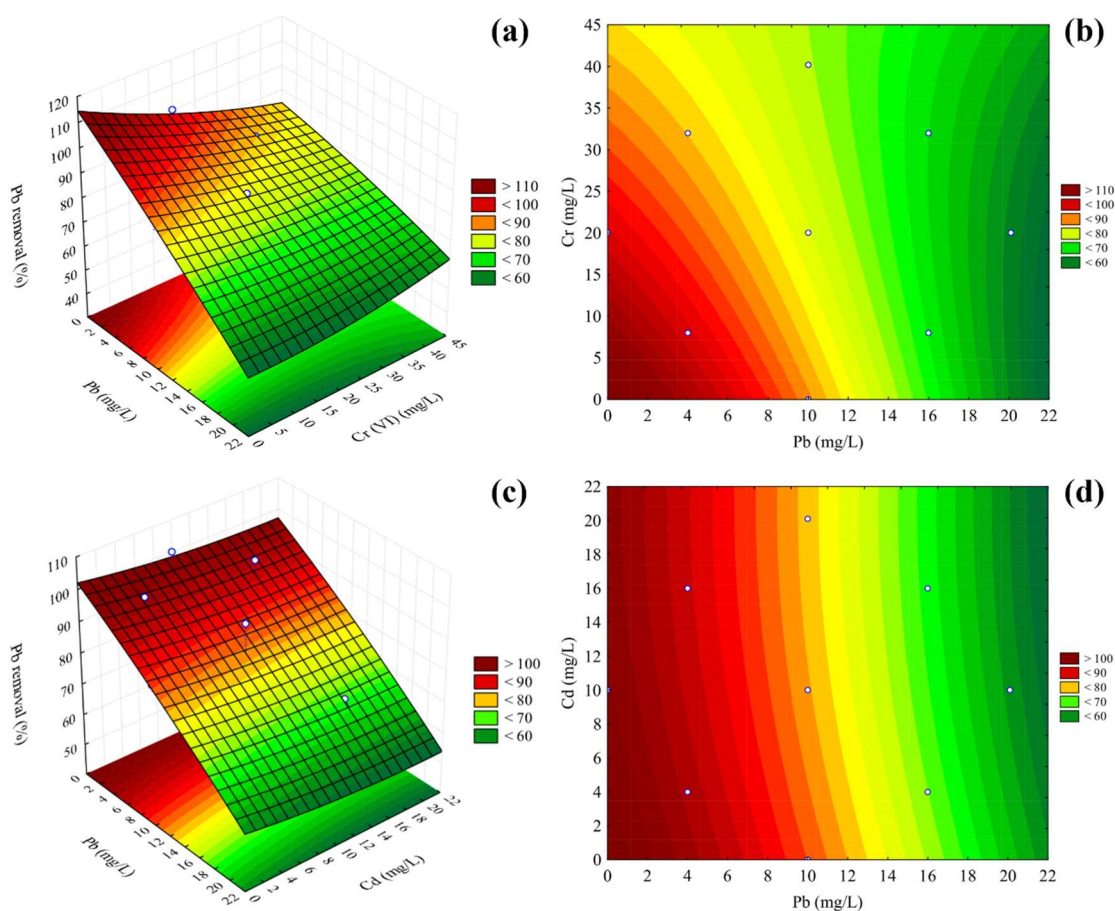
$$Y = 119,49 - 0,977X_1 - 0,624X_2 - 2,445X_3 + 0,005X_1^2 + 0,0115X_2^2 - 0,0135X_3^2 + 0,0076X_1X_2 + 0,0384X_1X_3 \quad (5.6)$$

Com o modelo significativo foram geradas as superfícies de resposta (Figuras 5.16 a-b e c-d) para a remoção de chumbo (%) em função da concentração inicial de cromo (X_1) e da concentração inicial de chumbo (X_3) e em função da concentração inicial de chumbo (X_3) e da concentração inicial de cádmio (X_2).

Com um efluente sintético contendo aproximadamente 0 a 8 mg/L de chumbo, 0 a 20 mg/L de cromo e 0 a 20 mg/L de cádmio, a remoção de chumbo ultrapassa 80% (Figura 5.16), sugerindo que a bio sorção para este metal em um meio altamente tóxico pode, de fato, ser alcançada.

Os metais que apresentaram as maiores taxas de remoção foram o cromo (VI) e o chumbo (acima de 90%), sugerindo que as bactérias apresentam maior resiliência em relação a esses metais do que ao cádmio.

Figura 5.16. Curva de contorno e superfície de resposta para a remoção de chumbo em função da concentração inicial de cromo e chumbo (a-b) e em função da concentração inicial de chumbo e cádmio (c-d).



5.4 Micrografia eletrônica de varredura (MEV)

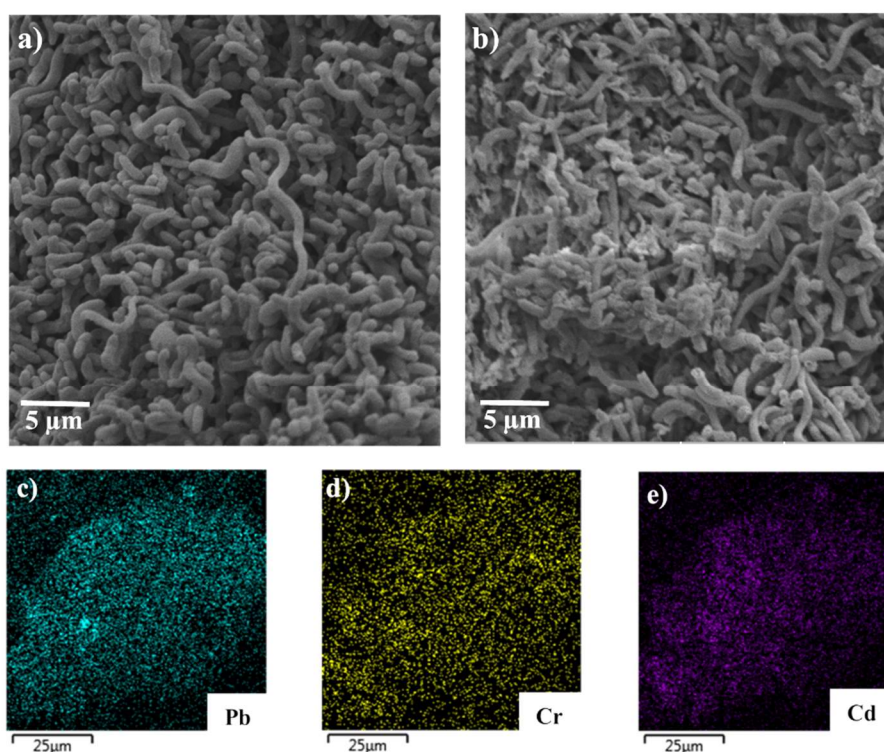
Alterações morfológicas na co-cultura (*R. rubrum* e *R. capsulatus*) foram observadas através da análise de MEV após bioabsorção de 20 mg/L de Cr (VI), 10 mg/L de Cd e 10 mg/L de Pb (Figura 5.17). A análise de MEV também foi realizada para a co-cultura na ausência de metais (controle do meio RCV) (Figura 5.17 a) para comparar os efeitos da exposição a metais pesados nas células bacterianas.

Após 216 horas, foram observados detritos celulares e acúmulo de metal na biomassa bacteriana (Figuras 5.17 b-e). Os íons metálicos ocuparam sítios de ligação livres disponíveis, levando à bioacumulação desses metais dentro das células microbianas.

Estudos revelaram que, após o tratamento com metais, as bactérias apresentaram deformações em suas estruturas celulares, sugerindo sua capacidade de resistir aos efeitos

adversos da exposição ao Cr (VI) por *Bacillus amyloliquefaciens* (Das et al., 2014) e *Cellulosimicrobium funkei* (Karthik et al., 2017) e Cd^{2+} e Pb^{2+} por *E. coli*, onde foi observada adsorção competitiva, com preferência pela adsorção na ordem de $\text{Pb}^{2+} > \text{Cd}^{2+}$ (Cai et al., 2017).

Figura 5.17. Micrografia eletrônica de varredura (MEV) da co-cultura (*R. rubrum*: *R. capsulatus*) antes (a) e depois (b) do tratamento com Cr (VI), Cd^{2+} e Pb^{2+} (c-e) Mapeamento elementar por EDX após tratamento com metais pelas bactérias.



Por fim, comparando-se os resultados obtidos com os presentes na literatura (Tabela 5.13) para o tratamento de efluentes com metais pesados utilizando bactérias, foi possível observar que os valores das remoções do presente estudo foram promissores.

Tabela 5.13. Correlação dos valores de remoção encontrados no presente estudo e pela literatura para os metais pesados.

Autores	Metais	Bactérias	Remoção
Trabalho atual	20 mg/L Cr	Co-cultura (<i>R. rubrum</i> : <i>R. capsulatus</i>)	83%
	10 mg/L Cd		30%
	10 mg/L Pb		80%

	25 mg/L Cu		63%
Pulit et al. (2018)	25 mg/L Cd	<i>P. azotoformans</i>	45%
	25 mg/L Pb		78%
	0,2 mg/L Hg		57%
Su et al. (2020)	30 mg/L Pb	<i>Rhodobacter sphaeroides</i>	98%
	0,8 mg/L Cd		67%
	23 mg/L Cd	<i>Rhodopseudomonas</i>	84%
Sakpirom et al (2017)	262 mg/L Zn	<i>palustris</i>	55%

CAPÍTULO 6 - CONCLUSÃO

A partir dos resultados obtidos, observou-se que as bactérias púrpuras não sulfurosas, *Rhodospirillum rubrum*, *Rhodobacter capsulatus* e a co-cultura (1:1) demonstraram ser eficientes na remoção de metais pesados do efluente sintético produzido no estudo.

Observou-se que a combinação das espécies garantiu resultados promissores, sendo que essas alcançaram as maiores taxas de remoção em comparação com as bactérias isoladas.

Assim, para o efluente sintético contendo as concentrações de 20 mg/L de cromo (VI), 10 mg/L de cádmio e 10 mg/L de chumbo – definidas pelo planejamento experimental como a condição ótima - a remoção foi de 100% (cromo hexavalente) e 83,2 % (cromo total), 30,1 % (cádmio) e 80,2 % (chumbo) para a co-cultura, indicando que a associação das bactérias fotossintéticas foi promissora para o tratamento do efluente contendo essas concentrações de metais pesados.

Em todos os experimentos realizados, houve um aumento na biomassa bacteriana e na produção de pigmentos (carotenoides e bacterioclorofila a). Isso é um fator intrigante, pois, apesar do estresse metabólico imposto às bactérias fototróficas na presença de metais pesados, elas não interromperam a produção de biomassa durante o período de análise de 216 horas.

Por fim, foi possível observar que em todos os experimentos realizados houve acréscimo de biomassa das bactérias. Esse é um fator interessante, pois mesmo com o estresse metabólico sofrido pelas BPNS na presença dos metais pesados, elas não pararam a produção de biomassa por completo durante as 216 horas analisadas.

Sendo assim é possível afirmar que as BPNS possuem potencial para remoção de cromo, cádmio e chumbo, podendo essas serem utilizadas em estudos e aplicações futuras para o tratamento de efluentes com metais pesados.

CAPÍTULO 7 – SUGESTÕES PARA FUTUROS TRABALHOS

Para futuros trabalhos com relação ao estudo do tratamento de efluentes contaminados com metais pesados pelas BPNS, seria interessante:

- Avaliar a alteração de pH do meio durante a fermentação de forma a conhecer os metabólitos produzidos pelas mesmas que propiciam o aumento desse parâmetro.
- Realizar um estudo com maiores concentrações de biomassa;
- Utilizar uma associação com outros microrganismos seria interessante, já que com a co-cultura das bactérias *Rhodobacter capsulatus* e *Rodospirillum rubrum* no presente estudo, a remoção dos metais pesados foi promissora;
- Investigar a junção de etapas físico-químicas como eletrodialise, por exemplo, seguidas das etapas biológicas para a remoção dos metais pesados;

CAPÍTULO 8 - REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABARIKWU, S. O. et al. Biomarkers of oxidative stress and health risk assessment of heavy metal contaminated aquatic and terrestrial organisms by oil extraction industry in Ogale, Nigeria. **Chemosphere**, v. 185, p. 412-422, 2017. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2017.07.024>

ABDULLA, M. Chapter 13 - Lead. Em: PRASAD, A. S.; BREWER, G. J. (Eds.). **Essential and Toxic Trace Elements and Vitamins in Human Health**. [s.l.] Academic Press, 2020. p. 181–191. ISBN: 9780128093016

ALAM, M. A. et al. Enhanced removal of Zn^{2+} or Cd^{2+} by the flocculating *Chlorella vulgaris* JSC-7. **Journal of Hazardous Materials**, v. 289, p. 38-45, 2015. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2015.02.012>

AL-HOMAIDAN, ALI A. et al. Biosorption of copper ions from aqueous solutions by *Spirulina platensis* biomass. **Arabian Journal of Chemistry**, v. 7, n. 1, p. 57-62, 2014. <https://doi.org/10.1016/j.arabjc.2013.05.022>

ANDJELKOVIC, MILENA et al. Toxic effect of acute cadmium and lead exposure in rat blood, liver, and kidney. **International journal of environmental research and public health**, v. 16, n. 2, p. 274, 2019. doi: 10.3390/ijerph16020274

APHA AWWA, W. E. F. Standard methods for the examination of water and wastewater. **American Public Health Association, American Water Works Association, and Water Environment Federation**, 2005.

ASIF, A.; MOHSIN, H.; REHMAN, Y. Chapter 9 - Purple nonsulfur bacteria: An important versatile tool in biotechnology. Em: DE MANDAL, S.; PASSARI, A. K. (Eds.). **Recent Advancement in Microbial Biotechnology**. [s.l.] Academic Press, 2021. p. 309–337. DOI:10.1016/b978-0-12-822098-6.00003-3

ASLAM, Ambreen et al. Heavy metal bioremediation of coal-fired flue gas using microalgae under different CO₂ concentrations. **Journal of environmental management**, v. 241, p. 243-250, 2019. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2019.03.118>

ATSDR. **Toxicological Profile for Cadmium**; Georgia, 2012.

Disponível em: < <https://www.atsdr.cdc.gov/toxprofiles/tp5.pdf> > Acesso: 02 de nov. de 2022.

ATSDR. **Toxicological Profile for Chromium**, 2012.

Disponível em: < <https://www.atsdr.cdc.gov/toxprofiles/tp7.pdf> > Acesso: 02 de nov. de 2022.

ATSDR. **Toxicological Profile for Lead**, 2019.

Disponível em: < <https://www.atsdr.cdc.gov/toxprofiles/tp13.pdf> > Acesso: 0 de nov. de 2022.

AZIMI, AREZOO et al. Removal of heavy metals from industrial wastewaters: a review. **ChemBioEng Reviews**, v. 4, n. 1, p. 37-59, 2017. <https://doi.org/10.1002/cben.201600010>

BALALI-MOOD, M. et al. Toxic mechanisms of five heavy metals: mercury, lead, chromium, cadmium, and arsenic. **Frontiers in pharmacology**, v. 12, p. 643972, 2021. <https://doi.org/10.3389/fphar.2021.643972>

BANERJEE, SOHINI et al. A Bacillus strain TCL isolated from Jharia coalmine with remarkable stress responses, chromium reduction capability and bioremediation potential. **Journal of hazardous materials**, v. 367, p. 215-223, 2019. DOI: 10.1016/j.jhazmat.2018.12.038

BATISTA, F. G. A.; FREIRE, J. A. Avaliação dos níveis de metais pesados no corpo aquático do Açude Velho, Campina Grande – Paraíba. **Engenharia Ambiental – Espírito Santo do Pinhal**, v. 7, p. 166-179, 2010. Disponível em: <<http://dspace.sti.ufcg.edu.br:8080/jspui/handle/riufcg/10635>> Acesso em 18 de out. 2022.

BERNARD, ALFERD et al. Cadmium & its adverse effects on human health. **Indian Journal of Medical Research**, v. 128, n. 4, p. 557, 2008. Disponível em: < : <https://www.researchgate.net/publication/23688123> > Acesso em 14 nov. 2022.

BHARAGAVA, R. N.; MISHRA, S. Hexavalent chromium reduction potential of Cellulosimicrobium sp. isolated from common effluent treatment plant of tannery

industries. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 147, p. 102–109, 2018. DOI: 10.1016/j.ecoenv.2017.08.040

BILAL, MUHAMMAD et al. Biosorption: an interplay between marine algae and potentially toxic elements—a review. **Marine drugs**, v. 16, n. 2, p. 65, 2018. doi: 10.3390/md16020065

BLANCO, ANDRÉS et al. Lead uptake and translocation pathways in soybean seedlings: the role of ion competition and transpiration rates. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 28, n. 16, p. 20624-20636, 2021. DOI: 10.1007/s11356-020-11901-x

BLANKENSHIP, R.E., MADIGAN, M.T., BAUER, C.E., Anoxygenic Photosynthetic Bacteria. **Kluwer Academic Publishers**, Dordrecht, The Netherland, 1995. ISBN 0306479540, 9780306479540

BRAVO, G. B. G. et al. **Resistência aos metais cobre, chumbo, cromo e zinco em bactérias gram-positivas isoladas de ambiente aquático**, Dissertação de Mestrado. Universidade Tecnológica Federal do Paraná, 2018. Disponível em: < <http://repositorio.utfpr.edu.br/jspui/handle/1/3066>>. Acesso em 03 set. 2022.

BREITKREITZ, Márcia Cristina; SOUZA, André Marcelo de; POPPI, Ronei Jesus. Experimento didático de quimiometria para planejamento de experimentos: avaliação das condições experimentais na determinação espectrofotométrica de ferro II com o-fenantrolina. Um tutorial, parte III. **Química Nova**, v. 37, p. 564-573, 2014. <https://doi.org/10.5935/0100-4042.20140092>

BRIFFA, JESSICA; SINAGRA, EMMANUEL; BLUNDELL, RENALD. Heavy metal pollution in the environment and their toxicological effects on humans. **Heliyon**, v. 6, n. 9, p. e04691, 2020. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2020.e04691>

CAI, XUNCHAO et al. Microbial characterization of heavy metal resistant bacterial strains isolated from an electroplating wastewater treatment plant. **Ecotoxicology and environmental safety**, v. 181, p. 472-480, 2019. DOI: 10.1016/j.ecoenv.2019.06.036

CARVAJAL, DENNY A.; KATSENOVICH, YELENA P.; LAGOS, LEONEL E. The effects of aqueous bicarbonate and calcium ions on uranium biosorption by *Arthrobacter* G975 strain. **Chemical Geology**, v. 330, p. 51-59, 2012. DOI:10.1016/j.chemgeo.2012.08.018

CHEN, DEMING; HAN, YONBIN; GU, ZHENXIN. Application of statistical methodology to the optimization of fermentative medium for carotenoids production by *Rhodobacter sphaeroides*. **Process Biochemistry**, v. 41, n. 8, p. 1773-1778, 2006. DOI:10.1016/j.procbio.2006.03.023

CHEN, JIAQI et al. Photosynthetic bacteria-based technology is a potential alternative to meet sustainable wastewater treatment requirement?. **Environment international**, v. 137, p. 105417, 2020. <https://doi.org/10.1016/j.envint.2019.105417>

CHOWDHURY, I. R. et al. Removal of lead ions (Pb^{2+}) from water and wastewater: a review on the low-cost adsorbents. **Applied Water Science**, v. 12, n. 8, p. 1–33, 2022. <https://doi.org/10.1007/s13201-022-01703-6>

CHUG, RAVNEET et al. Optimization of extracellular polymeric substances production using *Azotobacter beijerinckii* and *Bacillus subtilis* and its application in chromium (VI) removal. **Bioresource technology**, v. 214, p. 604-608, 2016. DOI: 10.1016/j.biortech.2016.05.010

CONAMA - Conselho Nacional do Meio Ambiente, 2011. Resolução nº 430, 13 de Maio de 2011. Ministério do Meio Ambiente. Disponível em: <<https://www.ibama.gov.br/component/legislacao/?view=legislacao&legislacao=118583>> Acesso em: 02 set. 2022.

DASHARATHY, SUKEERTHI et al. Mutagenic, Carcinogenic, and Teratogenic Effect of Heavy Metals. **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**, v. 2022, 2022. DOI: 10.1155/2022/8011953

DENG, YUJIAO et al. The effect of hexavalent chromium on the incidence and mortality of human cancers: a meta-analysis based on published epidemiological cohort studies. **Frontiers in oncology**, v. 9, p. 24, 2019. DOI: 10.3389/fonc.2019.00024

DOBROWOLSKI, R. et al. Studies of cadmium(II), lead(II), nickel(II), cobalt(II) and chromium(VI) sorption on extracellular polymeric substances produced by *Rhodococcus opacus* and *Rhodococcus rhodochrous*. **Bioresource technology**, v. 225, p. 113–120, 2017. DOI: 10.1016/j.biortech.2016.11.040

DUFFUS, JOHN H. "Heavy metals" a meaningless term? (IUPAC Technical Report). **Pure and applied chemistry**, v. 74, n. 5, p. 793-807, 2002. Disponível em: <<https://publications.iupac.org/pac/2002/pdf/7405x0793.pdf>>. Acesso em 10 dez. 2022.

ELAHI, A. et al. Isolation, characterization, and multiple heavy metal-resistant and hexavalent chromium-reducing *Microbacterium testaceum* B-HS2 from tannery effluent. **Journal of King Saud University - Science**, v. 31, n. 4, p. 1437–1444, 2019. <https://doi.org/10.1016/j.jksus.2019.02.007>

EL-SHEIKH, A. H. et al. Effect of varying deposition conditions of magnetite on sawdust on the physiochemical properties of the prepared composites. **Journal of Environmental Chemical Engineering**, v. 7, n. 6, p. 103497, 2019. DOI:10.1016/j.jece.2019.103497

EL-SHEIKH, AMJAD H.; ALSHAMALY, HIBA S. Cadmium removal from organic acid-bearing soil-washing water by magnetic biosorption: Effect of various factors and adsorption isothermal study. **Journal of Environmental Chemical Engineering**, v. 8, n. 5, p. 104-188, 2020. <https://doi.org/10.1016/j.jece.2020.104188>

ENGWA, A. G. et al. Mechanism and health effects of heavy metal toxicity in humans. **Poisoning in the modern world-new tricks for an old dog**, v. 10, p. 70-90, 2019. DOI: 10.5772/intechopen.82511

FAISAL, MUHAMMAD; HASNAIN, SHAHIDA. Microbial conversion of Cr (VI) in to Cr (III) in industrial effluent. **African Journal of Biotechnology**, v. 3, n. 11, p. 610-617, 2004. DOI:10.4314/ajb.v3i11.15027

FANG, LINCHUAN et al. Biosorption mechanisms of Cu (II) by extracellular polymeric substances from *Bacillus subtilis*. **Chemical Geology**, v. 386, p. 143-151, 2014. DOI:10.1016/j.chemgeo.2014.08.017

FANG, XIAOFENG et al. Internal pore decoration with polydopamine nanoparticle on polymeric ultrafiltration membrane for enhanced heavy metal removal. **Chemical Engineering Journal**, v. 314, p. 38-49, 2017. <https://doi.org/10.1016/j.cej.2016.12.125>

FASHOLA, MUIBAT OMOTOLA; NGOLE-JEME, VERONICA MPODE; BABALOLA, OLUBUKOLA OLURANTI. Heavy metal pollution from gold mines: environmental effects and bacterial strategies for resistance. **International journal of environmental research and public health**, v. 13, n. 11, p. 1047, 2016. DOI: 10.3390/ijerph13111047

FATHOLLAHI, A. et al. A meta-analysis of metal biosorption by suspended bacteria from three phyla. **Chemosphere**, v. 268, 1 abr. 2021. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2020.129290>

FIGUEIRA, E. MARIA DE ALMEIDA PAULA; GUSMÃO LIMA, ANA ISABEL; PEREIRA, SOFIA ISABEL ALMEIDA. Cadmium tolerance plasticity in *Rhizobium leguminosarum* bv. viciae: glutathione as a detoxifying agent. **Canadian journal of microbiology**, v. 51, n. 1, p. 7-14, 2005. DOI: 10.1139/w04-101

GARCÍA, ROCÍO et al. Biosorption of Cd, Cr, Mn, and Pb from aqueous solutions by *Bacillus* sp strains isolated from industrial waste activate sludge. **TIP. Revista especializada en ciencias químico-biológicas**, v. 19, n. 1, p. 5-14, 2016. DOI: 10.1016/j.recqb.2016.02.001

GUPTA, ANKUR; BALOMAJUMDER, CHANDRAJIT. Biosorptive performance of *Escherichia coli* supported on Waste tea biomass (WTB) for removal of Cr (VI) to avoid the contamination of ground water: a comparative study between biosorption and SBB system. **Groundwater for Sustainable Development**, v. 1, n. 1-2, p. 12-22, 2015. <https://doi.org/10.1016/j.gsd.2016.01.001>

GUYTON, A. C.; HALL, J. E. Tratado de fisiologia médica. 11. ed. Rio de Janeiro: Elsevier, p. 1264, 2006. ISBN: 85-352-1641-3

HAN, X. et al. Removal of Cr(VI) and phenol coupled with the reduction of sulfate by sulfate-reducing bacteria sludge. **International Journal of Environmental Science and Technology**, v. 14, n. 10, p. 2173–2180, 2017. DOI:10.1007/s13762-017-1302-6

HLIHOR, R. M. et al. Biosorption potential of dead and living *Arthrobacter viscosus* biomass in the removal of Cr(VI): Batch and column studies. **Process Safety and Environmental Protection**, v. 108, p. 44–56, 2017. <https://doi.org/10.1016/j.psep.2016.06.016>

HU, XIAOJING et al. Biosorption mechanism of Zn^{2+} from aqueous solution by spent substrates of *pleurotus ostreatus*. **Korean Journal of Chemical Engineering**, v. 31, n. 11, p. 1911-1918, 2014. DOI:10.1007/s11814-014-0206-0

HUANG, YINGYING et al. Toxicity of cadmium and its health risks from leafy vegetable consumption. **Food & Function**, v. 8, n. 4, p. 1373-1401, 2017. DOI:10.1039/C6FO01580H

HUNTER, C. NEIL et al. (Ed.). **The purple phototrophic bacteria**. Dordrecht, The Netherlands:: Springer, 2009. DOI <https://doi.org/10.1007/978-1-4020-8815-5>

IDRIS, ABDULRAHMAN. **Isolation and Characterization of Hydrogen Producing Marine Photosynthetic Bacteria**. Tese de Doutorado. Universiti Teknologi Malaysia, 2014. Disponível em: <http://eprints.utm.my/id/eprint/48026/25/AbdulrahmanIdrisMFBME2014.pdf><http://eprints.utm.my/id/eprint/48026/>> Acesso em: 10 set. 2022.

IGIRI, B. E. et al. Toxicity and bioremediation of heavy metals contaminated ecosystem from tannery wastewater: a review. **Journal of toxicology**, v. 2018, 2018. <https://doi.org/10.1155/2018/2568038>

ITALIANO, FRANCESCA et al. Changes in morphology, cell wall composition and soluble proteome in *Rhodobacter sphaeroides* cells exposed to chromate. **Biometals**, v. 25, n. 5, p. 939-949, 2012. DOI:10.1007/s10534-012-9561-7

JAISHANKAR, M., TSETEN, T., ANBALAGAN, N., MATHEW, B.B., BEEREGOWDA, K.N. Toxicity, mechanism and health effects of some heavy metals. **Interdiscipl Toxicol**. 7, 60–72, 2014. DOI:10.2478/intox-2014-0009

JEYASINGH, J., PHILIP, L. Bioremediation of chromium contaminated soil: optimization of operating parameters under laboratory conditions. **Journal of Hazardous Materials**, v. 118, n. 1-3, p. 113-120, 2005. DOI:10.1016/j.jhazmat.2004.10.003

JUVE, JAN-MAX Arana et al. Electrodialysis for metal removal and recovery: A review. **Chemical Engineering Journal**, p. 134857, 2022. <https://doi.org/10.1016/j.cej.2022.134857>

KALITA, DEBAJIT; JOSHI, S. R. Study on bioremediation of Lead by exopolysaccharide producing metallophilic bacterium isolated from extreme habitat. **Biotechnology reports**, v. 16, p. 48-57, 2017. DOI:10.1016/j.btre.2017.11.003

KANAGARAJ, G.; ELANGO, L. Chromium and fluoride contamination in groundwater around leather tanning industries in southern India: Implications from stable isotopic ratio $\delta^{53}Cr/\delta^{52}Cr$, geochemical and geostatistical modelling. **Chemosphere**, v. 220, p. 943-953, 2019. DOI:10.1016/j.chemosphere.2018.12.105

KANAMARLAPUDI, S. L. R. K.; KUMAR CHINTALPUDI, V.; MUDDADA, S. Application of Biosorption for Removal of Heavy Metals from Wastewater. Em: DERCO, J.; VRANA, B. (Eds.). **Biosorption**. Rijeka: IntechOpen, 2018. DOI:10.5772/intechopen.77315

KANG, C.-H.; KWON, Y.-J.; SO, J.-S. Bioremediation of heavy metals by using bacterial mixtures. **Ecological Engineering**, v. 89, p. 64–69, 2016. DOI:10.1016/j.ecoleng.2016.01.023

KAPAH, MEENA; SACHDEVA, SARITA. Bioremediation options for heavy metal pollution. **Journal of health and pollution**, v. 9, n. 24, 2019. DOI:10.5696/2156-9614-9.24.191203

KARIUKI, ZACHARIA; KIPTOO, JACKSON; ONYANCHA, DOUGLAS. Biosorption studies of lead and copper using rogers mushroom biomass 'Lepiota hystrix'. **South african journal of chemical engineering**, v. 23, n. 1, p. 62-70, 2017. DOI:10.1016/j.sajce.2017.02.001

KARTHIK, Chinnannan et al. Evaluation of Cr (VI) reduction mechanism and removal by Cellulosimicrobium funkei strain AR8, a novel haloalkaliphilic bacterium. **Journal of hazardous materials**, v. 333, p. 42-53, 2017. DOI:10.1016/j.jhazmat.2017.03.037

KHADIVINIA, E. et al. Cadmium biosorption by a glyphosate-degrading bacterium, a novel biosorbent isolated from pesticide-contaminated agricultural soils. **Journal of industrial and Engineering Chemistry**, v. 20, n. 6, p. 4304-4310, 2014. DOI:10.1016/j.jiec.2014.01.037

KHAN, R. et al. Toxicological effects of toxic metals (cadmium and mercury) on blood and the thyroid gland and pharmacological intervention by vitamin C in rabbits. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 26, n. 16, p. 16727-16741, 2019. DOI:10.1007/s11356-019-04886-9

KRISHNA, K. A.; MOHAN, R. K. Distribution, correlation, ecological and health risk assessment of heavy metal contamination in surface soils around an industrial area, Hyderabad, India. **Environmental Earth Sciences**, v. 75, n. 5, p. 1-17, 2016. DOI:10.1007/s12665-015-5151-7

KRISHNANI KK, MENG X, CHRISTODOULATOS C, BODDU VM. Biosorption mechanism of nine different heavy metals onto biomatrix from rice husk. **J Hazard Mater**, 2008. DOI:10.1016/j.jhazmat.2007.09.113

KUMAR, M.; SAWHNEY, N.; LAL, R. 2 - Chemistry of heavy metals in the environment. Em: KUMAR, V.; SHARMA, A.; CERDÀ, A. (Eds.). **Heavy Metals in the Environment**. [s.l.] Elsevier, 2021. p. 9–37. DOI: 10.1016/j.envres.2019.108792

LAKHERWAL, D. Adsorption of heavy metals: a review. **International journal of environmental research and development**, v. 4, n. 1, p. 41-48, 2014. <https://doi.org/10.4136/ambi-agua.2740>

LI, MENGKE et al. Both cell envelope and cytoplasm were the locations for chromium (VI) reduction by Bacillus sp. M6. **Bioresource technology**, v. 273, p. 130-135, 2019. DOI: 10.1016/j.biortech.2018.11.006

LI, XIAOMIN et al. Bioremediation of lead contaminated soil with *Rhodobacter sphaeroides*. **Chemosphere**, v. 156, p. 228-235, 2016. DOI:10.1016/j.chemosphere.2016.04.098

LIMCHAROENSUK, TOSSAPOL et al. Bioaccumulation and biosorption of Cd^{2+} and Zn^{2+} by bacteria isolated from a zinc mine in Thailand. **Ecotoxicology and environmental safety**, v. 122, p. 322-330, 2015. DOI:10.1016/j.ecoenv.2015.08.013

LIU, SHAO-HENG et al. Bioremediation mechanisms of combined pollution of PAHs and heavy metals by bacteria and fungi: A mini review. **Bioresource technology**, v. 224, p. 25-33, 2017. doi: 10.1016/j.biortech.2016.11.095.

LIU, YIZHANG et al. Potential health risk in areas with high naturally-occurring cadmium background in southwestern China. **Ecotoxicology and environmental safety**, v. 112, p. 122-131, 2015. DOI:10.1016/j.ecoenv.2014.10.022

LU, Haifeng et al. Bio-conversion of photosynthetic bacteria from non-toxic wastewater to realize wastewater treatment and bioresource recovery: a review. **Bioresource technology**, v. 278, p. 383-399, 2019. DOI:10.1016/j.biortech.2019.01.070

MA, L. et al. Microbial reduction fate of chromium (Cr) in aqueous solution by mixed bacterial consortium. **Ecotoxicology and environmental safety**, v. 170, p. 763–770, 2019. DOI:10.1016/j.ecoenv.2018.12.041

MADIGAN, MICHAEL T.; JUNG, DEBORAH O. An overview of purple bacteria: systematics, physiology, and habitats. **The purple phototrophic bacteria**, p. 1-15, 2009. DOI https://doi.org/10.1007/978-1-4020-8815-5_1

MAJUMDER, RAJIB et al. Depletion of Cr (VI) from aqueous solution by heat dried biomass of a newly isolated fungus *Arthrimum malaysianum*: a mechanistic approach. **Scientific reports**, v. 7, n. 1, p. 1-15, 2017. DOI:10.1038/s41598-017-10160-0

MALKOC, SEMRA; KAYNAK, ELIF; GUVEN, KIYMET. Biosorption of zinc (II) on dead and living biomass of *Variovorax paradoxus* and *Arthrobacter viscosus*. **Desalination and Water Treatment**, v. 57, n. 33, p. 15445-15454, 2016. DOI:10.1080/19443994.2015.1073181

MARTIN, SABINE; GRISWOLD, WENDY. Human health effects of heavy metals. **Environmental Science and Technology briefs for citizens**, v. 15, p. 1-6, 2009. Disponível em: < <https://engg.k-state.edu/chsr/files/chsr/outreach-resources/15HumanHealthEffectsofHeavyMetals.pdf> > Acesso em: 03 set. 2024.

MATHEW, BLESSY BABY; KRISHNAMURTHY, NIDEGHATTA BEEREGOWDA. Screening and identification of bacteria isolated from industrial area groundwater to study lead sorption: Kinetics and statistical optimization of biosorption parameters. **Groundwater for Sustainable Development**, v. 7, p. 313-327, 2018. DOI: 10.1016/j.gsd.2018.07.007

MATHUR, S.; KALAJI, H. M.; JAJOO, A. Investigation of deleterious effects of chromium phytotoxicity and photosynthesis in wheat plant. **Photosynthetica**, v. 54, n. 2, p. 185-192, 2016. <https://doi.org/10.1007/s11099-016-0198-6>

MCKINLAY, James B.; HARWOOD, Caroline S. Photobiological production of hydrogen gas as a biofuel. **Current opinion in biotechnology**, v. 21, n. 3, p. 244-251, 2010. DOI: 10.1016/j.copbio.2010.02.012

MCNEILL LS, MCLEAN JE, PARKS JL, EDWARDS M. Hexavalent chromium review, part 2: chemistry, occurrence, and treatment. **J Am Water Works Assoc**, 2012. DOI:10.5942/jawwa.2012.104.0092

MICHALAK, I.; CHOJNACKA, K.; WITEK-KROWIAK, A. State of the Art for the Biosorption Process—a Review. **Applied Biochemistry and Biotechnology**, v. 170, n. 6, p. 1389–1416, 2013. DOI <https://doi.org/10.1007/s12010-013-0269-0>

MICROBEWIKI (Org.). A Microbial Biorealm page on the genus *Rhodobacter*. 2010. Disponível em: Acesso em: 26. Jan. 2023. Disponível em: < <https://microbewiki.kenyon.edu/index.php/Rhodobacter>>. Acesso em: 10 de set. 2022.

MOHAN, DINESH; PITTMAN JR, CHARLES U. Activated carbons and low cost adsorbents for remediation of tri-and hexavalent chromium from water. **Journal of hazardous materials**, v. 137, n. 2, p. 762-811, 2006. DOI:10.1016/j.jhazmat.2006.06.060

MONALISA, MOHANTY; KUMAR, PATRA HEMANTA. Effect of ionic and chelate assisted hexavalent chromium on mung bean seedlings (*Vigna radiata* L. wilczek. var k-851) during seedling growth. **Journal of Stress Physiology & Biochemistry**, v. 9, n. 2, p. 232-241, 2013.

MUKKATA, KANOKWAN et al. The potential of mercury resistant purple nonsulfur bacteria as effective biosorbents to remove mercury from contaminated areas. **Biocatalysis and Agricultural Biotechnology**, v. 17, p. 93-103, 2019. DOI:10.1016/j.bcab.2018.11.008

MUNK, A. Christine et al. Complete genome sequence of *Rhodospirillum rubrum* type strain (S1T). **Standards in genomic sciences**, v. 4, n. 3, p. 293-302, 2011. DOI:10.4056/sigs.1804360

MURNANE, J. G. et al. Advances in Metal Recovery from Wastewaters Using Selected Biosorbent Materials and Constructed Wetland Systems. Em: EYVAZ, M. (Ed.). **Water and Wastewater Treatment**. Rijeka: IntechOpen, 2019. DOI:10.5772/intechopen.84335

NATH, KAUSHIK; DAS, DEBABRATA. Effect of light intensity and initial pH during hydrogen production by an integrated dark and photofermentation process. **International Journal of Hydrogen Energy**, v. 34, n. 17, p. 7497-7501, 2009. DOI:10.1016/j.ijhydene.2008.11.065

NIES, D. Microbial heavy-metal resistance. **Applied Microbiology and Biotechnology**, 51, 730–750, 1999. DOI: 10.1007/s002530051457

NOOKONGBUT, PHITTHAYA et al. The biocontrol potential of acid-resistant *Rhodopseudomonas palustris* KTSSR54 and its exopolymeric substances against rice fungal pathogens to enhance rice growth and yield. **Biological Control**, v. 150, p. 104354, 2020. DOI:10.1016/j.biocontrol.2020.104354

OVERMANN, JÖRG; GARCIA-PICHEL, Ferrau. The phototrophic way of life. **The prokaryotes**, v. 2, p. 32, 2006. DOI:10.1007/0-387-30742-7_3

PARK, JIN HEE; CHON, HYU-TAEK. Characterization of cadmium biosorption by *Exiguobacterium* sp. isolated from farmland soil near Cu-Pb-Zn mine. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 23, n. 12, p. 11814-11822, 2016. DOI:10.1007/s11356-016-6335-8

PODDER, M. S.; MAJUMDER, C. B. Biological detoxification of As (III) and As (V) using immobilized bacterial cells in fixed-bed bio-column reactor: prediction of kinetic parameters. **Groundwater for Sustainable Development**, v. 6, p. 14-42, 2018. DOI:10.1016/J.GSD.2017.10.004

PORETSKY, RACHEL S. Finding a niche: The habits and habitats of purple non-sulfur bacteria. **Microbial Diversity Athens, GA**, v. 30602, 2003. Disponível em: <<https://themodern.farm/studies/The%20Habits%20and%20Habitats%20of%20PNSB.pdf>> Acesso em: 04 de jan. 2024.

POSTHUMA, LEO et al. Improved component-based methods for mixture risk assessment are key to characterize complex chemical pollution in surface waters. **Environmental Sciences Europe**, v. 31, n. 1, p. 1-11, 2019. DOI:10.1186/s12302-019-0246-5

PUJARI, MAMTA; KAPOOR, DHRITI. Heavy metals in the ecosystem: Sources and their effects. In: **Heavy metals in the environment**. Elsevier, 2021. p. 1-7. DOI:10.1016/B978-0-12-821656-9.00001-8

PULIT C. A.; SOBOLECYK B. J.; ŁABA, W. Optimization of copper, lead and cadmium biosorption onto newly isolated bacterium using a Box-Behnken design. **Ecotoxicology and environmental safety**, v. 149, p. 275-283, 2018. DOI:10.1016/j.ecoenv.2017.12.008

PUSHKAR, BHUPENDRA et al. Chromium pollution and its bioremediation mechanisms in bacteria: A review. **Journal of Environmental Management**, v. 287, p. 112279, 2021. DOI:10.1016/j.jenvman.2021.112279

PUYOL, D. et al. A mechanistic model for anaerobic phototrophs in domestic wastewater applications: Photo-anaerobic model (PAnM). **Water research**, v. 116, p. 241-253, 2017. DOI:10.1016/j.watres.2017.03.022

QI, XIANG et al. The exploration of monochromatic near-infrared LED improved anoxygenic photosynthetic bacteria *Rhodopseudomonas* sp. for wastewater treatment. **Bioresource Technology**, v. 241, p. 620-626, 2017. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2017.05.202>

RAHMATY R, KHARA J. Effects of vesicular arbuscular mycorrhiza *Glomus intraradices* on photosynthetic pigments, antioxidant enzymes, lipid peroxidation, and chromium accumulation in maize plants treated with chromium. **Turk J Biol**, 2011. DOI:10.3906/biy-0811-3

RATHNAYAKE, I. V. N. et al. Heavy metal toxicity to bacteria – Are the existing growth media accurate enough to determine heavy metal toxicity? **Chemosphere**, v. 90, n. 3, p. 1195–1200, 2013. DOI: 10.1016/j.chemosphere.2012.09.036

RATZKE, CHRISTOPH; GORE, JEFF. Modifying and reacting to the environmental pH can drive bacterial interactions. **PLoS biology**, v. 16, n. 3, p. 200-248, 2018. DOI: 10.1371/journal.pbio.2004248

RESLEWIC, Susan et al. Whole-genome shotgun optical mapping of *Rhodospirillum rubrum*. **Applied and environmental microbiology**, v. 71, n. 9, p. 5511-5522, 2005. doi: 10.1128/AEM.71.9.5511-5522.2005

RIGBY, H.; SMITH, S. R. The significance of cadmium entering the human food chain via livestock ingestion from the agricultural use of biosolids, with special reference to the UK. **Environment International**, v. 143, p. 105-844, 2020. DOI:10.1016/j.envint.2020.105844

SAAVEDRA, RICARDO et al. Influence of organic matter and CO₂ supply on bioremediation of heavy metals by *Chlorella vulgaris* and *Scenedesmus almeriensis* in a multimetallic matrix. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 182, p. 109-393, 2019. DOI:10.1016/j.ecoenv.2019.109393

SAĞIR, Emrah; YUCEL, Meral; HALLENBECK, Patrick C. Demonstration and optimization of sequential microaerobic dark-and photo-fermentation biohydrogen production by immobilized *Rhodobacter capsulatus* JP91. **Bioresource technology**, v. 250, p. 43-52, 2018. DOI: 10.1016/j.biortech.2017.11.018

SAKPIROM, Jakkapan et al. Characterizations of purple non-sulfur bacteria isolated from paddy fields, and identification of strains with potential for plant growth-promotion, greenhouse gas mitigation and heavy metal bioremediation. **Research in Microbiology**, v. 168, n. 3, p. 266-275, 2017. DOI: 10.1016/j.resmic.2016.12.001

SANKARAMMAL, M.; THATHEYUS, A.; RAMYA, D. Bioremoval of cadmium using *Pseudomonas fluorescens*. **Open J. Water Pollut. Treat**, v. 1, p. 92-100, 2014. DOI:10.15764/WPT.2014.02010

SHEKHAWAT, KIRTI et al. Chromium toxicity and its health hazards. **International Journal of Advanced Research**, v. 3, n. 7, p. 167-172, 2015.

SHI, X.Y., YU, H.Q. Response surface analysis on the effect of cell concentration and light intensity on hydrogen production by *Rhodopseudomonas capsulata*. **Process Biochemistry**, v. 40, n. 7, p. 2475-2481, 2005. DOI:10.1016/j.procbio.2004.09.010

SIDDIQUEE, S. et al. Heavy metal contaminants removal from wastewater using the potential filamentous fungi biomass: a review. **J Microb Biochem Technol**, v. 7, n. 6, p. 384-395, 2015. DOI:10.4172/1948-5948.1000243

SMITH, D. A. et al. Ecologically and geologically relevant isotope signatures of C, N, and S: okenone producing purple sulfur bacteria part I. **Geobiology**, v. 13, n. 3, p. 278-291, 2015. DOI:10.1111/gbi.12136

SOUSA, LETÍCIA DE MOURA et al. Avaliação do uso de bactéria fototrófica *Rhodobacter capsulatus* na recuperação de efluente contaminado com cromo (VI). 2021. <http://doi.org/10.14393/ufu.te.2021.659>

SRINATH, T. et al. Chromium (VI) biosorption and bioaccumulation by chromate resistant bacteria. **Chemosphere**, v. 48, n. 4, p. 427-435, 2002. DOI: 10.1016/s0045-6535(02)00089-9

STAAL, M. et al. Different carbon isotope fractionation patterns during the development of phototrophic freshwater and marine biofilms. **Biogeosciences**, v. 4, n. 4, p. 613-626, 2007. <https://doi.org/10.5194/bg-4-613-2007>

SU, YAN-QIU et al. Chromium removal from solution by five photosynthetic bacteria isolates. **Applied microbiology and biotechnology**, v. 102, n. 4, p. 1983-1995, 2018. DOI:10.1007/s00253-017-8690-x

SU, YAN-QIU et al. Highly efficient and sustainable removal of Cr (VI) in aqueous solutions by photosynthetic bacteria supplemented with phosphor salts. **Chemosphere**, v. 283, p. 131031, 2021. DOI:10.1016/j.chemosphere.2021.131031

SU, YAN-QIU et al. Removal of mercury (II), lead (II) and cadmium (II) from aqueous solutions using *Rhodobacter sphaeroides* SC01. **Chemosphere**, v. 243, p. 125-166, 2020. DOI:10.1016/j.chemosphere.2019. DOI:10.1016/j.chemosphere.2019.125166

TABARAKI, REZA; AHMADY-ASBCHIN, SALMAN; ABDI, OMRAN. Biosorption of Zn (II) from aqueous solutions by *Acinetobacter* sp. isolated from petroleum spilled soil. **Journal of Environmental Chemical Engineering**, v. 1, n. 3, p. 604-608, 2013. DOI:10.1016/j.jece.2013.06.024

TALAEKHOZANI, AMIRREZA; REZANIA, SHAHABALDIN. Application of photosynthetic bacteria for removal of heavy metals, macro-pollutants and dye from wastewater: A review. **Journal of Water Process Engineering**, v. 19, p. 312-321, 2017. DOI:10.1016/j.jwpe.2017.09.004

TAN, HANG et al. Bioreduction and biosorption of Cr (VI) by a novel *Bacillus* sp. CRB-B1 strain. **Journal of hazardous materials**, v. 386, p. 121-628, 2020. DOI:10.1016/j.jhazmat.2019.121628

THORGERSEN, Michael P. et al. Mechanisms of chromium and uranium toxicity in *Pseudomonas stutzeri* RCH2 grown under anaerobic nitrate-reducing conditions. **Frontiers in microbiology**, v. 8, p. 1529, 2017. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2017.01529>

TSAI, WEN-TIEN; CHEN, HUEI-RU. Removal of malachite green from aqueous solution using low-cost chlorella-based biomass. **Journal of Hazardous Materials**, v. 175, n. 1-3, p. 844-849, 2010. DOI:10.1016/j.jhazmat.2009.10.087

TUCHMAN, MARC; BLINN, DEAN W. Comparison of attached algal communities on natural and artificial substrata along a thermal gradient. **British Phycological Journal**, v. 14, n. 3, p. 243-254, 1979. DOI:10.1017/S096702620100350X

UMMALYMA, SABEELA BEEVI; SINGH, ANAMIKA. Importance of algae and bacteria in the bioremediation of heavy metals from wastewater treatment plants. In: **New Trends in Removal of Heavy Metals from Industrial Wastewater**. Elsevier, 2021. p. 343-357. DOI:10.1016/B978-0-12-822965-1.00014-3

UPADHYAY, S. K.; SINGH, J. S.; SINGH, D. P. Exopolysaccharide-producing plant growth-promoting rhizobacteria under salinity condition. **Pedosphere**, v. 21, n. 2, p. 214-222, 2011. [https://doi.org/10.1016/S1002-0160\(11\)60120-3](https://doi.org/10.1016/S1002-0160(11)60120-3)

VENDRUSCOLO, FRANCILO; DA ROCHA FERREIRA, GLALBER LUIZ; ANTONIOSI FILHO, NELSON ROBERTO. Biosorption of hexavalent chromium by microorganisms. **International Biodeterioration & Biodegradation**, v. 119, p. 87-95, 2017. DOI:10.1016/j.heliyon.2019.e01450

VIJAYARAJ, A. S. et al. Effective bioremediation and toxicity assessment of tannery wastewaters treated with indigenous bacteria. **3 Biotech**, v. 8, n. 10, p. 428, 2018. DOI:10.1007/s13205-018-1444-3

VU, BARBARA et al. Bacterial extracellular polysaccharides involved in biofilm formation. **Molecules**, v. 14, n. 7, p. 2535-2554, 2009. DOI: 10.3390/molecules14072535

WANG, H., YANG, A., ZHANG, G., MA, B., MENG, F., PENG, M., & WANG, H. Enhancement of carotenoid and bacteriochlorophyll by high salinity stress in photosynthetic bacteria. **International Biodeterioration & Biodegradation**, v. 121, p. 91-96, 2017. <https://doi.org/10.1016/j.ibiod.2017.03.028>

WANG, JINHE et al. Pollution characteristics of atmospheric dustfall and heavy metals in a typical inland heavy industry city in China. **Journal of Environmental Sciences**, v. 71, p. 283-291, 2018. <https://doi.org/10.1016/j.jes.2018.05.031>

WANG, MEI et al. A review on cadmium exposure in the population and intervention strategies against cadmium toxicity. **Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology**, v. 106, n. 1, p. 65-74, 2021. DOI:10.1007/s00128-020-03088-1

WANG, TING et al. Evaluation of biochars from different stock materials as carriers of bacterial strain for remediation of heavy metal-contaminated soil. **Scientific Reports**, v. 7, n. 1, p. 1-10, 2017. DOI:10.1038/s41598-017-12503-3

WANG, YAFEI et al. Carcinogenicity of chromium and chemoprevention: a brief update. **OncoTargets and therapy**, v. 10, p. 4065, 2017. DOI:10.2147/OTT.S139262

WEAVER, P.F.; WALL, J.D.; GEST, H. Characterization of *Rhodopseudomonas capsulate*. **Archives of Microbiology**, v. 105, p. 207-216, 1975. DOI: 10.1007/BF00447139

WEI, WEI et al. Biosorption of Pb (II) from aqueous solution by extracellular polymeric substances extracted from *Klebsiella* sp. J1: Adsorption behavior and mechanism assessment. **Scientific reports**, v. 6, n. 1, p. 1-10, 2016. DOI:10.1038/srep31575

WEN, Y., JONG, L., CHENXI, W. Preparation of carotene from red yeast. **Food Fermentation Ind**, v. 4, p. 24-28, 1993.

XIE, DONGYU et al. Influence of Cd on atrazine degradation and the formation of three primary metabolites in water under the combined pollution. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 28, n. 13, p. 16081-16091, 2021. DOI:10.1007/s11356-020-11819-4

XIE, SHUANG et al. An experimental study on the adsorption and desorption of Cu (II) in silty clay. **Geofluids**, v. 2018, 2018. DOI:10.1155/2018/3610921

XU, SHAOZU et al. Characterization of Cd²⁺ biosorption by *Pseudomonas* sp. strain 375, a novel biosorbent isolated from soil polluted with heavy metals in Southern China. **Chemosphere**, v. 240, p. 124893, 2020. DOI:10.1016/j.chemosphere.2019.124893

XU, X., NIE, S., DING, H., FAN HOU, F. Environmental pollution and kidney diseases. **Nat. Publ. Gr.** 14, 2018. DOI:10.1038/nrneph.2018.11

YAASHIKAA, P. R. et al. Modelling on the removal of Cr (VI) ions from aquatic system using mixed biosorbent (*Pseudomonas stutzeri* and acid treated Banyan tree bark). **Journal of Molecular Liquids**, v. 276, p. 362-370, 2019. DOI:10.1016/j.molliq.2018.12.004

YANG, Qianqi et al. A review of soil heavy metal pollution from industrial and agricultural regions in China: Pollution and risk assessment. *Science of the total environment*, v. 642, p. 690-700, 2018. DOI:10.1016/j.scitotenv.2018.06.068

YIN, J. et al. A comparison of accumulation and depuration effect of dissolved hexavalent chromium (Cr⁶⁺) in head and muscle of bighead carp (*Aristichthys nobilis*) and assessment of the potential health risk for consumers. **Food Chemistry**, v. 286, p. 388–394, 2019. DOI:10.1016/j.foodchem.2019.01.186

YU, CHENG et al. The long-term effects of hexavalent chromium on anaerobic ammonium oxidation process: performance inhibition, hexavalent chromium reduction and unexpected nitrite oxidation. **Bioresource technology**, v. 283, p. 138-147, 2019. DOI:10.1080/10643389.2020.1738166

YUE, ZHENG-Bo et al. Component analysis and heavy metal adsorption ability of extracellular polymeric substances (EPS) from sulfate reducing bacteria. **Bioresource Technology**, v. 194, p. 399-402, 2015. DOI:10.1016/j.biortech.2015.07.042

ZAMRI, M. F. M. A. et al. Semi-aerobic stabilized landfill leachate treatment by ion exchange resin: isotherm and kinetic study. **Applied Water Science**, v. 7, n. 2, p. 581–590, 2017. DOI:10.1007/s13201-015-0266-2

ZERAATKAR, A. K. et al. Potential use of algae for heavy metal bioremediation, a critical review. **Journal of environmental management**, v. 181, p. 817–831, 2016. DOI: 10.1016/j.jenvman.2016.06.059

ZHOU, Q. et al. Biomass and carotenoid production in photosynthetic bacteria wastewater treatment: effects of light intensity. **Bioresource technology**, v. 171, p. 330–335, 2014. DOI:10.1016/j.biortech.2014.08.088

ZHOU, Q. et al. Biomass and pigments production in photosynthetic bacteria wastewater treatment: Effects of photoperiod. **Bioresource Technology**, v. 190, p. 196–200, 2015. DOI:10.1016/j.biortech.2014.12.077

ZHU, SIHANG et al. Green sustainable and highly efficient hematite nanoparticles modified biochar-clay granular composite for Cr (VI) removal and related mechanism. **Journal of Cleaner Production**, v. 276, p. 123009, 2020. DOI:10.1016/j.jclepro.2020.123009

ZORODDU, M. A. et al. The essential metals for humans: a brief overview. **Journal of inorganic biochemistry**, v. 195, p. 120–129, 2019. DOI:10.1016/j.jinorgbio.2019.03.013

ZOUBOULIS AI, LOUKIDOU MX, MATIS KA. Biosorption of toxic metals from aqueous solutions by bacteria strains isolated from metal-polluted soils. **Process Biochem**, 2004. DOI:10.1016/S0032-9592(03)00200-0