



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



**Avaliação do uso de bactéria fototrófica *Rhodobacter capsulatus* na
recuperação de efluente contaminado com cromo (VI)**

Letícia de Moura Sousa



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



**Avaliação do uso de bactéria fototrófica *Rhodobacter capsulatus* na
recuperação de efluente contaminado com cromo (VI)**

Letícia de Moura Sousa

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

**Coorientadores: Prof^ª. Dr^a. Vicelma Luiz
Cardoso e Prof. Dr. Adamo Ferreira Gomes do
Monte**

Tese submetida ao Programa de Pós-Graduação
em Engenharia Química da Universidade Federal
de Uberlândia como parte dos requisitos
necessários à obtenção do título de Doutor em
Engenharia Química.

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

S725 2021	Sousa, Letícia de Moura, 1991- Avaliação do uso de bactéria fototrófica <i>Rhodobacter capsulatus</i> na recuperação de efluente contaminado com cromo (VI) [recurso eletrônico] / Letícia de Moura Sousa. - 2021. Orientador: Fabiana Regina Xavier Batista Batista. Coorientador: Vicelma Luiz Cardoso Cardoso. Coorientador: Adamo Ferreira Gomes do Monte Ferreira Gomes do Monte. Tese (Doutorado) - Universidade Federal de Uberlândia, Pós-graduação em Engenharia Química. Modo de acesso: Internet. Disponível em: http://doi.org/10.14393/ufu.te.2021.659 Inclui bibliografia. 1. Engenharia química. I. Batista, Fabiana Regina Xavier Batista, 1976-, (Orient.). II. Cardoso, Vicelma Luiz Cardoso, 1960-, (Coorient.). III. Monte, Adamo Ferreira Gomes do Monte Ferreira Gomes do, 1972-, (Coorient.). IV. Universidade Federal de Uberlândia. Pós-graduação em Engenharia Química. V. Título. CDU: 66.0
--------------	--

Bibliotecários responsáveis pela estrutura de acordo com o AACR2:

Gizele Cristine Nunes do Couto - CRB6/2091



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:	Tese de Doutorado, 09/2021, PPGEQ				
Data:	13 de novembro de 2021	Hora de início:	08:30	Hora de encerramento:	12:45h
Matrícula do Discente:	11723EQU004				
Nome do Discente:	Letícia de Moura Sousa				
Título do Trabalho:	Avaliação do uso da bactéria fototrófica <i>Rhodobacter capsulatus</i> na recuperação de efluente contaminado com cromo(VI)				
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				

Reuniu-se por meio de webconferência, a Banca Examinadora, designada pelo Colegiado do Programa de Pós-graduação em Engenharia Química, assim composta: Dra. Vânia Santos Braz - BioSmart-nano/Araraquara; Prof. Dr. Diego Andrade Lemos - ICTE/UFTM; Profa. Dra. Patrícia Angélica Vieira - FEQUI/UFU; Profa. Dra. Miriam Maria de Resende - PPGEQ/UFU; Profa. Dra. Vicelma Luiz Cardoso - PPGEQ/UFU, coorientadora, Prof. Dr. Adamo Ferreira Gomes do Monte - INFIS/UFU, coorientador e Profa. Dra. 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 o senhor(a) presidente concedeu a palavra, pela ordem sucessivamente, aos(às) examinadores(as), que passaram a arguir o(a) candidato(a). Ultimada a arguição, que se desenvolveu dentro dos termos regimentais, a Banca, em sessão secreta, atribuiu o resultado final, considerando o(a) candidato(a):

Aprovada.

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

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 **Vicelma Luiz Cardoso, Professor(a) do Magistério Superior**, em 13/12/2021, às 12:44, 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 **Patrícia Angelica Vieira, Professor(a) do Magistério Superior**, em 13/12/2021, às 12:44, 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 **Adamo Ferreira Gomes do Monte, Professor(a) do Magistério Superior**, em 13/12/2021, às 12:44, 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 13/12/2021, às 12:44, 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 **Diego Andrade Lemos, Usuário Externo**, em 13/12/2021, às 12:44, 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 13/12/2021, às 12:44, 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 **Fabiana Regina Xavier Batista, Professor(a) do Magistério Superior**, em 13/12/2021, às 13:09, 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 3247325 e o código CRC 6C6208A9.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente, gostaria de agradecer a Deus pela presença constante em minha vida e por não permitir que desistisse nas lutas mais difíceis.

Aos meus pais, Alfredo e Fátima, pelo amor incondicional e pela lição de amor que me ensinaram durante toda a vida. Obrigada por tudo que fizeram por mim, serei eternamente grata e nada que venha a fazer irá recompensar toda dedicação.

Aos meus irmãos, Guilherme e Leonardo, que serviram de suporte através de uma palavra de incentivo ou um gesto de compreensão. Ao meu afilhado Pedro que é fonte de alegria e diversão.

Ao Matheus Carrara pelo companheirismo, paciência e dedicação.

Aos meus familiares e amigos, que acreditaram em meu sucesso e caminharam comigo.

Em especial, gostaria de agradecer aos colegas de laboratório e meus amigos, principalmente o Felipe e a Elisângela, pelo convívio diário e por estarem dispostos a me ajudar.

À minha orientadora, Prof^ª. Dr^ª. Fabiana Regina Xavier Batista pela confiança em meu trabalho, pelo apoio, carinho, dedicação, paciência, pelos conhecimentos e experiências transmitidas. Obrigada por exercer seu trabalho com profissionalismo e amor. A minha eterna admiração.

À Prof^ª. Dr^ª. Vicelma Luiz Cardoso pela intensa colaboração que contribuiu no desenvolver deste estudo.

Ao Prof. Dr. Adamo Ferreira Gomes do Monte pela contribuição em relação aos cromóforos, pelos conhecimentos transmitidos e por disponibilizar o uso do laboratório.

Em especial, a Prof^ª. Dr^ª. Miriam Maria de Resende por sempre estar disposta a ajudar nos problemas recorrentes no laboratório.

A todos os professores, funcionários e equipe do NUCBIO que também foram os responsáveis pela concretização deste trabalho.

Aos órgãos de fomento CNPq, Fapemig e CAPES pelo apoio financeiro.

Enfim, a todos que colaboraram de forma direta e indireta para o bom desempenho do trabalho.

Sumário

LISTA DE FIGURAS	i
LISTA DE TABELAS	iii
SIMBOLOGIA E ABREVIATURAS	v
RESUMO	vii
ABSTRACT	viii
CAPÍTULO 1	16
INTRODUÇÃO.....	16
CAPÍTULO 2	18
OBJETIVOS.....	18
CAPÍTULO 3	19
REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	19
3.1 Poluição Hídrica	19
3.1.1 Metais Pesados	19
3.2 Cromo	22
3.2.1 Aspectos Gerais.....	22
3.2.2 Especiação do cromo.....	22
3.2.3 Fontes e aplicações do cromo	24
3.2.4 Poluição ambiental provocada pelo cromo	26
3.2.5 Toxicidade.....	27
3.2.6 Legislação	29
3.3 Remediação do cromo	31
3.3.1 Métodos biológicos (Biorremediação).....	32
3.3.2 Mecanismos moleculares da biorremediação.....	32
3.3.3 Biorremediação usando bactérias.....	34
3.3.4 Redução biológica (Biorredução)	36
3.3.5 Bioissorção e Bioacumulação	40

3.4 Aplicações de culturas de bactérias fotossintéticas na remediação de metais pesados	41
3.5 Influência das condições de luz em culturas de bactérias fotossintéticas	43
CAPÍTULO 4	46
MATERIAIS E MÉTODOS	46
4.1 Bactéria e meio de cultivo	46
4.2 Cultivo do inóculo da bactéria	47
4.3 Fonte de cromo	48
4.4 Condições para a fermentação	48
4.4.1 Avaliação de diferentes intensidades luminosas	49
4.4.2 Teste Controle	49
4.4.3 Avaliação de diferentes comprimentos de onda	50
4.5 Metodologia Analítica	51
4.5.1 Determinação do crescimento celular	51
4.5.2 Determinação do cromo hexavalente	52
4.5.3 Determinação do cromo total	52
4.5.4 Determinação da bacterioclorofila	53
4.5.5 Determinação dos carotenoides	53
4.5.6 Eficiência de remoção de cromo hexavalente e cromo total	54
CAPÍTULO 5	55
RESULTADOS E DISCUSSÃO	55
5.1 Avaliação de diferentes intensidades luminosas	55
5.1.1 Ausência de luminosidade	55
5.1.2 Avaliação da luminosidade	62
5.1.3 Avaliação do Teste Controle	95
5.2 Avaliação de diferentes comprimentos de onda	99
CAPÍTULO 6	124
CONCLUSÕES	124
CAPÍTULO 7	126

SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS.....	126
CAPÍTULO 8	127
REFERÊNCIAS	127
CAPÍTULO 9	144
APÊNDICE	144
A – Espectro de absorção da luz branco.	144
B – Espectro de absorção da luz azul.	144
C – Espectro de absorção da luz verde.	145
D – Espectro de absorção da luz amarelo.	145
E – Espectro de absorção da luz vermelho.	146
F - Curva de calibração para concentração de <i>Rhodobacter capsulatus</i>	146
G - Curva de calibração para concentração de cromo hexavalente.	147

LISTA DE FIGURAS

Figura 3.1 Impactos provocados pela poluição do cromo.....	29
Figura 3.2 Mecanismos de remoção de cromo através de uma célula microbiana.....	34
Figura 3.3 Mecanismos de redução enzimática de cromo hexavalente em condições aeróbias (superior) e anaeróbias (inferior).....	39
Figura 4.1 Fluxograma das etapas desenvolvidas no trabalho.....	46
Figura 4.2 Representação esquemática da estufa sob iluminação contínua.....	49
Figura 4.3 Espectrofotômetro de Absorção Atômica.....	52
Figura 5.1 Cinética de crescimento celular do Ensaio 1.....	56
Figura 5.2 Cinética de concentração de cromo total do Ensaio 1.....	59
Figura 5.3 Quantificação da bacterioclorofila no início e no final do Ensaio 1.....	60
Figura 5.4 Quantificação de carotenoides no início e no final do Ensaio 1.....	61
Figura 5.5 Cinética de crescimento celular do Ensaio 2.....	62
Figura 5.6 Coloração dos efluentes sintéticos.....	66
Figura 5.7 Coloração das amostras ao longo da fermentação.....	66
Figura 5.8 Cinética de concentração de cromo total do Ensaio 2.....	67
Figura 5.9 Quantificação da bacterioclorofila no início e no final do Ensaio 2.....	68
Figura 5.10 Quantificação de carotenoides no início e no final do Ensaio 2.....	69
Figura 5.11 Cinética de crescimento celular do Ensaio 3.....	71
Figura 5.12 Cinética de concentração de cromo total do Ensaio 3.....	74
Figura 5.13 Quantificação da bacterioclorofila no início e no final do Ensaio 3.....	75
Figura 5.14 Quantificação de carotenoides no início e no final do Ensaio 3.....	76
Figura 5.15 Cinética de crescimento celular do Ensaio 4.....	77
Figura 5.16 Cinética de concentração de cromo total do Ensaio 4.....	82
Figura 5.17 Quantificação da bacterioclorofila no início e no final do Ensaio 4.....	83
Figura 5.18 Quantificação de carotenoides no início e no final do Ensaio 4.....	85

Figura 5.19 Cinética de crescimento celular do Ensaio 5.....	87
Figura 5.20 Cinética de concentração de cromo total do Ensaio 5.....	90
Figura 5.21 Quantificação da bacterioclorofila no início e no final do Ensaio 5.....	91
Figura 5.22 Quantificação de carotenoides no início e no final do Ensaio 5.....	92
Figura 5.23 Síntese dos resultados do Teste Controle.....	96
Figura 5.24 Cinética de crescimento celular do Ensaio 11.....	100
Figura 5.25 Quantificação da bacterioclorofila no início e no final do Ensaio 11.....	102
Figura 5.26 Quantificação de carotenoides no início e no final do Ensaio 11.....	103
Figura 5.27 Cinética de crescimento celular do Ensaio 12.....	104
Figura 5.28 Cinética de concentração de cromo total do Ensaio 12.....	107
Figura 5.29 Quantificação da bacterioclorofila no início e no final do Ensaio 12.....	108
Figura 5.30 Quantificação de carotenoides no início e no final do Ensaio 12.....	109
Figura 5.31 Cinética de crescimento celular do Ensaio 13.....	110
Figura 5.32 Cinética de concentração de cromo total do Ensaio 13.....	113
Figura 5.33 Quantificação da bacterioclorofila no início e no final do Ensaio 13.....	114
Figura 5.34 Quantificação de carotenoides no início e no final do Ensaio 13.....	115
Figura 5.35 Cinética de crescimento celular do Ensaio 14.....	116
Figura 5.36 Cinética de concentração de cromo total do Ensaio 14.....	119
Figura 5.37 Quantificação da bacterioclorofila no início e no final do Ensaio 14.....	120
Figura 5.38 Quantificação de carotenoides no início e no final do Ensaio 14.....	121

LISTA DE TABELAS

Tabela 3.1 Principais metais pesados presentes em efluentes industriais.....	21
Tabela 3.2 A forma do cromo hexavalente utilizado nas indústrias.....	25
Tabela 3.3 Teor de cromo presente em efluentes industriais.....	26
Tabela 3.4 Concentração de Cr^{+3} e Cr^{+6} presentes em diferentes corpos d'água acima do padrão.....	27
Tabela 3.5 Limites máximos permitidos de cromo conforme algumas legislações.....	30
Tabela 3.6 Lista de processos disponíveis para remediação do cromo.....	31
Tabela 4.1 Componentes do meio basal RCV originalmente utilizado para cultivo da <i>Rhodobacter capsulatus</i>	47
Tabela 4.2 Composição da solução de micronutrientes utilizada no meio basal RCV.....	47
Tabela 4.3 Sumarização dos ensaios realizados com suas respectivas condições avaliadas.....	50
Tabela 5.1 Eficiência de remoção de cromo hexavalente do Ensaio 1	57
Tabela 5.2 Eficiência de remoção de cromo total do Ensaio 1	58
Tabela 5.3 Eficiência de remoção de cromo hexavalente do Ensaio 2.....	63
Tabela 5.4 Eficiência de remoção de cromo total do Ensaio 2.....	64
Tabela 5.5 Eficiência de remoção de cromo hexavalente do Ensaio 3.....	72
Tabela 5.6 Eficiência de remoção de cromo total do Ensaio 3.....	73
Tabela 5.7 Eficiência de remoção de cromo hexavalente do Ensaio 4.....	79
Tabela 5.8 Eficiência de remoção de cromo total do Ensaio 4.....	80
Tabela 5.9 Eficiência de remoção de cromo hexavalente do Ensaio 5.....	88
Tabela 5.10 Eficiência de remoção de cromo total do Ensaio 5.....	89
Tabela 5.11 Síntese dos resultados obtidos na avaliação de diferentes intensidades luminosas.....	94
Tabela 5.12 Eficiência de remoção de cromo hexavalente do Ensaio 12.....	106
Tabela 5.13 Eficiência de remoção de cromo total do Ensaio 12.....	106

Tabela 5.14 Eficiência de remoção de cromo hexavalente do Ensaio 13.....	111
Tabela 5.15 Eficiência de remoção de cromo total do Ensaio 13.....	112
Tabela 5.16 Eficiência de remoção de cromo hexavalente do Ensaio 14.....	117
Tabela 5.17 Eficiência de remoção de cromo hexavalente do Ensaio 14.....	118
Tabela 5.18 Síntese dos resultados obtidos na avaliação de diferentes comprimentos de onda.....	123

SIMBOLOGIA E ABREVIATURAS

Ácido Desoxirribonucleico – DNA

Crocoita – PbCrO_4

Cromato – CrO_4^{2-}

Cromato de bário – BaCrO_4

Cromato de cálcio – CaCrO_4

Cromato de chumbo – PbCrO_4

Cromato de estrôncio – SrCrO_4

Cromato de potássio – KCrO_4

Cromato de sódio – CrNa_2O_4

Cromato de zinco – ZnCrO_4

Cromo – Cr

Cromo hexavalente – Cr(VI)

Cromo trivalente – Cr(III)

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

Dicromato de amônio – $(\text{NH}_4)_2\text{Cr}_2\text{O}_7$

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

Diodos emissores de luz – LED

Ditionito de sódio – $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_4$

Espécies reativas de oxigênio – EROs

Hidróxido de cromo – $\text{Cr}(\text{OH})_3$

Metabissulfito de cálcio – CaHSO_3

Metabissulfito de sódio – NaHSO_3

Óxido de cromo (III) – Cr_2O_3

Partes por milhão – ppm

Polissulfeto de cálcio – CaS_5

Potencial hidrogeniônico – pH

Rhodobacter capsulatus V minimal médium – RCV

Rotações por minuto – rpm

Sólidos fixos – SF

Sólidos totais – ST

Sólidos voláteis – SV

Sulfato ferroso – FeSO_4

Sulfeto de hidrogênio – H_2S

Trióxido de cromo – CrO_3

RESUMO

Este estudo teve como objetivo avaliar a potencialidade da bactéria fotossintetizante púrpura não sulfurosa *Rhodobacter capsulatus* na remoção de cromo hexavalente e cromo total, em conjunto com a produção de biomassa e pigmentos, através de diferentes intensidades luminosas (escuro, 800 lux, 3.200 lux, 5.670 lux e 8.000 lux) e diferentes comprimentos de onda (fontes de luz branco, azul, verde, amarelo e vermelho). Para isso, a bactéria foi inoculada em erlenmeyers de 250 mL na presença de efluente sintético de concentrações iniciais de cromo hexavalente de 10, 30, 60, 90 e 110 mg/L sob condições de anaerobiose e tempo de duração do tratamento biológico de 192 horas. Os resultados mostram que houve remoção completa de cromo hexavalente em todos os ensaios realizados, sendo que o aumento da intensidade luminosa reduziu o tempo para a remoção de cromo hexavalente. Em relação ao cromo total, foi verificado que as máximas remoções ocorreram sob intensidade luminosa de 5.670 lux para as condições de efluente sintético de baixas concentrações iniciais de cromo hexavalente de 10, 30 e 60 mg/L, sendo de 80,2 %, 89,3 % e 77,0 %, respectivamente. Além disso, o aumento da intensidade luminosa até 5.670 lux favoreceu o crescimento celular nessas condições, como também a produção de pigmentos, sendo que acima desse valor de intensidade luminosa houve estabilização no teor de biomassa e na produção de pigmentos. Foi relatado que para essa condição de 5.670 lux houve um acréscimo de 230 % no conteúdo de biomassa na condição de efluente sintético de concentração inicial de 60 mg/L de cromo hexavalente e o conteúdo de bacterioclorofila e carotenoides finais foi de 2,22 e 1,44 mg/m³, respectivamente. Entretanto, nas condições de efluente sintético com elevadas concentrações iniciais de cromo hexavalente de 90 e 110 mg/L ocorreu inibição do crescimento celular. Em relação aos diferentes comprimentos de onda, observa-se que a fonte de luz azul apresentou melhor desempenho em relação ao teor de biomassa, enquanto que para a produção de pigmentos destacaram-se as fontes de luz amarelo, branco e azul. Para a remoção de cromo total, verificou-se que as maiores porcentagens de remoção foram alcançadas nas fontes de luz branco e azul, atingindo remoção máxima de 88,9 % na condição de efluente sintético de concentração inicial de cromo hexavalente de 10 mg/L sob a influência da fonte de luz azul.

Palavras-chave: Biorremediação; cromo hexavalente; cromo total; *Rhodobacter capsulatus*; intensidade luminosa; comprimento de onda.

ABSTRACT

This study aimed to evaluate the potential of the non-sulfur purple photosynthetic bacterium *Rhodobacter capsulatus* in the removal of hexavalent chromium and total chromium, together with the production of biomass and pigments, through different light intensities (dark, 800 lux, 3,200 lux, 5,670 lux, and 8,000 lux) and different wavelengths (white, blue, green, yellow and red light sources). For this, the bacteria were inoculated in 250 mL Erlenmeyers in the presence of synthetic effluent of initial concentrations of hexavalent chromium of 10, 30, 60, 90, and 110 mg/L under anaerobic conditions and a duration of biological treatment of 192 hours. The results show that there was complete removal of hexavalent chromium in all tests performed, and the increase in light intensity reduced the time for removal of hexavalent chromium. Concerning total chromium, it was verified that the maximum removals occurred under a luminous intensity of 5,670 lux for the synthetic effluent conditions of low initial concentrations of hexavalent chromium of 10, 30, and 60 mg/L, being 80.2 %, 89.3 %, and 77.0 %, respectively. Furthermore, the increase in light intensity up to 5,670 lux favored cell growth under these conditions, as well as pigment production, and above this light intensity value, there was stabilization in the biomass content and the production of pigments. It was reported that for this condition of 5,670 lux there was a 230 % increase in biomass content in the synthetic effluent condition with an initial concentration of 60 mg/L of hexavalent chromium and the final bacteriochlorophyll and carotenoid contents were 2.22 and 1.44 mg/m³, respectively. However, in synthetic effluent conditions with high initial concentrations of hexavalent chromium of 90 and 110 mg/L, cell growth was inhibited. Regarding the different wavelengths, it is observed that the blue light source performed better about the biomass content, while for the production of pigments the yellow, white and blue light sources stood out. For total chromium removal, it was found that the highest removal percentages were achieved in white and blue light sources, reaching a maximum removal of 88.9 % in the synthetic effluent condition with an initial hexavalent chromium concentration of 10 mg/L under the influence of the blue light source.

Keywords: Bioremediation; hexavalent chromium; total chromium; *Rhodobacter capsulatus*; light intensity; wave-length.

CAPÍTULO 1

INTRODUÇÃO

Diante da rápida industrialização e da exploração dos recursos naturais, consequentemente o lançamento de resíduos tóxicos em corpos hídricos que apresenta em sua composição metais pesados, o resultado provocado é um problema global relacionado ao desequilíbrio ecológico. Assim, a poluição ambiental com metais pesados é uma questão preocupante principalmente em relação aos efeitos devastadores na saúde humana e no meio ambiente (MANAGEMENT, 2018; MATHUR, KALAJI e JAJOO, 2016; YIN et al., 2019).

Sabe-se que os metais pesados são caracterizados por sua natureza não degradável e também por sua toxicidade, tornando-se uma ameaça significativa aos seres vivos (PUSHKAR et al., 2021). Nesse contexto, destaca-se o cromo que é considerado um dos metais pesados mais tóxicos, além de ser um dos poluentes ambientais mais comuns em razão de sua ampla utilidade na indústria (PRADHAN et al., 2019).

O cromo pode ser liberado de fontes naturais, especialmente da crosta terrestre (McCARTOR e BECKER, 2010), entretanto, este metal provém particularmente de processamento industrial e fabricação de produtos químicos, metalurgia, curtumes de couro, galvanoplastia, tingimento têxtil, entre outros (NAKKEERAN et al., 2018; LIAN et al., 2019). Com isso, a maioria dessas indústrias gera grandes quantidades de efluentes que, muitas vezes, são liberadas diretamente em corpos d'água ou no solo sem nenhum tipo de tratamento, ocasionando uma poluição severa no ecossistema.

O cromo é o único elemento dentre os componentes tóxicos regulamentados no meio ambiente que apresenta diferentes espécies, especificamente o cromo trivalente e o cromo hexavalente (KIMBROUGH et al., 1999). O cromo trivalente desempenha um papel vital no metabolismo da glicose, proteína e gordura, portanto, sua ausência ou excesso pode afetar de forma drástica os seres humanos (ENRIQUE et al., 2015). Além disso, o cromo trivalente é insolúvel e está principalmente interligado à matéria orgânica (SHANKAR e VENKATESWARLU, 2011; JIANG et al., 2019). Em contraste ao cromo trivalente, o cromo hexavalente é muito solúvel, móvel e apresenta elevadas implicações tóxicas que provocam impactos nocivos em animais e humanos (NAKKEERAN et al., 2018). A exposição do cromo hexavalente a longo prazo atua como substâncias mutagênicas, teratogênicas e carcinogênicas (MITRA, SARKAR e SEN, 2017).

Considerando os efeitos adversos provocados pela exposição do cromo, diversos grupos de pesquisa procuram desenvolver uma tecnologia sustentável e eficiente para a remoção ou

conversão do cromo hexavalente em uma forma menos tóxica, como CO₂ ou CH₄, água e biomassa. Há inúmeras estratégias adotadas para a remediação do cromo incluindo métodos físicos e químicos, como adsorção, precipitação química, reações de oxidação-redução (JIANG et al., 2020). No entanto, esses processos físicos e químicos, muitas vezes exigem alta especialização, geram uma grande quantidade de subprodutos tóxicos, além de apresentarem altos custos de operação e manutenção (VAIOPOULOU e GIKAS, 2012). Com isso, torna-se imprescindível buscar técnicas de alto desempenho e baixo custo no tratamento do cromo (LIAN et al., 2019). Desse modo, destaca-se o método biológico denominado biorremediação como uma estratégia que utiliza organismos como bactérias, fungos, algas, leveduras e plantas com o objetivo de restabelecer o ambiente ao seu estado original (RUGGABER e TALLEY, 2006). O processo de biorremediação inclui os mecanismos de bioadsorção, bioacumulação e biotransformação para remoção de poluentes (JOBBY et al., 2016).

Os microrganismos desenvolveram estratégias de resistência para sobreviver na presença de metais pesados, dessa forma, podem apresentar caminhos diferentes como: utilizar o metal em pequenas quantidades destinando as suas atividades metabólicas; oferecer resistência a níveis tóxicos; tolerar os íons metálicos em um determinado limite; desintoxicar o excesso de metal (MALA, SUJATHA e ROSE, 2015).

Além disso, os microrganismos utilizam diferentes rotas metabólicas capazes de transformar os íons metálicos tóxicos em suas formas menos tóxicas por meio de várias condições ambientais, como exemplo, pH, temperatura, intensidade luminosa, comprimento de onda, para sua aplicação prática em processos de biorremediação. Entretanto, o sucesso dessas técnicas de remediação está relacionado com as condições específicas do local e da adaptabilidade dos métodos que regulam os mecanismos e as transformações do cromo hexavalente em formas menos tóxicas (YU et al., 2020).

Com isso, o presente estudo vislumbrou contribuir para um maior entendimento do processo de biorremediação por meio do uso de bactérias, especificamente a *Rhodobacter capsulatus* (bactéria fotossintetizante púrpura não sulfurosa), em termos do comportamento metabólico, do crescimento celular e da síntese de pigmentos. Contudo, é válido ressaltar que o principal objetivo foi avaliar a eficiência bacteriana na remoção e conversão do cromo hexavalente em trivalente em diferentes intensidades luminosas como também em diferentes comprimentos de onda.

CAPÍTULO 2

OBJETIVOS

O objetivo geral deste trabalho foi avaliar a biorremediação de efluente contendo cromo hexavalente, utilizando para tal a bactéria *Rhodobacter capsulatus*. Para uma melhor compreensão do estudo desenvolvido, destacam-se como objetivos específicos:

- Avaliar a potencialidade do uso de bactéria fotossintetizante na remoção do cromo em termos de diferentes intensidades luminosas e diferentes comprimentos de onda;
- Determinar a cinética de crescimento celular, a síntese de pigmentos e, principalmente a eficiência na remoção de cromo hexavalente e cromo total nos sistemas fermentativos utilizados;
- Estudar a viabilidade do uso da bactéria *Rhodobacter capsulatus* quando submetida a exposição excessiva de ambientes tóxicos em função da presença do metal pesado cromo.

CAPÍTULO 3

REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1 Poluição Hídrica

O crescimento populacional juntamente com a expansão do setor industrial, que busca acompanhar as novas tecnologias e as necessidades dos consumidores, aliado ao aumento do consumo dos recursos hídricos têm contribuído para a degradação do meio ambiente. A partir disso, surge uma problemática ambiental em relação a qualidade da água que pode ser afetada pelas inúmeras atividades antropogênicas, como domésticas, comerciais ou industriais. Cada atividade emite poluentes característicos que provocam diferentes graus de poluição na qualidade do corpo receptor.

Desta forma, a utilização hídrica evidenciada pelas lavagens de instrumentos, tubulações e pisos de fábrica, em processos de refrigeração e utilizados em contato direto com a matéria-prima do produto processado têm elevado o montante gerado de efluente líquido (GIORDANO, 2009), que pode apresentar efeito de toxicidade, verificado pela presença de metais pesados, como arsênio, cádmio, chumbo, mercúrio e cromo. Em decorrência dos desequilíbrios ecológicos desencadeados por esses fatores, torna-se necessária a aplicação de linhas de estudos responsáveis pelo desenvolvimento de processos de tratamento desses efluentes a fim de atender os limites máximos de contaminantes permitidos pela regulamentação para descarte.

3.1.1 Metais Pesados

Um elemento é considerado “metal pesado” quando apresenta uma densidade relativamente alta em comparação com a água, além disso, caracteriza-se pela sua toxicidade, mesmo em concentrações baixas (LENNTECH, 2004). Entre eles destacam-se o arsênio, cádmio, chumbo, mercúrio e cromo.

A deposição de metais pesados em ambientes aquáticos tornou-se uma preocupação mundial devido aos sérios riscos provocados ao meio ambiente e a todos os organismos vivos. A maioria dos metais pesados são caracterizados por sua toxicidade, não-biodegradabilidade e tendência de bioacumulação (GARG et al., 2007).

Os metais são geralmente encontrados nos solos e nas águas na forma solubilizada, ou associados a compostos orgânicos na forma de complexos organometálicos, ou também, na forma de colóides e suspensões. A fase solúvel corresponde a fonte essencial de metais biodisponíveis, sendo favorecida em situações de baixos valores de pH, baixas cargas de particulados e elevadas concentrações de matéria orgânica dissolvida. A solubilidade dos hidróxidos metálicos aumenta em baixos valores de pH, enquanto que a capacidade de adsorção em superfícies sólidas diminui e os íons H^+ concorrem com os metais por sítios de ligação disponíveis em moléculas orgânicas (ELDER, 1988).

Quando a concentração de metais pesados presentes nos efluentes industriais ultrapassa os limites estabelecidos pelos órgãos competentes, ocorre um processo de degradação dos recursos naturais, que pode representar uma séria ameaça à saúde humana e ao bem-estar dos seres vivos (HAYASHI, 2001). Além disso, a presença desses metais torna o meio aquático tóxico dificultando a ação dos microrganismos para a recuperação do ambiente, provocando mudanças na qualidade da água.

Os metais pesados de maior incidência em efluentes industriais estão listados na Tabela 3.1.

Tabela 3.1 Principais metais pesados presentes em efluentes industriais.

Metais Pesados	Fontes	Efeitos	Referências
Arsênio	- Combustível; - Pesticidas; - Operações de fundição.	- Tóxico; - Carcinogênico.	SODHI et al., 2019
Cromo	- Metalização; - Curtumes; - Fabricação de sais de cromo; - Galvanoplastia.	- Carcinogênico; - Mutagênico.	ALLOWAY, 2013
Prata	- Resíduos de processamento; - Desinfecção de água; - Galvanoplastia.	- Leva à descoloração da pele, membranas mucosas e olhos.	NDUNGU, 2011
Chumbo	- Gasolina; - Cerâmica; - Mineração; - Carvão; - Tintas; - Lixo eletrônico; - Baterias de chumbo-ácido.	- Níveis de toxicidade (anemia, doenças renais, sistema nervoso); - Destruição da fauna.	ALLOWAY, 2013
Mercúrio	- Carvão; - Mineração; - Pesticidas; - Lâmpadas fluorescentes; - Resíduos hospitalares; - Resíduos industriais.	- Toxicidade aguda moderada e crônica rápida.	WUANA e OKIEIMEN, 2011
Níquel	- Combustão de combustíveis; - Indústria de baterias.	- Comprometimento do equilíbrio de nutrientes nas plantas; - Distúrbios das funções da membrana celular; - Estresse oxidativo; - Riscos ocupacionais.	WUANA e OKIEIMEN, 2011

3.2 Cromo

3.2.1 Aspectos Gerais

O elemento químico cromo representado pelo símbolo Cr é um metal de transição localizado no grupo 6 ou 6 B da classificação periódica dos elementos, de coloração cinza semelhante ao aço. É bastante empregado nos processos industriais em função de suas características mecânicas como dureza e resistência ao atrito, e também pelas suas características químicas, como resistência a corrosão e ao desgaste.

O cromo foi descoberto em 1765 na Rússia, no entanto, o elemento somente foi isolado em 1797, pelo químico e farmacêutico francês Louis Nicolas Vauquelin. O metal foi adquirido através do tratamento da crocoita (PbCrO_4) com ácido clorídrico diluído, produzindo óxido crômico (CrO_3). Por sua vez, o óxido crômico ao ser aquecido na presença de carvão produziu o cromo (ARFSTEN, AYLWARD e KARCH, 1998).

O cromo apresenta vários estados de oxidação que variam de -2, -1, 0, +1, +2, +3, +4, +5 a +6, entretanto, os mais predominantes são as formas trivalente (+3) e hexavalente (+6) em função de sua estabilidade na natureza. Sabe-se que as formas trivalente e hexavalente do cromo possuem diferenças em relação as suas propriedades físico-químicas e reatividade biológica (SANJAY et al., 2020). As principais funções do cromo trivalente estão relacionadas com o metabolismo de glicose, lipídeos e proteínas, atua como um micronutriente, além de ser menos tóxico (MA et al., 2019). Enquanto que o cromo hexavalente é mais tóxico em comparação ao cromo trivalente, devido à sua alta solubilidade e mobilidade em sistemas biológicos. Além disso, o cromo hexavalente possui a capacidade de atravessar rapidamente a membrana biológica e interagir com as biomoléculas presentes no citoplasma da célula (BHARAGAVA e MISHRA, 2018).

3.2.2 Especificação do cromo

Conforme já mencionado, o cromo trivalente é o estado de oxidação mais estável e pode ser hidratado para a formação de complexos de íons livres, como $\text{Cr}(\text{H}_2\text{O})_6^{+3}$, que por sua vez, pode sofrer hidrólise para produção de complexos hidroxila mononucleares ($\text{CrOH}^{+2} \rightarrow \text{Cr}(\text{OH})_2^+ \rightarrow \text{Cr}(\text{OH})_4^-$). Além disso, o cromo trivalente pode reagir com água em pH neutro obtendo como produto o hidróxido de cromo insolúvel $\text{Cr}(\text{OH})_3$ (VOGEL,

1987), sendo que esse pode ser transformado em óxido de cromo (III) (Cr_2O_3) estável pela adição de calor. No entanto, em situações altamente alcalinas ou altamente ácidas, o cromo trivalente reage com a água formando $[\text{Cr}(\text{H}_2\text{O})_6]^{+3}$ ou $[\text{Cr}(\text{OH})_6]^{-3}$, respectivamente (HOLLEMAN, WIBERG e WIBERG, 1995).

O outro estado de oxidação é o cromo hexavalente, o qual é produzido industrialmente através do aquecimento oxidativo do minério de cromita com carbonato de sódio ou cálcio. O cromato (CrO_4^{-2}) e o dicromato ($\text{Cr}_2\text{O}_7^{-2}$) encontram-se em equilíbrio sob influência do pH conforme a Equação química 3.1.



As alterações de equilíbrio são claramente perceptíveis, devido a mudança de cor de amarelo (cromato) para laranja (dicromato). Sabe-se que tanto o cromato como o dicromato são reagentes oxidantes fortes em pH baixo, porém são moderados em pH alto (HOLLEMAN, WIBERG e WIBERG, 1995).

O cromo hexavalente é um oxidante potente, enquanto o cromo trivalente prevalece em condições redutoras. Em solução aquosa, o cromo hexavalente pode formar diversas espécies, dependendo do pH da solução, da concentração total de cromo, da presença de compostos oxidantes e redutores, do potencial redox e, também, da cinética das reações redox. Caso o pH encontre-se entre 1 e 6, o cromo hexavalente coexiste como $\text{Cr}_2\text{O}_7^{-2}$, $\text{Cr}_3\text{O}_{10}^{-2}$, $\text{Cr}_4\text{O}_{13}^{-2}$, porém a espécie predominante é HCrO_4^- conforme apresentado na Equação química 3.2, já com pH acima de 6, $\text{Cr}_2\text{O}_7^{-2}$ e CrO_4^{-2} são encontradas e pH acima de 7, o CrO_4^{-2} é o único íon existente de acordo com a Equação química 3.3 (BARRERA-DÍAZ, LUGO-LUGO e BILYEU, 2012; DHAL et al., 2013; HOLLEMAN, WIBERG e WIBERG, 1995).



3.2.3 Fontes e aplicações do cromo

O cromo é introduzido no ecossistema através de fontes naturais ou antropogênicas e é reciclado por meio do ciclo geoquímico a fim de equilibrar seus níveis no meio ambiente. O cromo é um elemento natural da crosta terrestre (SNEDDON, 2012; SRIVASTAV et al., 2018), sendo caracterizado como o 7º elemento mais abundante na Terra e o 21º elemento mais abundante da crosta terrestre, apresentando uma concentração média de 100 ppm (CERVANTES e CAMPOS-GARCIA, 2007).

A entrada do cromo no meio ambiente ocorre principalmente através do desgaste de rochas, precipitação atmosférica e precipitação úmida, e também é eliminado dos sistemas terrestres (SNEDDON, 2012).

Em relação as atividades antropogênicas, o cromo apresenta aplicações na indústria de metalurgia, eletrólise, tintas, pigmentos, curtumes, produção química, tinturaria, produção de aço e polpa de papel (JAISHANKAR et al., 2014). Sabe-se que tanto o cromo trivalente como o cromo hexavalente são liberados em excesso no meio ambiente, no entanto, as fontes podem variar. O cromo trivalente encontra-se principalmente em resíduos de curtumes e indústrias de tintas, enquanto que o cromo hexavalente é encontrado na mineração, metalurgia, queima de combustível fóssil, preservação de madeira e efluente de resfriamento (KILIÇ et al., 2010). A Tabela 3.2 apresenta os compostos de cromo e suas diversas formas utilizadas nas indústrias (DAS e MISHRA, 2009).

Tabela 3.2 A forma do cromo hexavalente utilizado nas indústrias.

Cromo usado nas indústrias	Produtos químicos
Agente anticorrosivo (Revestimentos em spray)	• Cromato de bário (BaCrO_4) • Cromato de cálcio (CaCrO_4) • Cromato de zinco (ZnCrO_4) • Cromato de estrôncio (SrCrO_4) • Cromato de sódio (CrNa_2O_4)
Curtimento do couro	• Dicromato de amônio $[(\text{NH}_4)_2\text{Cr}_2\text{O}_7]$
Preservativos da madeira	• Trióxido de cromo (CrO_3)
Aço inoxidável	• Cromato de potássio (KCrO_4) • Cromato de sódio (CrNa_2O_4) • Dicromato de amônio $[(\text{NH}_4)_2\text{Cr}_2\text{O}_7]$ • Dicromato de potássio ($\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$)
Tintas, plásticos, pigmentos	• Cromato de bário (BaCrO_4) • Cromato de cálcio (CaCrO_4) • Cromato de chumbo (PbCrO_4) • Cromato de zinco (ZnCrO_4) • Dicromato de potássio ($\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$) • Cromato de sódio (CrNa_2O_4)

O cromo é transportado também para os corpos d'água por meio de fontes naturais e antropogênicas. As principais fontes são caracterizadas pelo intemperismo de rochas, lamas, interação microbiana com rochas e processos geogênicos, sendo lançados no ambiente de forma natural por oxidação da cromita (TUMOLO et al., 2020). Ademais, é necessário destacar a presença de cromo nos efluentes industriais, como na produção de cromato, acabamento de metal, processamento e tingimento na indústria têxtil, curtimento de couro (HE e LI, 2020). A Tabela 3.3 mostra o teor de cromo em diversas fontes de águas residuárias (PRASAD et al., 2021).

Tabela 3.3 Teor de cromo presente em efluentes industriais.

Efluentes industriais	Teor de cromo	Referências
Efluente de curtume	0,7 - 345 mg/L	DHUNGANA e YADAV (2009)
Efluentes da indústria têxtil	0,11 - 0,21 mg/L	BHARDWAJ, KUMAR e SINGHAL (2014)
Águas residuárias da indústria de cromagem	5721,95 mg/L	KAREGA, BHARGAVI e DIVEKAR (2015)

3.2.4 Poluição ambiental provocada pelo cromo

O conceito de sustentabilidade e as questões ambientais permeiam não somente a comunidade acadêmica como também têm crescido sua preocupação no setor privado, em especial, as empresas. Uma vez que ao longo do século XX, mais particularmente, nos últimos 50 anos, aumentou a exposição das pessoas aos riscos de desastres no Brasil e no mundo, sendo mais rápido do que as capacidades de redução da vulnerabilidade, consequentemente impactos intensos e extensos são ocasionados (FREITAS, SILVA e MENEZES, 2016).

Recentemente, dois grandes desastres causados pelas atividades de mineração da empresa Vale no estado de Minas Gerais resultaram em impactos ambientais imensuráveis e irrecuperáveis, como também na morte de muitas pessoas. Em 2015, ocorreu o rompimento da barragem de Fundão em Mariana, liberando um volume de aproximadamente 34 milhões de metros cúbicos de rejeitos de minérios (lama). Logo em 2019, um novo rompimento de barragem aconteceu na Mina Córrego do Feijão em Brumadinho, sendo estimado 270 vítimas fatais (FABRÍCIO, FERREIRA e BORBA, 2021).

Esses rejeitos de minérios foram classificados conforme a NBR 10.004, como sólidos, não perigosos e não inertes, como o ferro e o manganês, ou seja, a sua composição era formada por areia e metais (BRASIL, 2015). Entretanto, de acordo com a Agência Nacional de Águas (ANA), a passagem da lama provocou a suspensão dos sedimentos contaminados dos processos de mineração do passado, com isso, resultou no aumento das concentrações de metais pesados como alumínio, arsênio, cádmio, cobre, cromo, manganês e níquel.

Com a contaminação dos rejeitos, a qualidade da água dos rios foi diretamente afetada, em função do elevado grau de turbidez, tornando as águas impróprias para o consumo humano e para a agropecuária (LOPES, 2016). Além disso, pode citar a degradação da qualidade do solo, comprometendo o nível de matéria orgânica necessária para a comunidade microbiana do solo, o aumento da intensidade dos processos erosivos, como também, a extinção de algumas espécies típicas presentes no rio (FREITAS, SILVA e MENEZES, 2016).

A fim de evidenciar o aumento da poluição dos recursos naturais por metais pesados em outros países, a Tabela 3.4 demonstra a contaminação por cromo em diversos estudos, confirmando a gravidade do problema (PUSHKAR et al., 2021).

Tabela 3.4 Concentração de Cr^{+3} e Cr^{+6} presentes em diferentes corpos d'água acima do padrão.

Área relatada de Cr^{+3} e Cr^{+6}	Concentração	Fonte de contaminação	Referências
Tarnaveni (Romênia)	525,8 mg/Kg de cromo total	Indústria química	MIHAILEANU et al. (2019)
Índia	52,91 mg/Kg	Indústria de curtume	KARTHIK et al. (2017)
Taiwan	338,46 mg/Kg	Indústrias que utilizam cromo	TSENG, LEE e CHEN (2019)

3.2.5 Toxicidade

Há diversos métodos adotados para a avaliação da toxicidade de metais, sendo que o método mais popular para microrganismos aeróbicos refere-se a medição da taxa respiratória microbiana (WONG et al., 1997; MADONI, DAVOLI e GUGLIELMI, 1999; VANKOVA, KUPEC e HOFFMANN, 1999; STASINAKIS et al., 2002). No entanto, existem outros métodos que analisam parâmetros de crescimento (SUDO e AIBA, 1973; MAZIERSKI, 1994, 1995; GIKAS e ROMANOS, 2006), medidas de conversão do substrato ou taxa de consumo (LAMB e TOLLEFSON, 1973; SAIDA e ABDELKADER, 1994; STASINAKIS et al., 2003), medidas da atividade enzimática (BOSWELL, DICK e MACASKIE, 1999; ALTAS, 2009), análise da viabilidade celular (BENKA-COKER e EKUNDAYO, 1998; BARAL et al., 2006) e também o uso de técnicas de fluorescência

e bioluminescências (MARISCAL et al., 1995; WONG et al., 1997; KELLY, TUMSAROJ e LAJOIE et al., 2004). Os métodos citados avaliam a tendência do efeito, em vez de avaliar a quantificação absoluta do efeito (KELLY, TUMSAROJ e LAJOIE et al., 2004), com isso, para os testes toxicológicos é necessário no mínimo o uso de dois métodos a fim de evitar a possibilidade de não quantificar um efeito tóxico particular (DALZELL et al., 2002).

Os sistemas que apresentam elevados níveis de cromo são sempre tóxicos, entretanto o nível de toxidade está relacionado com o estado de oxidação. O cromo hexavalente caracteriza-se por ser altamente tóxico devido os efeitos nocivos provocados na saúde humana e animal, como diarreia, úlceras, irritação na pele e olhos, disfunção renal e carcinoma de pulmão (COSTA, 2003). Além disso, é cancerígeno, mutagênico, pode ocasionar alterações congênitas e reduzir a saúde reprodutiva (KANOJIA, JUNAID e MURTHY, 1998), já que o cromo hexavalente possui a capacidade de interagir com o ácido desoxirribonucléico de fita dupla, alterando a replicação, duplicação e reparação do gene. É importante mencionar também que a admissão extrema de cromo hexavalente provoca alterações neuróticas e imunológicas (GRACEPAVITHRA et al., 2019).

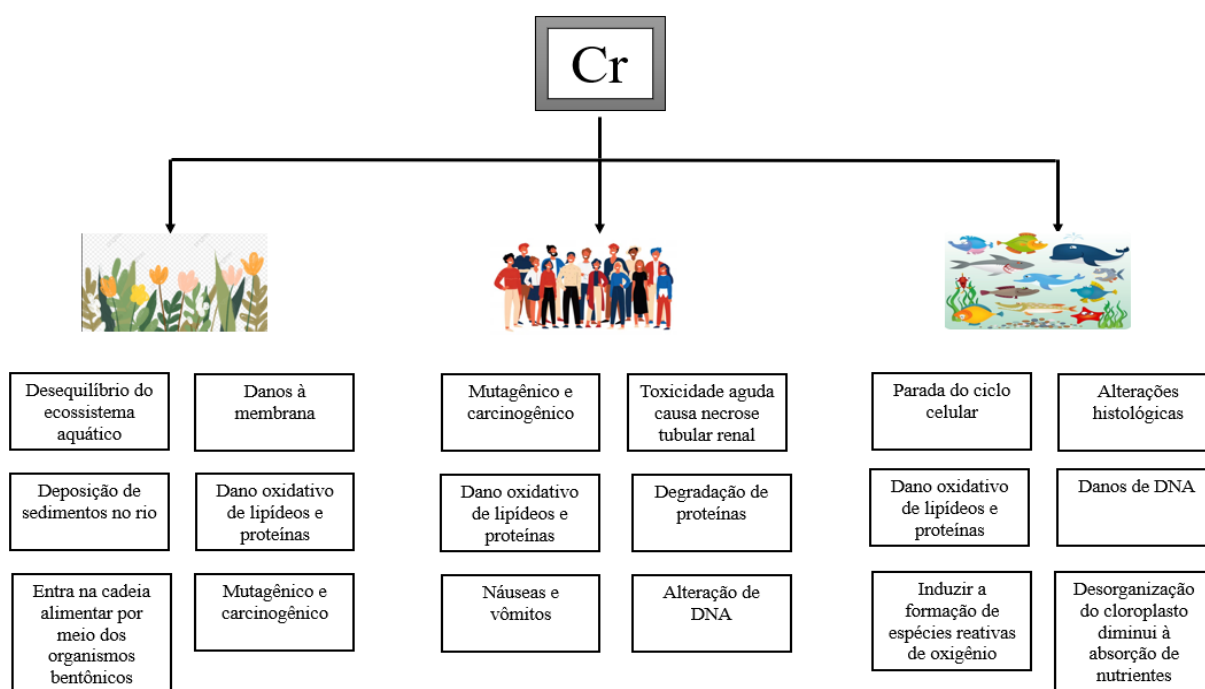
Pode-se ainda destacar a relação do cromo hexavalente com o crescimento lento das plantas, uma vez que está associado a diminuição da captação de nutrientes e o processo de fotossíntese. Além de ocasionar efeitos graves nos processos fisiológicos, morfológicos, bioquímicos, é capaz de induzir a formação de espécies reativas de oxigênio (EROs) nas células vegetais. A toxicidade de cromo nas plantas ocorre na forma de clorose e necrose (SHAHID et al., 2017). É importante destacar também o efeito acumulativo nos tecidos vivos no decorrer da cadeia alimentar (VOLESKY, 1990).

Já o cromo trivalente torna-se de 10 a 100 vezes menos tóxico que o cromo hexavalente, em função da impermeabilidade dos complexos de cromo trivalente na membrana celular. Entretanto, o cromo trivalente intracelular como resultado da redução de cromo hexavalente produz complexos de nucleotídeos de aminoácidos, sendo que não é totalmente estabelecido seu potencial mutagênico (ROUNDHILL e KOCH, 2002). O cromo trivalente apresenta efeitos positivos na manutenção dos níveis de glicose no sangue, promovendo a ligação da insulina aos receptores da superfície celular (PECHOVA e PAVLATA, 2007). Deve mencionar também o papel do cromo trivalente na redução da gordura corporal, nos níveis de colesterol e triglicerídeos, além do aumento

de massa muscular. No entanto, há também relatos dos efeitos negativos do cromo trivalente como responsável por danos no DNA dos linfócitos (MEDEIROS et al., 2003).

Em relação aos organismos aquáticos, um dos efeitos da exposição do cromo é a interrupção das vias enzimáticas e metabólicas. Além disso, provoca uma redução no peso geral em função dos impactos neurotóxicos que consequentemente interferem na ingestão de alimentos (AZMAT et al., 2018; FAWAD et al., 2017). Outras mudanças morfológicas e comportamentais nos animais aquáticos devem ser citadas como a natação irregular, desequilíbrio e movimentos abruptos, redução na ingestão de alimentos, entre outros (FAWAD et al., 2017). O cromo também é capaz de aumentar o teor de gordura total em peixes (YIN et al., 2019). A Figura 3.1 esclarece os impactos ocasionados pela poluição do cromo (GRACEPAVITHRA et al., 2019).

Figura 3.1 Impactos provocados pela poluição do cromo.



3.2.6 Legislação

O Conselho Nacional do Meio Ambiente (CONAMA) foi criado em 1982 pela Lei nº 6.938/81, é o órgão consultivo e deliberativo do Sistema Nacional do Meio Ambiente (SISNAMA) que estabelece a Política Nacional do Meio Ambiente. A sua função consiste em assessorar, estudar e propor ao Governo linhas de direção em relação

a exploração e a preservação do meio ambiente e dos recursos naturais. Além disso, é de competência do órgão estabelecer normas e padrões de controle de poluição como também controle e manutenção da qualidade do meio ambiente no sentido do uso racional dos recursos ambientais, em especial os hídricos.

Em se tratando do metal pesado cromo, a resolução CONAMA n° 397, de 3 de abril de 2008 dispõe sobre a classificação e diretrizes ambientais para o enquadramento dos corpos de água, além de regulamentar as condições e padrões de lançamento de efluentes. Diante dessa norma, os efluentes somente poderão ser lançados nos corpos receptores quando os teores de cromo hexavalente e trivalente forem inferiores a 0,1 mg/L e 1,0 mg/L, respectivamente. É importante mencionar que há outras legislações exigidas por determinadas agências a respeito dos limites máximos permitidos de cromo como mostra a Tabela 3.5 (BANERJEE et al., 2019; WHO, 2017).

Tabela 3.5 Limites máximos permitidos de cromo conforme algumas legislações.

Agências	Água	Água para consumo humano	Efluente industrial
Bureau of Indian Standard (BIS)	0,05 mg/L	0,05 mg/L	2,0 mg/L
USEPA	0,011 mg/L	0,1 mg/L	-
World Health Organization (WHO)	-	0,05 mg/L	2,0 mg/L
European Union Standards (EU)	-	0,05 mg/L	-
CONAMA	0,05 mg/L (Cr _{total})	-	0,1 mg/L (Cr ⁺⁶) 1,0 mg/L (Cr ⁺³)
PREMEND	-	-	0,5 mg/L (Cr ⁺⁶) 5,0 mg/L (Cr _{total})

Com isso, torna-se imprescindível a implementação de programas de gerenciamento de poluentes como o cromo, com ênfase em procedimentos de minimização de resíduos, como também em metodologias para recuperação e reutilização desses resíduos e técnicas de tratamento a fim de atingir os limites máximos permitidos pela legislação.

3.3 Remediação do cromo

A grande preocupação em relação à poluição dos metais pesados deve-se ao fato de não serem degradados naturalmente como os compostos orgânicos, podendo ser acumulados em locais diferentes. O elemento cromo hexavalente apresenta diversos tratamentos, incluindo métodos físicos, químicos e biológicos. A Tabela 3.6 representa uma lista desses processos para remediação de cromo (JOBBY et al., 2018).

Tabela 3.6 Lista de processos disponíveis para remediação do cromo.

Métodos físicos	Redução Química	Biorremediação
• Adsorção • Troca iônica • Filtração de membrana • Osmose Inversa • Carvão ativado granular • Eletrocínética • Lavagem de solo <i>in situ</i> • Lavagem de solo e separação • Eletrodíálise	Adição <i>in-situ</i> de doadores de elétrons como: • Sulfeto de hidrogênio (H_2S) • Ditionito de sódio ($Na_2S_2O_4$) • Metabissulfito de sódio ($NaHSO_3$) • Metabissulfito de cálcio ($CaHSO_3$) • Polissulfeto de cálcio (CaS_5) • Sulfato ferroso ($FeSO_4$) • Fotocatálise	• Biossorção • Biotransformação • Bioacumulação • Biomineralização • Precipitação extracelular

Apesar de alguns processos físicos e químicos destacarem por serem simples, rápidos e eficientes na remoção do metal, a maioria dos procedimentos requerem alto custo operacional, elevado consumo de energia e geração de poluentes secundários. Outro fator a ser mencionado é que grande parte deles apresentam um bom desempenho com altas concentrações do metal e sua eficiência também depende da presença de agentes interferentes (ZOUBOULIS, LOUKIDOU e MATIS, 2004).

Diante dessas desvantagens mencionadas, deve-se avaliar um método sustentável e econômico para a remoção desse metal. Nesse contexto, destaca-se o processo biológico denominado biorremediação, que consiste no uso de sistemas microbianos, sendo uma tecnologia de grande potencial em função do baixo custo e baixa produção de resíduos. (JOBBY et al., 2018).

3.3.1 Métodos biológicos (Biorremediação)

O processo que envolve a conversão de poluentes nocivos em elementos não tóxicos por meio do uso de organismos vivos denomina-se biorremediação (ASHA e SANDEEP, 2013). Um ambiente contaminado por metais pesados pode retornar ao seu estado original sem provocar prejuízos ao meio ambiente pela biorremediação (ADHIKARI et al., 2004). Dentre os organismos vivos utilizados no processo de biorremediação destacam-se: bactérias, fungos, leveduras, algas e plantas, no entanto, os que apresentaram serem mais eficientes são as bactérias e os fungos. As vantagens mencionadas em relação a esse método são: baixo custo operacional, alta eficiência, baixo consumo de energia, possibilidade de reutilização e recuperação de metais (GARBUSI e ALKORTA, 2003). Sabe-se que frequentemente os microrganismos utilizam os metais como nutriente ou fonte de energia, sendo destinado ao seu crescimento (TANG et al., 2007). Desta forma, os compostos químicos são metabolizados por enzimas e convertidos em elementos não nocivos, por exemplo, CO₂ ou CH₄, água e biomassa (VIDALI, 2001).

Os microrganismos procuram diferentes estratégias para se adaptarem em ambientes contaminados por metais pesados, como bioissorção, bioacumulação e biotransformação para remoção de poluentes (JOBBY et al., 2016). Todos esses mecanismos estão incluídos no processo de biorremediação.

A técnica de biorremediação que emprega o uso de microrganismos para a remoção de contaminantes é indicada para baixas concentrações de metais, sendo abaixo de 100 mg/L (ELAHI et al., 2020; HAN et al., 2007; KUMAR et al., 2015). O tratamento biológico geralmente possui duração de sete dias ou mais (KIEU, MÜLLER e HORN, 2011).

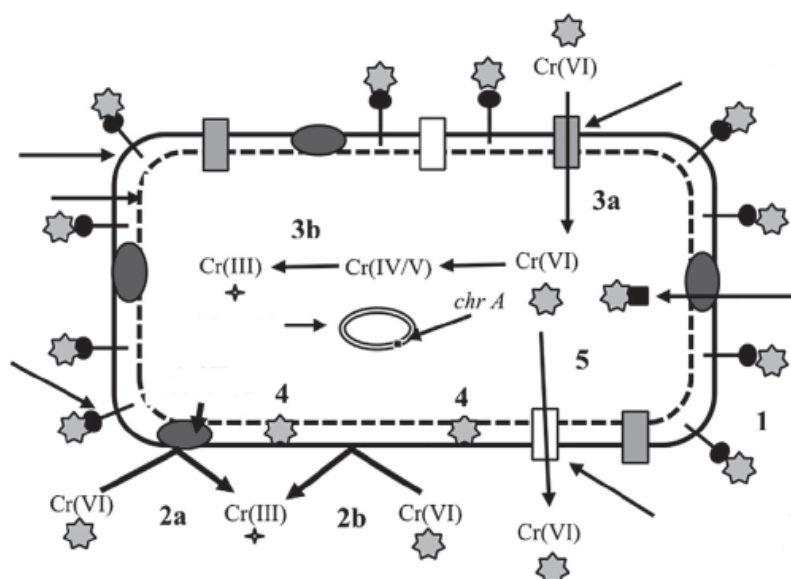
Os fatores que estão relacionados com a eficiência do processo de biorremediação são: natureza química dos poluentes, aspectos de umidade, estrutura, estado nutricional, hidrogeologia e pH do solo, a presença da comunidade microbiana na área contaminada e a temperatura (ASHA e SANDEEP, 2013).

3.3.2 Mecanismos moleculares da biorremediação

Há diversas formas de remoção do cromo hexavalente por uma célula microbiana incluindo os métodos de bioissorção, bioacumulação e biotransformação. De acordo com

a Figura 3.2, verifica-se que o cromo hexavalente adere à superfície da célula microbiana por meio de uma ligação química que ocorre entre o íon do metal e os grupos funcionais encontrados nas estruturas da superfície da célula microbiana, como proteínas, glicoproteínas, polissacarídeos, glicolipídeos, entre outros. Assim, o cromo pode ter dois caminhos: o primeiro consiste na precipitação do cromo na superfície da célula microbiana e o outro compreende a conversão do cromo hexavalente em cromo trivalente, sendo catalisada por uma redutase de cromato (SINGH et al., 2008) ou é provocada espontaneamente (THATHEYUS e RAMYA, 2016). Tanto nos seres procariontes e eucariontes, o cromato é ativamente transportado por meio das membranas biológicas, especificamente os transportadores de sulfato. No interior das células, o transporte ocorre devido a ajuda de proteínas específicas de ligação a metais e, posteriormente ocasiona a conversão a cromo trivalente, através dos estados oxidativos altamente instáveis, como cromo (V) e cromo (IV). A conversão ao cromo trivalente pode ser realizada por microrganismos aeróbios e anaeróbios. No caso dos microrganismos aeróbios, na presença de oxigênio, o NADH, NADPH ou qualquer outra reserva endógena funciona como doador de elétrons, entretanto, nos microrganismos anaeróbios, na ausência de oxigênio, o próprio cromo hexavalente aceita os elétrons na cadeia respiratória e frequentemente engloba proteínas de citocromos (SINGH et al., 2008, WIELINGA et al., 2001).

Figura 3.2 Mecanismos de remoção de cromo através de uma célula microbiana.



1: O cromo (VI) é adsorvido na célula microbiana por meio de ligações químicas; 2a: O cromo (VI) adsorvido pode ser reduzido a cromo (III) por ação da enzima redutase de cromato; 2b: conversão espontânea; 3a: o cromo (VI) entra na célula por meio do sistema de captação (transportadores de sulfato); 3b: dentro da célula, o cromo (VI) é reduzido a cromo (III) através de intermediários altamente instáveis, como o cromo (V) e (IV); 4: acúmulo de cromo (VI) na parede celular; 5: excesso de cromo (VI) é expelido da célula por meio do sistema de efluxo específico (JOBBY et al., 2018).

3.3.3 Biorremediação usando bactérias

O processo de biorremediação do cromo utilizando bactérias compreende um procedimento rápido, econômico, com menor demanda de energia e ausência de produtos químicos, podendo ser utilizadas cepas bacterianas nativas e não patogênicas. Para a conversão do cromo hexavalente em cromo trivalente utiliza-se principalmente bactérias em razão de serem eficientes (BADAR et al., 2000; KANMANI, ARAVIND e PRESTON, 2012). Além da sua eficiência na remediação de metais pesados, as bactérias muitas vezes apresentam a capacidade de tolerar outro estresse ambiental extremo, como exemplo a temperatura, pH, salinidade, já que estão associados a locais poluídos (PUSHKAR et al., 2021).

Os microrganismos capazes de reduzir o cromo hexavalente são geralmente denominados de bactérias redutoras de cromo. Essas bactérias resistentes ao cromo apresentam diversos mecanismos para lidar com o estresse provocado pelo cromo, a fim de garantir a sua sobrevivência. Dentre esses mecanismos estão a bioadsorção, bioacumulação, biotransformação, efluxo, redução enzimática, redução não enzimática,

precipitação, formação de biofilme, entre outros (BANERJEE et al., 2019), sendo que as bactérias podem usar apenas um dos mecanismos ou a combinação de vários deles para superar a toxicidade do cromo (BHARAGAVA e MISHRA, 2018).

Tanto as bactérias gram-negativas e gram-positivas apresentaram desempenho na remoção de cromo hexavalente por meio da bioissorção ou biotransformação. No entanto, as bactérias gram-positivas apresentam maior tolerância à toxicidade de cromo hexavalente em concentrações relativamente altas, enquanto que as bactérias gram-negativas demonstram ser mais sensíveis ao cromo hexavalente (COLEMAN, 1988). Desse modo, a propriedade bacteriana, que é eficaz no processo de biorremediação, é aquela que interliga alta tolerância com a capacidade de reduzir o cromo hexavalente a cromo trivalente (DHAL et al., 2013). Assim, tanto a resistência como também a redução do cromo são propriedades independentes das bactérias (BOPP e EHRLICH, 1988; SILVER, 1997).

A bactéria *Bacillus coagulans*, isolada dos resíduos provenientes da indústria de galvanoplastia, apresentou uma capacidade de redução do cromo hexavalente por meio de uma enzima solúvel e malato atuando como doador externo de elétrons (PHILIP, IYENGAR e VENKOBACHAR, 1998). Conforme Kapoor, Viraraghavan e Cullimore (1999), também foi verificado o envolvimento de uma proteína solúvel na conversão de cromo hexavalente em cromo trivalente pelo uso da *Pseudomonas putida*. Foi demonstrado que essa proteína é uma enzima, cromato redutase e ainda se observou o uso de NADH e NADPH como doador de elétrons. Deve-se destacar a capacidade de bioissorção de cromo em *Bacillus circulans*, *Bacillus megaterium* e *B. coagulans* (SRINATH et al., 2002). Além disso, foram comparadas a eficiência no processo de bioissorção de células vivas e mortas em *B. coagulans* e *B. megaterium*, provando que as células mortas apresentaram melhor desempenho.

A remoção de cromo hexavalente foi demonstrada pela aplicação de população mista de *Pseudomonas sp.* (ARAVINDHAN e NAIR, 2006). De acordo com os trabalhos de Cheung e Gu (2003), a redução de cromato ocorreu por meio de uma bactéria redutora de enxofre que foi isolado de sedimentos marinhos contaminados pela presença de metais de Tokwawan, Hong Kong sob condições anaeróbicas. Consórcios microbianos formados por células imobilizadas de *P. aeruginosa*, *B. subtilis* e *Saccharomyces cerevisiae* em um suporte sólido demonstraram uma boa eficiência na remoção de cromo hexavalente presente em efluentes da indústria de curtume (BENAZIR et al., 2010).

O estudo desenvolvido por Dias et al. (2020) teve como objetivo avaliar a influência da intensidade do campo magnético e das linhas do campo magnético na remoção de cromo por ímãs circulares, atingindo a máxima remoção de Cr (VI) e cromo total de 99,97 % e 74,2 %, respectivamente. Esses resultados foram obtidos utilizando um campo magnético de 5 Hz e intensidade de campo magnético de 15,9 e 57,8 m T em 7 horas e 48 minutos por meio de uma cultura mista, apresentando, desta forma, melhores resultados nessa condição em relação aos ensaios na ausência de campo magnético.

3.3.4 Redução biológica (Biorredução)

O processo biológico denominado biorredução consiste na capacidade dos microrganismos em converter compostos tóxicos presentes no meio em formas precipitadas menos tóxicas e voláteis, por meio das reações de oxidação e redução. Em relação ao cromo, inúmeras espécies de bactérias podem utilizar o cromo hexavalente atuando como aceptor de elétrons em seu processo respiratório com o objetivo de transformá-lo em elementos menos solúveis e tóxicos como o cromo trivalente (LOVLEY e PHILLIPS, 1994; SHEN, PRITCHARD e SEWELL, 1996; WANG e SHEN, 1997).

A redução do cromo hexavalente em cromo trivalente constitui um mecanismo de defesa adotados pelos microrganismos quando submetidos a ambientes contaminados com o metal pesado cromo. Sabe-se que a forma reduzida de cromo trivalente pode precipitar como hidróxido de cromo em pH neutro (CHIRWA e WANG, 1997).

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. Inúmeros estudos confirmaram a presença de atividade de redutase de cromo na membrana celular, citoplasma e, também, no sobrenadante de cultura de células como suporte a presença da redutase intracelular associada à membrana (ILIAS et al., 2011). 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 também durante o processo de transporte, ocorre a redução do Cr^{+6} em Cr^{+3} no envelope celular (LI et al., 2019).

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-} (WANG et al., 2017);
- 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).

Conforme o trabalho desenvolvido por Parameswari, Lakshmanan e Thilagavathi (2009), a presença de elevadas concentrações de cromo prejudica a multiplicação de bactérias. A explicação disso deve-se ao fato da energia bacteriana estar direcionada a redução do cromo e sua desintoxicação, resultando na diminuição da biomassa bacteriana em função da presença de cromo. Segundo Ikegami et al. (2020), as bactérias em fase logarítmica são capazes de promover uma redução significativa de cromo hexavalente em comparação com as bactérias em qualquer outra fase de crescimento, provavelmente está relacionado ao elevado número de células ativas com atividade enzimática máxima. É importante mencionar que o tempo de redução do cromo aumenta com o aumento da concentração de cromo, devido à saturação da enzima (JEYASINGH e PHILIP, 2005).

Na faixa de pH entre 6,5 a 9,0, o cromo encontra-se como cromato (CrO_4^{2-}) em condições aquosas. A mudança de pH afeta o estado iônico da enzima redutase, consequentemente afeta também na redução do cromo. Entretanto, estudos em bactérias *Pseudomonas* sp. MAI4 apresentaram maior eficiência na redução do cromo em pH 7 (WANI et al., 2019) e cepas de *E. coli* FACU apresentaram crescimento máximo e melhor desempenho na atividade da enzima redutase em pH 7, enquanto que variações no pH afetou a redução (MOHAMED et al., 2020). Com isso, a taxa de redução do cromo sofre redução com um aumento ou diminuição no valor ideal de pH da enzima redutase.

A redução do cromo pode ocorrer tanto em condições aeróbias quanto em condições anaeróbias. Em relação ao mecanismo aeróbio, as bactérias convertem Cr^{+6} geralmente em duas ou três etapas, sendo reduzido aos estados de oxidação intermediários e instáveis, como Cr^{+5} e/ou Cr^{+4} e, em seguida, são convertidos ao estado termodinamicamente estável, Cr^{+3} . Entretanto, a conversão de Cr^{+5} para Cr^{+4} , e

consequentemente, Cr^{+4} para Cr^{+3} pode ser realizada espontaneamente ou por enzimas, sendo que esses processos ainda não estão compreendidos de forma clara (CZAKÓ-VÉR et al., 1999).

Dentre os que participam como doadores de elétrons para a conversão de Cr^{+6} estão o NADH, NADPH e o elétron de reserva endógena (APPENROTH et al., 2000).

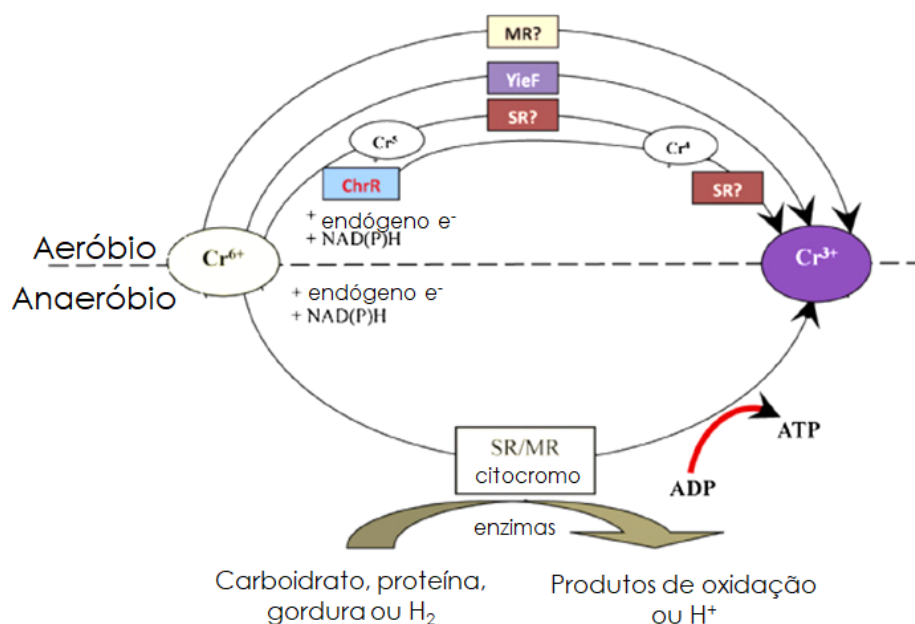
A redutase ChrR converte Cr^{+6} para Cr^{+5} através do transporte de um elétron, posteriormente, ocorre a transferência de dois elétrons para a redução de Cr^{+3} . Embora uma parte do Cr^{+5} é espontaneamente re-oxidada para a formação de EROs e sua redução por meio da transferência de dois elétrons catalisada por ChrR reduz a oportunidade de gerar radicais prejudiciais (ACKERLEY et al., 2004).

A enzima YieF é capaz de reduzir diretamente Cr^{+6} em Cr^{+3} por meio da transferência de quatro elétrons, sendo que três elétrons são consumidos na conversão de Cr^{+6} e o outro elétron restante é transferido para o oxigênio. No entanto, essa redução é mais eficaz do que ChrR, desde que a quantidade de EROs produzida pela YieF seja mínima (PARK et al., 2001). O mecanismo enzimático de redução de cromo (VI) em condições aeróbias está ilustrado na Figura 3.3 (parte superior).

Em relação ao metabolismo anaeróbio, foram observadas a presença de enzimas redutoras de cromo hexavalente associadas à membrana e ambas solúveis, como SR e MR, responsáveis pela conversão de cromo hexavalente (WANG e SHEN, 1995). Além disso, citocromos, como citocromo b e c também se mostraram participantes na redução de cromo hexavalente (TURICK, APEL e CARMIOLO, 1996).

Na ausência de oxigênio, o cromo hexavalente pode funcionar como receptor de elétrons ao longo da cadeia respiratória para uma diversidade de doadores de elétrons, por exemplo, carboidratos, proteínas, gorduras, hidrogênio, NAD(P)H e reservas de elétrons endógenas (WANG, 2000). A representação da redução anaeróbia está mostrada na Figura 3.3 (parte inferior).

Figura 3.3 Mecanismos de redução enzimática de cromo hexavalente em condições aeróbias (superior) e anaeróbias (inferior).



As enzimas presentes na redução de cromo (VI) estão representadas em caixas. SR e MR caracterizam redutases solúveis e associadas à membrana, respectivamente (WANG e SHEN, 1995).

Conforme o trabalho desenvolvido por Lazarova et al. (2014), as EROs geradas no processo de redução do metal representam uma resposta ao estresse oxidativo, além disso, a geração de EROs aumentou em função da maior concentração de cromo hexavalente. Muitos estudos relacionam a toxicidade e carcinogenicidade do cromo hexavalente a produção excessiva de EROs e ao estresse oxidativo correspondente, provocando danos ao DNA (FU et al., 2008; PRATHEESHKUMAR et al., 2016, WANG et al., 2011). Sabe-se que a EROs é a principal causa que ocasiona dano lipídico, pois altera a função da membrana celular, consequentemente altera a fluidez da membrana celular, inativando as proteínas da membrana (FAROUX et al., 2020).

Os estudos de Chen e Hao (1998) demonstraram que alguns parâmetros interferem na redução do cromo hexavalente, como a concentração de biomassa, a concentração inicial de cromo hexavalente, temperatura, pH, fonte de carbono, potencial de oxirredução e a presença de oxiânions e cátions dos metais. Em se tratando de elevadas concentrações de cromo, o meio torna-se tóxico para a maioria das bactérias, entretanto são encontradas espécies resistentes no processo de redução de cromo hexavalente.

3.3.5 Bioissorção e Bioacumulação

O procedimento de bioissorção compreende um processo metabólico passivo, rápido, reversível e independente, promovido pela ação dos microrganismos ativos ou inativos (BURATTO, COSTA e FERREIRA, 2012). Em relação as bactérias, ocorre uma interação físico-química do íon metálico cromo com os grupos funcionais ativos na superfície bacteriana (MORILLO PÉREZ et al., 2008). A eficiência bacteriana em relação ao processo de bioissorção está relacionado com a variedade de espécies de bactérias, como também da composição de sua parede celular (BHARAGAVA e MISHRA, 2018).

O processo de bioissorção compreende duas fases, sendo que a primeira fase é caracterizada pela adsorção física passiva através da complexação, troca iônica, coordenação, adsorção, quelação e precipitação na superfície da célula bacteriana. Essa etapa de adsorção física pode ocorrer sinergicamente ou independentemente uns dos outros, variando com o tipo de bactéria e das condições ambientais em que está inserido. Outro fator a ser mencionado é que pode ser alcançado por células bacterianas ativas e inativas, uma vez que é independente do metabolismo das bactérias (JAROSŁAWIECKA e PIOTROWSKA-SEGET, 2014). Enquanto que a segunda fase consiste no processo de bioacumulação, sendo um procedimento mais lento, além de envolver o transporte ativo de cromo para a célula bacteriana. O cromo bioacumulado é sequestrado intracelularmente por meio das rotas como localização nas organelas particulares, acumulação como um metal pesado particulado, precipitação extracelular ou formação de complexo (SRINATH et al., 2002; BHARAGAVA e MISHRA, 2018; ELAHI e REHMAN, 2019). O cromo pode ser bioissorvido na forma de cromo hexavalente ou na sua forma reduzida de cromo trivalente (MA et al., 2019).

Diversos grupos funcionais como aminas, carboxila, fosfato e grupos hidroxila que são encontrados na superfície da célula estão envolvidos no processo de bioissorção de cromo através da troca protônica (H^+) (RAMAN et al., 2018). Em pH mais baixo, o íon Cr^{6+} está presente como $HCrO_4^-$ e CrO_4^{2-} (KALOLA e DESAI, 2020), e com isso ocorre um aumento na protonação dos grupos carboxila e amino presentes na parede celular, consequentemente provoca uma atração eletrostática entre os íons Cr^{3+}/Cr^{6+} e a superfície celular. Portanto, o processo de bioissorção do cromo é facilitado em pH mais baixo. Por outro lado, o aumento do pH resulta na desprotonação dos grupos funcionais e no aumento das cargas negativas na parede celular, estimulando a repulsão entre os íons

$\text{Cr}^{3+}/\text{Cr}^{6+}$ e a superfície celular, minimizando a eficiência do processo de bioissorção. Além disso, os metais sofrem precipitação em pH mais alto, reduzindo a afinidade e a solubilidade dos íons metálicos, acarretando na diminuição do processo de bioissorção (JOBBY et al., 2019; KALOLA e DESAI, 2020; AKBARPOUR NESHELI, ASGARANI e DABBAGH, 2018). Ademais, em pH mais alto, o processo de bioissorção também é dificultado em função da competição dupla entre CrO_4^{2-} e OH^- , sendo que predomina OH^- (PUSHKAR et al., 2021).

Alguns trabalhos alcançaram a bioissorção máxima de cromo em condições de pH alcalino. Segundo estudos de Rizvi et al. (2020), foi relatado 96 % de bioissorção de cromo em *B.subtilis* em pH variando de 8 a 9. Enquanto que para a espécie *C. funkei* o pH ideal para bioissorção encontra-se em 7, sendo atingido a máxima remoção de cromo (KARTHIK et al., 2017).

De acordo com os estudos desenvolvidos em relação ao processo de bioissorção utilizando bactérias, é possível relacionar a eficiência de bioissorção com as diferentes espécies de bactéria, bem como ao pH, temperatura, concentração inicial de cromo, biomassa utilizada, composição da parede celular, entre outros. Sabe-se que a composição da parede celular bacteriana varia com o tipo de meio de crescimento, como também com as condições de crescimento. Com isso, a mesma bactéria isolada em locais diferentes apresenta resultados distintos de bioissorção (KURNIAWAN, IMRON e PURWANTI, 2019; RIZVI et al., 2020; EL-NAGGAR et al., 2020).

3.4 Aplicações de culturas de bactérias fotossintéticas na remediação de metais pesados

A bactéria fotossintética tem sido amplamente estudada para remoção de poluentes e recuperação de recursos simultaneamente, como exemplo, no tratamento de efluentes contendo cádmio, águas residuárias de alimentos, águas residuárias domésticas e outras (PRACHANURAK et al., 2014; CHITAPORNPAN et al., 2013; HÜLSEN, BATSTONE e KELLER, 2014; LU et al., 2011).

As bactérias fotossintéticas também se destacam no processo de biorremediação de cromo hexavalente presentes em efluentes industriais, uma vez que utilizam a radiação solar como energia, sendo de baixo custo e uma fonte de energia abundantemente disponível (BUCCOLIERI et al., 2006). Além disso, esses microrganismos autotróficos

são capazes de modificar suas estratégias metabólicas, dependendo de diferentes fontes de energia, logo, demonstram alta adaptabilidade sob pressões ambientais (GIOTTA et al., 2006).

Dentre as diversas espécies de bactérias fotossintéticas, a *Rhodobacter sphaeroides* (bactéria fotossintética gram-negativa roxa sem enxofre) foi considerada uma cepa de considerável interesse na remoção de metais pesados (CALVANO et al., 2014). Essa bactéria específica pode crescer sob diferentes condições: respiração aeróbia ou anaeróbia, fotossíntese anoxigênica ou fermentação (ITALIANO et al., 2012). Ademais, *R. sphaeroides* apresenta tolerância na remediação de muitos metais pesados, como exemplo, cromato (ITALINO et al., 2012; CALVANO et al., 2014), mercúrio (GIOTTA et al., 2006), cádmio (LI et al., 2016), níquel (ITALIANO et al., 2009) e zinco (LI et al., 2017).

De acordo com o estudo desenvolvido por Su et al. (2021) que propõe a remoção de cromo hexavalente através do uso combinado de bactérias fotossintéticas e sais de fósforo como estratégia para aprimorar a eficiência no tratamento de águas residuárias. Os experimentos mostraram que as condições ótimas para remoção total de cromo incluem temperatura de 35 °C, pH de 7,20, concentração de NaCl de 5 g/L e intensidade luminosa de 4.000 lux. Com isso, foi possível concluir que a adição de sais de fósforo resultou em uma melhor eficiência na remoção de cromo hexavalente por *R. sphaeroides* SC01.

Conforme o trabalho desenvolvido por Kis et al. (2015) em relação ao potencial de bactérias fotossintéticas em ambientes contaminados com metais pesados, observou-se que as culturas de cepas bacterianas *Rhodobacter sphaeroides*, *Rhodospirillum rubrum* e *Rubrivivax gelatinosus* eram vulneráveis ao efeito imediato de Pb^{+2} , mostraram fraca tolerância ao Hg^{+2} , enquanto que para o Cr^{+6} mostraram-se tolerantes.

Outra bactéria fotossintética que merece destaque é a *Rhodobacter capsulatus*, a qual apresentou forte capacidade de bio sorção de Au^{+3} (FENG et al., 2007). Foi constatado que para 38 mg de peso seco de bactérias a uma concentração de 80 mg/L de Ag^{+3} , 88 % de íons de $AuCl_4^-$ tinha sido bio sorvido em 10 minutos. Além disso, a bio sorção de Au^{+3} poderia ser reduzido por um carotenoide e enzimas incorporadas e/ou excretadas por *R. capsulatus*, indicando que poderia ser um mecanismo de tolerância ao metal.

Conforme os estudos de Magnin, Gondrexon e Willison (2014) que investigaram a capacidade de bio sorção de zinco da bactéria roxa sem enxofre *Rhodobacter capsulatus* B10 na cepa tipo selvagem e na cepa sem a presença do plasmídeo endógeno. Foi relatado que na ausência do plasmídeo endógeno ocorreu a diminuição da captação de zinco para concentração inicial superior a 100 mg/L, sugerindo que pode ser em função das mudanças na superfície celular afetando a ligação de zinco. Enquanto que para a faixa de concentração de zinco de 10 a 600 mg/L, a biomassa proporcionou alta capacidade de absorção de 164 ± 8 mg/g de peso, indicando um potencial uso como adsorvente de zinco.

No entanto, existem poucos estudos em relação a *R. capsulatus* na remoção de metais pesados. Já que essa cepa bacteriana é relatada por apresentar um desempenho favorável na produção de hidrogênio em função de sua eficiência na conversão de substratos e sua capacidade em utilizar uma variedade de substratos para crescimento e também para produção de hidrogênio (HALLENBECK e LIU, 2016). Sabe-se que as bactérias pertencentes ao grupo *Rhodobacter* apresentam metabolismo versátil, além de serem capazes de crescer em condições anaeróbias e aeróbias. Essa bactéria gram-negativa *R. capsulatus* é uma bactéria roxa sem enxofre facultativamente fototrófica, sendo capaz de produzir energia celular por diversas maneiras diferentes, podendo depender da fotossíntese anoxigênica sob condições anaeróbias na presença de luz (NCBI, 2021). O aparelho fotossintético possui três complexos pigmento-proteína ligados à membrana: o centro de reação, onde a transferência de elétrons é iniciada sendo dependente de luz, o complexo LH1 e o complexo LH2, sendo que os complexos estão localizados na membrana citoplasmática (AKLUJKAR e BEATTY, 2005).

3.5 Influência das condições de luz em culturas de bactérias fotossintéticas

A biomassa de bactérias fotossintéticas é rica em proteína, carotenoides, bacterioclorofila, biopolímeros, agentes antimicrobianos e ácido pantotênico (KUO, CHIEN e CHEN, 2012). Dentre esses diversos componentes, os pigmentos de bacterioclorofila e carotenoides destacam-se devido sua aplicação como corantes alimentares, precursores de vitamina A em alimentos e ração animal, β -caroteno e astaxantina na indústria (AKSU e EREN, 2005; TAMIaki et al., 2014). Esses dois pigmentos são considerados os principais coletores de luz em bactérias fotossintéticas (CHEN, HAN e GU, 2006), apresentando um papel importante na captura e transferência

de energia luminosa em energia química destinada para o crescimento das bactérias fotossintéticas.

É importante mencionar que os pigmentos bacterioclorofila e carotenoides absorvem luz em comprimentos de onda diferentes. Diversas bacterioclorofilas apresentam diferentes comprimentos de onda de absorção, variando de 715 a 1.050 nm, enquanto que os carotenoides absorvem na região visível do espectro, entre 450 a 550 nm (HARTIGAN et al., 2002; HOSHINO, 1984). Em geral, a luz incandescente, por meio de lâmpada de tungstênio ou lâmpada de halogênio, é empregada para iluminar o cultivo de bactérias fotossintéticas. Entretanto, os diodos emissores de luz (LEDs) representam uma alternativa promissora, pois consomem pouca energia e possuem uma expectativa de vida longa (KUO, CHIEN e CHEN, 2012). A luz LED caracteriza-se por sua estreita faixa de comprimento de onda, porém as lâmpadas LED podem sofrer adaptação para enquadrar em uma faixa específica de comprimento de onda a fim de corresponder os espectros de absorção fotossintética das bactérias fotossintéticas.

Conforme o trabalho desenvolvido por Kuo, Chien e Chen (2012) em relação aos efeitos de oito fontes de luz na produção de biomassa e no conteúdo de carotenoides da bactéria fotossintética *Rhodopseudomonas palustris* foi relatado que a fonte de luz favorável para o crescimento celular foi o LED azul, sendo que seu pico de intensidade é de aproximadamente 470 nm. Entretanto, a fonte de luz amarelo cujo pico de intensidade é de aproximadamente 595 nm, apresentou o pior desempenho comparando com as demais condições de luz. Quando se trata do conteúdo de carotenoides, as maiores produtividades do pigmento foram alcançadas nas fontes de luz provenientes de LED azul (470 nm), LED amarelo (595 nm), LED branco (460 nm) e LED verde (520 nm), em função dos respectivos picos de intensidade de luz se enquadrarem na faixa de comprimento de onda dos picos de carotenoides que variam de 400 a 600 nm.

Com isso, as condições de luz interferem na produção de biomassa, carotenoides e bacterioclorofila. Quando se trata de cultura de microrganismos fotossintéticos, os componentes responsáveis pelas condições de luz incluem a fonte de luz, a intensidade luminosa e o foto-período (ZHOU et al., 2015).

Dentre essas condições de luz citadas, a intensidade luminosa destaca-se como sendo um fator importante no crescimento das bactérias fotossintéticas. Foi relatado em estudos anteriores que o aumento da intensidade luminosa de 2.000 lux para 4.000 lux resultou em incremento considerável no crescimento das bactérias fotossintéticas,

entretanto acréscimos adicionais na intensidade luminosa excedendo 5.000 lux provocaram uma redução no crescimento celular (SHI e YU, 2005; NATH e DAS, 2009). Conforme os estudos de Zhou, Zhang e Zhang (2014), a produção de biomassa foi melhorada em intensidades de luz de 1.000 a 4.000 lux em comparação com a condição de baixa intensidade luminosa de 500 lux, utilizando uma cepa de bactéria fotossintética *Rhodopseudomonas*, pois quanto mais luz, mais energia era fornecido para as células das bactérias fotossintéticas. Entretanto, Basak e Das (2007) relataram que a biomassa de *R. sphaeroides* não aumentou quando a intensidade luminosa atingiu valores superiores a 3.000 lux. É válido destacar que, a intensidade de luz ideal para proporcionar o crescimento da biomassa varia de microrganismo a microrganismo (ZHOU, ZHANG e ZHANG, 2014).

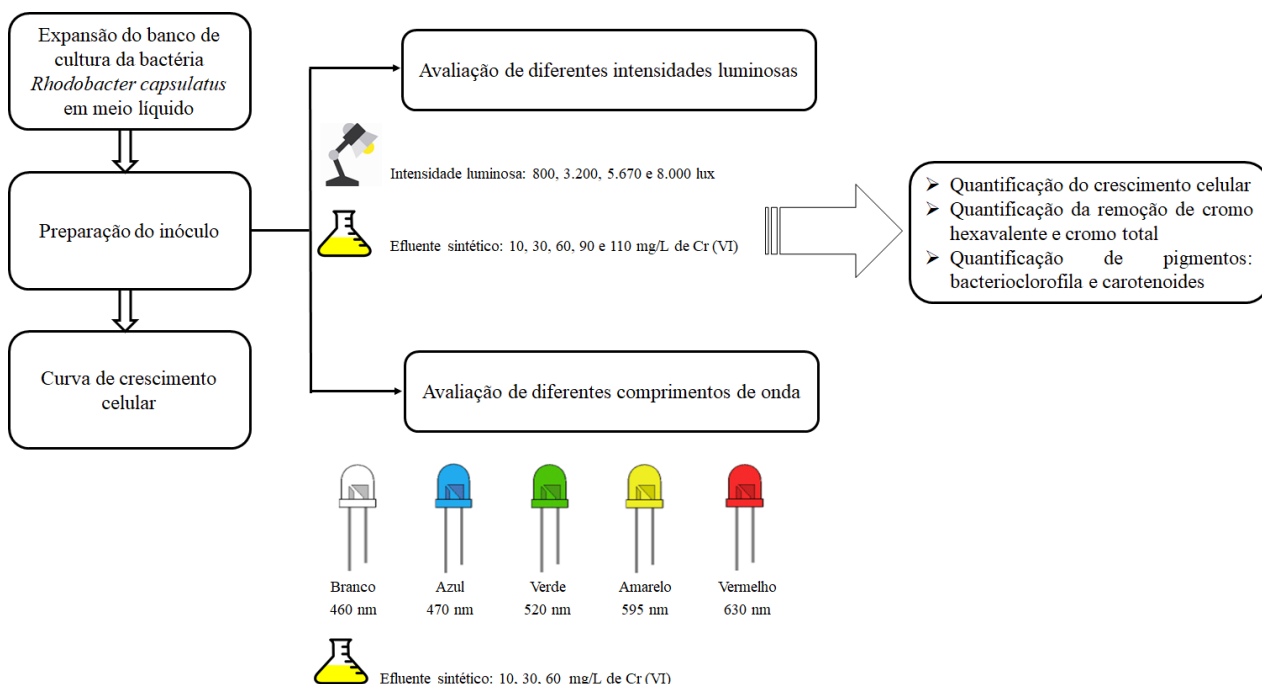
Além disso, estudos relacionados a influência da luz são de grande importância pois fornecem informações direcionadas a relação entre o processo de remediação de metais e processos dependentes de energia. Foi relatado o efeito da luz em relação a toxicidade do cromo em *S. acutus* (GORBI et al., 2001). Os autores identificaram que a absorção de metais é um procedimento dependente de energia sendo estimulado pela luz.

CAPÍTULO 4

MATERIAIS E MÉTODOS

Neste tópico foram especificados o material, os procedimentos e as variáveis envolvidas nos processos de biorremediação do cromo hexavalente utilizando como microrganismo a bactéria púrpura não sulfurosa *Rhodobacter capsulatus*. O fluxograma representado na Figura 4.1 demonstra as etapas desenvolvidas no trabalho.

Figura 4.1 Fluxograma das etapas desenvolvidas no trabalho.



4.1 Bactéria e meio de cultivo

A bactéria fotossintetizante púrpura não sulfurosa *Rhodobacter capsulatus* DSM 1710 foi adquirida do banco alemão DSMZ e mantida em meio basal RCV (WEAVER, WALL e GEST, 1975). O meio RCV (*Rhodobacter capsulatus* V minimal medium) é composto pelos reagentes apresentados na Tabela 4.1, enquanto que os componentes da solução de micronutrientes encontra-se na Tabela 4.2.

Tabela 4.1 Componentes do meio basal RCV originalmente utilizado para cultivo da *Rhodobacter capsulatus*.

Reagentes	Concentração (g/L)
Ácido málico	4,02
KH ₂ PO ₄	0,60
K ₂ HPO ₄	0,90
MgSO ₄ .7H ₂ O	0,12
CaCl ₂ .2H ₂ O	0,075
Na ₂ EDTA.2H ₂ O	0,02
Micronutrientes	1 mL
Tiamina	0,001
(NH ₄) ₂ SO ₄	1,00

Tabela 4.2 Composição da solução de micronutrientes utilizada no meio basal RCV.

Reagentes	Concentração (g/L)
H ₃ BO ₃	2,80
MnSO ₄ .H ₂ O	1,59
NaMoO ₄ .2H ₂ O	0,75
ZnSO ₄ .7H ₂ O	0,24
CaCl ₂ .2H ₂ O	0,075
CuCl ₂ .2H ₂ O	0,05

O meio foi preparado utilizando os reagentes especificados na Tabela 4.1, dissolvendo-os em água deionizada, com pH ajustado em 6,8. Em seguida, o meio foi esterilizado a uma temperatura de 121 ± 1 °C, a 1 atm por 20 minutos. Deve-se destacar que as vidrarias utilizadas para a preparação do meio foram previamente esterilizadas.

4.2 Cultivo do inóculo da bactéria

Os repiques da bactéria fotossintetizante púrpura não sulfurosa *R. capsulatus* foram realizados no fluxo laminar a cada 10 dias. O procedimento consistiu em centrifugar as células mantidas em frascos Duran de 500 mL a 8.000 rpm durante 15 minutos. Posteriormente o sobrenadante foi descartado e o sedimento obtido foi ressuspenso em meio fresco. Em seguida, o gás argônio foi borbulhado por 3 minutos no inóculo para garantir a anaerobicidade. Os frascos foram mantidos em câmara de germinação a 30 ± 1 °C, sob luminosidade contínua de 2.200 lux (DEMIRIZ et al., 2019).

4.3 Fonte de cromo

Nos experimentos realizados foi utilizado um efluente sintético apresentando como fonte de cromo hexavalente o dicromato de potássio ($K_2Cr_2O_7$), sendo que as concentrações iniciais de cromo foram de 10, 30, 60, 90 e 110 mg/L. Essas diferentes concentrações de cromo foram adicionadas ao meio de cultura, descrito na Tabela 4.1, 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 Condições para a fermentação

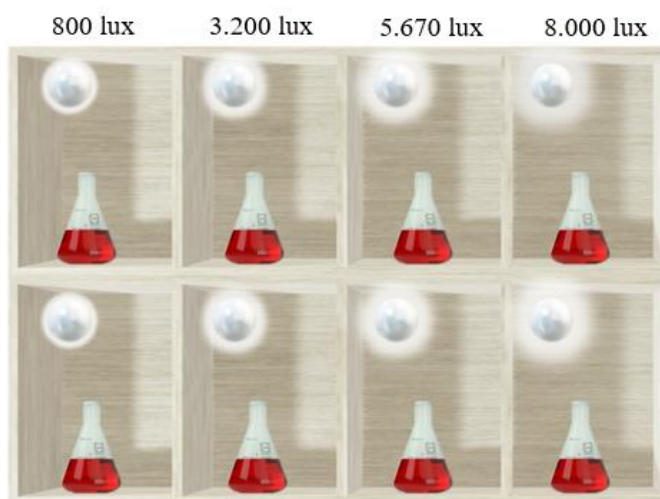
Para a realização das fermentações foi fixada uma concentração inicial de inóculo de bactéria *R. capsulatus* de 0,5 g/L, com base nos resultados dos testes preliminares. Nesses ensaios foram avaliadas três concentrações iniciais de inóculo de 0,1; 0,5 e 1 g/L, os melhores resultados encontrados para remoção de cromo foram em 0,5 e 1 g/L. Como é necessária uma quantidade elevada de inóculo para atingir 1 g/L, optou-se em utilizar 0,5 g/L. É importante ressaltar que o inóculo da bactéria utilizado nos experimentos foi obtido após 5 dias do procedimento de repique. A biomassa da bactéria foi reativada em câmara de fluxo laminar utilizando reatores de 250 mL (erlenmeyers) previamente esterilizados e devidamente selados, com volume reacional de 210 mL. Após a reativação da biomassa bacteriana no efluente sintético, os reatores foram dispostos em estufa a temperatura ambiente (25 °C a 32 °C) sob iluminação contínua. Cabe mencionar ainda que os experimentos foram realizados em duplicata e tiveram uma duração de 8 dias. Além disso, para garantir a condição anaeróbia nas fermentações foi purgado gás argônio durante 3 minutos após a coleta das amostras que ocorreram em 12, 24, 48, 96, 144, 192 horas. No entanto, para avaliar a cinética de remoção de cromo hexavalente, a coleta de amostras ocorreu em intervalos menores que 12 horas.

Em relação ao acompanhamento dos processos fermentativos, a coleta de amostras que ocorreu periodicamente em intervalos predeterminados a um volume de 10 mL, foi centrifugada a 8.000 rpm por 15 minutos. Em seguida, o sobrenadante foi armazenado para determinação da concentração de cromo hexavalente e cromo total, enquanto que o sedimento de bactéria formado foi destinado para quantificar a densidade celular. Ademais, a análise da síntese de pigmentos (bacterioclorofila e carotenoides) ocorreu no início (0 horas) e no final da fermentação (192 horas) a partir de um volume de 20 mL.

4.4.1 Avaliação de diferentes intensidades luminosas

Para avaliar a eficiência do processo de biorremediação utilizando diferentes intensidades luminosas, os reatores foram dispostos em estufa sob iluminação contínua mantidas através de luz branca com lâmpadas LED dimerizadas, aplicando diferentes intensidades luminosas de 800, 3.200, 5.670 e 8.000 lux, conforme apresentado na Figura 4.2. A condição na ausência de luz também foi avaliada, para isso, os reatores (erlenmeyers) foram envolvidos com papel pardo. Nesses ensaios foram utilizados efluente sintético com concentrações iniciais de cromo hexavalente de 10, 30, 60, 90 e 110 mg/L e também, foi avaliado a condição controle que corresponde ao meio de cultura sem a presença da fonte de cromo.

Figura 4.2 Representação esquemática da estufa sob iluminação contínua.



4.4.2 Teste Controle

Foram realizados testes utilizando somente o efluente sintético, ou seja, na ausência do microrganismo, com o intuito de avaliar a relação de redução do cromo hexavalente com as diferentes intensidades luminosas, utilizando as condições iniciais de cromo hexavalente (10, 30, 60, 90 e 110 mg/L). A condição na ausência de luz também foi avaliada.

4.4.3 Avaliação de diferentes comprimentos de onda

Foi proposto estudar também a influência de diferentes comprimentos de onda, por meio das fontes de luz branco, azul, verde, amarelo e vermelho, sendo que os espectros de absorção se encontram nos Apêndices A, B, C, D e E, respectivamente. Para isso, os reatores foram envolvidos com papel celofane nas cores estabelecidas. Nesses ensaios foram utilizados efluente sintético com concentrações iniciais de cromo hexavalente de 10, 30 e 60 mg/L e também, foi avaliado a condição controle que corresponde ao meio de cultura sem a presença da fonte de cromo. Para obter uma melhor compreensão, a Tabela 4.3 apresenta os ensaios realizados bem como suas respectivas condições avaliadas.

Tabela 4.3 Sumarização dos ensaios realizados com suas respectivas condições avaliadas.

Avaliação de diferentes intensidades luminosas	
Ensaio 1 (Ausência de luz)	Condição 1: Bactéria + meio de cultivo RCV (condição controle)
Ensaio 2 (800 lux)	Condição 2: Bactéria + Efluente sintético (10 mg/L Cr ⁺⁶)
Ensaio 3 (3.200 lux)	Condição 3: Bactéria + Efluente sintético (30 mg/L Cr ⁺⁶)
Ensaio 4 (5.670 lux)	Condição 4: Bactéria + Efluente sintético (60 mg/L Cr ⁺⁶)
Ensaio 5 (8.000 lux)	Condição 5: Bactéria + Efluente sintético (90 mg/L Cr ⁺⁶)
	Condição 6: Bactéria + Efluente sintético (110 mg/L Cr ⁺⁶)
Teste Controle	
Ensaio 6 (Ausência de luz)	Condição 1: Efluente sintético (10 mg/L Cr ⁺⁶)
Ensaio 7 (800 lux)	Condição 2: Efluente sintético (30 mg/L Cr ⁺⁶)
Ensaio 8 (3.200 lux)	Condição 3: Efluente sintético (60 mg/L Cr ⁺⁶)
Ensaio 9 (5.670 lux)	Condição 4: Efluente sintético (90 mg/L Cr ⁺⁶)
Ensaio 10 (8.000 lux)	Condição 5: Efluente sintético (110 mg/L Cr ⁺⁶)
Avaliação de diferentes comprimentos de onda	
Ensaio 11 (Bactéria + Meio de cultivo RCV – Condição controle)	Condição 1: Luz Branco (460 nm) Condição 2: Luz Azul (470 nm) Condição 3: Luz Verde (520 nm) Condição 4: Luz Amarelo (595 nm) Condição 5: Luz Vermelho (630 nm)
Ensaio 12 (Bactéria + Efluente sintético de 10 mg/L Cr⁺⁶)	
Ensaio 13 (Bactéria + Efluente sintético de 30 mg/L Cr⁺⁶)	
Ensaio 14 (Bactéria + Efluente sintético de 60 mg/L Cr⁺⁶)	

4.5 Metodologia Analítica

4.5.1 Determinação do crescimento celular

Para a construção da curva de calibração, a análise de absorvância foi determinada em espectrofotômetro a um comprimento de onda de 650 nm (OD650), e, consequentemente convertida em g/L pela equação de correlação entre OD650 e g de SV(sólidos voláteis)/L (CLESCERI, EATON e GREENBERG, 1998). A primeira etapa consistiu na centrifugação de uma amostra de inóculo de 20 mL a 8.000 rpm durante 20 minutos. Em seguida, o sobrenadante foi descartado e o sedimento obtido lavado por duas vezes com água destilada e centrifugado após cada lavagem. Posteriormente, o sedimento celular foi transferido para as cápsulas de porcelana (cadinho), as quais foram previamente calcinadas e pesadas, tendo P_0 (mg de massa úmida). 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 com isso, foram pesadas novamente, determinando P_i (mg massa seca). A próxima etapa consistiu em calcinar a amostra celular em mufla a uma temperatura de 550 ± 1 °C por um período de 30 minutos, consequentemente foram levadas a um dessecador para seu resfriamento, sendo novamente pesadas obtendo P_f (mg de sólidos fixos). As equações 4.1, 4.2 e 4.3 representam a quantificação dos sólidos totais (ST), voláteis (SV) e fixos (SF).

$$ST \left(\frac{g}{L} \right) = \frac{(P_i - P_0)(g)}{V(L)} \quad (4.1)$$

$$SV \left(\frac{g}{L} \right) = \frac{(P_f - P_i)(g)}{V(L)} \quad (4.2)$$

$$SF \left(\frac{g}{L} \right) = \frac{(P_f - P_0)(g)}{V(L)} \quad (4.3)$$

A curva de calibração obtida relaciona a absorvância observada a 650 nm e a concentração de sólidos voláteis (Apêndice F).

Para a quantificação do crescimento celular, as amostras foram centrifugadas a 8.000 rpm por 15 minutos a fim de separar o inóculo de bactéria do sobrenadante. 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 de bactéria. A partir dessa suspensão, o crescimento celular foi

determinado pela análise da absorbância no espectrofotômetro a um comprimento de onda de 650 nm com base na curva de calibração que relaciona a leitura da absorbância com a concentração de células (g/L).

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). No entanto, foi necessário preparar uma curva de calibração previamente estabelecida correlacionando a absorbância com a concentração de cromo (Apêndice G).

4.5.3 Determinação do cromo total

A quantificação da concentração de cromo total foi determinada por espectrometria de absorção atômica em chama, por meio do equipamento da marca Shimadzu, modelo AA-7000 apresentado na Figura 4.3. A curva de calibração utilizada para determinação da concentração do metal foi obtida por meio de soluções padrões comerciais da SpecSol. Para determinação da curva de calibração foram preparadas diferentes concentrações por meio da diluição com água deionizada a partir da solução padrão comercial. Já o preparo das amostras para leitura consistiu em diluí-las em água deionizada para ajustar dentro da curva de calibração, sendo que o volume aspirado da amostra é de aproximadamente 3 mL.

Figura 4.3 Espectrofotômetro de Absorção Atômica.



4.5.4 Determinação da bacterioclorofila

Para a quantificação da bacterioclorofila, uma suspensão de 20 mL de células 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 ressuspenso em uma solução de acetona-metanol (7:2 V/V) a um volume de 10 mL (QI et al., 2017). Após isso, a lise celular foi verificada através do uso de esferas de vidro. O processo de abrasão foi realizado em agitador tipo vórtex utilizando pérolas de vidro, sendo utilizada 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 medido por espectrofotômetro a 771 nm. O conteúdo de bacterioclorofila (mg/mL) foi calculado de acordo com a Equação 4.4:

$$\text{Produção de bacterioclorofila } \left(\frac{\text{mg}}{\text{L}}\right) = \frac{A_{771} \times V_1 \times N}{760 \times V_2} \quad (4.4)$$

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). Os resultados foram convertidos em mg/m³.

4.5.5 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 a 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 as 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 às células quebradas. 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 e 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 4.5:

$$\text{Produção de Carotenoides } \left(\frac{\text{mg}}{\text{L}}\right) = \frac{A_{473} \times V_3 \times N \times 10}{2500 \times V_4} \quad (4.5)$$

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). Os resultados foram convertidos em mg/m³.

4.5.6 Eficiência de remoção de cromo hexavalente e cromo total

O cálculo para a eficiência de remoção do cromo hexavalente e cromo total foi calculado a partir da Equação 4.6.

$$\eta_t = \frac{C_0 - C_t}{C_0} \times 100 \quad (4.6)$$

Sendo η_t a eficiência de remoção do cromo no tempo t (%), C_0 e C_t correspondem as concentrações de cromo hexavalente e cromo total no tempo inicial e no tempo t (mg/L), respectivamente.

CAPÍTULO 5

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Neste tópico foi abordado o detalhamento dos resultados obtidos em termos de diferentes intensidades luminosas e diferentes comprimentos de onda, avaliando o crescimento celular, a remoção de cromo hexavalente e cromo total e a síntese de pigmentos (bacterioclorofila e carotenoides), a fim de obter uma melhor compreensão da potencialidade do uso da bactéria *R. capsulatus* no tratamento de efluentes contendo cromo.

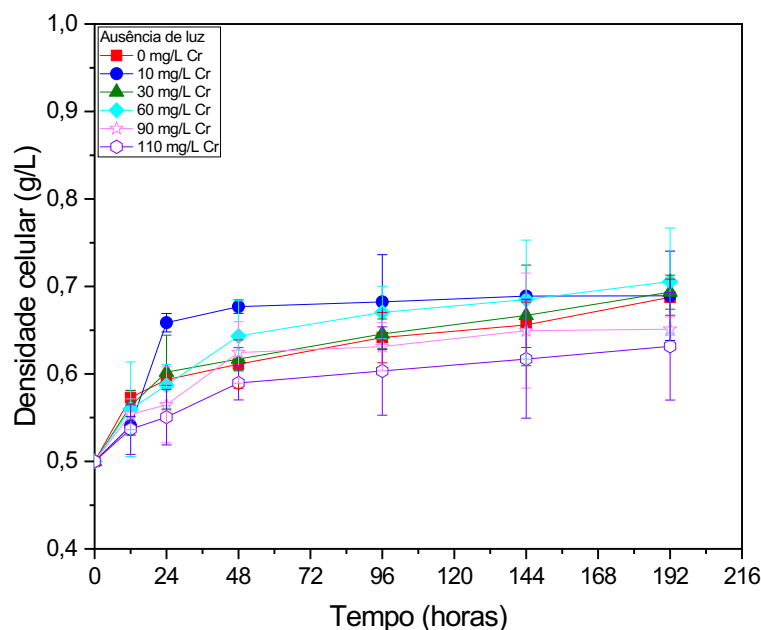
5.1 Avaliação de diferentes intensidades luminosas

Neste item serão apresentados os resultados referentes a avaliação de diferentes intensidades luminosas de 800, 3.200, 5.670 e 8.000 lux, além da condição na ausência de luminosidade. O objetivo foi avaliar o comportamento da bactéria *R. capsulatus* no seu meio de cultivo RCV (condição controle), como também no efluente sintético, no qual o meio de cultura foi suplementado com uma fonte de cromo, cujas concentrações iniciais de cromo hexavalente foram de 10, 30, 60, 90 e 110 mg/L.

5.1.1 Ausência de luminosidade

Inicialmente foi avaliado a condição na ausência de luz (Ensaio 1) e para obter uma melhor compreensão da resposta do microrganismo em termos de teor de biomassa, a Figura 5.1 apresenta a cinética de crescimento celular ao longo da fermentação.

Figura 5.1 Cinética de crescimento celular do Ensaio 1.



Condições operacionais: Temperatura ambiente: 25 – 32 °C; ausência de luz; condição anaeróbica. Bactéria inoculada em meio de cultivo RCV (0 mg/L Cr) e efluente sintético (RCV + Cr) de concentração inicial de 10, 30, 60, 90 e 110 mg/L de Cr (VI) → pH_{inicial} ~ 6,8.

Pela análise da Figura 5.1, verifica-se que a densidade celular final foi de aproximadamente 0,69 g/L na condição controle e nas condições de efluente sintético de concentrações iniciais de 10 e 30 mg/L de cromo hexavalente, apresentando um aumento de biomassa de 38 % em relação a densidade celular inicial (0,5 g/L). Para a condição de efluente sintético com concentração inicial de cromo hexavalente de 60 mg/L, a densidade celular final alcançou 0,71 g/L que corresponde um aumento de 42 % em comparação com a biomassa inicial. Desta forma, observa-se que os incrementos no teor de biomassa foram próximos tanto na presença como na ausência de cromo no meio fermentativo, indicando que a condição de estresse proporcionada pela ausência de luz afeta o crescimento celular. Conforme os estudos de Kuo, Chien e Chen (2012) que investigaram os efeitos de diferentes fontes de luz no crescimento e no conteúdo de carotenoides de bactérias fotossintéticas *Rhodospseudomonas palustris*, foi observado que o crescimento celular foi mais lento no escuro do que ao ser submetido a iluminação, uma vez que no escuro a biomassa foi de $0,75 \times 10^6$ células/mL, enquanto que nas condições de luminosidade foi alcançado $4,92 \times 10^6$ células/mL. O mesmo comportamento foi relatado nos estudos de Siefert, Irgens e Pfenning (1978), que demonstraram

que o crescimento da *Rhodobacter capsulate* foi maior quando submetida a iluminação do que sob condições escuras.

Em relação as condições de efluente sintético com concentrações iniciais de cromo hexavalente de 90 e 110 mg/L, foi observado uma densidade celular final de 0,65 e 0,63 g/L, respectivamente. Assim, o aumento de biomassa foi de 30 % e 26 % em relação a concentração celular inicial, respectivamente. Com isso, fica nítido que os menores acréscimos na biomassa ocorreram nas condições de elevadas concentrações de cromo, uma vez que o meio se torna tóxico para o microrganismo. Além disso, a presença de outra condição de estresse proporcionada pela ausência de luz interferiu na cinética de crescimento celular.

Com o objetivo de analisar a potencialidade da bactéria *R. capsulatus* no tratamento de efluentes contaminados com cromo foi avaliada a cinética de remoção de cromo hexavalente e cromo total ao longo da fermentação. As Tabelas 5.1 e 5.2 representam respectivamente as taxas de remoção de cromo hexavalente e cromo total, calculadas a partir da equação 4.6, enquanto a Figura 5.2 apresenta o gráfico da cinética de remoção de cromo total.

Tabela 5.1 Eficiência de remoção de cromo hexavalente do Ensaio 1.

Tempo (horas)	Condições do efluente sintético em relação as concentrações iniciais de cromo hexavalente				
	10 mg/L Cr	30 mg/L Cr	60 mg/L Cr	90 mg/L Cr	110 mg/L Cr
0	0 ± 0 %	0 ± 0 %	0 ± 0 %	0 ± 0 %	0 ± 0 %
0,5	100 ± 0 %	100 ± 0 %	-	-	-
4	-	-	71,2 ± 0,3 %	69,3 ± 0,9 %	53,3 ± 0,7 %
8	-	-	83,4 ± 0,6 %	77,4 ± 1,6 %	58,7 ± 0,1 %
12	-	-	91,4 ± 0,7 %	90,5 ± 2,3 %	64,8 ± 0 %
24	-	-	100 ± 0 %	100 ± 0 %	80,6 ± 0 %
48	-	-	-	-	99,2 ± 0 %
96	-	-	-	-	100 ± 0 %

Com base nos dados da Tabela 5.1, observa-se que houve remoção completa do cromo hexavalente em todas as condições avaliadas, sendo que no efluente sintético com concentrações iniciais menores de cromo hexavalente de 10 e 30 mg/L, a remoção total ocorreu em 30 minutos. Enquanto que para as condições de meio sintético de concentrações iniciais de 60 e 90 mg/L de cromo hexavalente a remoção completa foi verificada em 24 horas. Já no efluente sintético com concentração inicial de 110 mg/L de cromo hexavalente a remoção

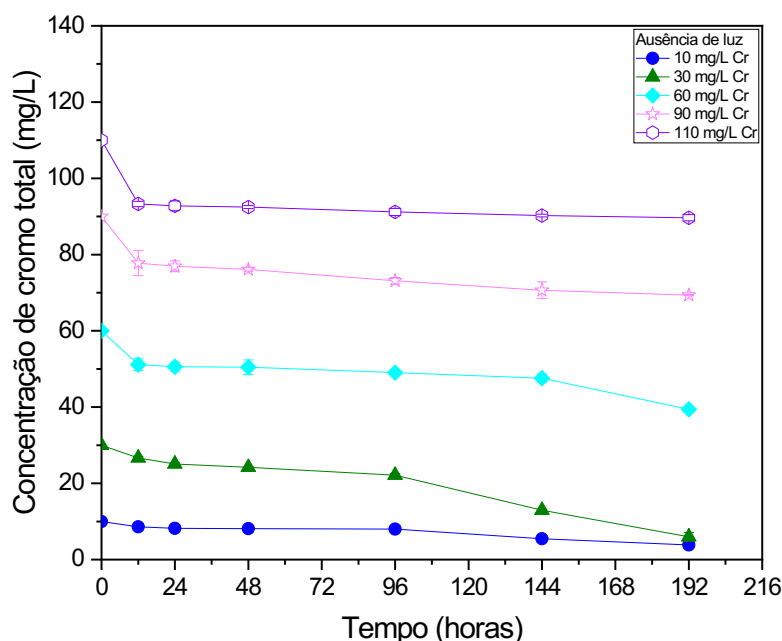
completa ocorreu praticamente após 48 horas. Com isso, o tempo de redução de cromo aumenta com o aumento da concentração de cromo, devido à saturação da enzima redutase responsável pela redução do cromo (JEYASINGH e PHILIP, 2005).

Tabela 5.2 Eficiência de remoção de cromo total do Ensaio 1.

Tempo (horas)	Condições do efluente sintético em relação as concentrações iniciais de cromo hexavalente				
	10 mg/L Cr	30 mg/L Cr	60 mg/L Cr	90 mg/L Cr	110 mg/L Cr
0	0 ± 0 %	0 ± 0 %	0 ± 0 %	0 ± 0 %	0 ± 0 %
12	14,0 ± 0,1 %	11,1 ± 0,4 %	14,8 ± 1,5 %	13,6 ± 3,3 %	15,2 ± 0,7 %
24	18,1 ± 0,1 %	16,4 ± 0,3 %	15,7 ± 1,2 %	14,5 ± 1,4 %	15,6 ± 1,3 %
48	18,9 ± 0 %	19,4 ± 0,2 %	15,9 ± 1,9 %	15,4 ± 0,4 %	15,9 ± 0,4 %
96	20,0 ± 0 %	26,2 ± 0,4 %	18,3 ± 0,4 %	18,7 ± 0,9 %	17,1 ± 0,9 %
144	45,3 ± 0,2 %	56,8 ± 0,3 %	20,7 ± 1,1 %	21,5 ± 2,2 %	17,9 ± 0,3 %
192	61,5 ± 0 %	80,1 ± 1,1 %	34,3 ± 0 %	22,9 ± 0,2 %	18,5 ± 0,8 %

Ao avaliar a remoção de cromo total apresentada na Tabela 5.2, verifica-se que não houve remoção completa. As máximas remoções de cromo total ocorreram nas condições de efluente sintético com concentrações menores de cromo hexavalente de 10 e 30 mg/L atingindo 61,5 % e 80,1 %, respectivamente. Enquanto que as condições de meio sintético com concentrações iniciais de 60, 90 e 110 mg/L de cromo hexavalente, a eficiência na remoção foi de 34,3 %, 22,9 % e 18,5 %, respectivamente. Com isso, observa-se que para elevadas concentrações de cromo foram obtidas as menores taxas de remoção de cromo, uma vez que a capacidade de remoção do cromo diminuiu com o aumento da concentração inicial de cromo hexavalente. Além disso, esses baixos valores nas taxas de remoção de cromo para todas as condições podem estar relacionados com a ausência de luz que prejudicou o mecanismo metabólico para a remoção de cromo total.

Figura 5.2 Cinética de concentração de cromo total do Ensaio 1.



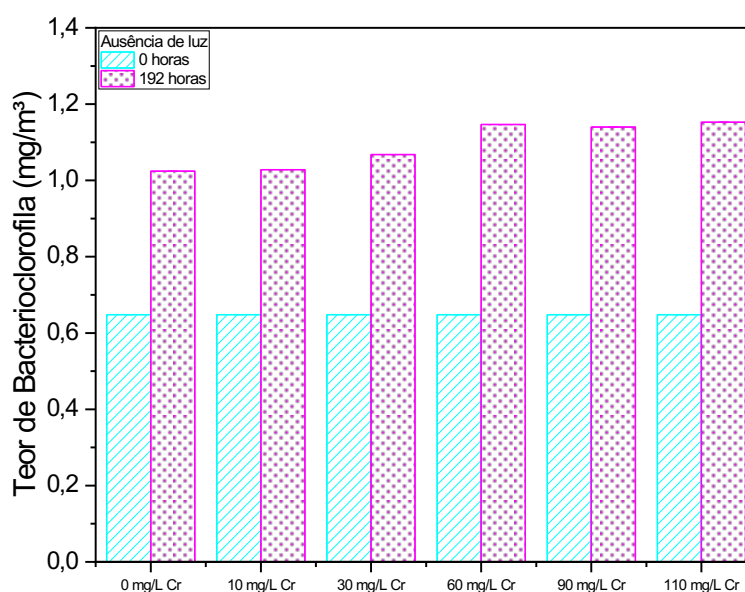
Condições operacionais: Temperatura ambiente: 25 – 32 °C; ausência de luz; condição anaeróbica. Bactéria inoculada em meio de cultivo RCV (0 mg/L Cr) e efluente sintético (RCV + Cr) de concentração inicial de 10, 30, 60, 90 e 110 mg/L de Cr (VI) → $pH_{inicial} \sim 6,8$.

A partir do gráfico apresentado na Figura 5.2, é possível verificar que houve um declínio da concentração de cromo total nas primeiras 12 horas, que coincide com a remoção de cromo hexavalente. Entretanto, nas condições de efluente sintético de concentrações iniciais de cromo hexavalente de 10 e 30 mg/L também foi verificado uma queda após 96 horas, atingindo uma concentração final de cromo total de 3,85 e 5,98 mg/L, respectivamente. Já no meio sintético de concentração inicial de cromo hexavalente de 60 mg/L a queda foi observada após 144 horas, com uma concentração final de 39,41 mg/L de cromo total. Em relação as condições de meio sintético com concentrações iniciais elevadas de cromo hexavalente de 90 e 110 mg/L, a concentração de cromo total alcançada ao final da fermentação foi de 69,36 e 89,66 mg/L, respectivamente. Diversos sistemas de resistência são adotados pelos microrganismos quando os mesmos se estressam com os íons metálicos, a fim de sobreviverem na presença de metais pesados, como exemplo, utilizar o metal em pequenas quantidades destinando para suas atividades metabólicas, oferecem resistência a níveis tóxicos, desintoxicar o excesso de metal (MALA, SUJATHA e ROSE, 2015).

Para uma melhor compreensão da atividade celular da bactéria procurou-se analisar a síntese dos pigmentos bacterianos (bacterioclorofila e carotenoides), em função de fornecer

informações quanto à viabilidade desses microrganismos, além de estar diretamente relacionado com a síntese de inúmeros insumos de valor agregado com potencial para diversas aplicações industriais. A Figura 5.3 apresenta o teor de bacterioclorofila no início e no final da fermentação, enquanto que a Figura 5.4 representa o teor de carotenoides.

Figura 5.3 Quantificação da bacterioclorofila no início e no final do Ensaio 1.

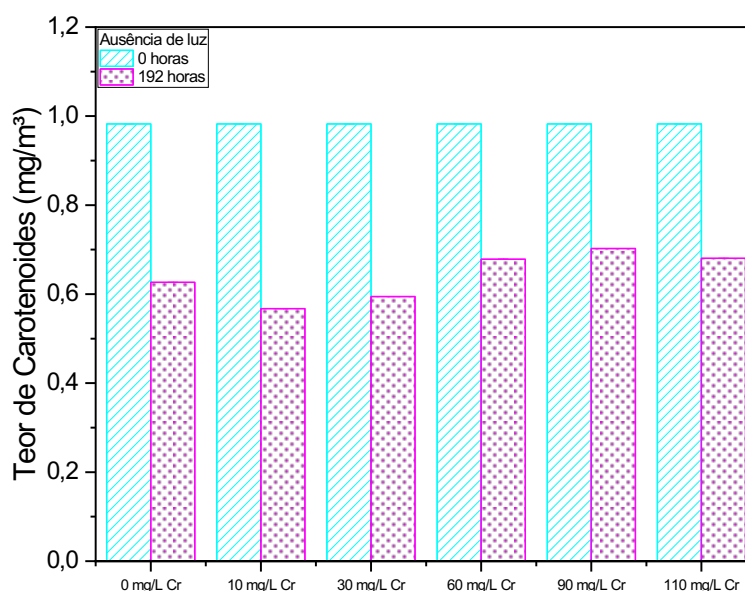


Condições operacionais: Temperatura ambiente: 25 – 32 °C; ausência de luz; condição anaeróbica. Bactéria inoculada em meio de cultivo RCV (0 mg/L Cr) e efluente sintético (RCV + Cr) de concentração inicial de 10, 30, 60, 90 e 110 mg/L de Cr (VI) → $\text{pH}_{\text{inicial}} \sim 6,8$.

Nesse ensaio, verifica-se pela Figura 5.3 que o teor inicial de bacterioclorofila foi de aproximadamente 0,65 mg/m³ e as máximas concentrações no conteúdo de bacterioclorofila foram observadas nas condições de efluente sintético com maiores concentrações iniciais de cromo hexavalente de 60, 90 e 110 mg/L. Para as condições de meio sintético de concentrações iniciais de 60 e 110 mg/L, o teor final de bacterioclorofila foi próximo de 1,15 mg/m³ que corresponde um aumento de 76,92 % em relação ao teor inicial de bacterioclorofila. Já a condição de meio sintético com concentração inicial de 90 mg/L de cromo hexavalente, o conteúdo final de bacterioclorofila foi de aproximadamente 1,14 mg/m³, apresentando um acréscimo de 75,39 % comparando com a concentração inicial de bacterioclorofila. Esse fenômeno pode ser explicado por meio dos mecanismos adotados pelo metabolismo do

microrganismo para superar o estresse oxidativo provocado pelo cromo baseado no aumento da produção de pigmentos e na liberação de substâncias para o meio que diminuam a toxicidade do metal (TORANZO et al., 2020). Enquanto que as menores concentrações de bacterioclorofila foram de 1,02; 1,03 e 1,07 mg/m³ na condição controle e nas condições de efluente sintético de concentrações iniciais de 10 e 30 mg/L de cromo hexavalente, respectivamente, com isso, o aumento no teor de bacterioclorofila foi em torno de 56,92 %, 58,46 % e 64,61 %, respectivamente.

Figura 5.4 Quantificação de carotenoides no início e no final do Ensaio1.



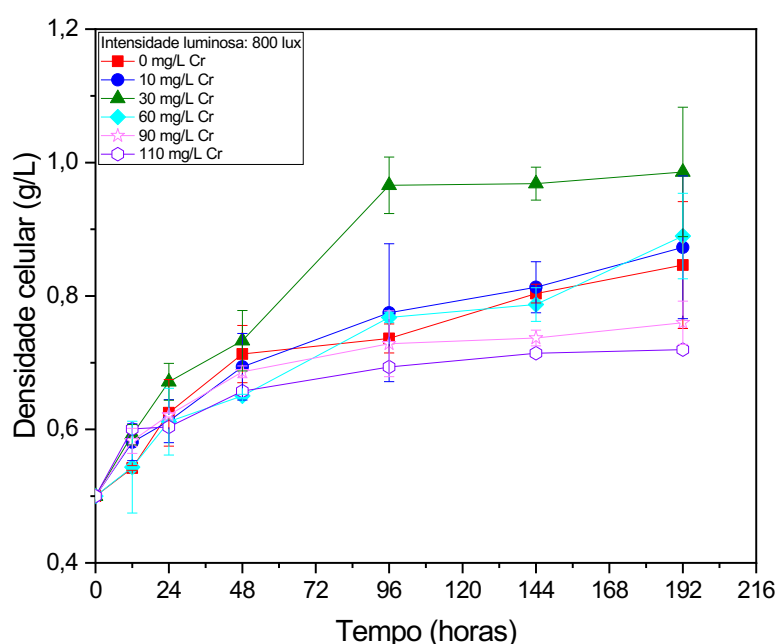
Condições operacionais: Temperatura ambiente: 25 – 32 °C; ausência de luz; condição anaeróbica. Bactéria inoculada em meio de cultivo RCV (0 mg/L Cr) e efluente sintético (RCV + Cr) de concentração inicial de 10, 30, 60, 90 e 110 mg/L de Cr (VI) → pH_{inicial} ~ 6,8.

Em contraste ao comportamento da síntese de bacterioclorofila, houve uma redução no teor de carotenoides ao final da fermentação de acordo com os resultados apresentados na Figura 5.4. Observa-se que a concentração inicial de carotenoides foi de aproximadamente 0,98 mg/m³, e no final da fermentação ocorreu uma diminuição em todas as condições avaliadas, indicando que a ausência de luz compromete sua produção. Alguns estudos demonstraram que a síntese de foto-pigmento em algas não ocorreu em condições de escuridão total (MADIGAN, COX e GEST, 1982; KOKU et al., 2002).

5.1.2 Avaliação da luminosidade

No próximo ensaio (Ensaio 2) utilizou-se intensidade luminosa de 800 lux na condição controle e nas demais condições em que o inóculo da bactéria foi reativado em efluente sintético com concentrações iniciais de 10, 30, 60, 90 e 110 mg/L de cromo hexavalente. A Figura 5.5 mostra os dados de concentração celular ao longo da fermentação.

Figura 5.5 Cinética de crescimento celular do Ensaio 2.



Condições operacionais: Temperatura ambiente: 25 – 32 °C; Intensidade luminosa: 800 lux; condição anaeróbica. Bactéria inoculada em meio de cultivo RCV (0 mg/L Cr) e efluente sintético (RCV + Cr) de concentração inicial de 10, 30, 60, 90 e 110 mg/L de Cr (VI) → $\text{pH}_{\text{inicial}} \sim 6,8$.

De acordo com a Figura 5.5, observa-se que a biomassa final atingiu concentrações superiores ao ensaio anterior (Ensaio 1 - ausência de luz). Mesmo a intensidade luminosa apresentando um valor baixo, é possível promover de forma positiva o crescimento celular. Observa-se que a condição controle apresentou uma densidade celular final de aproximadamente 0,85 g/L, com um aumento de 70 % em relação a biomassa inicial. Enquanto que as condições de efluente sintético com concentrações iniciais menores de cromo hexavalente de 10, 30 e 60 mg/L atingiram uma biomassa final de 0,87; 0,99 e 0,89 g/L, respectivamente, o qual corresponde um aumento de 74 %, 98 % e 78 % comparando com a

densidade celular inicial, respectivamente. Esse aumento de biomassa na presença de baixas concentrações iniciais de cromo foi superior a condição controle (meio de cultivo RCV sem a presença de cromo). Uma explicação para isso deve-se ao fato dos microrganismos utilizarem metais como nutriente ou fonte de energia destinando para o seu crescimento (TANG et al., 2007). Com isso, essas condições ambientais conduziram a bactéria a desenvolver mecanismos de sobrevivência por meio da absorção do metal, como também aumentar a sua tolerância em relação ao cromo. Desta forma, é possível concluir que para menores concentrações iniciais de cromo no meio não compromete de forma significativa o crescimento celular das bactérias.

Entretanto, no meio sintético de concentrações iniciais de 90 e 110 mg/L de cromo hexavalente, o aumento da biomassa foi próximo de 52 % e 44 % em relação a densidade celular inicial, respectivamente. Segundo Parameswari, Lakshmanan e Thilagavathi (2009), a presença de elevadas concentrações de cromo prejudica a multiplicação de bactérias. Esse fato pode ser comprovado no trabalho desenvolvido por Hu et al. (2021), na qual o crescimento de *A. indicus* *yy-1* foi inibido ao ser submetida a uma concentração inicial de cromo hexavalente de 80 mg/L.

Nesse ensaio foi avaliado também a cinética de remoção de cromo hexavalente e cromo total ao longo da fermentação apresentados nas Tabelas 5.3 e 5.4, respectivamente, enquanto que a Figura 5.8 apresenta o gráfico de concentração de cromo total *versus* o tempo.

Tabela 5.3 Eficiência de remoção de cromo hexavalente do Ensaio 2.

Tempo (horas)	Condições do efluente sintético em relação as concentrações iniciais de cromo hexavalente				
	10 mg/L Cr	30 mg/L Cr	60 mg/L Cr	90 mg/L Cr	110 mg/L Cr
0	0 ± 0 %	0 ± 0 %	0 ± 0 %	0 ± 0 %	0 ± 0 %
0,5	100 ± 0 %	100 ± 0 %	-	-	-
4	-	-	74,8 ± 1,6 %	64,8 ± 0,3 %	54,6 ± 0,2 %
8	-	-	87,4 ± 1,4 %	75,4 ± 1,5 %	62,6 ± 1,1 %
12	-	-	99,7 ± 0,3 %	83,4 ± 0,8 %	68,9 ± 0,4 %
24	-	-	100 ± 0 %	100 ± 0 %	99,3 ± 0,3 %
48	-	-	-	-	100 ± 0 %

Ao analisar os dados da Tabela 5.3, é possível identificar que novamente houve remoção completa de cromo hexavalente em 30 minutos nas condições de efluente sintético de concentrações iniciais de cromo hexavalente de 10 e 30 mg/L. Assim, observa-se que abaixo de 30 mg/L de cromo hexavalente a bactéria *R. capsulatus* é capaz de promover a remoção total

em um pequeno intervalo de tempo, indicando que essas baixas concentrações não caracterizam por ser tão prejudicial ao metabolismo bacteriano.

Já para a condição de meio sintético de concentração inicial de 60 mg/L de cromo hexavalente a remoção completa praticamente ocorreu após 12 horas. Enquanto que as condições de maiores concentrações iniciais de cromo hexavalente de 90 e 110 mg/L a remoção total foi alcançada em 24 horas e 48 horas, respectivamente.

Tabela 5.4 Eficiência de remoção de cromo total do Ensaio 2.

Tempo (horas)	Condições do efluente sintético em relação as concentrações iniciais de cromo hexavalente				
	10 mg/L Cr	30 mg/L Cr	60 mg/L Cr	90 mg/L Cr	110 mg/L Cr
0	0 ± 0 %	0 ± 0 %	0 ± 0 %	0 ± 0 %	0 ± 0 %
12	16,2 ± 0,2 %	21,7 ± 2,0 %	18,6 ± 1,1 %	23,0 ± 1,1 %	20,8 ± 0,3 %
24	18,7 ± 0,1 %	25,8 ± 0,6 %	18,7 ± 2,5 %	25,7 ± 1,9 %	23,1 ± 0,2 %
48	24,2 ± 0,5 %	26,4 ± 0,4 %	18,8 ± 0,2 %	25,7 ± 0,7 %	23,8 ± 1,9 %
96	45,9 ± 0,1 %	36,7 ± 2,5 %	19,7 ± 0,6 %	25,9 ± 2,6 %	26,5 ± 1,7 %
144	66,1 ± 0,2 %	66,9 ± 0,8 %	28,0 ± 1,7 %	31,9 ± 2,5 %	27,8 ± 0,3 %
192	75,0 ± 0 %	85,9 ± 0,3 %	49,3 ± 1,6 %	45,6 ± 1,0 %	38,7 ± 1,7 %

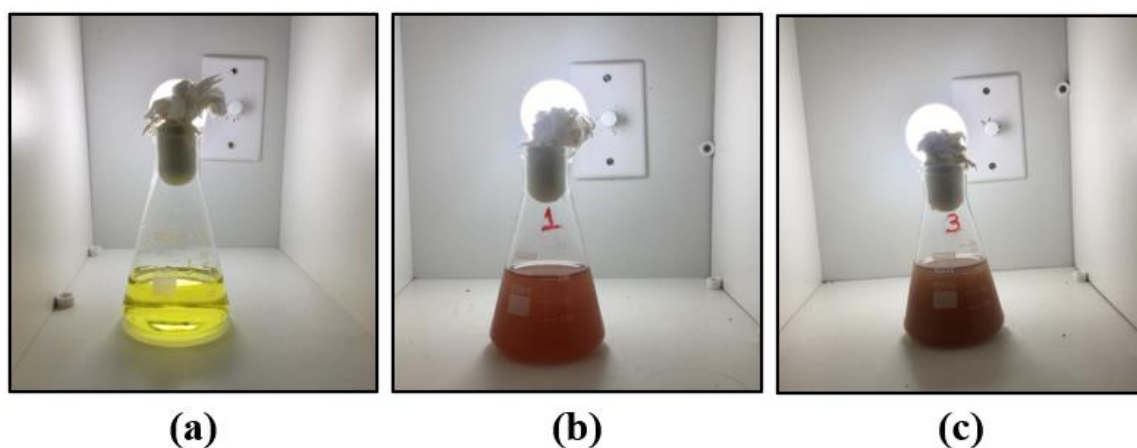
Em relação ao cromo total apresentado na Tabela 5.4, observa-se novamente que as máximas remoções de cromo total foram identificadas nas condições de efluente sintético de concentrações iniciais de cromo hexavalente de 10 e 30 mg/L, alcançando 75,0 % e 85,9 %, respectivamente, sendo que esse comportamento já era esperado, devido a facilidade do microrganismo em promover a desintoxicação do metal pesado em teores menores de cromo hexavalente. No entanto, em condições de efluente sintético com concentrações iniciais de cromo hexavalente de 60, 90 e 110 mg/L, a remoção atingiu 49,3 %, 45,6 % e 38,7 %, respectivamente. Nesse ensaio a remoção de cromo total foi maior que no ensaio anterior (Ensaio 1 – ausência de luz) para todas as condições avaliadas, sugerindo que a presença de luz auxilia no processo de biorremediação do cromo, como também contribuiu para o aumento da biomassa que está diretamente relacionado com a eficiência na remoção de cromo total. Foi relatado que em cepa de alga unicelular de água doce *Scenedesmus acutus*, a absorção do cromo ocorre de forma lenta quando submetida a luz fraca, sugerindo que está associada a processos dependentes de energia (GORBI et al., 2001).

Vale salientar que foi verificado mudanças visuais no meio fermentativo ao longo do experimento. Sabe-se que o efluente sintético de cromo apresenta coloração amarela e quando o inóculo de bactéria foi reativado nesse meio, o que se observa é uma cor mais escura do que na condição controle no início da fermentação, como mostra a Figura 5.6. Nas primeiras horas de fermentação, em que ocorre o processo de redução do cromo hexavalente em cromo trivalente, o meio ainda continua escuro e turvo. Entretanto, no decorrer do ensaio, a cultura exposta ao cromo apresentava em geral uma cor mais clara do que no início do experimento, além disso, as condições de efluente sintético com concentrações iniciais menores de 10, 30 e 60 mg/L de cromo hexavalente, a solução apresentou uma aparência semelhante a condição controle ao final do experimento. Enquanto que as condições com elevadas concentrações iniciais de cromo hexavalente de 90 e 110 mg/L, a solução ainda possuía uma coloração mais escura do que a condição controle ao final da fermentação, isso pode sugerir a presença de resíduos que foram excretados pelas bactérias ou até mesmo alterações morfológicas que afetam o tamanho e a forma das células. Diversos estudos relatam o aparecimento de saliências topológicas na superfície celular após o contato com cromo (PUSHKAR et al., 2021).

A bactéria de *Bacillus cereus* ao ser exposta a uma concentração de cromo hexavalente superior a 500 mg/L, apresenta respostas de estresse morfológico e bioquímico a fim de minimizar a toxicidade, como a agregação celular e o aumento no tamanho da célula (BANERJEE et al., 2019). Esse crescimento no tamanho das células, pode ser devido a flutuações em condições de estresse de oxidação e também da interrupção da divisão celular (CESAR e HUANG, 2017).

Outro mecanismo de proteção adotado pelas bactérias em condições extremas é a secreção de exopolissacarídeos (EPS), constituído principalmente por proteínas e carboidratos, porém incluem outros componentes menores como ácidos nucleicos, lipídeos, lipoproteínas, glicoproteínas, lipopolissacarídios, fosfolipídios, ácido urônico e ácido húmico (VU et al., 2009; CHUG et al., 2016). A proteína e o polissacarídeo presente no exopolissacarídeos possuem a função de atuar como doador de elétrons para a redução do cromo hexavalente através da enzima extracelular. Por outro lado, o exopolissacarídeos imobilizam o cromo trivalente após o processo de redução por meio de seus grupos funcionais carregados negativamente, como carboxila e hidroxila (YU et al., 2019).

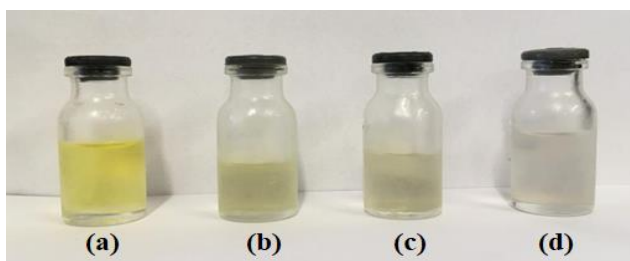
Figura 5.6 Coloração dos efluentes sintéticos.



(a) Efluente sintético sem a presença de microrganismo (Meio de cultivo RCV + cromo); (b) Condição controle com inóculo de bactéria (Meio de cultivo RCV + bactéria) e (c) Efluente sintético com inóculo de bactéria (Meio de cultivo RCV + cromo + bactéria).

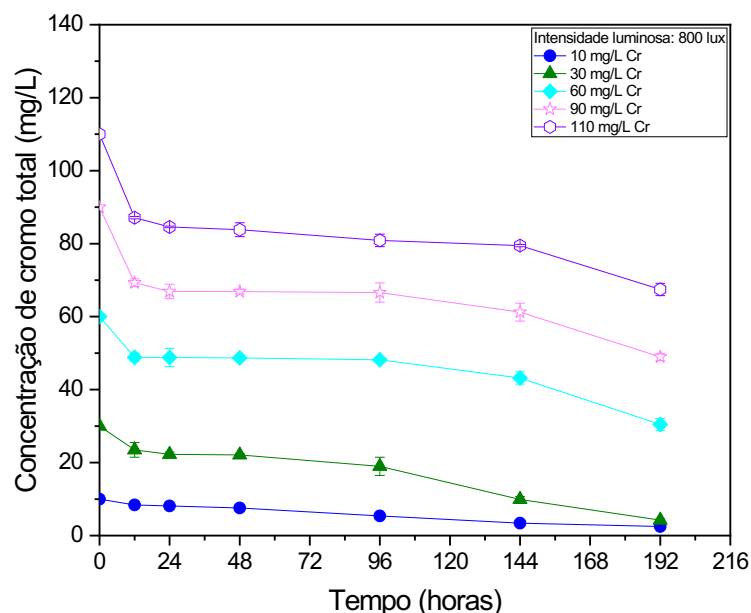
Outra mudança na coloração foi visualizada no sobrenadante utilizado para analisar a concentração de cromo hexavalente e cromo total. Nas primeiras horas do experimento em que ainda havia a presença de cromo hexavalente, as amostras apresentavam coloração amarela que se tornavam mais claras à medida que o cromo hexavalente foi sendo removido, conforme apresentado na Figura 5.7. Durante o processo de redução, a diminuição da concentração de cromo hexavalente pode ser analisado pela descoloração amarela da solução e a formação de precipitados (TANG et al., 2021), uma vez que o cromo trivalente pode reagir com água em pH neutro obtendo como produto o hidróxido de cromo insolúvel $\text{Cr}(\text{OH})_3$ (VOGEL, 1987). Essas alterações de cor identificadas tanto no efluente sintético como nas amostras foram perceptíveis também nos próximos ensaios.

Figura 5.7 Coloração das amostras ao longo da fermentação.



(a) Efluente sintético de concentração inicial de cromo hexavalente de 60 mg/L no tempo 0 horas; (b) Amostra no tempo 4 horas; (c) Amostra no tempo 8 horas; (d) Amostra no tempo 12 horas.

Figura 5.8 Cinética de concentração de cromo total do Ensaio 2.



Condições operacionais: Temperatura ambiente: 25 – 32 °C; Intensidade luminosa: 800 lux; condição anaeróbica. Bactéria inoculada em meio de cultivo RCV (0 mg/L Cr) e efluente sintético (RCV + Cr) de concentração inicial de 10, 30, 60, 90 e 110 mg/L de Cr (VI) → $pH_{inicial} \sim 6,8$.

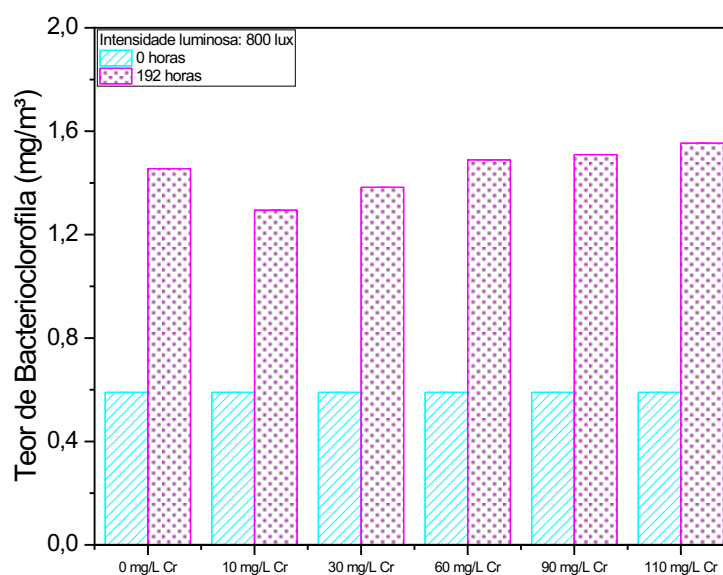
Analisando o gráfico da Figura 5.8, observa-se um declínio na concentração de cromo total nas primeiras 12 horas, que coincide com a remoção acentuada de cromo hexavalente. Sabe-se que nesse intervalo de tempo está ocorrendo o processo de biorredução do cromo e a densidade celular não sofre aumentos significativos, pois o metabolismo da bactéria está direcionado à redução e desintoxicação do cromo e não para o crescimento celular (PARAMESWARI, LAKSHMANAN e THILAGAVATHI, 2009).

É possível verificar também uma queda após 96 horas para as condições de efluente sintético de concentrações iniciais de 10 e 30 mg/L de cromo hexavalente, apresentando uma concentração final de cromo total de 2,50 e 4,23 mg/L, respectivamente. Enquanto que as condições de meio sintético com concentrações iniciais de cromo hexavalente de 60, 90 e 110 mg/L, o declínio na concentração de cromo total foi visualizada após 144 horas, atingindo 30,45; 48,95 e 67,45 mg/L de cromo total ao final da fermentação, respectivamente. É importante ressaltar que após a remoção completa do cromo hexavalente, o cromo total corresponde somente ao cromo trivalente. Sabe-se que o cromo trivalente após ser reduzido apresenta diversos caminhos, por exemplo, pode se ligar com os ânions presentes no meio para formação de precipitados, complexos e outros, sendo acumulado intracelular ou extracelular.

Ou ainda, pode unificar-se a membrana celular com o intuito de formar um complexo para inibir a entrada do metal na célula (TANG et al., 2021).

De forma complementar, foi avaliado também a produção de pigmentos bacterianos, bacterioclorofila e carotenoides, representados nas Figuras 5.9 e 5.10, respectivamente.

Figura 5.9 Quantificação da bacterioclorofila no início e no final do Ensaio 2.



Condições operacionais: Temperatura ambiente: 25 – 32 °C; Intensidade luminosa: 800 lux; condição anaeróbica. Bactéria inoculada em meio de cultivo RCV (0 mg/L Cr) e efluente sintético (RCV + Cr) de concentração inicial de 10, 30, 60, 90 e 110 mg/L de Cr (VI) → pH_{inicial} ~ 6,8.

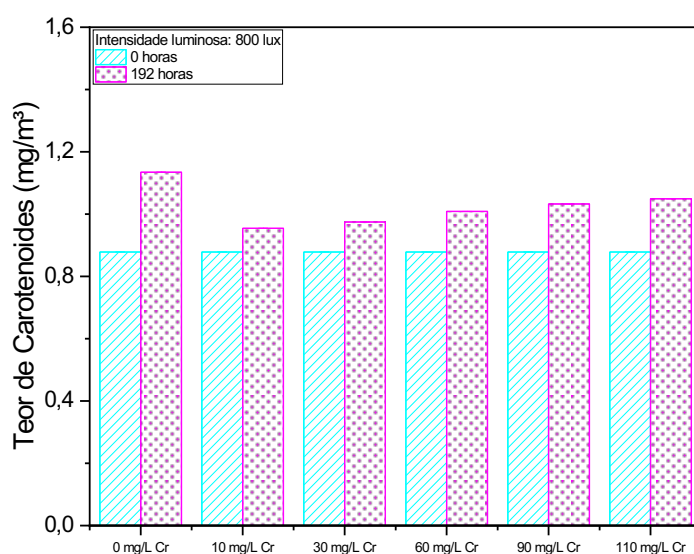
Observa-se pela Figura 5.9 que o teor inicial de bacterioclorofila foi de aproximadamente 0,59 mg/m³, e novamente as concentrações máximas de bacterioclorofila foram alcançadas nas condições de efluente sintético com altas concentrações iniciais de cromo hexavalente de 60, 90 e 110 mg/L, sendo de 1,49; 1,51 e 1,55 mg/m³, respectivamente. Com isso, o aumento no conteúdo de bacterioclorofila corresponde a 152,54 %, 155,93 % e 162,71 % em relação a concentração inicial de bacterioclorofila, respectivamente. Desta forma, o aumento da produção de bacterioclorofila nessas condições pode ser uma resposta do microrganismo em superar ou prevenir o estresse oxidativo.

A condição controle apresentou um teor final de bacterioclorofila de 1,46 mg/m³ correspondendo um aumento de aproximadamente 147,46 % em relação ao teor inicial de bacterioclorofila. As condições de efluente sintético de concentrações iniciais de 10 e 30 mg/L

de cromo hexavalente apresentaram um aumento em torno de 118,64 % e 133,90 %, respectivamente.

É importante mencionar que esses acréscimos no teor de bacterioclorofila verificados em todas as condições avaliadas foram superiores ao ensaio anterior (Ensaio 1 - ausência de luz), mostrando que a presença de luz favorece a síntese de bacterioclorofila, uma vez que esse pigmento atua como coletor de luz em microrganismos fotossintéticos.

Figura 5.10 Quantificação de carotenoides no início e no final do Ensaio 2.



Condições operacionais: Temperatura ambiente: 25 – 32 °C; Intensidade luminosa: 800 lux; condição anaeróbica. Bactéria inoculada em meio de cultivo RCV (0 mg/L Cr) e efluente sintético (RCV + Cr) de concentração inicial de 10, 30, 60, 90 e 110 mg/L de Cr (VI) → pH_{inicial} ~ 6,8.

Em relação ao teor de carotenoides apresentado na Figura 5.10, observa-se nesse ensaio com a presença de luminosidade foi verificado a síntese do pigmento em contrapartida ao ensaio anterior (Ensaio 1 – ausência de luz). A concentração inicial de carotenoides foi de aproximadamente 0,88 mg/m³ e o máximo teor de carotenoides ocorreu na condição controle com aproximadamente 1,13 mg/m³, representando um aumento em torno de 28,41 % em relação ao teor inicial de carotenoides. Enquanto que as condições de efluente sintético de elevadas concentrações iniciais de cromo hexavalente de 60, 90 e 110 mg/L o aumento do teor de carotenoides foi de 14,77 %, 17,05 % e 19,32 %, respectivamente.

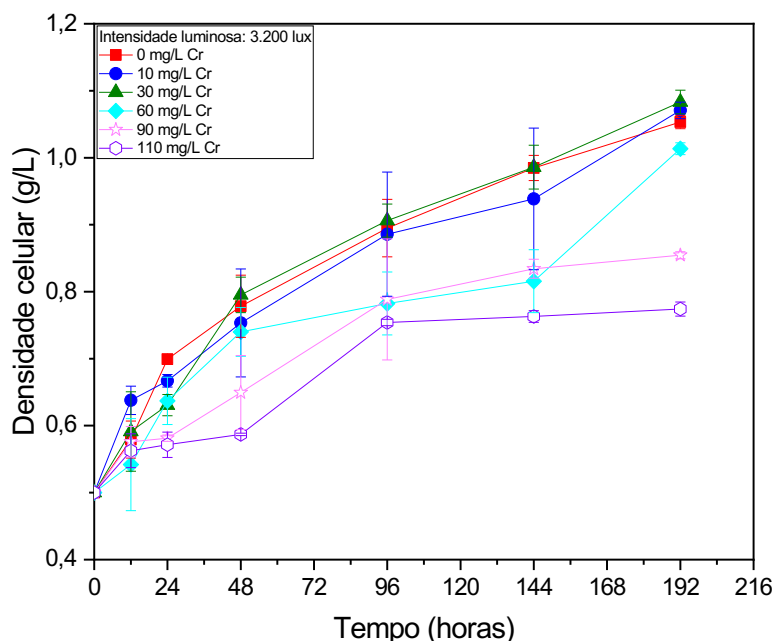
Para as condições de meio sintético de baixas concentrações iniciais de cromo hexavalente de 10 e 30 mg/L foram observadas uma baixa produção do pigmento, com um aumento de 7,95 % e 10,23 %, respectivamente. Uma explicação para esse fato pode estar relacionada ao metabolismo do microrganismo, que direciona sua energia para aumentar a biomassa, como também remover o cromo ao invés de elevar a produção de pigmento, já que nessas condições de menores concentrações de cromo hexavalente foram verificadas as maiores taxas de remoção do metal de 75,0 % e 85,9 %.

Desta forma, a mesma tendência verificada na produção de bacterioclorofila, em que os maiores acréscimos no conteúdo desse pigmento foram visualizados nas condições de elevadas concentrações iniciais de cromo hexavalente, sendo válido também para o teor de carotenoides. Logo, a bactéria também aumenta a produção de carotenoides a fim de evitar o estresse oxidativo provocado pelas altas concentrações de cromo. Além disso, é importante ressaltar que os incrementos no conteúdo de bacterioclorofila foram superiores ao teor de carotenoides, indicando que a bactéria *R. capsulatus* apresenta em sua composição celular uma quantidade maior de bacterioclorofila do que o pigmento carotenoide.

A partir dessa análise, é possível concluir que a síntese de carotenoides, pigmentos que protegem as membranas fotossintéticas do estresse oxidativo, foi influenciada pela luz, uma vez que no ensaio anterior (Ensaio 1 – ausência de luz) não foi verificada a produção do pigmento. Sabe-se que o carotenoide representa um importante oxidante, componente ativo e atua como pigmento de coleta de luz em microrganismos fotossintéticos (CHEN, HAN e GU, 2006; SHEEHAN et al., 2012). O estudo desenvolvido por Schagerl e Muller (2006) mostrou que o pigmento carotenoide funcionava como coletor de luz quando exposto à luz fraca e, desempenhava uma importante função na fotoproteção quando submetido à luz intensa.

No ensaio seguinte (Ensaio 3) foi avaliado o comportamento do microrganismo utilizando uma intensidade luminosa maior de 3.200 lux nas mesmas condições estabelecidas nas fermentações anteriores. A Figura 5.11 apresenta a cinética de crescimento celular no decorrer da fermentação.

Figura 5.11 Cinética de crescimento celular do Ensaio 3.



Condições operacionais: Temperatura ambiente: 25 – 32 °C; Intensidade luminosa: 3.200 lux; condição anaeróbica. Bactéria inoculada em meio de cultivo RCV (0 mg/L Cr) e efluente sintético (RCV + Cr) de concentração inicial de 10, 30, 60, 90 e 110 mg/L de Cr (VI) → $\text{pH}_{\text{inicial}} \sim 6,8$.

Analisando a Figura 5.11, verifica-se que a condição controle atingiu uma densidade celular final próximo de 1,05 g/L com um aumento de 110 % em relação a biomassa inicial. Para as condições de efluente sintético de concentrações iniciais de cromo hexavalente de 10, 30 e 60 mg/L, a densidade celular final atingida foi de 1,07; 1,08 e 1,01 g/L, respectivamente, correspondendo um aumento de 114 %, 116 % e 102 %, nessa mesma ordem.

Quando se trata das condições de efluente sintético com elevadas concentrações iniciais de cromo hexavalente de 90 e 110 mg/L, observa-se que a biomassa final foi de aproximadamente 0,85 e 0,77 g/L, respectivamente, o que equivale um aumento de 70 % e 54 % comparando com a biomassa inicial, nessa respectiva ordem. Com isso, nota-se que concentrações elevadas de cromo prejudica o crescimento celular.

Além disso, os aumentos na biomassa foram maiores do que o Ensaio 2 (intensidade luminosa de 800 lux) em todas as condições avaliadas, sugerindo que o aumento da intensidade luminosa de 800 lux para 3.200 lux favoreceu o crescimento celular. Foi relatado em outros estudos que o aumento da intensidade luminosa de 2.000 lux para 4.000 lux apresentou um aumento considerável no crescimento das bactérias fotossintéticas (SHI e YU, 2005; NATH e DAS, 2009). Conforme os estudos de Zhou, Zhang e Zhang (2014), a produção de biomassa foi

melhorada em intensidades de luz de 1.000 a 4.000 lux em comparação com a condição de baixa intensidade luminosa de 500 lux, utilizando uma cepa de bactéria fotossintética *Rhodopseudomonas*, pois quanto mais luz, mais energia era fornecida para as células das bactérias fotossintéticas. No estudo desses autores a produção de biomassa atingiu 2,645 mg/L sob intensidade luminosa de 2.000 lux. Em contrapartida, segundo pesquisa de Basak e Das (2007), a biomassa de *R. sphaeroides* não aumentou ao ser submetida a intensidade luminosa superior a 3000 lux. Foi relatado ainda que a eficiência de conversão de luz varia de microrganismo para microrganismo.

Além de avaliar a cinética de crescimento celular, foi analisado a cinética de remoção de cromo hexavalente e cromo total representados nas Tabelas 5.5 e 5.6, respectivamente, enquanto que o gráfico de concentração de cromo total está apresentado na Figura 5.12.

Tabela 5.5 Eficiência de remoção de cromo hexavalente do Ensaio 3.

Tempo (horas)	Condições do efluente sintético em relação as concentrações iniciais de cromo hexavalente				
	10 mg/L Cr	30 mg/L Cr	60 mg/L Cr	90 mg/L Cr	110 mg/L Cr
0	0 ± 0 %	0 ± 0 %	0 ± 0 %	0 ± 0 %	0 ± 0 %
0,5	100 ± 0 %	100 ± 0 %	-	-	-
4	-	-	82,1 ± 0,1 %	65,9 ± 0,9 %	55,6 ± 0 %
8	-	-	93,5 ± 0,4 %	71,8 ± 0,5 %	59,9 ± 0,1 %
12	-	-	100 ± 0 %	78,0 ± 0,7 %	64,5 ± 1,4 %
24	-	-	-	100 ± 0 %	99,6 ± 0,4 %
48	-	-	-	-	100 ± 0 %

Com base nos dados da Tabela 5.5, verifica-se a remoção total de cromo hexavalente em 30 minutos para as condições de efluente sintético de concentrações iniciais de 10 e 30 mg/L de cromo hexavalente. Em relação a condição de meio sintético com concentração inicial de cromo hexavalente de 60 mg/L, remoção completa ocorreu em 12 horas. Enquanto que no meio sintético de concentração inicial de 90 mg/L de cromo hexavalente a remoção completa foi observada nas primeiras 24 horas e no efluente sintético com concentração inicial de cromo hexavalente de 110 mg/L, o cromo hexavalente foi totalmente removido em 48 horas. Com isso, esse ensaio apresentou o mesmo comportamento do ensaio anterior (Ensaio 2 – intensidade luminosa de 800 lux). No processo de redução do cromo hexavalente em cromo trivalente, a enzima redutase produzida pelas células direciona essa redução por meios diretos e indiretos,

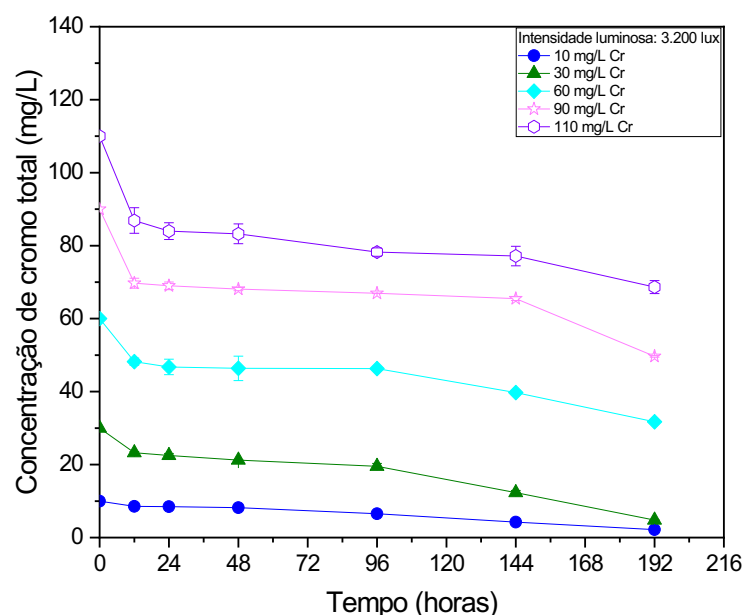
além de ocorrer tanto dentro ou fora das células. Os grupos funcionais, como hidroxila, carboxila e amino presentes na superfície celular das bactérias, ligam-se ao cromo hexavalente ou cromo trivalente para formar complexos. O cromo trivalente reduzido acumula intracelularmente, e o cromo hexavalente que não foi reduzido ao entrar na célula também se acumula (TANG et al., 2021).

Tabela 5.6 Eficiência de remoção de cromo total do Ensaio 3.

Tempo (horas)	Condições do efluente sintético em relação as concentrações iniciais de cromo hexavalente				
	10 mg/L Cr	30 mg/L Cr	60 mg/L Cr	90 mg/L Cr	110 mg/L Cr
0	0 %	0 %	0 %	0 %	0 %
12	14,6 ± 0,1 %	22,5 ± 0,3 %	19,6 ± 1,0 %	22,5 ± 1,4 %	21,0 ± 3,5 %
24	15,4 ± 0,2 %	24,9 ± 0,5 %	22,1 ± 2,1 %	23,3 ± 1,0 %	23,7 ± 2,3 %
48	18,1 ± 0,1 %	29,3 ± 0 %	22,7 ± 3,3 %	24,3 ± 0,4 %	24,3 ± 2,7 %
96	34,5 ± 0,2 %	34,9 ± 0,8 %	22,8 ± 0,5 %	25,6 ± 0,1 %	28,9 ± 1,1 %
144	57,5 ± 0,1 %	58,9 ± 0,6 %	33,8 ± 0,6 %	27,2 ± 0,5 %	29,9 ± 2,7 %
192	68,2 ± 0,2 %	84,1 ± 0,1 %	47,1 ± 0,3 %	44,8 ± 0,2 %	37,6 ± 1,8 %

Em se tratando de cromo total apresentado na Tabela 5.6, as condições de efluente sintético de concentrações iniciais de 10 e 30 mg/L de cromo hexavalente alcançaram uma remoção de 68,2 % e 84,1 %, respectivamente, sendo os maiores valores de remoção atingidos. No entanto, para as condições de efluente sintético com concentrações iniciais de cromo hexavalente de 60, 90 e 110 mg/L as remoções foram de 47,1 %, 44,8 % e 37,6 %, respectivamente. Com isso, o aumento da intensidade luminosa de 800 lux para 3.200 lux, não contribuiu de forma significativa para a remoção de cromo total, uma vez que os resultados obtidos nesse ensaio são próximos aos do ensaio anterior (Ensaio 2 – intensidade luminosa de 800 lux). Além disso, verifica-se que mesmo com o aumento da biomassa favorecida pelo aumento da intensidade luminosa não resultou no aumento da remoção de cromo total.

Figura 5.12 Cinética de concentração de cromo total do Ensaio 3.

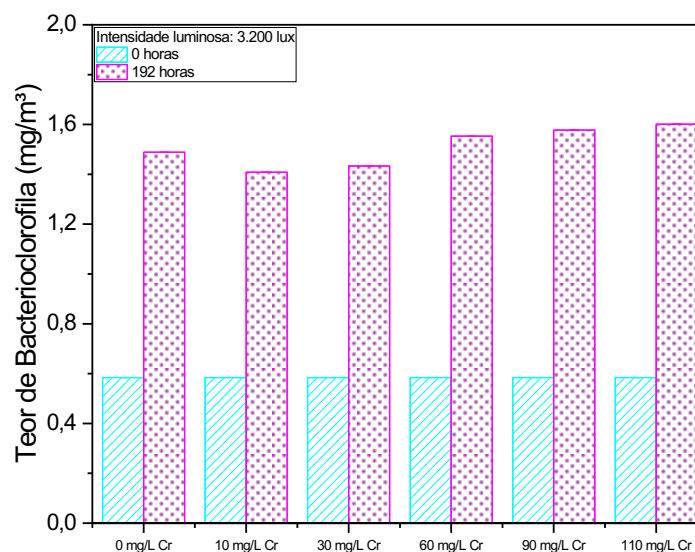


Condições operacionais: Temperatura ambiente: 25 – 32 °C; Intensidade luminosa: 3.200 lux; condição anaeróbica. Bactéria inoculada em meio de cultivo RCV (0 mg/L Cr) e efluente sintético (RCV + Cr) de concentração inicial de 10, 30, 60, 90 e 110 mg/L de Cr (VI) → $pH_{inicial} \sim 6,8$.

Ao avaliar o gráfico da Figura 5.12, é possível visualizar uma queda na concentração de cromo total nas primeiras 12 horas devido a remoção expressiva do cromo hexavalente nesse intervalo de tempo. Para as condições de efluente sintético de concentrações iniciais de 10, 30 e 60 mg/L de cromo hexavalente, foi observado um declínio também após 96 horas, atingindo uma concentração final de cromo total de 2,18; 4,78 e 31,73 mg/L, respectivamente. Enquanto que para as outras condições de meio sintético com concentrações iniciais de 90 e 110 mg/L de cromo hexavalente, a concentração de cromo total foi de 49,66 e 68,65 mg/L ao final da fermentação, respectivamente.

Os resultados de síntese de pigmentos bacterianos, especificamente a bacterioclorofila e os carotenoides, estão representados nas Figuras 5.13 e 5.14, respectivamente.

Figura 5.13 Quantificação da bacterioclorofila no início e no final do Ensaio 3.



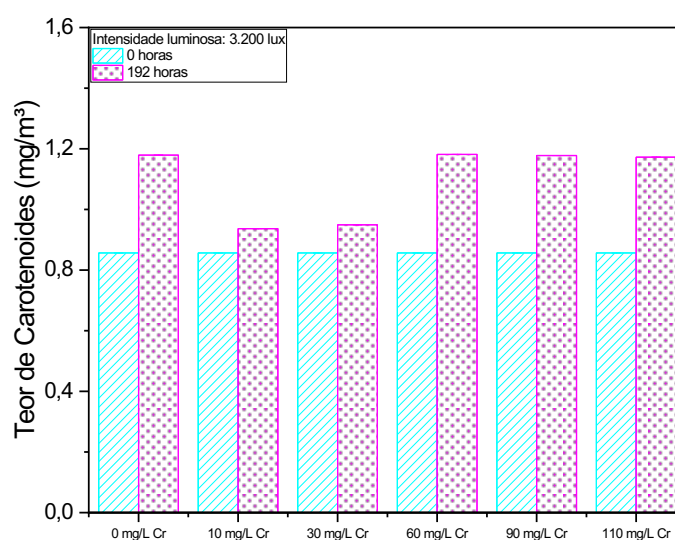
Condições operacionais: Temperatura ambiente: 25 – 32 °C; Intensidade luminosa: 3.200 lux; condição anaeróbica. Bactéria inoculada em meio de cultivo RCV (0 mg/L Cr) e efluente sintético (RCV + Cr) de concentração inicial de 10, 30, 60, 90 e 110 mg/L de Cr (VI) → pH_{inicial} ~ 6,8.

Analisando os dados da Figura 5.13, verifica-se que a concentração inicial de bacterioclorofila foi de aproximadamente 0,58 mg/m³, atingindo ao final da fermentação 1,55; 1,58 e 1,60 mg/m³ para as condições de efluente sintético de concentrações iniciais de 60, 90 e 110 mg/L de cromo hexavalente, respectivamente. Com isso, os aumentos no teor de bacterioclorofila correspondem a 167,24 %, 172,41 % e 175,86 % em relação ao teor inicial de bacterioclorofila, nessa mesma ordem. Desta forma, observam-se incrementos maiores no teor de bacterioclorofila nessas condições, sendo que esse comportamento também foi percebido nos ensaios anteriores (Ensaio 1 – ausência de luz e Ensaio 2 – intensidade luminosa de 800 lux), indicando que para superar o estresse oxidativo proveniente da presença do cromo, o microrganismo direciona seu metabolismo para elevar a produção de pigmentos.

Já em relação a condição controle, o teor final de bacterioclorofila foi de 1,49 mg/m³ com um aumento de aproximadamente 156,90 % comparando com o conteúdo inicial de bacterioclorofila, enquanto que as condições de efluente sintético de concentrações iniciais de cromo hexavalente de 10 e 30 mg/m³ apresentaram uma concentração final de bacterioclorofila de 1,41 e 1,43 mg/m³, respectivamente, indicando um aumento de 143,10 % e 146,55 %, nessa respectiva ordem.

Além disso, os incrementos no teor de bacterioclorofila foram maiores que o ensaio anterior (Ensaio 2 – intensidade luminosa de 800 lux), indicando que o aumento da intensidade luminosa de 800 lux para 3.200 lux, favoreceu a produção do pigmento.

Figura 5.14 Quantificação de carotenoides no início e no final do Ensaio 3



Condições operacionais: Temperatura ambiente: 25 – 32 °C; Intensidade luminosa: 3.200 lux; condição anaeróbica. Bactéria inoculada em meio de cultivo RCV (0 mg/L Cr) e efluente sintético (RCV + Cr) de concentração inicial de 10, 30, 60, 90 e 110 mg/L de Cr (VI) → pH_{inicial} ~ 6,8.

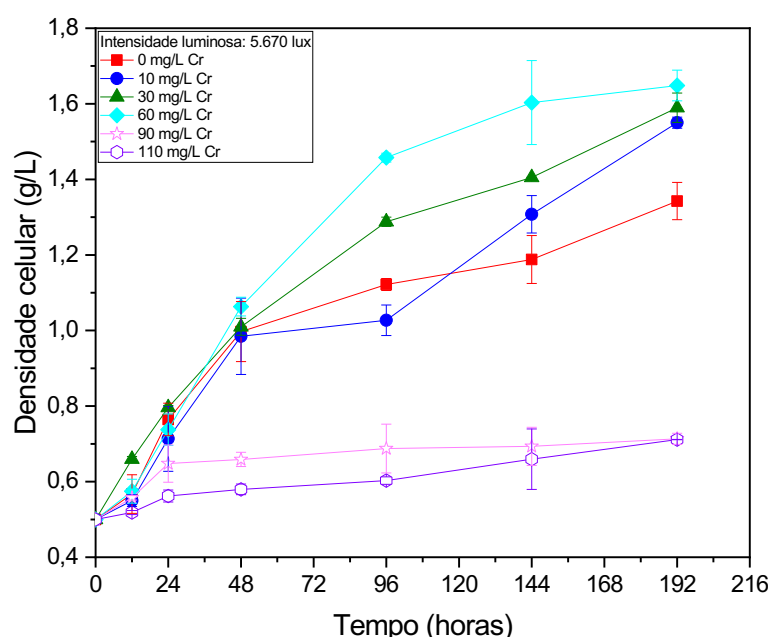
Observa-se pela Figura 5.14 que o teor inicial de carotenoides foi próximo de 0,86 mg/m³ e as condições de efluente sintético de concentrações iniciais de 60 e 90 mg/L de cromo hexavalente atingiram uma concentração final de 1,18 mg/m³, o que corresponde um aumento de 37,21 % em relação ao teor inicial de carotenoides, enquanto que a condição de meio sintético de concentração inicial de 110 mg/L de cromo hexavalente alcançou 1,17 mg/m³ de conteúdo final de carotenoides, com um aumento de 36,05 %. Com isso, observa-se o mesmo comportamento do ensaio anterior (Ensaio 2 – intensidade luminosa de 800 lux), em que os maiores acréscimos no teor de carotenoides foram visualizados nas condições de elevadas concentrações de cromo. Além disso, é importante relatar que os incrementos no conteúdo de carotenoides nesse ensaio foram maiores que no ensaio anterior (Ensaio 2 – intensidade luminosa de 800 lux) para essas condições específicas, sugerindo que o aumento da intensidade luminosa contribuiu para a síntese de carotenoides. Vale acrescentar ainda que esse comportamento também foi percebido na condição controle que atingiu uma concentração final

de carotenoides de 1,18 mg/m³, e ao aumentar a intensidade luminosa de 800 lux para 3.200 lux também foi verificado um aumento no teor de carotenoides de 28,41 % (Ensaio 2 – intensidade luminosa de 800 lux) para 37,21 % (Ensaio 3 – intensidade luminosa de 3.200 lux).

Em relação as condições de meio sintético com baixas concentrações iniciais de cromo hexavalente de 10 e 30 mg/L, o teor final de carotenoides alcançaram 0,94 e 0,95 mg/m³, respectivamente. Assim, os aumentos nessas condições equivalem a 9,30 % e 10,46 %, respectivamente, com isso, observa-se que os resultados obtidos nesse ensaio foram próximos ao ensaio anterior (Ensaio 2 – intensidade luminosa de 800 lux). Deve-se mencionar que o teor de bacterioclorofila foi superior ao teor de carotenoides conforme apresentado no Ensaio 2 (intensidade luminosa de 800 lux).

No ensaio seguinte (Ensaio 4) utilizou-se intensidade luminosa de 5.670 lux para avaliar a potencialidade do microrganismo nas mesmas condições determinadas nos ensaios anteriores. A Figura 5.15 apresenta a cinética de crescimento celular ao longo da fermentação.

Figura 5.15 Cinética de crescimento celular do Ensaio 4.



Condições operacionais: Temperatura ambiente: 25 – 32 °C; Intensidade luminosa: 5.670 lux; condição anaeróbica. Bactéria inoculada em meio de cultivo RCV (0 mg/L Cr) e efluente sintético (RCV + Cr) de concentração inicial de 10, 30, 60, 90 e 110 mg/L de Cr (VI) → pH_{inicial} ~ 6,8.

Observa-se pela Figura 5.15 que as máximas densidades celulares finais foram alcançadas nas condições de efluente sintético com concentrações iniciais de cromo

hexavalente de 10, 30 e 60 mg/L sendo de 1,55; 1,59 e 1,65 g/L, respectivamente. Os aumentos na biomassa correspondem a 210 %, 218 % e 230 % comparando com a biomassa inicial, nessa respectiva ordem. Um fato atípico nesse ensaio é o aumento considerável da condição de meio sintético com concentração inicial de 60 mg/L de cromo hexavalente apresentando uma densidade celular final superior as demais condições, inclusive em relação a condição controle que alcançou uma biomassa final de 1,34 g/L com um aumento equivalente a 168 % em relação a densidade celular inicial. Em contrapartida, as condições de meio sintético com concentrações iniciais de 90 e 110 mg/L de cromo hexavalente, a biomassa final alcançada foi próxima de 0,71 g/L, correspondendo um aumento de 42 % comparando com a biomassa inicial.

Com isso, fica evidente que o aumento da intensidade luminosa de 3.200 para 5.670 lux privilegiou o crescimento celular na condição controle e nas condições de efluente sintético com concentrações iniciais menores de 10, 30 e 60 mg/L de cromo hexavalente, indicando mais uma vez, que o microrganismo possui a capacidade de crescer em ambientes na presença de cromo hexavalente em função às respostas das enzimas antioxidantes (TANG et al., 2021). Além disso, observa-se que nos ensaios anteriores a densidade celular final da condição controle e das condições de meio sintético com menores concentrações iniciais de cromo hexavalente eram muito próximas, o que não foi verificado nesse experimento. Deve-se ressaltar ainda que o aumento da intensidade luminosa em concentrações elevadas de cromo não favoreceu o crescimento celular, uma vez que elevadas concentrações de cromo hexavalente interferem na atividade metabólica das células, perturbando cada vez mais o equilíbrio oxidativo (TANG et al., 2021).

A cinética de remoção de cromo hexavalente e cromo total estão apresentados nas Tabelas 5.7 e 5.8, enquanto que o gráfico da concentração de cromo total está exposto na Figura 5.16.

Tabela 5.7 Eficiência de remoção de cromo hexavalente do Ensaio 4.

Tempo (horas)	Condições do efluente sintético em relação as concentrações iniciais de cromo hexavalente				
	10 mg/L Cr	30 mg/L Cr	60 mg/L Cr	90 mg/L Cr	110 mg/L Cr
0	0 ± 0 %	0 ± 0 %	0 ± 0 %	0 ± 0 %	0 ± 0 %
0,5	100 ± 0 %	100 ± 0 %	93,1 ± 0,7 %	-	-
1	-	-	98,1 ± 0,2 %	-	-
2	-	-	100 ± 0 %	-	-
4	-	-	-	93,1 ± 1,0 %	67,9 ± 3,9 %
8	-	-	-	98,1 ± 0,2 %	75,2 ± 0,1 %
12	-	-	-	100 ± 0 %	83,1 ± 0,3 %
24	-	-	-	-	100 ± 0 %

Conforme os resultados apresentados na Tabela 5.7, verifica-se que a remoção completa de cromo hexavalente foi atingida em 30 minutos nas condições de efluente sintético de concentrações iniciais de 10 e 30 mg/L de cromo hexavalente conforme os ensaios anteriores. Para a condição de meio sintético de concentração inicial de cromo hexavalente de 60 mg/L a remoção total ocorreu em 2 horas. Na condição de meio sintético apresentando inicialmente 90 mg/L de cromo hexavalente, houve remoção completa em 12 horas, enquanto que na condição de maior concentração inicial de cromo hexavalente de 110 mg/L, a remoção ocorreu em 24 horas. É importante ressaltar que o aumento da intensidade luminosa favoreceu de forma significativa na remoção de cromo hexavalente em função da redução de tempo verificado nesse ensaio em comparação aos ensaios anteriores. Desta forma, é nítido que o processo de biorremediação é dependente de energia sendo estimulado pela luz conforme relatado pelo trabalho de Gorbi et al. (2001) que avaliou o efeito da luz na toxicidade do cromo em *S. acutus*.

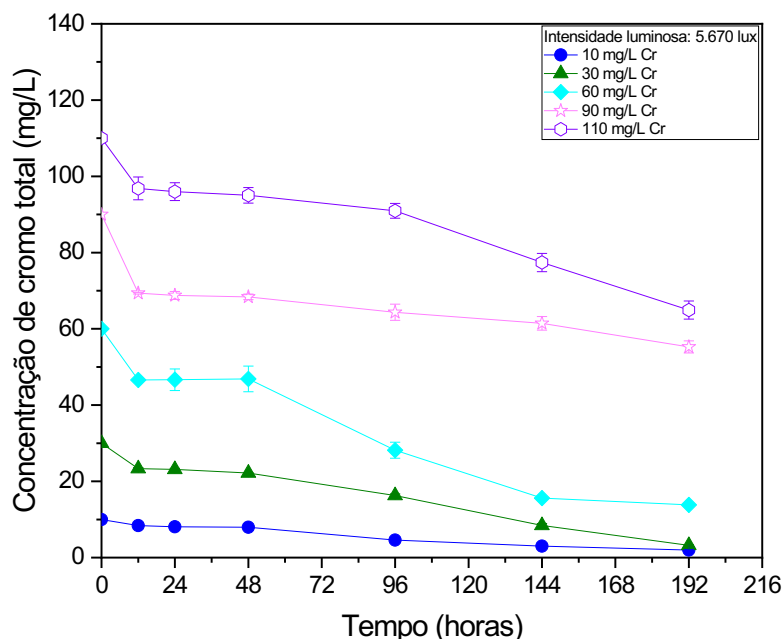
Tabela 5.8 Eficiência de remoção de cromo total do Ensaio 4.

Tempo (horas)	Condições do efluente sintético em relação as concentrações iniciais de cromo hexavalente				
	10 mg/L Cr	30 mg/L Cr	60 mg/L Cr	90 mg/L Cr	110 mg/L Cr
0	0 ± 0 %	0 ± 0 %	0 ± 0 %	0 ± 0 %	0 ± 0 %
12	16,2 ± 0,3 %	22,2 ± 0,2 %	21,9 ± 3,4 %	22,9 ± 0,2 %	11,9 ± 2,9 %
24	19,1 ± 0,1 %	22,8 ± 0,3 %	22,2 ± 2,8 %	23,6 ± 1,1 %	12,7 ± 2,3 %
48	20,5 ± 0,3 %	26,0 ± 0,1 %	22,3 ± 0,3 %	24,0 ± 0,7 %	13,6 ± 2,0 %
96	53,9 ± 0,1 %	45,7 ± 0,4 %	53,1 ± 2,1 %	28,5 ± 2,1 %	17,3 ± 1,9 %
144	69,9 ± 0,1 %	71,8 ± 0,5 %	73,9 ± 0,1 %	31,7 ± 1,8 %	29,6 ± 2,4 %
192	80,2 ± 0,2 %	89,3 ± 0,2 %	77,0 ± 0,1 %	38,6 ± 1,6 %	41,0 ± 2,4 %

Observa-se na Tabela 5.8 que as maiores remoções foram de 80,2 %, 89,3 % e 77,0 % nas condições de efluente sintético de concentrações iniciais de cromo hexavalente de 10, 30 e 60 mg/L, respectivamente. Portanto, o aumento da intensidade luminosa apresentou um efeito considerável na remoção de cromo total nessas condições, porém foi significativa na condição de meio sintético com concentração inicial de 60 mg/L de cromo hexavalente, na qual a sua remoção aumentou de 49,26 % (Ensaio 2 – intensidade luminosa de 800 lux) e 47,12 % (Ensaio 3 – intensidade luminosa de 3.200 lux) para aproximadamente 77 %, indicando que nessa condição o efeito da luz superou o efeito da toxicidade do metal. Esse fato sugere também que o aumento da intensidade luminosa forneceu mais energia às células, resultando no aumento de biomassa, consequentemente, contribui para elevar a eficiência na remoção de cromo total. A absorção de metais consiste em um mecanismo metabólico dependente, uma vez que ocorre apenas em células vivas, além de necessitar de energia para transportar o cromo hexavalente para as células (TANG et al., 2021). Comparando a remoção de cromo com outros estudos, observa-se que no trabalho desenvolvido por Wang et al. (2017) que investigou a viabilidade da cepa bacteriana *Shewanella loihica* PV-4 no processo de redução do cromo na presença de diferentes fontes de carbono orgânico, foi constatado uma remoção de 91,2 % de cromo hexavalente após 27 dias de operação utilizando uma concentração inicial de cromo hexavalente de 52,2 mg/L e o citrato como fonte de carbono. Enquanto que o estudo de Hu et al. (2020) explorou as condições de pH na biorremediação de aquíferos contaminados com cromo hexavalente, foi observado a remoção completa de contaminantes em pH inicial de 10,0 e 11,0 utilizando uma concentração inicial de cromo hexavalente de 10 mg/L através de uma comunidade microbiana, enquanto que para as outras condições de pH (5,0; 7,0 e 12,0) a remoção variou de 10 a 30 %.

Entretanto, as condições de maiores concentrações iniciais de cromo hexavalente de 90 e 110 mg/L, a remoção de cromo total foi de 38,6 % e 41,0 %, respectivamente. Isso indica que o aumento da intensidade luminosa não contribuiu de forma satisfatória para a remoção de cromo total, uma vez que os valores da eficiência de remoção desse ensaio encontram-se próximos aos ensaios anteriores (Ensaio 2 – intensidade luminosa de 800 lux e Ensaio 3 – intensidade luminosa de 3.200 lux). Com isso, verifica-se por meio dos resultados apresentados que concentrações elevadas de cromo inibem o crescimento e a atividade das bactérias e, conseqüentemente, afetarão a redução de cromo hexavalente. Portanto, quanto maior a concentração de cromo hexavalente, a eficiência de redução do cromo hexavalente torna-se mais lenta. Concentrações elevadas de cromo hexavalente demandam um tempo de reação maior para alcançar a mesma eficiência de remoção para uma concentração inicial de cromo menor (SUN et al., 2020). Além disso, a eficiência de remoção de cromo hexavalente diminui com o aumento da concentração inicial de cromo em razão da maior densidade celular alcançada nas condições de baixas concentrações de cromo hexavalente. Foi constatado a máxima eficiência de remoção de cromo hexavalente em *Bacillus* na menor concentração de cromo hexavalente de 25 mg/L. Em relação a *Asperillus flavus* CR500, isolado de águas residuárias de galvanoplastia, a remoção diminuiu com o aumento da concentração de cromo hexavalente devido a redução da biomassa (TANG et al., 2021).

Figura 5.16 Cinética de concentração de cromo total do Ensaio 4.



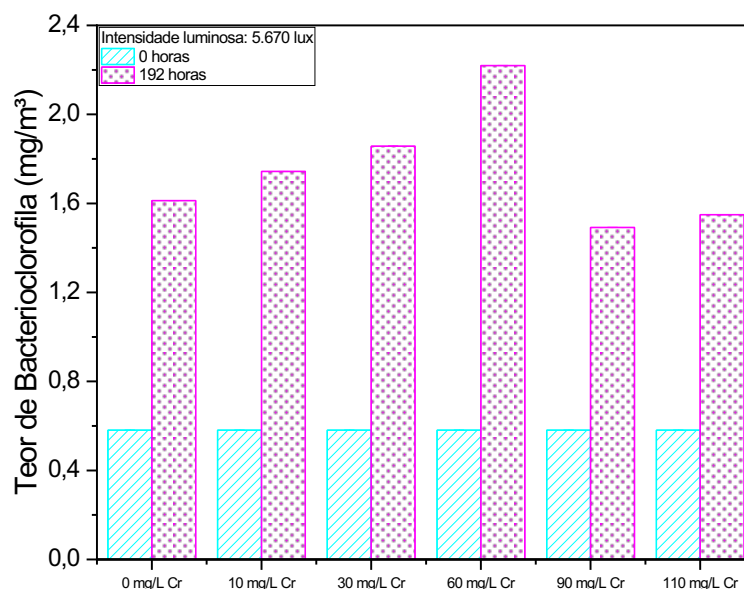
Condições operacionais: Temperatura ambiente: 25 – 32 °C; Intensidade luminosa: 5.670 lux; condição anaeróbica. Bactéria inoculada em meio de cultivo RCV (0 mg/L Cr) e efluente sintético (RCV + Cr) de concentração inicial de 10, 30, 60, 90 e 110 mg/L de Cr (VI) → $pH_{inicial} \sim 6,8$.

Através do gráfico representado na Figura 5.16, o que se observa é uma queda após 48 horas nas condições de efluente sintético de concentrações iniciais de cromo hexavalente de 10, 30 e 60 mg/L, sendo que as concentrações finais de cromo total foram de 1,98; 3,21 e 13,81 mg/L, respectivamente. Ademais, nesse período de queda expressiva também houve um crescimento celular expressivo. Esse mesmo comportamento também foi verificado no meio sintético com concentração inicial de 110 mg/L de cromo em que o declínio na concentração de cromo total foi percebido após 96 horas, que coincide com um aumento na densidade celular, atingindo uma concentração final de 64,93 mg/L de cromo total. No entanto, deve-se destacar que nesse período o cromo total corresponde ao cromo trivalente, sendo que uma das estratégias de resistência adotadas pelos microrganismos para sobreviver na presença de metais pesados é utilizar o metal, em pequenas quantidades destinando as suas atividades metabólicas (MALA, SUJATHA e ROSE, 2015).

Entretanto, no efluente sintético de concentração inicial de cromo hexavalente de 90 mg/L, o declínio na concentração de cromo total foi expressivo nas primeiras 12 horas, que coincide com a remoção significativa de cromo hexavalente, e praticamente manteve constante ao longo da fermentação, alcançando uma concentração final de 55,25 mg/L de cromo total.

A fim de obter uma visão detalhada da viabilidade do microrganismo, as Figuras 5.17 e 5.18 apresentam os teores de bacterioclorofila e carotenoides, respectivamente.

Figura 5.17 Quantificação da bacterioclorofila no início e no final do Ensaio 4.



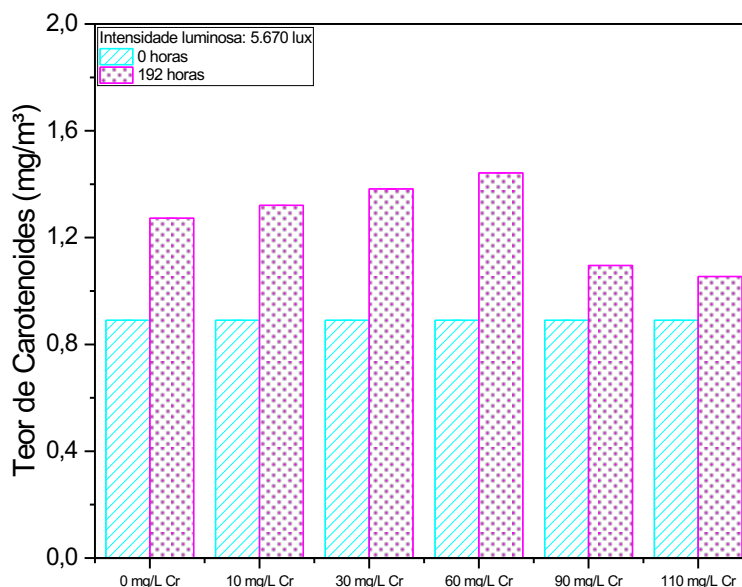
Condições operacionais: Temperatura ambiente: 25 – 32 °C; Intensidade luminosa: 5.670 lux; condição anaeróbica. Bactéria inoculada em meio de cultivo RCV (0 mg/L Cr) e efluente sintético (RCV + Cr) de concentração inicial de 10, 30, 60, 90 e 110 mg/L de Cr (VI) → pH_{inicial} ~ 6,8.

Observa-se pela Figura 5.17 que no início da fermentação a concentração de bacterioclorofila foi de aproximadamente 0,58 mg/m³ e os máximos teores de bacterioclorofila foram de 1,74; 1,86 e 2,22 mg/m³ nas condições de efluente sintético com concentrações iniciais de cromo hexavalente de 10, 30 e 60 mg/L, respectivamente. Assim, os aumentos no conteúdo de bacterioclorofila correspondem a 200 %, 220,69 % e 282,76 % comparando com o teor inicial de bacterioclorofila, nessa mesma ordem. É importante mencionar que os incrementos no teor de bacterioclorofila nessas condições foram superiores aos ensaios anteriores. Além disso, a tendência foi diferente em comparação aos ensaios anteriores em que as máximas concentrações de bacterioclorofila foram encontradas nas condições de meio sintético com elevadas concentrações iniciais de cromo. Com isso, é possível concluir que o aumento de intensidade luminosa favoreceu o crescimento celular, consequentemente a síntese da bacterioclorofila para essas condições específicas.

Outro comportamento verificado nas condições de efluente sintético de concentrações iniciais de cromo hexavalente de 10, 30 e 60 mg/L foram os teores de bacterioclorofila superiores a condição controle, a qual atingiu uma concentração final de bacterioclorofila de 1,61 mg/m³, correspondendo um aumento de 177,59 % em relação ao teor inicial de bacterioclorofila. Esse resultado também foi maior que o ensaio anterior (Ensaio 3 – intensidade luminosa de 3.200 lux), o que já era esperado devido ao aumento de biomassa final.

Já em relação as condições de meio sintético com elevadas concentrações iniciais de cromo hexavalente de 90 e 110 mg/L, os teores finais de bacterioclorofila foram de 1,49 e 1,55 mg/m³, respectivamente, o que corresponde um aumento de aproximadamente 156,90 % e 167,24 % comparando com a concentração inicial de bacterioclorofila, nessa mesma ordem. Dessa forma, observa-se que o aumento da intensidade luminosa de 3.200 lux para 5.670 lux não contribuiu para o aumento da produção de bacterioclorofila nessas condições de elevada concentração inicial de cromo hexavalente. Além disso, é importante relatar que os resultados obtidos nesse experimento foram próximos aos resultados do Ensaio 2 (intensidade luminosa de 800 lux) tanto em relação ao conteúdo de bacterioclorofila como também de biomassa, sugerindo que a intensidade luminosa ideal para favorecer a produção de biomassa e bacterioclorofila para condições de elevadas concentrações de cromo é de 3.200 lux.

Figura 5.18 Quantificação de carotenoides no início e no final do Ensaio 4.



Condições operacionais: Temperatura ambiente: 25 – 32 °C; Intensidade luminosa: 5.670 lux; condição anaeróbica. Bactéria inoculada em meio de cultivo RCV (0 mg/L Cr) e efluente sintético (RCV + Cr) de concentração inicial de 10, 30, 60, 90 e 110 mg/L de Cr (VI) → $\text{pH}_{\text{inicial}} \sim 6,8$.

Analisando a Figura 5.18, o teor inicial de carotenoides foi próximo de 0,89 mg/m³ e as maiores concentrações de carotenoides foram atingidas nas condições de efluente sintético de concentrações iniciais de cromo hexavalente de 10, 30 e 60 mg/L, sendo de 1,32; 1,38 e 1,44 mg/m³, respectivamente. Com isso, os aumentos foram de 48,31 %, 55,06 % e 61,80 % em relação ao teor inicial de carotenoides, nessa respectiva ordem. É possível visualizar o mesmo comportamento do teor de bacterioclorofila, em que os maiores incrementos no teor desse pigmento foram alcançados nessas condições, além de atingir valores superiores a condição controle. Ademais, os resultados foram superiores aos ensaios anteriores, indicando que o aumento da intensidade luminosa promoveu o aumento de biomassa, consequentemente, o aumento do conteúdo de carotenoides.

Já a condição controle atingiu 1,27 mg/m³ de teor final de carotenoides, o que corresponde um aumento de 42,70 % comparando com o teor inicial de carotenoides. Esse resultado também foi superior aos ensaios anteriores, indicando a relação direta entre biomassa e produção de pigmento.

Conforme os estudos de Zhou, Zhang e Zhang (2014) que investigaram a produção de pigmentos (bacterioclorofila e carotenoides) no tratamento de águas residuárias através de

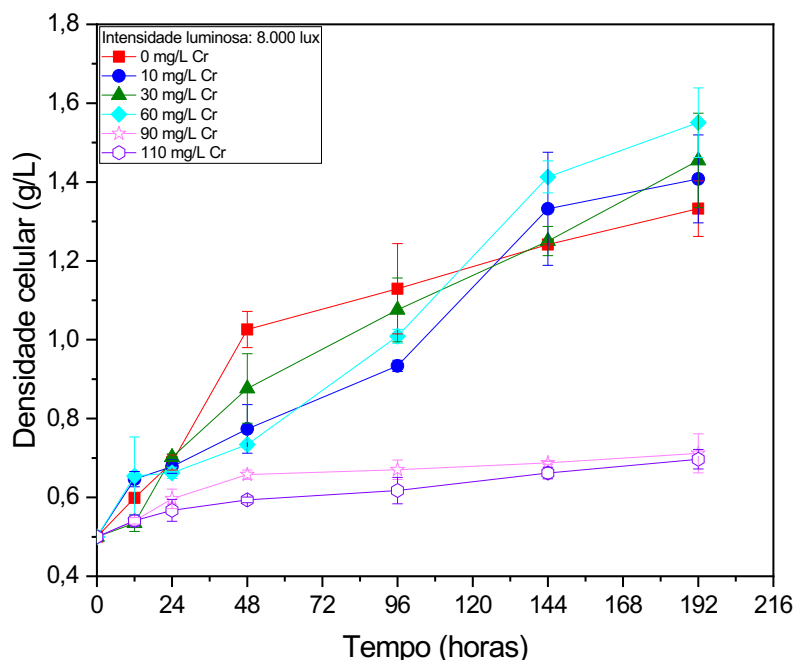
bactérias fotossintéticas *Rhodopseudomonas*, foi observado que o teor de carotenoides diminuiu com o aumento da intensidade luminosa entre 500 e 2.000 lux, sendo que a produção de carotenoides foi menor em 2.000 lux, enquanto que na faixa de 2.000 a 8.000 lux, o conteúdo de carotenoides aumentou com o aumento da intensidade luminosa, atingindo uma concentração de 1,455 mg/L de carotenoides. Esse mesmo comportamento foi verificado no teor de bacterioclorofila que diminuiu com o aumento da intensidade luminosa entre 500 e 2.000 lux, entretanto, na faixa de 2.000 a 8.000 lux, o conteúdo de bacterioclorofila aumentou com o aumento da intensidade luminosa. Foi relatado que intensidades luminosas muito intensas ou muito leves estimularam as bactérias fotossintéticas a produzir bacterioclorofila para crescimento.

Em se tratando das condições de efluente sintético de concentrações iniciais de cromo hexavalente de 90 e 110 mg/L, observa-se um conteúdo final de carotenoides de 1,09 e 1,05 mg/m³, respectivamente. Esses aumentos de 22,47 % e 17,98 % em relação ao teor inicial de carotenoides, nessa respectiva ordem, não foram maiores que o ensaio anterior (Ensaio 3 – intensidade luminosa de 3.200 lux). Com isso, mesmo com o aumento da intensidade luminosa não houve melhora significativa na síntese de carotenoides. É importante destacar que os resultados obtidos nesse experimento foram próximos ao Ensaio 2 (intensidade luminosa de 800 lux), apresentando o mesmo comportamento em relação ao teor de bacterioclorofila, indicando que para altas concentrações de cromo, a intensidade luminosa ideal para favorecer a síntese de biomassa e de pigmentos é de 3.200 lux, com isso intensidades luminosa muito baixas ou muito altas, a produção de pigmentos desempenha um papel de proteção, sendo uma forma de garantir a sobrevivência do microrganismo.

Dessa forma, quando a intensidade luminosa era excessiva, o papel desenvolvido pelos carotenoides era de fotoproteção. Os carotenoides possuem diferentes habilidades fotoprotetoras em função de suas propriedades químicas e estruturais específicas (CONNELLY et al., 1997).

No Ensaio 5 avaliou-se o comportamento do microrganismo nas mesmas condições determinadas nos ensaios anteriores utilizando uma intensidade luminosa de 8.000 lux. Os resultados referentes a cinética da densidade celular estão apresentados na Figura 5.19.

Figura 5.19 Cinética de crescimento celular do Ensaio 5.



Condições operacionais: Temperatura ambiente: 25 – 32 °C; Intensidade luminosa: 8.000 lux; condição anaeróbica. Bactéria inoculada em meio de cultivo RCV (0 mg/L Cr) e efluente sintético (RCV + Cr) de concentração inicial de 10, 30, 60, 90 e 110 mg/L de Cr (VI) → $\text{pH}_{\text{inicial}} \sim 6,8$.

A partir do gráfico representado na Figura 5.19 é possível perceber o mesmo comportamento do ensaio anterior (Ensaio 4 – intensidade luminosa de 5.670 lux), em que as máximas densidades celulares finais foram de 1,41; 1,45 e 1,55 g/L nas condições de efluente sintético com concentrações iniciais de 10, 30 e 60 mg/L de cromo hexavalente, respectivamente. Com isso, sofreram incrementos na biomassa de 182 %, 190 % e 210 % em relação a densidade celular inicial, nessa mesma ordem. Em relação a condição controle, a biomassa final alcançada foi de 1,33 g/L correspondendo um aumento de 166 % comparando com biomassa inicial. É importante relatar que as densidades celulares finais foram próximas ao ensaio anterior (Ensaio 4 – intensidade luminosa de 5.670 lux), indicando que ao elevar a intensidade luminosa de 5.670 lux a 8.000 lux, o crescimento celular não apresentou mudança significativa, com isso, a condição ótima que maximizou o aumento de biomassa foi de 5.670 lux, sendo que intensidades luminosas superiores mantiveram o valor de biomassa constante.

Nos meios sintéticos de concentrações iniciais de cromo hexavalente de 90 e 110 mg/L, as densidades celulares finais foram de 0,71 e 0,70 g/L, respectivamente, sendo equivalente a um aumento de 42 % e 40 % em relação a biomassa inicial, nessa respectiva ordem. Desta forma, fica evidente que elevadas concentrações de cromo hexavalente inibem o crescimento

celular, no caso específico, para a bactéria fotossintetizante *R. capsulatus* concentrações superiores a 90 mg/L. Além disso, o aumento da intensidade luminosa não contribuiu para elevar o conteúdo de biomassa.

A fim de obter um maior entendimento foi avaliado a cinética de remoção de cromo hexavalente e cromo total apresentados nas Tabelas 5.9 e 5.10, respectivamente, enquanto que o gráfico da concentração de cromo total está representado na Figura 5.20.

Tabela 5.9 Eficiência de remoção de cromo hexavalente do Ensaio 5.

Tempo (horas)	Condições do efluente sintético em relação as concentrações iniciais de cromo hexavalente				
	10 mg/L Cr	30 mg/L Cr	60 mg/L Cr	90 mg/L Cr	110 mg/L Cr
0	0 ± 0 %	0 ± 0 %	0 ± 0 %	0 ± 0 %	0 ± 0 %
0,5	100 ± 0 %	100 ± 0 %	92,1 ± 0,3 %	-	-
1	-	-	97,9 ± 0,3 %	-	-
2	-	-	100 ± 0 %	-	-
4	-	-	-	83,8 ± 0,4 %	70,1 ± 4,3 %
8	-	-	-	99,9 ± 0 %	78,0 ± 4,9 %
12	-	-	-	100 ± 0 %	85,2 ± 1,0 %
24	-	-	-	-	100 ± 0 %

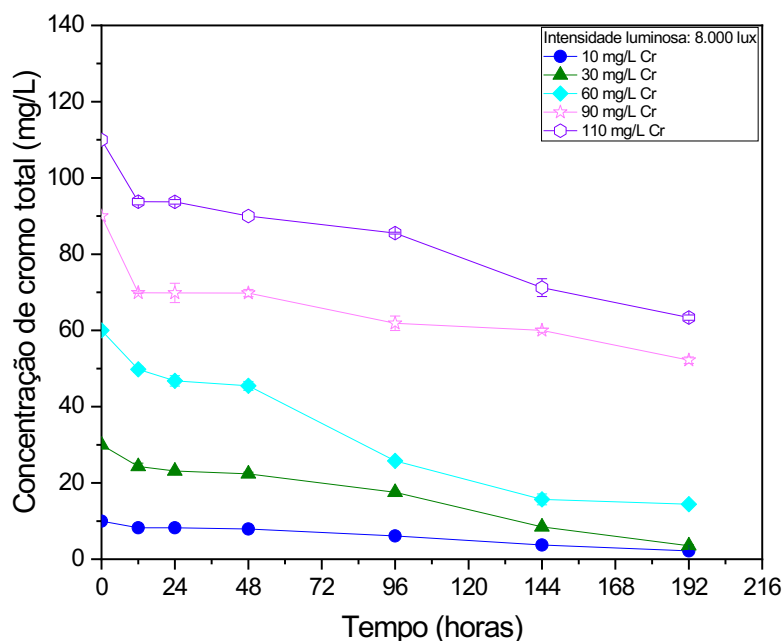
Com base nos dados da Tabela 5.9, verifica-se a mesma tendência do ensaio anterior (Ensaio 4 – intensidade luminosa de 5.670 lux). Para a condição de efluente sintético de concentrações iniciais de 10 e 30 mg/L de cromo hexavalente, a remoção foi completa em 30 minutos. Enquanto que para a condição de meio sintético com 60 mg/L de cromo hexavalente inicialmente, a remoção total foi alcançada em 2 horas. Nos efluentes sintéticos com elevadas concentrações de cromo hexavalente de 90 e 110 mg/L, a remoção completa ocorreu em 12 horas e 24 horas, respectivamente.

Tabela 5.10 Eficiência de remoção de cromo total do Ensaio 5.

Tempo (horas)	Condições do efluente sintético em relação as concentrações iniciais de cromo hexavalente				
	10 mg/L Cr	30 mg/L Cr	60 mg/L Cr	90 mg/L Cr	110 mg/L Cr
0	0 ± 0 %	0 ± 0 %	0 ± 0 %	0 ± 0 %	0 ± 0 %
12	17,6 ± 0,1 %	18,9 ± 0,9 %	17,0 ± 0,8 %	22,4 ± 0,2 %	14,8 ± 0,8 %
24	17,7 ± 0,5 %	22,9 ± 0,2 %	22,0 ± 1,4 %	22,4 ± 2,5 %	14,8 ± 0,6 %
48	20,7 ± 0,3 %	25,4 ± 0,4 %	24,2 ± 1,2 %	22,4 ± 0,9 %	18,2 ± 0 %
96	38,9 ± 0,2 %	41,5 ± 0,3 %	57,0 ± 0,6 %	31,2 ± 1,9 %	22,2 ± 0,2 %
144	62,8 ± 0,2 %	71,7 ± 0,2 %	73,8 ± 1,4 %	33,3 ± 0,5 %	35,2 ± 2,3 %
192	78,1 ± 0,1 %	88,3 ± 0,3 %	75,9 ± 0,1 %	42,0 ± 0,8 %	42,4 ± 0,7 %

O mesmo comportamento do ensaio anterior (Ensaio 4 – intensidade luminosa de 5.670 lux) também foi verificado nesse ensaio em relação ao cromo total apresentado na Tabela 5.10, em que as máximas remoções de cromo total foram de 78,1%, 88,3 % e 75,9 % para as condições de efluente sintético com concentrações iniciais de cromo hexavalente de 10, 30 e 60 mg/L, respectivamente. Enquanto que em condições de maiores concentrações iniciais de cromo hexavalente de 90 e 110 mg/L, as remoções de cromo total foram de 42,0 % e 42,4 %, respectivamente. Com isso, observa-se que os valores de remoção de cromo total foram próximos ao ensaio anterior (Ensaio 4 – intensidade luminosa de 5.670 lux), portanto, fica evidente que o aumento da intensidade luminosa de 5.670 lux para 8.000 lux, não contribuiu de forma significativa para a remoção de cromo hexavalente e cromo total, uma vez que os resultados se equiparam.

Figura 5.20 Cinética de concentração de cromo total do Ensaio 5.



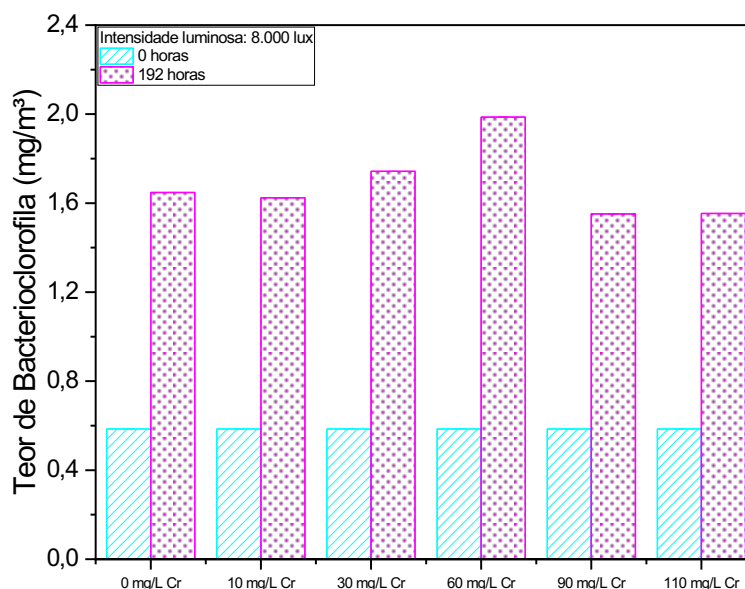
Condições operacionais: Temperatura ambiente: 25 – 32 °C; Intensidade luminosa: 8.000 lux; condição anaeróbica. Bactéria inoculada em meio de cultivo RCV (0 mg/L Cr) e efluente sintético (RCV + Cr) de concentração inicial de 10, 30, 60, 90 e 110 mg/L de Cr (VI) → $\text{pH}_{\text{inicial}} \sim 6,8$.

Observa-se pela Figura 5.20 uma queda na concentração de cromo total nas primeiras 12 horas, sendo que esse período coincide com a remoção de cromo hexavalente, já que nesse intervalo de tempo ocorre o processo de biorredução em que a bactéria destina sua energia para a conversão de cromo hexavalente em cromo trivalente. Além disso, é possível verificar que na condição de efluente sintético de concentração inicial de cromo hexavalente de 60 mg/L houve um declínio após 48 horas sendo estabilizado depois de 144 horas, atingindo uma concentração final de cromo total de 14,43 mg/L. Para as condições de efluente sintético de concentrações iniciais de cromo hexavalente de 10 e 30 mg/L houve um declínio após 96 horas, apresentando uma concentração final de cromo total de 2,19 e 3,51 mg/L, respectivamente.

Em relação a condição de meio sintético de concentração inicial de cromo hexavalente de 90 mg/L, verifica-se uma queda entre 48 horas e 96 horas e também ao final da fermentação, após 144 horas, alcançando uma concentração final de cromo total de 52,19 mg/L. Enquanto que no efluente sintético de 110 mg/L de cromo hexavalente inicial, o declínio ocorre após 96 horas, fato que relaciona com o aumento de densidade celular. Além disso, ao final da fermentação encontra-se 63,38 mg/L de cromo total.

Nas Figuras 5.21 e 5.22 estão apresentados os resultados de bacterioclorofila e carotenoides, respectivamente.

Figura 5.21 Quantificação da bacterioclorofila no início e no final do Ensaio 5.



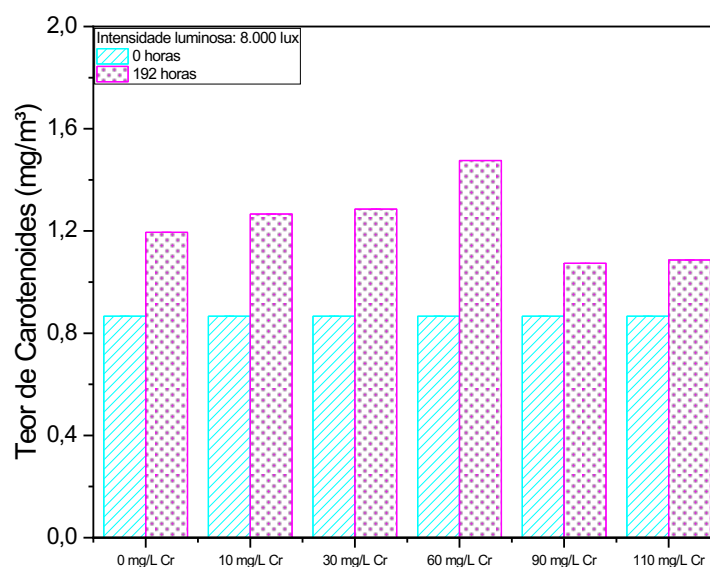
Condições operacionais: Temperatura ambiente: 25 – 32 °C; Intensidade luminosa: 8.000 lux; condição anaeróbica. Bactéria inoculada em meio de cultivo RCV (0 mg/L Cr) e efluente sintético (RCV + Cr) de concentração inicial de 10, 30, 60, 90 e 110 mg/L de Cr (VI) → pH_{inicial} ~ 6,8.

Por meio da análise da Figura 5.21, observa-se que o teor de bacterioclorofila no início da fermentação encontra-se em torno de 0,58 mg/m³ e a condição controle apresentou um teor final de bacterioclorofila de 1,65 mg/m³ que corresponde um aumento de 184,48 % comparando com a concentração inicial de bacterioclorofila. Enquanto que as condições de efluente sintético de concentrações iniciais de cromo hexavalente de 10, 30 e 60 mg/L, o conteúdo de bacterioclorofila final foi de 1,62; 1,74 e 1,99 mg/m³, respectivamente. Assim, os incrementos no teor do pigmento foram de 179,31 %, 200 % e 243,10 % em comparação com o teor inicial de bacterioclorofila, nessa respectiva ordem. Os resultados obtidos nesse experimento são próximos aos resultados encontrados no ensaio anterior (Ensaio 4 – intensidade luminosa de 5.670 lux), indicando que o aumento da intensidade luminosa de 5.670 lux a 8.000 lux não contribuiu de forma significativa para o aumento da produção de bacterioclorofila. Com isso, é possível concluir que a intensidade luminosa ideal para a produção de bacterioclorofila é de

5.670 lux, já que acima desse valor a concentração final do pigmento não sofre mudança relevante, mantendo-se constante.

Em relação as condições de elevadas concentrações iniciais de cromo hexavalente de 90 e 110 mg/L, a síntese do pigmento atingiu uma concentração máxima de 1,55 mg/m³, com um aumento de 197,24 % em comparação com o teor inicial de bacterioclorofila. Da mesma forma, os valores obtidos do conteúdo de bacterioclorofila foram próximos ao ensaio anterior (Ensaio 4 – intensidade luminosa de 5.670 lux), demonstrando que o aumento da intensidade luminosa não favoreceu a produção do pigmento em condições de elevadas concentrações de cromo, uma vez que nessas condições o estresse oxidativo provocado pelo cromo juntamente com o efeito de uma intensidade luminosa excessiva são considerados um fator limitante tanto para o crescimento celular como para a síntese do pigmento.

Figura 5.22 Quantificação de carotenoides no início e no final do Ensaio 5.



Condições operacionais: Temperatura ambiente: 25 – 32 °C; Intensidade luminosa: 8.000 lux; condição anaeróbica. Bactéria inoculada em meio de cultivo RCV (0 mg/L Cr) e efluente sintético (RCV + Cr) de concentração inicial de 10, 30, 60, 90 e 110 mg/L de Cr (VI) → pH_{inicial} ~ 6,8.

Observa-se pela Figura 5.22 que o teor inicial de carotenoides foi próximo de 0,87 mg/m³ e a condição controle apresentou uma concentração final de aproximadamente 1,19 mg/m³ que corresponde um aumento em torno de 36,78 % em relação a concentração inicial de carotenoides. As demais condições que apresentaram um conteúdo de carotenoides expressivo

encontram-se nos meios sintéticos com concentrações iniciais de cromo hexavalente de 10, 30 e 60 mg/m³, atingindo um teor final de carotenoides de 1,27; 1,29 e 1,47 mg/m³, respectivamente. Os incrementos no conteúdo de carotenoides foram de 45,98 %, 48,28 % e 68,96 %, nessa mesma ordem.

No entanto, as condições de meio sintético com elevadas concentrações iniciais de cromo hexavalente de 90 e 110 mg/L, o teor final de carotenoides foi de 1,07 e 1,09 mg/m³, respectivamente, que corresponde um incremento de aproximadamente 22,99 % e 25,29 % comparando com o teor inicial de carotenoides, respectivamente.

É importante ressaltar que os dados obtidos nesse experimento se equiparam aos valores obtidos no ensaio anterior (Ensaio 4 – intensidade luminosa de 5.670 lux), com isso, verifica-se que o aumento da intensidade luminosa de 5.670 lux para 8.000 lux não contribuiu de forma expressiva para elevar a produção do pigmento, indicando que acima de 5.670 lux, os teores finais de carotenoides mantêm estabilizados.

Por fim, a Tabela 5.11 demonstra a síntese de todos os resultados obtidos em relação a máxima densidade celular, a máxima concentração de bacterioclorofila e carotenoides, e também a máxima remoção de cromo hexavalente e cromo total.

Com base nos resultados apresentados na Tabela 5.11, observa-se que na intensidade luminosa de 5.670 lux foram obtidas as maiores remoções de cromo total para as condições de efluente sintético de concentrações iniciais de cromo hexavalente de 10, 30 e 60 mg/L, além da remoção total de cromo hexavalente ocorrer em um período de tempo menor. Deve-se destacar também que para essas condições também foram alcançados os maiores teores de biomassa e pigmentos (bacterioclorofila e carotenoides).

Tabela 5.11 Síntese dos resultados obtidos na avaliação de diferentes intensidades luminosas.

	(Ensaio 1) - escuro	(Ensaio 2) - 800 lux	(Ensaio 3) – 3.200 lux	(Ensaio 4) – 5.670 lux	(Ensaio 5) – 8.000 lux
Condição controle					
X _{max} (g/L)	0,69	0,85	1,05	1,34	1,33
Bch-a _{max} (mg/m ³)	1,02	1,46	1,49	1,61	1,65
Caroten _o max (mg/m ³)	0,63	1,13	1,18	1,27	1,19
% remoção de Cr (VI)	-	-	-	-	-
% remoção _{max} de Cr _{total}	-	-	-	-	-
Efluente sintético de concentração inicial de cromo hexavalente de 10 mg/L					
X _{max} (g/L)	0,69	0,87	1,07	1,55	1,41
Bch-a _{max} (mg/m ³)	1,03	1,29	1,41	1,74	1,62
Caroten _o max (mg/m ³)	0,57	0,95	0,94	1,32	1,27
% remoção _{max} de Cr (VI)	100 % (0,5 horas)	100 % (0,5 horas)	100 % (0,5 horas)	100 % (0,5 horas)	100 % (0,5 horas)
% remoção _{max} de Cr _{total}	61,48 %	75,04 %	68,21 %	80,15 %	78,13 %
Efluente sintético de concentração inicial de cromo hexavalente de 30 mg/L					
X _{max} (g/L)	0,69	0,99	1,08	1,59	1,45
Bch-a _{max} (mg/m ³)	1,07	1,38	1,43	1,86	1,74
Caroten _o max (mg/m ³)	0,59	0,97	0,95	1,38	1,29
% remoção _{max} de Cr (VI)	100 % (0,5 horas)	100 % (0,5 horas)	100 % (0,5 horas)	100 % (0,5 horas)	100 % (0,5 horas)
% remoção _{max} de Cr _{total}	80,08 %	85,91 %	84,08 %	89,31 %	88,30 %
Efluente sintético de concentração inicial de cromo hexavalente de 60 mg/L					
X _{max} (g/L)	0,71	0,89	1,01	1,65	1,55
Bch-a _{max} (mg/m ³)	1,15	1,49	1,55	2,22	1,99
Caroten _o max (mg/m ³)	0,68	1,01	1,18	1,44	1,47
% remoção _{max} de Cr (VI)	100 % (24 horas)	100 % (24 horas)	100 % (12 horas)	100 % (2 horas)	100 % (2 horas)
% remoção _{max} de Cr _{total}	34,32 %	49,26 %	47,12 %	76,99 %	75,95 %
Efluente sintético de concentração inicial de cromo hexavalente de 90 mg/L					
X _{max} (g/L)	0,65	0,76	0,85	0,71	0,71
Bch-a _{max} (mg/m ³)	1,14	1,51	1,58	1,49	1,55
Caroten _o max (mg/m ³)	0,70	1,03	1,18	1,09	1,07
% remoção _{max} de Cr (VI)	100 % (24 horas)	100 % (24 horas)	100 % (24 horas)	100 % (12 horas)	100 % (12 horas)
% remoção _{max} de Cr _{total}	22,94 %	45,61 %	44,82 %	38,61 %	42,01 %
Efluente sintético de concentração inicial de cromo hexavalente de 110 mg/L					
X _{max} (g/L)	0,63	0,72	0,77	0,71	0,70
Bch-a _{max} (mg/m ³)	1,15	1,55	1,60	1,55	1,55
Caroten _o max (mg/m ³)	0,68	1,05	1,17	1,05	1,09
% remoção _{max} de Cr (VI)	100 % (96 horas)	100 % (48 horas)	100 % (48 horas)	100 % (24 horas)	100 % (24 horas)
% remoção _{max} de Cr _{total}	18,49 %	38,68 %	37,60 %	40,98 %	42,38 %

X_{max}: concentração máxima de biomassa (g_{sólidos voláteis}/L), Bch-a_{max}: concentração máxima de bacterioclorofila.

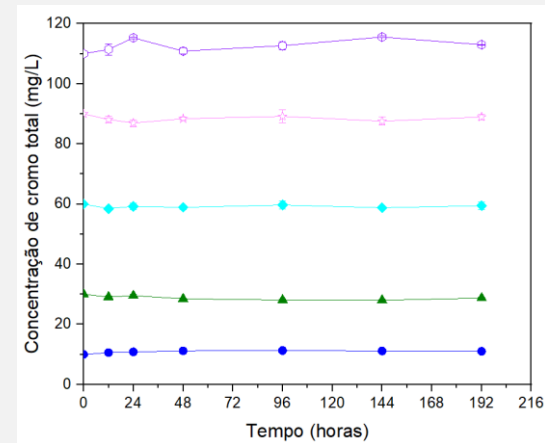
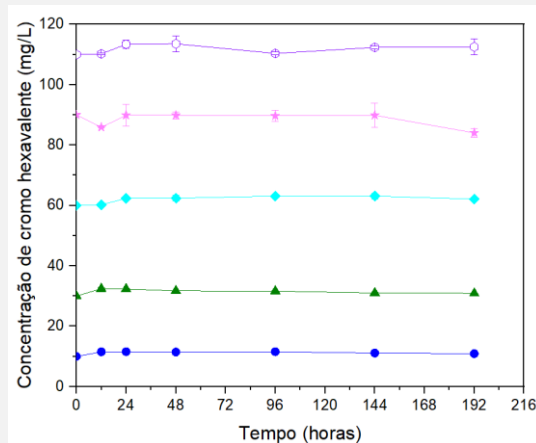
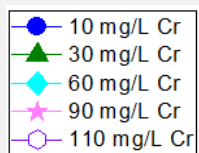
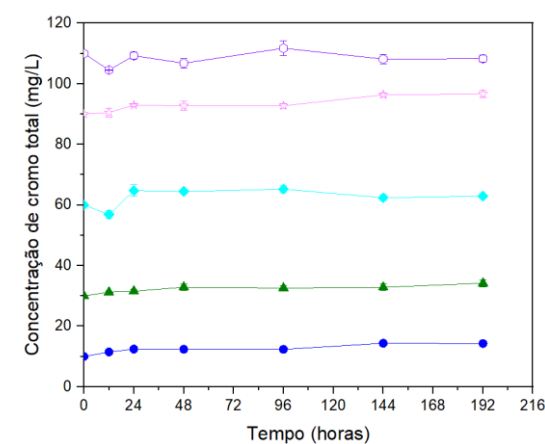
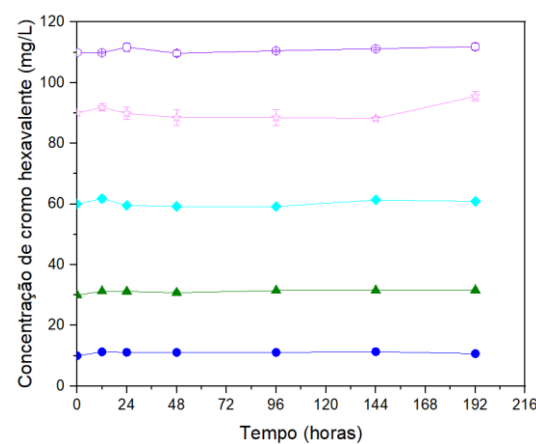
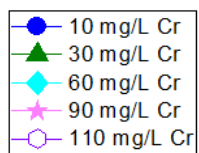
5.1.3 Avaliação do Teste Controle

Conforme já mencionado, o teste controle consistiu em avaliar a relação de redução de cromo hexavalente em diferentes intensidades luminosas a fim de esclarecer se há interferência da luz no processo de biorredução. Para isso, os experimentos realizados utilizaram somente efluente sintético (empregando as concentrações iniciais de cromo hexavalente de 10, 30, 60, 90 e 110 mg/L) sem a presença da bactéria. No Ensaio 6 foi avaliada a condição na ausência de luz em relação ao cromo hexavalente e ao cromo total, já o Ensaio 7 avaliou a presença de luminosidade com intensidade luminosa de 800 lux. O ensaio seguinte (Ensaio 8) utilizou a intensidade luminosa de 3.200 lux, enquanto que o Ensaio 9 e 10 utilizaram uma intensidade luminosa de 5.670 lux e 8.000 lux, respectivamente. A Figura 5.23 apresenta os dados obtidos nesses ensaios por meio dos gráficos de concentração de cromo hexavalente ao longo do tempo e também da concentração de cromo total *versus* tempo.

Figura 5.23 Síntese dos resultados do Teste Controle.

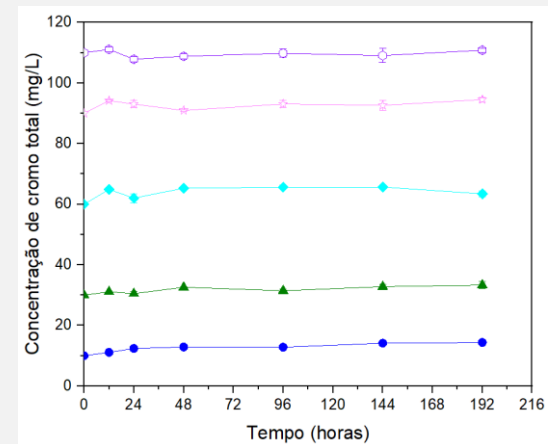
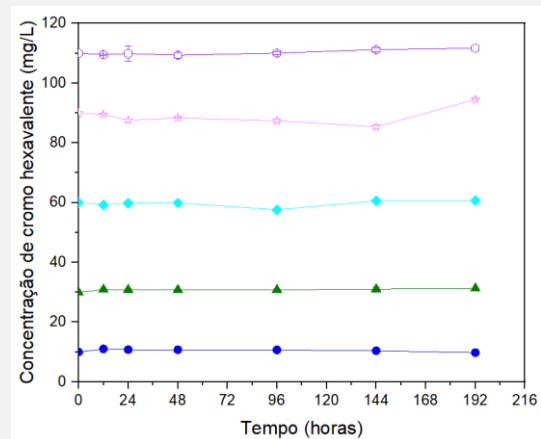
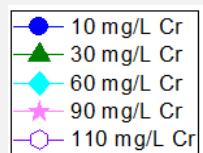
Concentração de cromo hexavalente**Concentração de cromo total****Ensaio 6**

Ausência de luz

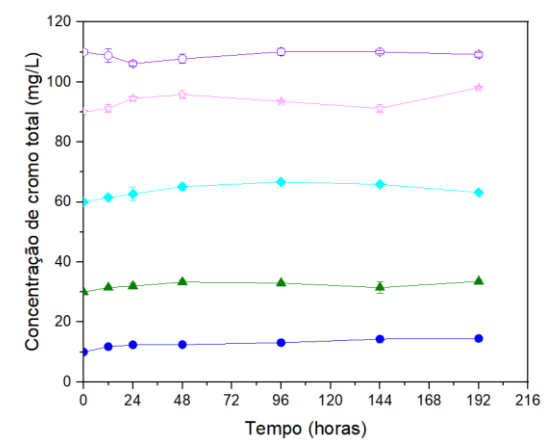
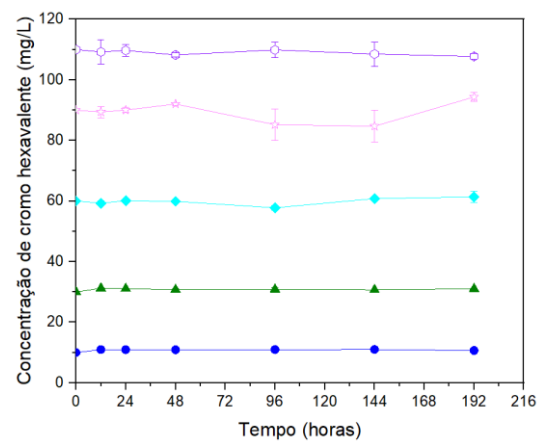
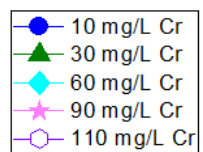
**Ensaio 7**Intensidade luminosa:
800 lux

Ensaio 8

Intensidade luminosa:
3.200 lux

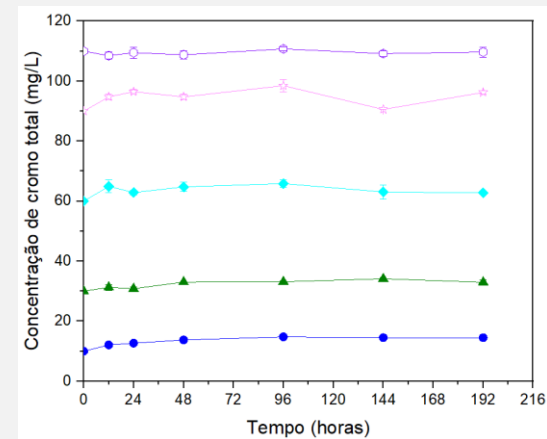
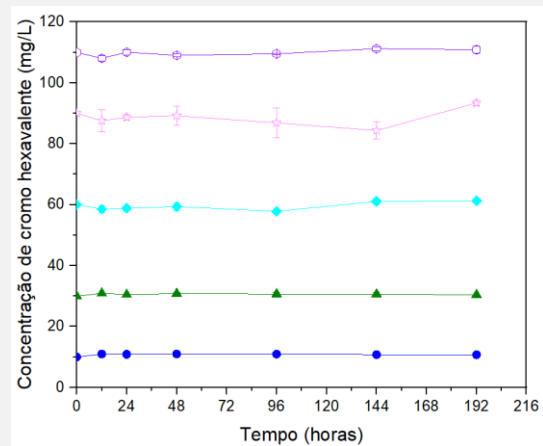
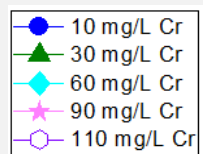
**Ensaio 9**

Intensidade luminosa:
5.670 lux



Ensaio 10

Intensidade luminosa:
8.000 lux



Observa-se pela Figura 5.23 que a concentração de cromo hexavalente sofre pequenas variações no decorrer do tempo em todas as condições avaliadas, como também para todos os ensaios avaliados. Essas variações apresentadas podem ser em decorrência da variação de erro do equipamento espectrofotômetro na leitura da absorbância.

Em relação ao cromo total, observa-se o mesmo comportamento, a concentração de cromo total praticamente manteve-se constante ao longo do tempo para todas as condições de efluente sintético avaliadas como também para todos os ensaios realizados. As pequenas variações podem estar relacionadas a porcentagem de erro do equipamento Espectrofotômetro de Absorção Atômica. Além disso, é importante mencionar que os dados obtidos de concentração de cromo hexavalente e cromo total são muito próximos. Outro ponto a ser mencionado é que a presença de luz não apresentou interferência no processo de redução do cromo.

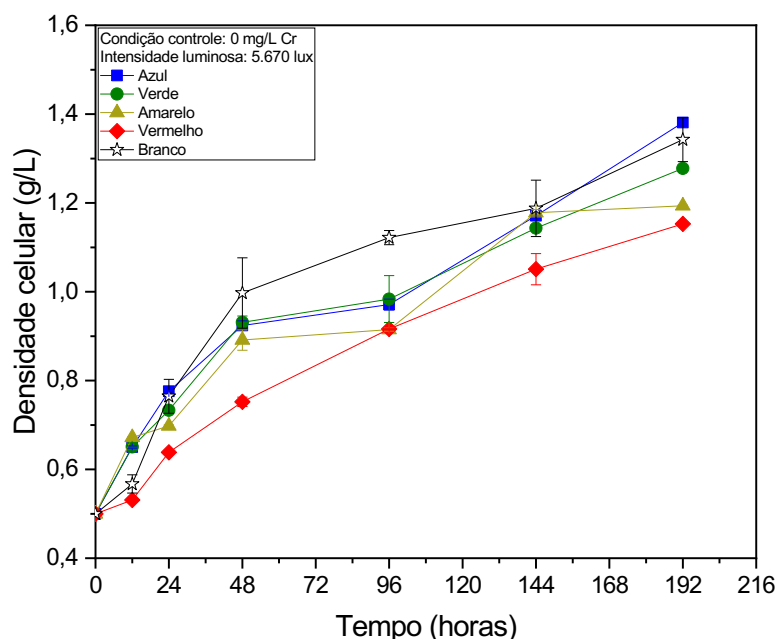
Desta forma, é possível concluir que a eficiência de remoção do cromo hexavalente e cromo total resulta da biomassa e de atividades metabólicas da bactéria *R. capsulatus*, e não da ação da luz.

5.2 Avaliação de diferentes comprimentos de onda

Com base nos resultados obtidos em relação aos experimentos sobre a avaliação de diferentes intensidades luminosas, foi constatado que a condição ótima de intensidade luminosa de 5.670 lux promoveu a melhor eficiência na remoção de cromo hexavalente e cromo total, como também, maior desempenho na produção de biomassa e no conteúdo de pigmentos.

A partir disso, houve a necessidade de avaliar o desempenho da bactéria *R. capsulatus* sob diferentes comprimentos de onda por meio do efeito de cinco fontes de luz: branco (comprimento de onda misto), azul (470 nm), verde (520 nm), amarelo (595 nm) e vermelho (630 nm). As condições avaliadas compreendem o efluente sintético com concentrações iniciais de cromo hexavalente de 10, 30 e 60 mg/L, ressalta-se que nos meios sintéticos de 90 e 110 mg/L de cromo hexavalente inicial não foram estudados, devido suas altas concentrações causarem efeito inibitório no crescimento microbiano e afetarem a atividade metabólica das células. Ademais, foi avaliado também a condição controle, em que a bactéria foi inoculada no seu meio de cultivo RCV sem a presença de cromo, sendo que essa condição caracteriza o Ensaio 11. A Figura 5.24 representa a cinética de crescimento celular ao longo da fermentação.

Figura 5.24 Cinética de crescimento celular do Ensaio 11.



Condições operacionais: Temperatura ambiente: 25 – 32 °C; Intensidade luminosa: 5.670 lux; condição anaeróbica. Bactéria inoculada em meio de cultivo RCV (0 mg/L Cr) → pH_{inicial} ~ 6,8. Condições avaliadas: luz azul (470 nm), luz verde (520 nm), luz amarelo (595 nm), luz vermelho (630 nm), luz branco (460 nm).

Por meio da análise da Figura 5.24, observa-se que a máxima densidade celular final foi de 1,38 g/L na fonte de luz azul que corresponde um aumento de 176 % em relação a biomassa inicial. Em seguida, destacam-se as fontes de luz branco e verde que atingiram uma biomassa final de 1,34 e 1,28 g/L, respectivamente, cujos aumentos correspondem a 168 % e 156 % comparando com a biomassa inicial. As menores densidades celulares finais compreendem as fontes de luz amarelo e vermelho, sendo de 1,19 e 1,15 g/L, respectivamente. Com isso, os incrementos na biomassa foram de 138 % e 130 % em relação a biomassa inicial, nessa respectiva ordem. Nesse experimento, o crescimento da *R. capsulatus* diminui com o aumento do comprimento de onda, apresentando a seguinte classificação: azul > branco > verde > amarelo > vermelho.

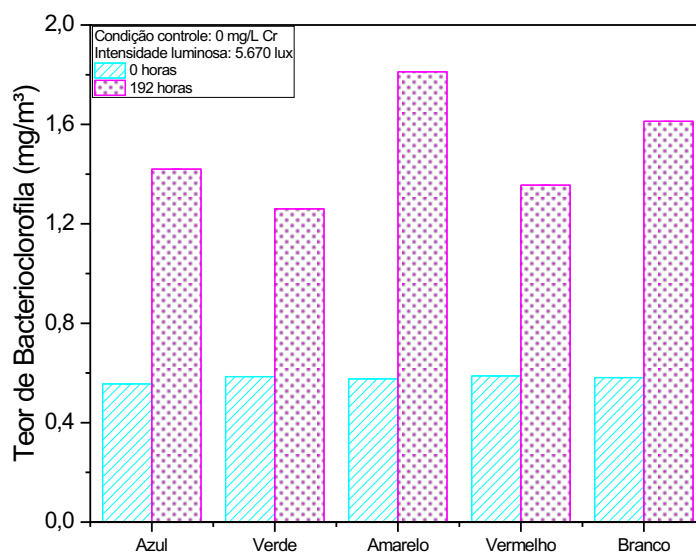
De acordo com os estudos de Kuo, Chien e Chen (2012) que investigaram os efeitos de oito fontes de luz na produção de biomassa da bactéria fotossintética *Rhodospseudomonas palustris* cultivadas por 144 horas sob intensidade luminosa de 2.000 lux, foi constatado que a melhor condição de fonte de luz para o crescimento celular foi o LED azul. Sabe-se que o pico de intensidade da luz azul é de aproximadamente 470 nm. Por outro lado, o pico de intensidade de luz amarelo é de aproximadamente 595 nm, sendo que apresentou o pior desempenho

comparando com todas as condições de iluminação. A classificação das fontes de luz em relação ao crescimento celular da maior produtividade para a menor foi: (LED azul = lâmpada incandescente) > lâmpada fluorescente > LED branco $\geq$ lâmpada de halogênio > LED vermelho $\geq$ (LED verde = LED amarelo). Desta forma, o Ensaio 11 (condição controle) encontra-se em conformidade com esse estudo, uma vez que as melhores fontes de luz foram o LED azul e branco, os quais desempenharam melhor eficiência na produção de biomassa.

Além disso, é importante mencionar que entre 48 e 96 horas o conteúdo de biomassa manteve-se praticamente constante para as fontes de luz verde, azul e amarelo, seguido de um crescimento acelerado até o final da fermentação. Enquanto que para as condições de luz branca e vermelho, verifica-se um crescimento contínuo no decorrer do tempo. Observou-se também que a variação de pH no decorrer da fermentação iniciou com 6,8 e ao final da fermentação atingiu 9,50.

Com o objetivo de adquirir um entendimento mais amplo da atividade metabólica das células bacterianas foi necessário avaliar a produtividade em relação ao conteúdo de pigmentos: bacterioclorofila e carotenoides. A Figura 5.25 apresenta o conteúdo de bacterioclorofila no início e no final da fermentação, enquanto que a Figura 5.26 representa o conteúdo de carotenoides.

Figura 5.25 Quantificação da bacterioclorofila no início e no final do Ensaio 11.

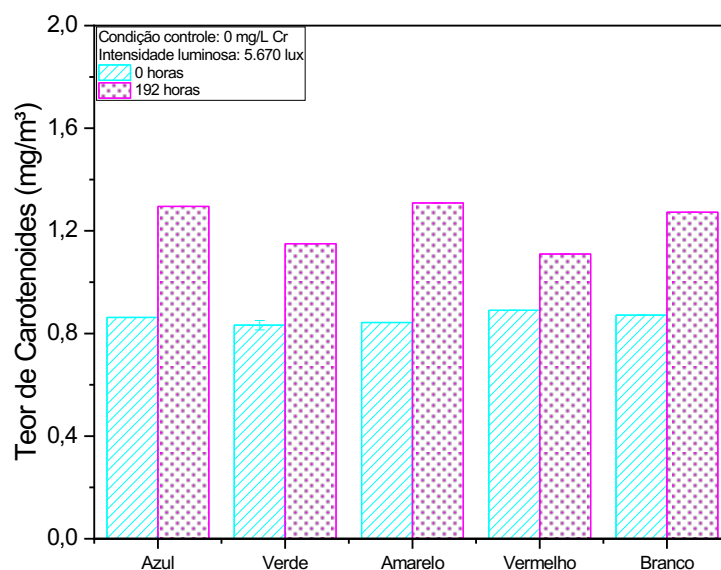


Condições operacionais: Temperatura ambiente: 25 – 32 °C; Intensidade luminosa: 5.670 lux; condição anaeróbica. Bactéria inoculada em meio de cultivo RCV (0 mg/L Cr) → $pH_{\text{inicial}} \sim 6,8$. Condições avaliadas: luz azul (470 nm), luz verde (520 nm), luz amarelo (595 nm), luz vermelho (630 nm), luz branco (460 nm).

Nesse ensaio, verifica-se através da Figura 5.25 que o teor inicial de bacterioclorofila variou de 0,56 a 0,59 mg/m³ e a máxima concentração foi de 1,81 mg/m³ alcançada pela fonte de luz amarelo, o que equivale um aumento de 214,42 % em relação ao conteúdo inicial de bacterioclorofila. Em seguida, as fontes de luz branco e azul atingiram 1,61 e 1,42 mg/m³ de bacterioclorofila, respectivamente. Com isso, os acréscimos no conteúdo de bacterioclorofila correspondem a 177,42 % e 155,29 % comparando com o teor inicial de bacterioclorofila, nessa respectiva ordem. Em relação as fontes de luz vermelho e verde, a concentração de bacterioclorofila final foi de 1,36 e 1,26 mg/m³, respectivamente, indicando um aumento de 130,46 % e 115,35 % em relação ao conteúdo inicial de bacterioclorofila, nessa mesma ordem.

Desta forma, observa-se que a tendência no efeito da fonte de luz no conteúdo de bacterioclorofila foi diferente em relação ao crescimento bacteriano, sendo classificado na seguinte ordem, da mais produtiva para a menos produtiva: amarelo > branco > azul > vermelho > verde.

Figura 5.26 Quantificação de carotenoides no início e no final do Ensaio 11.



Condições operacionais: Temperatura ambiente: 25 – 32 °C; Intensidade luminosa: 5.670 lux; condição anaeróbica. Bactéria inoculada em meio de cultivo RCV (0 mg/L Cr) → pH_{inicial} ~ 6,8. Condições avaliadas: luz azul (470 nm), luz verde (520 nm), luz amarelo (595 nm), luz vermelho (630 nm), luz branco (460 nm).

Quando se trata do teor de carotenoides, observa-se pela Figura 5.26 que a concentração inicial sofreu variações entre 0,83 e 0,89 mg/m³ e as condições de fontes de luz amarelo, azul e branco apresentaram maior produtividade alcançando 1,31; 1,29 e 1,27 mg/m³ de teor final de carotenoides, respectivamente. Os aumentos correspondem a 55,38 %, 50,18 % e 46,02 % em relação ao teor inicial de carotenoides, nessa respectiva ordem. Logo após, foram atingidos 1,15 e 1,11 mg/m³ de conteúdo final de carotenoides nas condições de fontes de luz verde e vermelho, respectivamente, com um aumento de 38,15 % e 24,62 % comparando com a concentração inicial de carotenoides, nessa mesma ordem.

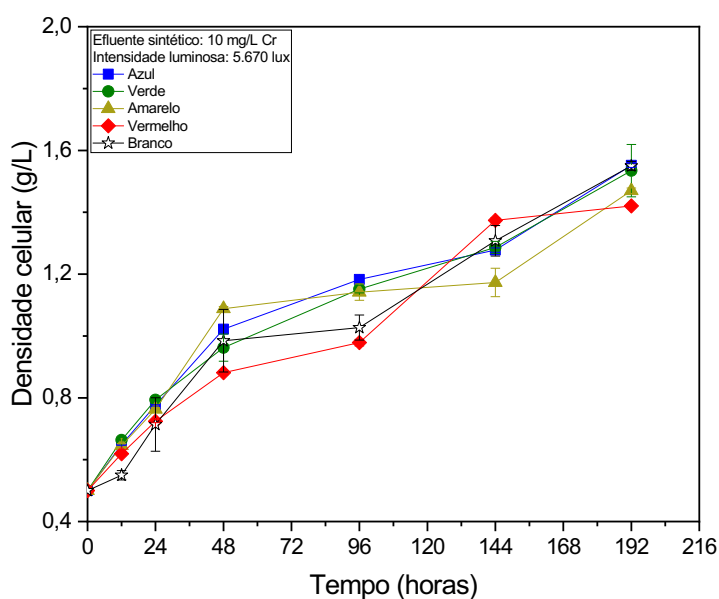
Desta forma, os efeitos das fontes de luz na produção de carotenoides em *R. capsulatus* foram classificados na seguinte ordem: amarelo > azul > branco > verde > vermelho. É importante ressaltar que esse pigmento pode absorver um espectro amplo que varia de 450 a 550 nm, além incluir a parte visível do espectro (ZHOU, ZHANG e ZHANG, 2015).

Conforme os estudos de Zhou, Zhang e Zhang (2015) que investigaram a produção de pigmentos em conjunto com o tratamento de águas residuárias utilizando bactérias fotossintéticas (*Rhodopseudomonas*) sob diferentes fontes de luz, aplicando intensidade luminosa de 2.000 lux, foi constatado que os efeitos das fontes de luz na produção de

carotenoides apresentaram a seguinte classificação da maior para a menor produção: LED amarelo > LED branco > LED azul > LED vermelho > lâmpada incandescente. Enquanto que os efeitos das fontes de luz na produção de bacterioclorofila foram classificados com a seguinte ordem: LED amarelo > LED azul > LED branco > LED vermelho > lâmpada incandescente. Nesse estudo, o teor de carotenoides foi superior ao teor de bacterioclorofila. Entretanto, nesse Ensaio 11 (condição controle) observa-se que o teor de bacterioclorofila foi superior ao conteúdo de carotenoides. Além disso, tanto nesse estudo como no Ensaio 11 (condição controle) as fontes de luz que destacaram na produção de pigmentos foram o LED amarelo, azul e branco.

No Ensaio 12 foi avaliado o comportamento do microrganismo submetido ao meio sintético de concentração inicial de cromo hexavalente de 10 mg/L nas mesmas condições de fontes de luz estabelecidas no ensaio anterior. A Figura 5.27 mostra a cinética de crescimento celular no decorrer da fermentação.

Figura 5.27 Cinética de crescimento celular do Ensaio 12.



Condições operacionais: Temperatura ambiente: 25 – 32 °C; Intensidade luminosa: 5.670 lux; condição anaeróbica. Bactéria inoculada em efluente sintético (RCV+ Cr) de concentração inicial de 10 mg/L de Cr (VI) → pH_{inicial} ~ 6,8. Condições avaliadas: luz azul (470 nm), luz verde (520 nm), luz amarelo (595 nm), luz vermelho (630 nm), luz branco (460 nm).

Analisando o gráfico da Figura 5.27, é possível visualizar que a biomassa final atingiu valores maiores que no ensaio anterior (Ensaio 11 – condição controle) em todas as condições

avaliadas. Esse fato está relacionado com a presença de cromo, no qual os microrganismos consomem o metal pesado como fonte de energia direcionando para o seu crescimento (TANG et al., 2007). Verifica-se que as condições de fontes de luz azul e branco atingiram a mesma densidade celular final de 1,55 g/L, sendo um aumento de 210 % em relação a biomassa inicial. Em seguida, a fonte de luz verde obteve 1,53 g/L de biomassa final que corresponde um incremento de 206 % comparando com a biomassa inicial. As menores concentrações celulares finais compreendem as fontes de luz amarelo e vermelho com 1,47 e 1,42 g/L, respectivamente. Os aumentos correspondem a 194 % e 184 % comparando com a biomassa inicial, respectivamente.

Com isso, foi identificado o mesmo comportamento do ensaio anterior (Ensaio 11 – condição controle), em que o crescimento celular diminuiu com o aumento do comprimento de onda. Portanto, a classificação do efeito da fonte de luz na produção de biomassa pode ser apresentada da seguinte forma: azul $\geq$ branco > verde > amarelo > vermelho.

Foi relatado em outro estudo que avaliou os efeitos de diferentes comprimentos de onda na taxa de crescimento e no peso das células secas em *Rhodobacter sphaeroids* obtendo a seguinte classificação: LED azul (430 – 480 nm) > LED verde (490 – 530 nm) > LED branco (comprimento de onda misto) > LED vermelho (645 – 700 nm) > lâmpada fluorescente (400 – 700 nm) > infravermelho (> 780 nm) (LEE et al., 2011). Nota-se que nesse trabalho, o crescimento celular de *R. sphaeroids* diminuiu com o aumento do comprimento de onda.

Entretanto, no trabalho de Zhou, Zhang e Zhang (2015) que objetivaram melhorar o crescimento celular e a produção de pigmentos em conjunto com o tratamento de águas residuárias utilizando bactérias fotossintéticas (*Rhodospseudomonas*) sob diferentes fontes de luz, aplicando intensidade luminosa de 2.000 lux, os resultados mostraram que a fonte de luz ideal para a produção de biomassa foi o LED vermelho.

Com isso, observa-se que a classificação das fontes de luz da mais produtiva para a menos produtiva sofre variações, sugerindo estar relacionada com o tempo de cultivo, o uso de diferentes cepas de bactérias fotossintéticas e o meio de cultura, uma vez que diferentes cepas de bactérias fotossintéticas apresentam espectros de absorção diferentes.

Além de avaliar a cinética de crescimento celular, é importante considerar a cinética de remoção de cromo hexavalente e cromo total apresentados nas Tabelas 5.12 e 5.13, respectivamente. A Figura 5.28 representa a concentração de cromo total *versus* tempo.

Tabela 5.12 Eficiência de remoção de cromo hexavalente do Ensaio 12.

Tempo (horas)	Efluente sintético de concentração inicial de cromo hexavalente de 10 mg/L				
	Azul	Verde	Amarelo	Vermelho	Branco
0	0 %	0 %	0 %	0 %	0 %
0,5	100 %	100 %	100 %	100 %	100 %

De acordo com os resultados obtidos na Tabela 5.12, observa-se que para todas as fontes de luz, a remoção de cromo hexavalente foi completa em 30 minutos, o que já era esperado, devido a implementação da intensidade luminosa de 5.670 lux considerada a condição ótima para a eficiência de remoção de cromo. Em relação ao controle de pH, foi verificado uma variação de 6,8 a 9,30.

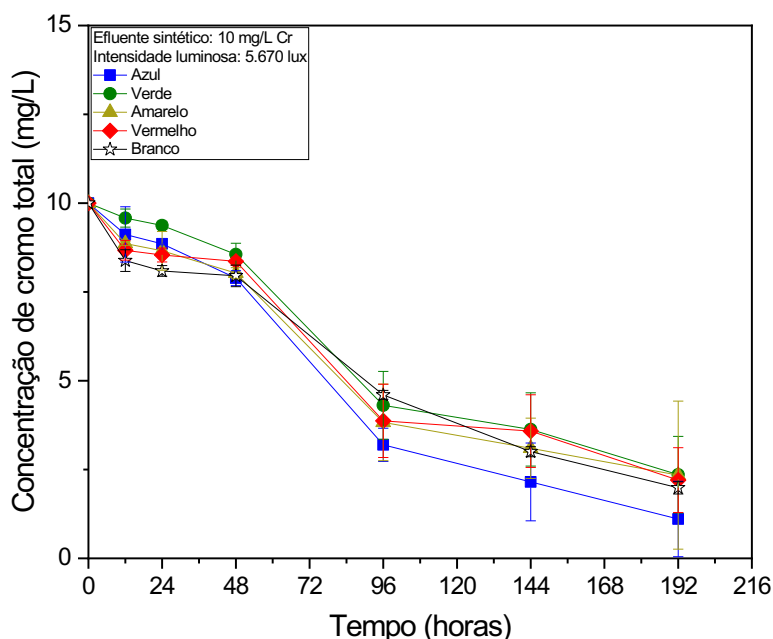
Tabela 5.13 Eficiência de remoção de cromo total do Ensaio 12.

Tempo (horas)	Efluente sintético de concentração inicial de cromo hexavalente de 10 mg/L				
	Azul	Verde	Amarelo	Vermelho	Branco
0	0 ± 0 %	0 ± 0 %	0 ± 0 %	0 ± 0 %	0 ± 0 %
12	8,8 ± 0,8 %	4,2 ± 0,3 %	11,3 ± 0,1 %	13,3 ± 0,3 %	16,1 ± 0,3 %
24	11,5 ± 0 %	6,3 ± 0,1 %	13,4 ± 0,5 %	14,6 ± 0,2 %	19,1 ± 0,1 %
48	21,1 ± 0,2 %	14,4 ± 0,3 %	19,7 ± 0,2 %	16,4 ± 0,1 %	20,5 ± 0,3 %
96	68,0 ± 0,5 %	56,9 ± 0,9 %	61,7 ± 1,1 %	61,3 ± 1,0 %	54,0 ± 0,1 %
144	78,5 ± 1,1 %	63,7 ± 1,0 %	69,0 ± 0,8 %	64,2 ± 1,0 %	69,9 ± 0,1 %
192	88,9 ± 0,9 %	76,4 ± 1,1 %	76,6 ± 2,1 %	78,0 ± 0,9 %	80,1 ± 0,2 %

Quando se trata do cromo total apresentado na Tabela 5.13, verifica-se que a máxima remoção foi de 88,9 % na condição de fonte de luz azul, seguido da fonte de luz branca com 80,1 %. Enquanto que as demais condições de fontes de luz vermelho, amarelo e verde apresentaram uma remoção de 78,0 %, 76,6 % e 76,4 %, respectivamente.

Com isso, é possível concluir que no processo de remediação do cromo através do uso de microrganismo, a fonte de luz azul e branco apresentaram o maior desempenho na remoção de cromo, uma vez que nessas condições foram obtidos a maior produção de biomassa, consequentemente, o maior número de células promoveu uma melhor eficiência na remoção de cromo. Já que as demais fontes de luz vermelho, amarelo e verde apresentaram taxas de remoção com valores próximos.

Figura 5.28 Cinética de concentração de cromo total do Ensaio 12.

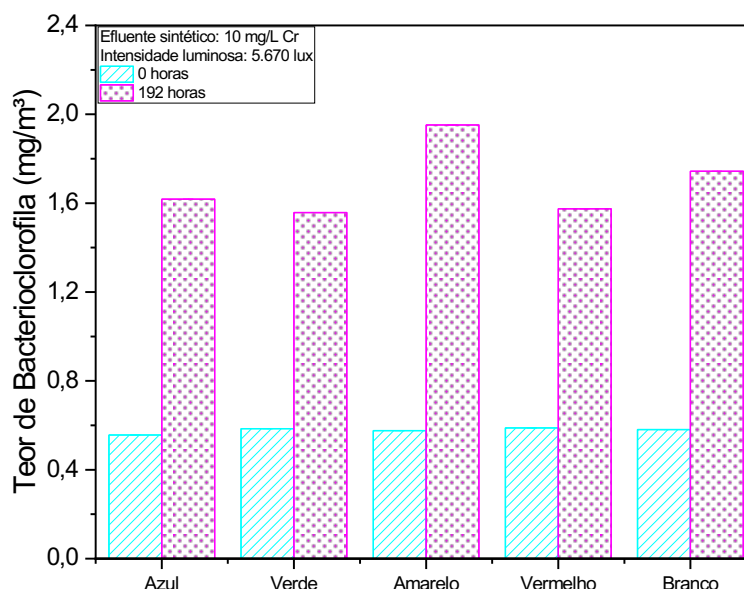


Condições operacionais: Temperatura ambiente: 25 – 32 °C; Intensidade luminosa: 5.670 lux; condição anaeróbica. Bactéria inoculada em efluente sintético (RCV+ Cr) de concentração inicial de 10 mg/L de Cr (VI) → $\text{pH}_{\text{inicial}} \sim 6,8$. Condições avaliadas: luz azul (470 nm), luz verde (520 nm), luz amarelo (595 nm), luz vermelho (630 nm), luz branco (460 nm).

A partir dos dados apresentados na Figura 5.28, observa-se uma queda entre 48 e 96 horas, além do mais, é importante ressaltar que após a remoção total do cromo hexavalente no período de 30 minutos, o cromo total corresponde ao cromo trivalente. Sabe-se que o cromo trivalente é menos tóxico que o cromo hexavalente, indicando que o microrganismo utiliza o metal para aumentar a produção de biomassa e, também, para atender as suas atividades metabólicas. A concentração final de cromo total atingiu 1,11 mg/L na condição de fonte de luz azul, enquanto que as demais fontes de luz branco, vermelho, amarelo e verde obtiveram uma concentração final de 1,98; 2,20; 2,34 e 2,36 mg/L de cromo total, respectivamente.

Com o objetivo de adquirir uma visão detalhada da viabilidade do microrganismo, as Figuras 5.29 e 5.30 mostram os conteúdos de bacterioclorofila e carotenoides no início e no final da fermentação, respectivamente.

Figura 5.29 Quantificação da bacterioclorofila no início e no final do Ensaio 12.

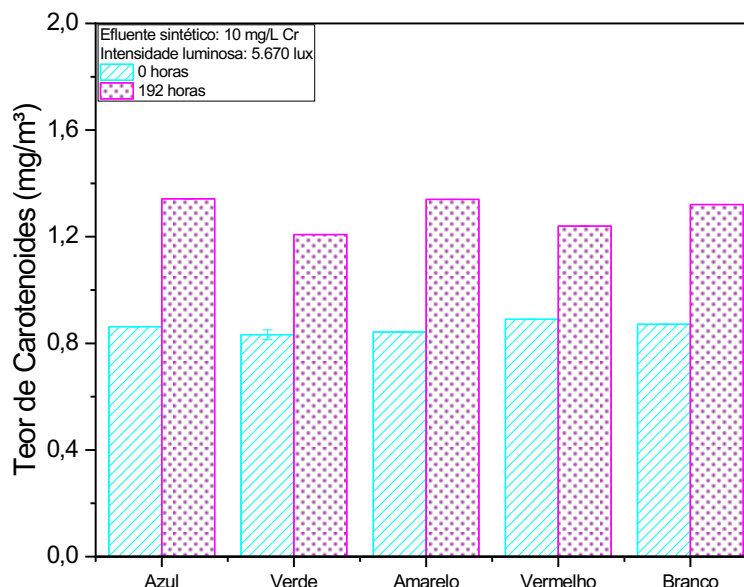


Condições operacionais: Temperatura ambiente: 25 – 32 °C; Intensidade luminosa: 5.670 lux; condição anaeróbica. Bactéria inoculada em efluente sintético (RCV+ Cr) de concentração inicial de 10 mg/L de Cr (VI) → pH_{inicial} ~ 6,8. Condições avaliadas: luz azul (470 nm), luz verde (520 nm), luz amarelo (595 nm), luz vermelho (630 nm), luz branco (460 nm).

Analisando a Figura 5.29, observa-se novamente que o teor inicial de bacterioclorofila variou de 0,56 a 0,59 mg/m³ e a máxima concentração de bacterioclorofila foi de 1,95 mg/m³ na condição de fonte de luz amarelo representando um aumento de 238,74 % comparando com o teor inicial de bacterioclorofila. Em seguida, destacam-se as fontes de luz branco e azul atingindo 1,74 e 1,62 mg/m³, respectivamente, indicando um aumento de 199,94 % e 190,83 % em relação ao teor inicial de bacterioclorofila, nessa respectiva ordem. Os menores conteúdos de bacterioclorofila foram de 1,57 e 1,56 mg/m³ encontrados nas condições de fontes de luz vermelho e verde, respectivamente, correspondendo um aumento de 167,69 % e 166,22 % em relação ao conteúdo inicial de bacterioclorofila, nessa mesma ordem.

Em síntese, é possível visualizar o mesmo comportamento do ensaio anterior (Ensaio 11 – condição controle) em relação ao efeito da fonte de luz no conteúdo de bacterioclorofila, apresentando a mesma classificação: amarelo > branco > azul > vermelho > verde.

Figura 5.30 Quantificação de carotenoides no início e no final do Ensaio 12.



Condições operacionais: Temperatura ambiente: 25 – 32 °C; Intensidade luminosa: 5.670 lux; condição anaeróbica. Bactéria inoculada em efluente sintético (RCV+ Cr) de concentração inicial de 10 mg/L de Cr (VI) → pH_{inicial} ~ 6,8. Condições avaliadas: luz azul (470 nm), luz verde (520 nm), luz amarelo (595 nm), luz vermelho (630 nm), luz branco (460 nm).

Por meio da análise da Figura 5.30, é possível constatar que o teor inicial de carotenoides variou de 0,83 a 0,89 mg/m³ e a maior produção de carotenoides foi verificada nas condições de fontes de luz amarelo e azul apresentando um aumento de 59,05 % e 55,63 % em comparação com o teor inicial de carotenoides, respectivamente. A seguir, destaca-se a fonte de luz branca que alcançou 1,32 mg/m³ de teor final de carotenoides, que corresponde um aumento de 51,57 % em relação ao teor inicial de carotenoides. Enquanto que as condições de fontes de luz verde e vermelho apresentaram incrementos no conteúdo de carotenoides de 45,10 % e 39,25 %, respectivamente. Além disso, é importante mencionar que os teores de bacterioclorofila e carotenoides foram superiores ao ensaio anterior (Ensaio 11 – condição controle).

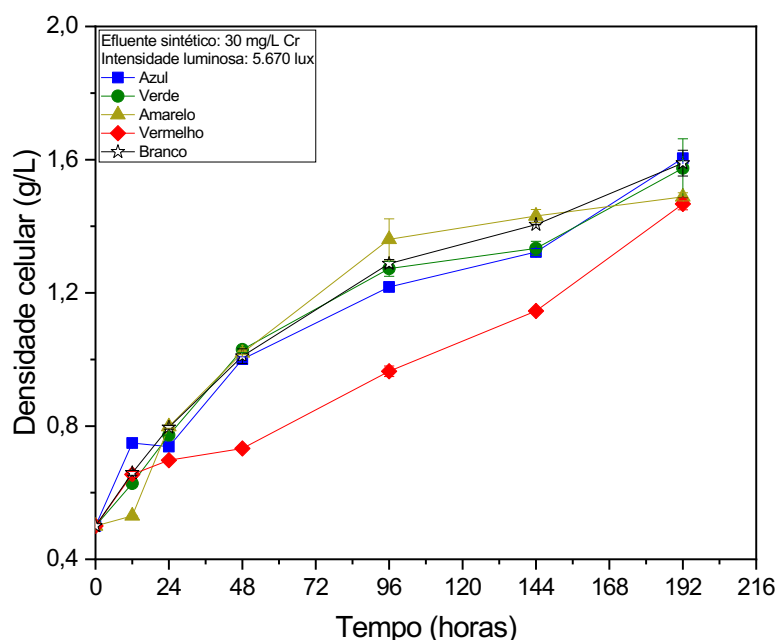
Com isso, a classificação dos efeitos das fontes de luz no teor de carotenoides apresentou a mesma tendência do ensaio anterior (Ensaio 11 – condição controle): amarelo > azul > branco > verde > vermelho.

De acordo com os estudos de Kuo, Chien e Chen (2012) que investigaram os efeitos de oito fontes de luz no conteúdo de carotenoides da bactéria fotossintética *Rhodospseudomonas palustris* cultivadas por 144 horas sob intensidade luminosa de 2.000 lux, foi relatado a seguinte

ordem de classificação da mais produtiva para a menos produtiva: LED azul > Lâmpada incandescente $\geq$ LED amarelo $\geq$ (Lâmpada de halogênio = LED vermelho = LED verde) $\geq$ LED branco $\geq$ Lâmpada fluorescente. Foram identificados oito carotenoides principais e seus derivados em *R. palustris* (IMHOFF, 2004), sendo que os picos desses carotenoides se sobrepõem em comprimentos de onda que variam de 400 a 600 nm. Desta forma, conforme esse estudo, as fontes de luz provenientes de LED azul, LED amarelo, LED branco e LED verde apresentaram alta produtividade de carotenoides, pois os comprimentos de onda cujos respectivos picos de intensidade de luz encontram-se englobados nessa faixa de comprimento de onda. Desta forma, o Ensaio 12 (efluente sintético de concentração inicial de cromo hexavalente de 10 mg/L) apresentou o mesmo comportamento que esse estudo.

O Ensaio 13 consistiu em avaliar a potencialidade do microrganismo no efluente sintético de concentração inicial de 30 mg/L de cromo hexavalente nas mesmas condições determinadas nos ensaios anteriores. A Figura 5.31 representa a cinética de crescimento celular ao longo da fermentação.

Figura 5.31 Cinética de crescimento celular do Ensaio 13.



Condições operacionais: Temperatura ambiente: 25 – 32 °C; Intensidade luminosa: 5.670 lux; condição anaeróbica. Bactéria inoculada em efluente sintético (RCV+ Cr) de concentração inicial de 30 mg/L de Cr (VI) $\rightarrow$ pH_{inicial} ~ 6,8. Condições avaliadas: luz azul (470 nm), luz verde (520 nm), luz amarelo (595 nm), luz vermelho (630 nm), luz branco (460 nm).

A partir da Figura 5.31, verifica-se que as máximas densidades celulares foram alcançadas nas condições de fontes de luz azul, branco e verde, sendo de 1,60; 1,59 e 1,57 g/L, respectivamente. Com isso, os incrementos na biomassa correspondem a 220 %, 218 % e 214 % comparando com biomassa inicial, nessa respectiva ordem. As demais condições de fontes de luz amarelo e vermelho atingiram uma biomassa final de 1,49 e 1,47 g/L, respectivamente, que corresponde um aumento de 198 % e 194 % em relação a biomassa inicial, nessa mesma ordem.

Cabe ressaltar ainda que nesse experimento os aumentos no teor de biomassa foram maiores do que no ensaio anterior (Ensaio 12 – efluente sintético de concentração inicial de cromo hexavalente de 10 mg/L). Isso está relacionado com a quantidade de cromo utilizado, uma vez que nesse experimento havia uma concentração inicial de 30 mg/L de cromo destinado como fonte de nutriente para o crescimento celular do microrganismo.

Além disso, o conteúdo de biomassa aumenta com a diminuição do comprimento de onda, apresentando o mesmo comportamento dos ensaios anteriores (Ensaio 11 – condição controle e Ensaio 12 – efluente sintético de concentração inicial de cromo hexavalente de 10 mg/L), mostrando que as fontes de luz azul e branco são considerados as melhores condições para o crescimento celular.

De forma complementar foi avaliado a cinética de remoção de cromo hexavalente e cromo total apresentados nas Tabelas 5.14 e 5.15, respectivamente, enquanto que o gráfico de concentração de cromo total está exposto na Figura 5.32.

Tabela 5.14 Eficiência de remoção de cromo hexavalente do Ensaio 13.

Tempo (horas)	Efluente sintético de concentração inicial de cromo hexavalente de 30 mg/L				
	Azul	Verde	Amarelo	Vermelho	Branco
0	0 %	0 %	0 %	0 %	0 %
0,5	100 %	100 %	100 %	100 %	100 %

Conforme os dados apresentados na Tabela 5.14, verifica-se que a remoção total de cromo hexavalente ocorreu em 30 minutos para todas as condições avaliadas. Esse resultado já era esperado devido a utilização da melhor condição de intensidade luminosa de 5.670 lux. Além disso, nesse ensaio a variação de pH foi de 6,8 a 9,85.

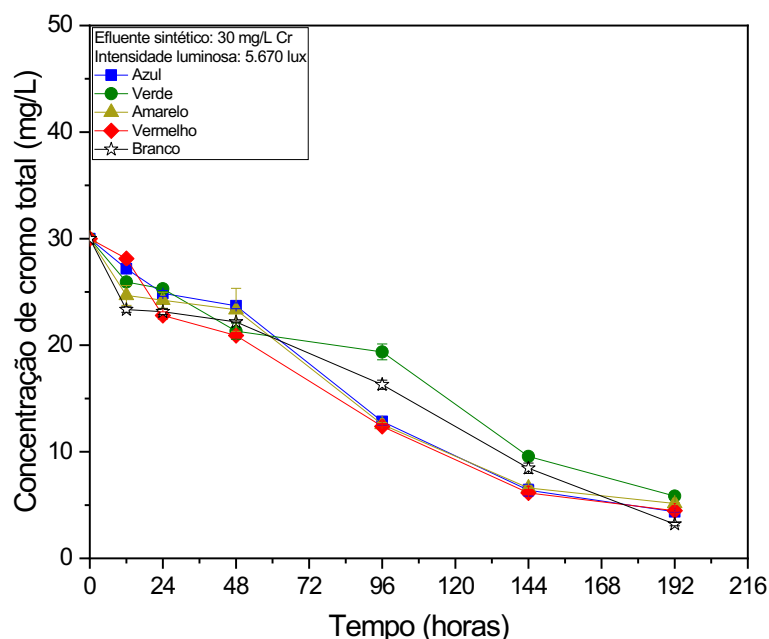
Tabela 5.15 Eficiência de remoção de cromo total do Ensaio 13.

Tempo (horas)	Efluente sintético de concentração inicial de cromo hexavalente de 30 mg/L				
	Azul	Verde	Amarelo	Vermelho	Branco
0	0 ± 0 %	0 ± 0 %	0 ± 0 %	0 ± 0 %	0 ± 0 %
12	9,4 ± 0,2 %	13,5 ± 0,1 %	17,7 ± 0,9 %	6,2 ± 0,1 %	22,2 ± 0,2 %
24	17,1 ± 0,3 %	15,7 ± 0,3 %	19,3 ± 0,7 %	24,0 ± 0,3 %	22,8 ± 0,3 %
48	21,0 ± 0,3 %	28,9 ± 0,8 %	22,2 ± 2,0 %	30,3 ± 0,2 %	26,0 ± 0,1 %
96	57,2 ± 0,4 %	35,4 ± 0,7 %	58,1 ± 0,2 %	58,7 ± 0 %	45,7 ± 0,4 %
144	78,7 ± 0,6 %	68,1 ± 0,2 %	77,9 ± 0 %	79,5 ± 0,1 %	71,8 ± 0,5 %
192	85,4 ± 0 %	80,5 ± 0,1 %	82,8 ± 0,1 %	85,1 ± 0,1 %	89,3 ± 0,2 %

Observa-se que em relação ao cromo total apresentado na Tabela 5.15, a remoção atingiu um máximo de 89,3 % na condição de fonte de luz branco, seguido das fontes de luz azul e vermelho com uma remoção máxima de 85,4 % e 85,1 %, respectivamente. Enquanto que as menores remoções foram de 82,8 % e 80,5 % nas condições de fontes de luz amarelo e verde. É importante mencionar que nesse ensaio os valores de remoção foram superiores ao ensaio anterior (Ensaio 12 – efluente sintético de concentração inicial de cromo hexavalente de 10 mg/L). Uma explicação para isso deve-se ao fato dos elevados teores de biomassa, e também pela razão dos microrganismos serem resistentes a determinadas concentrações de metais pesados, uma vez que podem interagir diretamente com os metais pesados. Além disso, são capazes de sobreviver em condições ambientais extremas, aumentando a sua tolerância aos metais pesados.

Quando se trata da relação das fontes de luz com o processo de biorremediação do cromo, observa-se novamente que as maiores remoções de cromo total foram atingidas pelas fontes de luz branco e azul, já que nessas condições foram obtidos os maiores teores de biomassa que facilitou o processo de remoção do cromo. Com isso, a classificação pode ser apresentada da seguinte forma contemplando do maior desempenho para o menor desempenho: branco > azul > vermelho > amarelo > verde.

Figura 5.32 Cinética de concentração de cromo total do Ensaio 13.

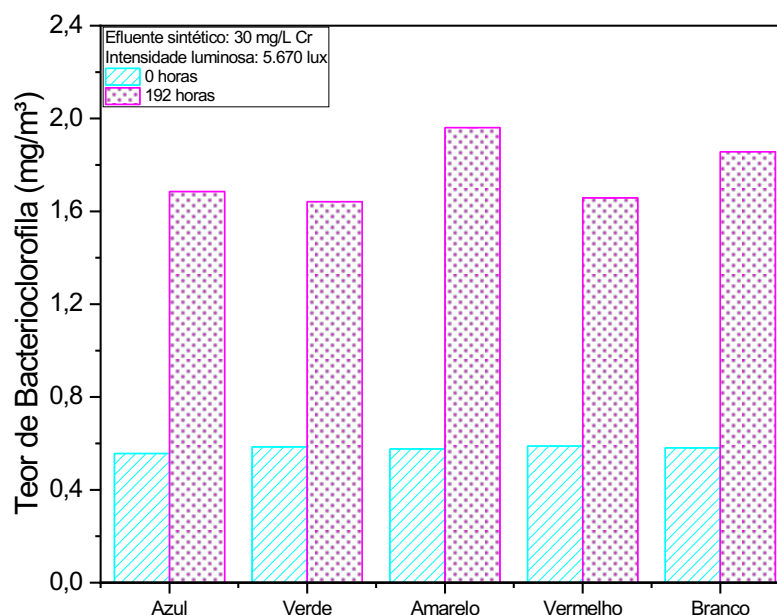


Condições operacionais: Temperatura ambiente: 25 – 32 °C; Intensidade luminosa: 5.670 lux; condição anaeróbica. Bactéria inoculada em efluente sintético (RCV+ Cr) de concentração inicial de 30 mg/L de Cr (VI) → $pH_{inicial} \sim 6,8$. Condições avaliadas: luz azul (470 nm), luz verde (520 nm), luz amarelo (595 nm), luz vermelho (630 nm), luz branco (460 nm).

Com base nos resultados obtidos de remoção de cromo total apresentados na Tabela 5.15 e no gráfico da Figura 5.32, verifica-se que ao final da fermentação a concentração de cromo total atingiu 3,21 mg/L para a condição de fonte de luz branco. Em seguida, para as condições de fontes de luz azul e vermelho, as concentrações finais de cromo total foram 4,37 e 4,47 mg/L, respectivamente. Enquanto que as menores remoções de cromo foram verificadas nas condições de fontes de luz amarelo e verde, com isso as concentrações finais de cromo total alcançaram 5,14 e 5,84 mg/L, nessa respectiva ordem. Assim, deve-se ressaltar que as concentrações finais de cromo total são baixas, porém não se enquadram nos limites máximos permitidos pela norma da CONAMA. Além disso, observa-se uma queda expressiva entre 48 e 144 horas para as fontes de luz avaliadas, com exceção da fonte de luz verde que se manteve praticamente constante entre 48 e 96 horas, e após esse período apresentou um declínio acentuado.

Nesse ensaio também foi quantificado a síntese de bacterioclorofila e carotenoides representados nas Figuras 5.33 e 5.34, respectivamente.

Figura 5.33 Quantificação da bacterioclorofila no início e no final do Ensaio 13.

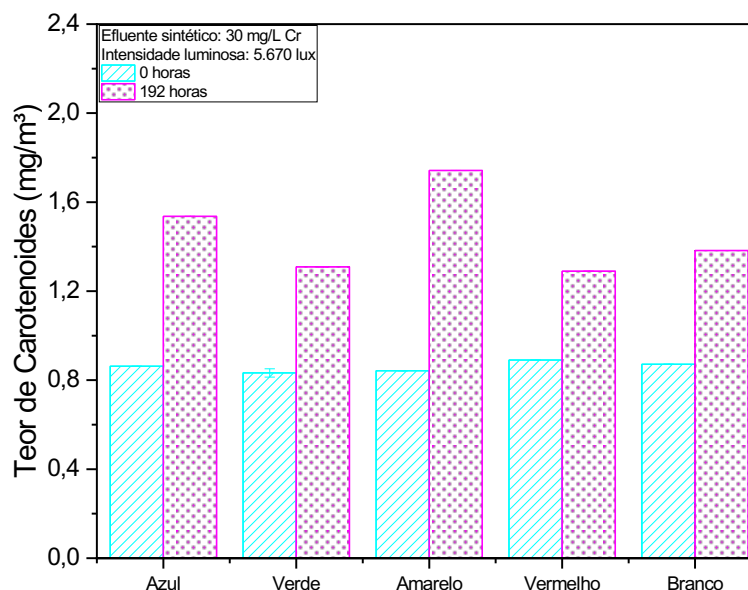


Condições operacionais: Temperatura ambiente: 25 – 32 °C; Intensidade luminosa: 5.670 lux; condição anaeróbica. Bactéria inoculada em efluente sintético (RCV+ Cr) de concentração inicial de 30 mg/L de Cr (VI) → $\text{pH}_{\text{inicial}} \sim 6,8$. Condições avaliadas: luz azul (470 nm), luz verde (520 nm), luz amarelo (595 nm), luz vermelho (630 nm), luz branco (460 nm).

Através da análise da Figura 5.33, percebe-se que o conteúdo inicial de bacterioclorofila variou de 0,56 a 0,59 mg/m³ e os maiores teores de bacterioclorofila encontram-se nas condições de fontes de luz amarelo, branco e azul, sendo de 1,96; 1,86 e 1,68 mg/m³, respectivamente. Os incrementos alcançados nessas condições foram de 240,22 %, 219,52 % e 203,02 % em relação ao teor inicial de bacterioclorofila, nessa respectiva ordem. Enquanto que para as condições de fontes de luz vermelho e verde, os aumentos no conteúdo de bacterioclorofila foram de 181,78 % e 180,61 %, respectivamente. Além disso, deve-se ressaltar que os incrementos no teor de bacterioclorofila foram maiores que no ensaio anterior (Ensaio 12 – efluente sintético de concentração inicial de cromo hexavalente de 10 mg/L) em função do maior desempenho na produção de biomassa.

Desta forma, a relação do efeito da fonte de luz no teor de bacterioclorofila apresenta o mesmo comportamento dos ensaios anteriores (Ensaio 11 – condição controle e Ensaio 12 – efluente sintético de concentração inicial de cromo hexavalente de 10 mg/L), apresentando a seguinte classificação: amarelo > branco > azul > vermelho > verde.

Figura 5.34 Quantificação de carotenoides no início e final do Ensaio 13.



Condições operacionais: Temperatura ambiente: 25 – 32 °C; Intensidade luminosa: 5.670 lux; condição anaeróbica. Bactéria inoculada em efluente sintético (RCV+ Cr) de concentração inicial de 30 mg/L de Cr (VI) → $\text{pH}_{\text{inicial}} \sim 6,8$. Condições avaliadas: luz azul (470 nm), luz verde (520 nm), luz amarelo (595 nm), luz vermelho (630 nm), luz branco (460 nm).

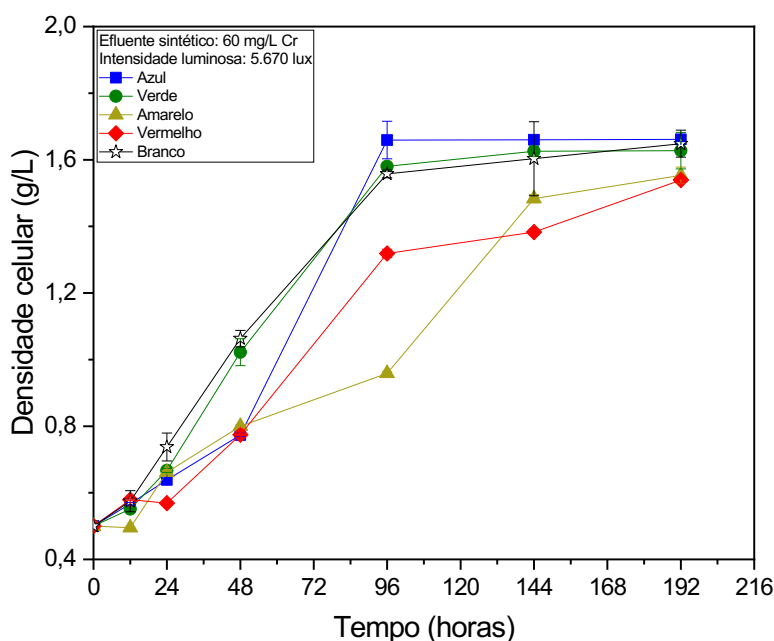
Verifica-se pela Figura 5.34 que o teor inicial de carotenoides variou de 0,83 a 0,89 mg/m^3 e as condições de fontes de luz amarelo e azul atingiram as maiores concentrações finais de carotenoides que foram de 1,74 e 1,54 mg/m^3 , respectivamente. Com isso, os aumentos correspondem a 106,77 % e 78,09 % comparando com o teor inicial de carotenoides, nessa respectiva ordem. Já as condições de fontes de luz branco, verde e vermelho apresentaram incrementos de 58,64 %, 57,28 % e 44,81 % em relação ao teor inicial de carotenoides, respectivamente. Ademais, é importante esclarecer que nesse experimento os aumentos verificados no conteúdo de carotenoides foram superiores ao ensaio anterior (Ensaio 12 – efluente sintético de concentração inicial de cromo hexavalente de 10 mg/L) em função dos elevados valores de densidade celular final.

Assim, os efeitos das fontes de luz no teor de carotenoides apresentaram a mesma tendência dos ensaios anteriores (Ensaio 11 – condição controle e Ensaio 12 – efluente sintético de concentração inicial de cromo hexavalente de 10 mg/L), apresentando a seguinte classificação: amarelo > azul > branco > verde > vermelho.

No estudo de Kuo, Chien e Chen (2012) foi demonstrado que a luz azul emite espectros na faixa de 400 a 495 nm, sendo absorvida pelo carotenoide, enquanto que a luz vermelha emite espectros dentro da faixa de 620 a 800 nm, sendo parcialmente absorvido pela bacterioclorofila. Como os carotenoides e bacterioclorofila são os principais pigmentos de coleta de luz encontrados nas bactérias fotossintéticas (CHEN, HAN e GU, 2006), com isso, é possível que diferentes capacidades de absorção dos pigmentos indique a melhor condição de fonte de luz.

Por fim, o Ensaio 14 consistiu em analisar a eficiência da bactéria *R. capsulatus* no efluente sintético de concentração inicial de cromo hexavalente de 60 mg/L para todas as condições de fontes de luz. Assim, a Figura 5.35 representa a cinética de crescimento celular ao longo da fermentação.

Figura 5.35 Cinética de crescimento celular do Ensaio 14.



Condições operacionais: Temperatura ambiente: 25 – 32 °C; Intensidade luminosa: 5.670 lux; condição anaeróbica. Bactéria inoculada em efluente sintético (RCV+ Cr) de concentração inicial de 60 mg/L de Cr (VI) → pH_{inicial} ~ 6,8. Condições avaliadas: luz azul (470 nm), luz verde (520 nm), luz amarelo (595 nm), luz vermelho (630 nm), luz branco (460 nm).

De acordo com a Figura 5.35, observa-se que para as condições de fontes de luz azul, branco e verde, as densidades celulares finais atingiram 1,66; 1,63 e 1,65 g/L, respectivamente. Com isso, nessas condições foram obtidos os maiores aumentos de biomassa, sendo de 232 %, 230 % e 226 % comparando com a biomassa inicial, nessa respectiva ordem. Já as condições

de fontes de luz amarelo e vermelho apresentaram uma biomassa final de 1,55 e 1,54 g/L, respectivamente, com um aumento de 210 % e 208 % em relação a biomassa inicial, nessa mesma ordem.

Verifica-se que os valores de biomassa final foram superiores ao ensaio anterior (Ensaio 13 – efluente sintético de concentração inicial de cromo hexavalente de 30 mg/L), indicando mais uma vez que o cromo é destinado como fonte de energia para o crescimento celular. Deve-se destacar ainda a mesma tendência identificada nos ensaios anteriores em que o teor de biomassa diminui com o aumento do comprimento de onda, apresentado a seguinte classificação em relação ao efeito da fonte de luz na produção de biomassa: azul > branco > verde > amarelo > vermelho.

Foi relatado que fontes de luz de diversos comprimentos de onda emitidos por LEDs produziram efeitos de forma diferente no crescimento celular e na produção de astaxantina na microalga *Haematococcus pluvialis* (KATSUDA et al., 2004). Com isso, diversos estudos recomendam a combinação de iluminação por LEDs com vários comprimentos de onda, a fim de maximizar a eficiência de um produto final específico. Como exemplo, nesse estudo de Katsuda et al. (2004), foi utilizado inicialmente LED vermelho para melhorar a produção de biomassa, em seguida, implantaram uma iluminação de comprimento de onda curto (380 – 470 nm), fornecido pelo LED azul. O objetivo dessa combinação consistiu em induzir uma mudança morfológica em *H. pluvialis* e promover melhor eficiência na produção de astaxantina.

Nesse ensaio também foi avaliado a cinética de remoção de cromo hexavalente e cromo total no decorrer da fermentação, sendo apresentados nas Tabelas 5.16 e 5.17, respectivamente. A Figura 5.36 representa a concentração de cromo total *versus* tempo.

Tabela 5.16 Eficiência de remoção de cromo hexavalente do Ensaio 14.

Tempo (horas)	Efluente sintético de concentração inicial de cromo hexavalente de 60 mg/L				
	Azul	Verde	Amarelo	Vermelho	Branco
0	0 ± 0 %	0 ± 0 %	0 ± 0 %	0 ± 0 %	0 ± 0 %
0,5	93,7 ± 0,6 %	93,7 ± 0,2 %	93,6 ± 0,5 %	92,4 ± 0,2 %	93,1 ± 0,7 %
1	98,6 ± 0,2 %	98,5 ± 0,5 %	98,3 ± 0,5 %	97,9 ± 0,3 %	98,1 ± 0,2 %
2	100 ± 0 %	100 ± 0 %	100 ± 0 %	100 ± 0 %	100 ± 0 %

A partir da Tabela 5.16, observa-se que a remoção completa de cromo hexavalente ocorreu em 2 horas, demandando um tempo maior em relação aos Ensaios 12 e 13 (efluente

sintético de concentração de cromo hexavalente de 10 e 30 mg/L, respectivamente), indicando que o aumento da concentração de cromo, também aumenta o tempo de redução. Além disso, esse tempo necessário para atingir a remoção total de cromo hexavalente já era esperado, devido a utilização da melhor condição de intensidade luminosa de 5.670 lux. No que diz respeito ao controle de pH, observa-se que a variação foi de 6,8 a 9,73.

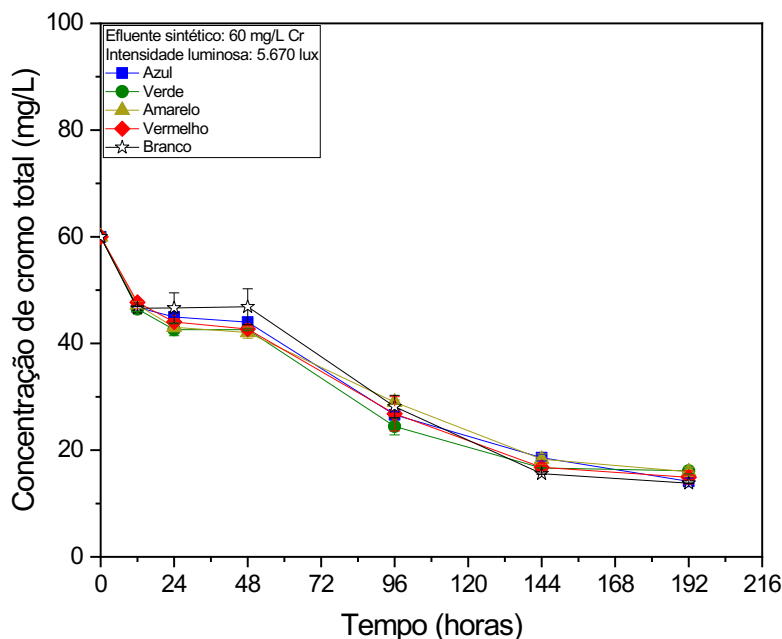
Tabela 5.17 Eficiência de remoção de cromo total do Ensaio 14.

Tempo (horas)	Efluente sintético de concentração inicial de cromo hexavalente de 60 mg/L				
	Azul	Verde	Amarelo	Vermelho	Branco
0	0 ± 0 %	0 ± 0 %	0 ± 0 %	0 ± 0 %	0 ± 0 %
12	22,0 ± 0,2 %	22,5 ± 0,5 %	21,3 ± 0,6 %	20,5 ± 0,3 %	21,9 ± 0,3 %
24	25,1 ± 0,1 %	29,0 ± 1,1 %	28,3 ± 0,8 %	26,6 ± 0,6 %	22,2 ± 2,8 %
48	26,7 ± 0,1 %	29,0 ± 0,2 %	29,9 ± 1,1 %	28,8 ± 0,6 %	22,3 ± 3,4 %
96	55,6 ± 0,5 %	59,2 ± 1,6 %	51,6 ± 0,4 %	55,3 ± 3,2 %	53,1 ± 2,1 %
144	69,0 ± 0,6 %	72,2 ± 0 %	69,5 ± 0,9 %	72,0 ± 0,6 %	73,9 ± 0,1 %
192	76,4 ± 0,6 %	73,1 ± 0,6 %	73,4 ± 0,9 %	75,2 ± 1,2 %	77,0 ± 0,1 %

Em relação a remoção de cromo total apresentada na Tabela 5.17, verifica-se que as maiores porcentagens foram alcançadas nas condições de fontes de luz branco e azul sendo de 77,0 % e 76,4 %, respectivamente. Em seguida, destacam-se as fontes de luz vermelho, amarelo e verde apresentando uma remoção de 75,2 %, 73,4 % e 73,1 %, respectivamente. Além disso, os valores atingidos de remoção de cromo total foram menores em relação aos Ensaios 12 e 13 (efluente sintético de concentração de cromo hexavalente de 10 e 30 mg/L, respectivamente), já que nesse experimento foi utilizado uma quantidade maior de cromo inicial e elevadas concentrações de cromo exigem um tempo maior de reação para obter a mesma eficiência ao utilizar concentrações menores de cromo. Ademais, mesmo apresentando um maior desempenho em relação a produção de biomassa, esse fator não foi suficiente para melhorar a remoção de cromo total.

Vale ressaltar ainda que a relação das fontes de luz com a eficiência na remoção de cromo total apresentou o mesmo comportamento do ensaio anterior (Ensaio 13 – efluente sintético de concentração inicial de cromo hexavalente de 30 mg/L), com a seguinte classificação: branco > azul > vermelho > amarelo > verde.

Figura 5.36 Cinética de concentração de cromo total do Ensaio 14.



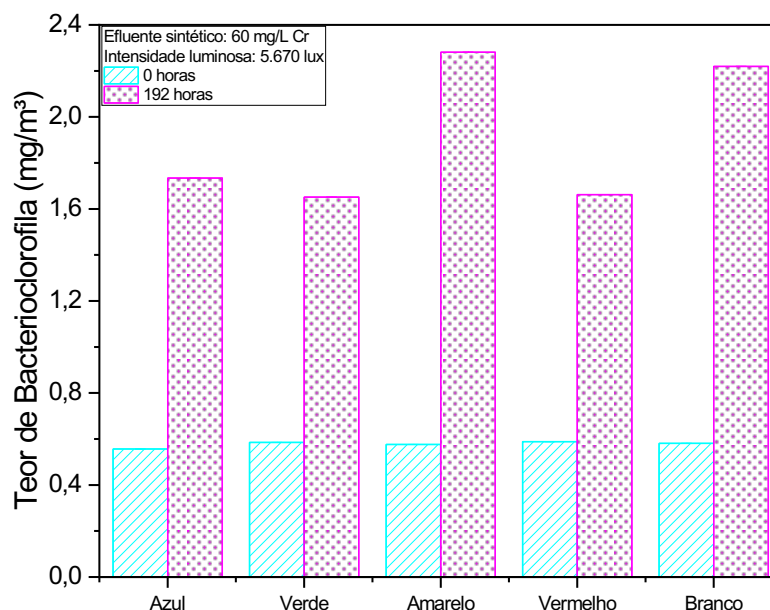
Condições operacionais: Temperatura ambiente: 25 – 32 °C; Intensidade luminosa: 5.670 lux; condição anaeróbica. Bactéria inoculada em efluente sintético (RCV+ Cr) de concentração inicial de 60 mg/L de Cr (VI) → pH_{inicial} ~ 6,8. Condições avaliadas: luz azul (470 nm), luz verde (520 nm), luz amarelo (595 nm), luz vermelho (630 nm), luz branco (460 nm).

A partir da análise da Figura 5.36, observa-se uma queda expressiva nas primeiras 12 horas que coincide com a remoção de cromo hexavalente, e também entre 48 e 144 horas, sendo que após esse período foi verificado um leve declínio na concentração de cromo total. É importante mencionar que após a remoção de cromo hexavalente que ocorreu em 2 horas de fermentação, o cromo total corresponde ao cromo trivalente, que é utilizado pelos microrganismos para suas atividades metabólicas.

Ao final da fermentação foram alcançados uma concentração de cromo total de 13,81 e 14,16 mg/L para as condições de fontes de luz branco e azul, respectivamente. Para as demais condições de fontes de luz vermelho, amarelo e verde, as concentrações finais de cromo total foram de 14,90; 15,96 e 16,14 mg/L, respectivamente. Desta forma, mesmo apresentando elevadas taxas de remoção de cromo total, não foi possível atender as normas ambientais.

Para obter uma visão detalhada da atividade metabólica do microrganismo, as Figuras 5.37 e 5.38 apresentam os teores de bacterioclorofila e carotenoides no início e no final da fermentação, respectivamente.

Figura 5.37 Quantificação da bacterioclorofila no início e no final do Ensaio 14.

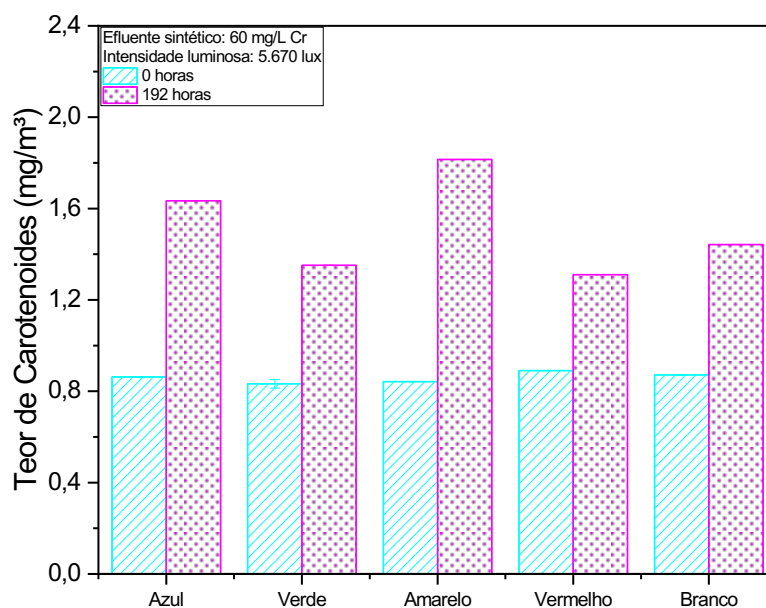


Condições operacionais: Temperatura ambiente: 25 – 32 °C; Intensidade luminosa: 5.670 lux; condição anaeróbica. Bactéria inoculada em efluente sintético (RCV+ Cr) de concentração inicial de 60 mg/L de Cr (VI) → $pH_{inicial} \sim 6,8$. Condições avaliadas: luz azul (470 nm), luz verde (520 nm), luz amarelo (595 nm), luz vermelho (630 nm), luz branco (460 nm).

Verifica-se pela Figura 5.37 que no início da fermentação a concentração de bacterioclorofila variou de 0,56 a 0,59 mg/m³ conforme observados nos ensaios anteriores. Os maiores teores de bacterioclorofila foram de 2,28 e 2,22 mg/m³ atingidos pelas condições de fontes de luz amarelo e branco, respectivamente. Assim, esses conteúdos de bacterioclorofila representam um aumento de 295,92 % e 281,89 % comparando com o teor inicial de bacterioclorofila, respectivamente. Para as condições de fontes de luz azul, vermelho e verde os incrementos no teor de bacterioclorofila foram próximos de 211,77 %, 182,57 % e 182,15 %, respectivamente. Vale ressaltar que esses aumentos no conteúdo de bacterioclorofila foram superiores ao ensaio anterior (Ensaio 13 – efluente sintético de concentração inicial de cromo hexavalente de 30 mg/L) em função dos elevados teores de biomassa.

Da mesma forma que nos ensaios anteriores, a maior produtividade de bacterioclorofila foi alcançada nas fontes de luz amarelo e branco, seguido das fontes de luz azul, vermelho e verde.

Figura 5.38 Quantificação de carotenoides no início e no final do Ensaio 14.



Condições operacionais: Temperatura ambiente: 25 – 32 °C; Intensidade luminosa: 5.670 lux; condição anaeróbica. Bactéria inoculada em efluente sintético (RCV+ Cr) de concentração inicial de 60 mg/L de Cr (VI) → $\text{pH}_{\text{inicial}} \sim 6,8$. Condições avaliadas: luz azul (470 nm), luz verde (520 nm), luz amarelo (595 nm), luz vermelho (630 nm), luz branco (460 nm).

Conforme já descrito nos ensaios anteriores e através da análise da Figura 5.38, observa-se que o teor inicial de carotenoides variou de 0,83 a 0,89 mg/m³ e as máximas concentrações de carotenoides foram de 1,81 e 1,63 mg/m³ alcançadas nas condições de fontes de luz amarelo e azul, respectivamente. Com isso, os aumentos correspondem a 115,41 % e 89,47 % em relação ao teor inicial de carotenoides, respectivamente. As condições de fontes de luz branco, verde e vermelho apresentaram incrementos de 65,53 %, 62,30 % e 47,18 %, respectivamente. Deve-se ressaltar que os aumentos nos teores de carotenoides foram superiores ao ensaio anterior (Ensaio 13 – efluente sintético de concentração inicial de cromo hexavalente de 30 mg/L) em razão das elevadas densidades celulares alcançadas.

Além disso, nota-se a mesma tendência verificada nos ensaios anteriores em relação ao efeito das fontes de luz com o teor de carotenoides, apresentando a seguinte classificação: amarelo > azul > branco > verde > vermelho. Portanto, as melhores fontes de luz que promoveram alta produtividade no conteúdo de pigmentos foram o amarelo, azul e branco, indicando que os comprimentos de onda dessas respectivas cores apresentam picos de intensidade de luz que compreendem a faixa de comprimento de onda dos pigmentos.

Por fim, a Tabela 5.18 demonstra a síntese de todos os resultados obtidos em relação a máxima densidade celular, a máxima concentração de bacterioclorofila e carotenoides, e também a máxima remoção de cromo hexavalente e cromo total para diferentes comprimentos de onda.

Desta forma, a condição operacional para promover melhor eficiência na remoção de cromo em relação a bactéria fotossintetizante *R. capsulatus* consiste no uso de intensidade luminosa de 5.670 lux e luz branca fornecida por lâmpada LED. Além disso, é importante ressaltar que nas condições em que a biomassa bacteriana foi reativada em reatores de 250 mL (erlenmeyers) com efluente sintético de concentrações iniciais de cromo hexavalente de 10, 30 e 60 mg/L foram obtidas as maiores porcentagens de remoção de cromo a partir de uma concentração celular inicial de 0,5 g/L, a temperatura ambiente (25 °C a 32 °C) sob iluminação contínua, condição de anaerobiose, cultivo estático e duração de fermentação de 8 dias.

Tabela 5.18 Síntese dos resultados obtidos na avaliação de diferentes comprimentos de onda.

Densidade celular (g/L): azul > branco > verde > amarelo > vermelho					
Condições	Azul (470 nm)	Branco (460 nm)	Verde (520 nm)	Amarelo (595 nm)	Vermelho (630 nm)
Condição Controle (0 mg/L Cr)	1,38	1,34	1,28	1,19	1,15
Efluente sintético: 10 mg/L Cr (VI)	1,55	1,55	1,53	1,47	1,42
Efluente sintético: 30 mg/L Cr (VI)	1,60	1,59	1,57	1,49	1,47
Efluente sintético: 60 mg/L Cr (VI)	1,66	1,65	1,63	1,55	1,54
Bacterioclorofila (mg/m ³): amarelo > branco > azul > vermelho > verde					
Condições	Amarelo (595 nm)	Branco (460 nm)	Azul (470 nm)	Vermelho (630 nm)	Verde (520 nm)
Condição Controle (0 mg/L Cr)	1,81	1,61	1,42	1,36	1,26
Efluente sintético: 10 mg/L Cr (VI)	1,95	1,74	1,62	1,57	1,56
Efluente sintético: 30 mg/L Cr (VI)	1,96	1,86	1,68	1,66	1,64
Efluente sintético: 60 mg/L Cr (VI)	2,28	2,22	1,73	1,66	1,65
Carotenoides (mg/m ³): amarelo > azul > branco > verde > vermelho					
Condições	Amarelo (595 nm)	Azul (470 nm)	Branco (460 nm)	Verde (520 nm)	Vermelho (630 nm)
Condição Controle (0 mg/L Cr)	1,31	1,29	1,27	1,15	1,11
Efluente sintético: 10 mg/L Cr (VI)	1,34	1,34	1,32	1,21	1,24
Efluente sintético: 30 mg/L Cr (VI)	1,74	1,54	1,38	1,31	1,29
Efluente sintético: 60 mg/L Cr (VI)	1,81	1,63	1,44	1,35	1,31
Remoção de cromo total: branco/azul > vermelho > amarelo > verde					
Condições	Branco (460 nm)	Azul (470 nm)	Vermelho (630 nm)	Amarelo (595 nm)	Verde (520 nm)
Efluente sintético: 10 mg/L Cr (VI)	80,1 %	88,9 %	78,0 %	76,6 %	76,4 %
Efluente sintético: 30 mg/L Cr (VI)	89,3 %	85,4 %	85,1 %	82,8 %	80,5 %
Efluente sintético: 60 mg/L Cr (VI)	77,0 %	76,4 %	75,2 %	73,4 %	73,1 %
Remoção de cromo hexavalente					
Condições	Branco (460 nm)	Azul (470 nm)	Vermelho (630 nm)	Amarelo (595 nm)	Verde (520 nm)
Efluente sintético: 10 mg/L Cr (VI)	100 % (0,5 horas)	100 % (0,5 horas)	100 % (0,5 horas)	100 % (0,5 horas)	100 % (0,5 horas)
Efluente sintético: 30 mg/L Cr (VI)	100 % (0,5 horas)	100 % (0,5 horas)	100 % (0,5 horas)	100 % (0,5 horas)	100 % (0,5 horas)
Efluente sintético: 60 mg/L Cr (VI)	100 % (2 horas)	100 % (2 horas)	100 % (2 horas)	100 % (2 horas)	100 % (2 horas)

CAPÍTULO 6

CONCLUSÕES

A partir dos resultados obtidos em termos de variação de intensidade luminosa e comprimento de onda é possível obter uma melhor compreensão das estratégias adotadas pelo microrganismo em condições ambientais caracterizadas pela toxicidade do cromo, além de fornecer informações sobre a influência da luz.

Analisando o crescimento celular, observou-se em todos os ensaios que nas primeiras 12 horas, intervalo de tempo que ocorre o processo de redução do cromo hexavalente em cromo trivalente, houve um leve crescimento celular, indicando que o metabolismo da bactéria está direcionado para o processo de biorredução. Outro fator a ser mencionado é que o aumento da intensidade luminosa contribuiu para aumentar a biomassa na condição controle e nas condições de efluente sintético de menores concentrações iniciais de cromo hexavalente de 10, 30 e 60 mg/L. Entretanto, é necessário destacar que o aumento de intensidade luminosa de 5.670 lux para 8.000 lux, o crescimento celular não sofreu variações significativas, indicando que a biomassa foi estabilizada a partir de 5.670 lux. Entretanto, em condições com elevadas concentrações iniciais de cromo hexavalente de 90 e 110 mg/L, a intensidade de luz ideal que favoreceu o aumento da densidade celular foi de 3.200 lux, sendo que acima e abaixo desse valor não houve acréscimos de biomassa de forma significativa. Além disso, foi observado que concentrações elevadas de cromo hexavalente inibiram o crescimento celular e interferiram nas atividades metabólicas das células, consequentemente afetaram o processo de redução do cromo. Ao avaliar a condição na ausência de luz, foi observado um crescimento celular lento atingindo as menores densidades celulares finais. Em relação a variação do comprimento de onda, foi relatado que o teor de biomassa diminui com o aumento do comprimento de onda, apresentado a seguinte classificação em relação ao efeito da fonte de luz na produção de biomassa: azul > branco > verde > amarelo > vermelho.

Com base nos dados de remoção de cromo hexavalente, verifica-se que o aumento da intensidade luminosa reduziu o tempo para a remoção completa de cromo. Foi relatado a remoção completa de cromo hexavalente em 30 minutos para as condições de meio sintético de concentrações iniciais de 10 e 30 mg/L de cromo hexavalente para todas as faixas de intensidade luminosa. Já em relação ao cromo total, não foi alcançada a remoção completa, porém, as máximas remoções foram observadas na intensidade luminosa de 5.670 lux nas condições de efluente sintético de baixas concentrações iniciais de cromo hexavalente de 10, 30 e 60 mg/L, sendo de 80,2 %, 89,3 % e 77,0 %, respectivamente. Com isso, verifica-se que a eficiência na remoção de cromo apresentou resultados satisfatórios quando submetida a alta intensidade de

luz nessas condições específicas. Em contrapartida, em concentrações iniciais de cromo hexavalente de 90 e 110 mg/L, o aumento da intensidade luminosa não contribuiu para a remoção do metal. No que diz respeito aos ensaios avaliando os diferentes comprimentos de onda, observa-se que as maiores remoções de cromo total foram atingidas nas fontes de luz azul e branco. Deve-se mencionar ainda que para a condição de efluente sintético de concentração inicial de cromo hexavalente de 10 mg/L, a concentração final de cromo total foi de 1,11 mg/L apresentando uma remoção de 88,9 %.

Quando se trata dos pigmentos bacterianos, observou-se que o microrganismo apresentou maior capacidade fotossintética na presença da luz, sendo importante ressaltar que não foi identificado síntese de carotenoides na ausência de luz. Além disso, foi verificado que nas condições de baixas intensidades luminosas (800 lux e 3.200 lux), os aumentos no teores dos pigmentos foram expressivos para as condições de efluente sintético de concentrações iniciais de cromo hexavalente de 60, 90 e 110 mg/L em comparação com as condições de meio sintético de baixas concentrações iniciais de cromo hexavalente de 10 e 30 mg/L. Esse fenômeno sugere que para superar o estresse oxidativo provocado pelo cromo, a estratégia adotada pelo microrganismo foi aumentar a produção de pigmentos. Entretanto, para a condição controle e as condições de meio sintético de concentrações iniciais de 10, 30 e 60 mg/L de cromo hexavalente, o aumento da intensidade luminosa aumentou a produção de pigmentos, o que não ocorreu nas condições de elevadas concentrações iniciais de cromo hexavalente de 90 e 110 mg/L, na qual o conteúdo de pigmentos apresentou pequenas variações na faixa de 800 a 8.000 lux. Acerca da relação do efeito das fontes de luz no teor de bacterioclorofila, a seguinte classificação da mais produtiva para a menos produtiva foi constatada: amarelo > branco > azul > vermelho > verde. Já em relação ao conteúdo de carotenoides, foi relatado a seguinte classificação: amarelo > azul > branco > verde > vermelho.

Em síntese, foi certificado nos resultados obtidos do teste controle que a intensidade da luz não interfere no processo de redução do cromo, uma vez que em todos os ensaios, a concentração de cromo hexavalente e cromo total apresentaram valores próximos e com leves variações ao longo do tempo. Dessa forma, é necessário enfatizar que a remoção de cromo hexavalente e cromo total obtidos deve-se a ação do microrganismo.

CAPÍTULO 7

SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS

Sugere-se inicialmente uma análise mais aprofundada em relação aos ensaios fisiológicos do microrganismo quando exposto a condição de estresse pela presença do cromo, como a detecção de EROs, atividade de enzimas antioxidantes, a observação da morfologia e estrutura das células com o objetivo de fornecer informações detalhadas sobre as atividades metabólicas das bactérias. Além disso, pode-se citar a determinação de cromóforos de bacterioclorofila e carotenoides por meio da análise óptica.

De forma complementar, avaliar a aplicação prática da tecnologia de biorremediação por meio de consórcio de bactérias em função da obtenção de melhores resultados na remoção do metal. Além disso, o consórcio apresenta maiores chances de sobrevivência devido à competitividade entre os microrganismos, além de ser mais apropriado para aplicações em campo (KADER et al., 2007). Como também avaliar outros metais pesados, como chumbo, níquel, mercúrio, entre outros, e também avaliar o comportamento dos microrganismos no processo de remediação de metais pesados no espectro do infravermelho.

Outra sugestão de trabalho futuro é associar métodos físico-químicos com o método biológico, já que os processos físicos e químicos apresentam um bom desempenho em elevadas concentrações de metal, enquanto a biorremediação é indicada para baixas concentrações.

CAPÍTULO 8

REFERÊNCIAS

ACKERLEY, D.F., GONZALEZ, C.F., KEYHAN, M., BLAKE II, R., MATIN, A. Mechanism of chromate reduction by the Escherichia coli protein, NfsA, and the role of different chromate reductases in minimizing oxidative stress during chromate reduction. **Environmental Microbiology**, v. 6, n. 8, p. 851-860, 2004. <https://doi.org/10.1111/j.1462-2920.2004.00639.x>

ADHIKARI, T., MANNA, M.C., SINGH, M.V., WANJARI, R.H. Bioremediation measure to minimize heavy metals accumulation in soils and crops irrigated with city effluent. **Journal of Food Agriculture and Environment**, v. 2, p. 266-270, 2004.

AKBARPOUR NESHELI, M., ASGARANI, E., DABBAGH, R. Biosorption potential of Cr (VI) by Kocuria sp. ASB107, a radio-resistant bacterium isolated from Ramsar, Iran. **Chemistry and Ecology**, v. 34, n. 2, p. 163-176, 2018. <https://doi.org/10.1080/02757540.2017.1399126>

AKLUJKAR, M., & BEATTY, J. T. The PufX protein of Rhodobacter capsulatus affects the properties of bacteriochlorophyll a and carotenoid pigments of light-harvesting complex 1. **Archives of biochemistry and biophysics**, v. 443, n. 1-2, p. 21-32, 2005. <https://doi.org/10.1016/j.abb.2005.08.018>

AKSU, Z., EREN, A.T. Carotenoids production by the yeast Rhodotorula mucilaginosa: use of agricultural wastes as a carbon source. **Process Biochemistry**, v. 40, n. 9, p. 2985-2991, 2005. <https://doi.org/10.1016/j.procbio.2005.01.011>

ALLOWAY, B.J. Sources of heavy metals and metalloids in soils. In: **Heavy metals in soils**. Springer, Dordrecht, p. 11-50, 2013.

ALTAS, L. Effects of chromium (VI) on activity of ureolytic culture. **Journal of Chemical Technology and Biotechnology** 84 (227), 229-235. 2009.

APHA, Standard Methods for the examination of water & wastewater, 3500-Cr B. Colorimetric Method. Washington, D.C, p.3-66, 2005.

APPENROTH, K.J., BISCHOFF, M.B., GABRYS', H., STOECKEL, J., SWARTZ, H.M., WALCZAK, T., WINNEFELD, K. Kinetics of chromium (V) formation and reduction in fronds of the duckweed Spirodela polyrhiza—a low frequency EPR study. **Journal of Inorganic Biochemistry**, v. 78, n. 3, p. 235-242, 2000. [https://doi.org/10.1016/S01620134\(00\)00018-0](https://doi.org/10.1016/S01620134(00)00018-0)

ARAVINDHAN, R., NAIR, B.U. Biological removal of carcinogenic Cr(VI) using mixed *Pseudomonas* strains. **Bioresour. Technol.** 11, 11-17. 2006. <https://doi.org/10.2323/jgam.53.71>

ARFSTEN, D.P., AYLWARD, L.L., KARCH, N.J. Immunotoxicology of environmental and occupational metals. London: Taylor & Francis, p. 63-92, 1998. <https://doi.org/10.4324/9780203211878>

ASHA, L.P., SANDEEP, R.S. Review on bioremediation-potential tool for removing environmental pollution. **International Journal of Basic and Applied Chemical Sciences**, v. 3, n. 3, p. 21-33, 2013.

AZMAT, H., JAVED, M., ABDULLAH, S., JAVID, A., HUSSAIN, S.M. Growth responses of major carps reared under chronic stress of chromium. **JAPS, Journal of Animal and Plant Sciences**, v. 28, n. 2, p. 604-609, 2018.

BADAR, U., AHMED, N., BESWICK, A.J., PATTANAPIITPAISAL, P., & MACASKIE, L.E. Reduction of chromate by microorganisms isolated from metal contaminated sites of Karachi, Pakistan. **Biotechnology letters**, v. 22, n. 10, p. 829-836, 2000. <https://doi.org/10.1023/A:1005649113190>

BANERJEE, S., MISRA, A., CHAUDHURY, S., & DAM, B. 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. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2018.12.038>

BARAL, A., ENGELKEN, R., STEPHENS, W., FARRIS, J., & HANNIGAN, R. Evaluation of aquatic toxicities of chromium and chromium-containing effluents in reference to chromium electroplating industries. **Archives of Environmental Contamination and Toxicology**, v. 50, n. 4, p. 496-502, 2006. <https://doi.org/10.1007/s00244-005-0068-x>

BARRERA-DÍAZ, C.E., LUGO-LUGO, V., BILYEU, B. A review of chemical, electrochemical and biological methods for aqueous Cr (VI) reduction. **Journal of hazardous materials**, v. 223, p. 1-12, 2012. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2012.04.054>

BASAK, N., DAS, D. The prospect of purple non-sulfur (PNS) photosynthetic bacteria for hydrogen production: the present state of the art. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, v. 23, n. 1, p. 31-42, 2007. <https://doi.org/10.1007/s11274-006-9190-9>

BENAZIR, J.F., SUGANTHI, R., RAJVEL, D., POOJA, M.P., & MATHITHUMILAN, B. Bioremediation of chromium in tannery effluent by microbial consortia. **African journal of biotechnology**, v. 9, n. 21, p. 3140-3143, 2010. <https://doi.org/10.5897/AJB2010.000-3155>

BENKA-COKER, M.O., EKUNDAYO, J.A. Effects of heavy metals on growth of species of Micrococcus and Pseudomonas in a crude oil/mineral salts medium. **Bioresource technology**, v. 66, n. 3, p. 241-245, 1998. [https://doi.org/10.1016/S0960-8524\(98\)00057-1](https://doi.org/10.1016/S0960-8524(98)00057-1)

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. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2017.08.040>

BHARDWAJ, V., KUMAR, P., SINGHAL, G. Toxicity of heavy metals pollutants in textile mills effluents. **International Journal of Scientific and Engineering Research**, v. 5, n. 7, p. 2229-5518, 2014.

BOPP, L.H., EHRLICH, H.L. Chromate resistance and reduction in Pseudomonas fluorescens strain LB300. **Archives of Microbiology**, v. 150, n. 5, p. 426-431, 1988. <https://doi.org/10.1007/BF00422281>

BOSWELL, C.D., DICK, R.E., MACASKIE, L.E. The effect of heavy metals and other environmental conditions on the anaerobic phosphate metabolism of *Acinetobacter johnsonii*. **Microbiology**, v. 145, n. 7, p. 1711-1720, 1999. <https://doi.org/10.1099/13500872-145-7-1711>

BRASIL. Laudo Técnico Preliminar: Impactos ambientais decorrentes do desastre envolvendo o rompimento da barragem de Fundão, em Mariana, Minas Gerais. In: Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis – IBAMA. Minas Gerais, 2015.

BUCCOLIERI, A., ITALIANO, F., DELL'ATTI, A., BUCCOLIERI, G., GIOTTA, L., AGOSTIANO, A., ... & TROTTA, M. Testing the photosynthetic bacterium *Rhodobacter sphaeroides* as heavy metal removal tool. **Annali di Chimica: Journal of Analytical, Environmental and Cultural Heritage Chemistry**, v. 96, n. 3-4, p. 195-203, 2006. <https://doi.org/10.1002/adic.200690019>

BURATTO, A.P., COSTA, R.D., FERREIRA, E.S. Aplicação de biomassa fúngica de *Pleurotus ostreatus* em processo de bio sorção de íons cobre (II). Assoc. Bras. Engenharia Sanitária Ambiental. 17, 413-420, 2012. <https://doi.org/10.1590/S1413-41522012000400008>

CALVANO, C.D., ITALIANO, F., CATUCCI, L., AGOSTIANO, A., CATALDI, T.R., PALMISANO, F., & TROTTA, M. The lipidome of the photosynthetic bacterium *Rhodobacter sphaeroides* R26 is affected by cobalt and chromate ions stress. **Biometals**, v. 27, n. 1, p. 65-73, 2014. <https://doi.org/10.1007/s10534-013-9687-2>

CERVANTES, C., CAMPOS-GARCÍA, J. Reduction and efflux of chromate by bacteria. In: **Molecular microbiology of heavy metals**. Springer, Berlin, Heidelberg, p. 407-419, 2007. https://doi.org/10.1007/7171_2006_087

CESAR, S., HUANG, K.C. Thinking big: the tunability of bacterial cell size. **FEMS microbiology reviews**, v. 41, n. 5, p. 672-678, 2017. <https://doi.org/10.1093/femsre/fux026>

CHEN, D., HAN, Y., GU, Z. 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. <https://doi.org/10.1016/j.procbio.2006.03.023>

CHEN, J.M., HAO, O.J. Microbial chromium (VI) reduction. **Critical Reviews in Environmental Science and Technology**, v. 28, n. 3, p. 219-251, 1998. <https://doi.org/10.1080/10643389891254214>

CHEUNG, K. H., GU, J.D. Reduction of chromate (CrO_4^{2-}) by an enrichment consortium and an isolate of marine sulfate-reducing bacteria. **Chemosphere**, v. 52, n. 9, p. 1523-1529, 2003. [https://doi.org/10.1016/S0045-6535\(03\)00491-0](https://doi.org/10.1016/S0045-6535(03)00491-0)

CHIRWA, E.M., WANG, Y.T. Chromium (VI) reduction by *Pseudomonas fluorescens* LB300 in fixed-film bioreactor. **Journal of Environmental Engineering**, v. 123, n. 8, p. 760-766, 1997. [https://doi.org/10.1061/\(ASCE\)0733-9372\(1997\)123:8\(760\)](https://doi.org/10.1061/(ASCE)0733-9372(1997)123:8(760))

CHITAPORNPAN, S., CHIEMCHAISRI, C., CHIEMCHAISRI, W., HONDA, R., & YAMAMOTO, K. Organic carbon recovery and photosynthetic bacteria population in an anaerobic membrane photo-bioreactor treating food processing wastewater. **Bioresour technology**, v. 141, p. 65-74, 2013. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2013.02.048>

CHUG, R., GOUR, V.S., MATHUR, S., KOTHARI, S.L. 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. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2016.05.010>

CLESCERI, L.S.; EATON, A.D.; GREENBERG, A.E. Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater. ed. 20th. American Public Health Association, D.C, 1220, 1998.

COLEMAN, R. N. Chromium toxicity: effects on microorganisms with special reference to the soil matrix. **Chromium in natural and human environments**, p. 335-350, 1988.

CONNELLY, J.P., MÜLLER, M.G., BASSI, R., CROCE, R., & HOLZWARTH, A.R. Femtosecond transient absorption study of carotenoid to chlorophyll energy transfer in the light-harvesting complex II of photosystem II. **Biochemistry**, v. 36, n. 2, p. 281-287, 1997. <https://doi.org/10.1021/bi9624671>

COSTA, M. Potential hazards of hexavalent chromate in our drinking water. **Toxicology and applied pharmacology**, v. 188, n. 1, p. 1-5, 2003. [https://doi.org/10.1016/S0041008X\(03\)00011-5](https://doi.org/10.1016/S0041008X(03)00011-5)

CZAKÓ-VÉR, K., BATIÈ, M., RASPOR, P., SIPICZKI, M., PESTI, M. Hexavalent chromium uptake by sensitive and tolerant mutants of *Schizosaccharomyces pombe*. **FEMS microbiology letters**, v. 178, n. 1, p. 109-115, 1999. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6968.1999.tb13765.x>

DALZELL, D.J.B., ALTE, S., ASPICHUETA, E., DE LA SOTA, A., ETXEBARRIA, J., GUTIERREZ, M., HOFFMANN, C.C., SALES, D., OBST, U., CHRISTOFI, N. A comparison of five rapid direct toxicity assessment methods to determine toxicity of pollutants to activated sludge. **Chemosphere**, v. 47, n. 5, p. 535-545, 2002. [https://doi.org/10.1016/S00456535\(01\)00331-9](https://doi.org/10.1016/S00456535(01)00331-9)

DAS, P., MISHRA, S. Hexavalent chromium [Cr (VI)]: yellow water pollution and its remediation. **Sarovar Saurabh ENVIS News Wetl Ecosyst**, v. 5, n. 2, p. 1-8, 2009.

DEMIRIZ, B. Ö., KARS, G., YÜCEL, M., EROĞLU, İ., & GÜNDÜZ, U. Hydrogen and poly- β -hydroxybutyric acid production at various acetate concentrations using *Rhodobacter capsulatus* DSM 1710. **International Journal of Hydrogen Energy**, v. 44, n. 32, p. 17269-17277, 2019. <https://doi.org/10.1016/j.ijhydene.2019.02.036>

DHAL, B., THATOI, H.N., DAS, N.N., & PANDEY, B.D. Chemical and microbial remediation of hexavalent chromium from contaminated soil and mining/metallurgical solid waste: a review. **Journal of hazardous materials**, v. 250, p. 272-291, 2013. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2013.01.048>

DHUNGANA, T.P., YADAV, P.N. Determination of chromium in tannery effluent and study of adsorption of Cr (VI) on saw dust and charcoal from sugarcane bagasses. **Journal of Nepal Chemical Society**, v. 23, p. 93-101, 2009. <https://doi.org/10.3126/jncs.v23i0.2102>

DIAS, R.M., DA COSTA, E.J., CARDOSO, V.L., & DE RESENDE, M.M. Interference of a magnetic field generated by circular magnets in the retention of chromium by microbial cells and in the morphology of a mixed culture during the bio-removal of chromium from effluent. **Chemical Engineering and Processing-Process Intensification**, v. 154, p. 108019, 2020. <https://doi.org/10.1016/j.cep.2020.108019>

ELAHI, A., AROOJ, I., BUKHARI, D.A., & REHMAN, A. Successive use of microorganisms to remove chromium from wastewater. **Applied microbiology and biotechnology**, v. 104, n. 9, p. 3729-3743, 2020. <https://doi.org/10.1007/s00253-020-10533-y>

ELAHI, A., REHMAN, A. Comparative behavior of two gram positive Cr⁶⁺ resistant bacterial strains *Bacillus aerius* S1 and *Brevibacterium iodinum* S2 under hexavalent chromium stress. **Biotechnology Reports**, v. 21, p. e00307, 2019. <https://doi.org/10.1016/j.btre.2019.e00307>

ELDER, J.F. Metal biogeochemistry in surface-water systems: a review of principles and concepts, 1988. <https://doi.org/10.3133/cir1013>

EL-NAGGAR, N.E.A., EL-KHATEEB, A.Y., GHONIEM, A.A., EL-HERSH, M.S., SABER, W.E.I.A. Innovative low-cost biosorption process of Cr⁶⁺ by *Pseudomonas alcaliphila* NEWG-2. **Scientific reports**, v. 10, n. 1, p. 1-18, 2020. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-70473-5>

ENRIQUE, R.R.J., ELÍ, R.R.J., CÉSAR, M.L.J., CAROLINA, O.F.P., RENZO, B.T., MARINELA, C., & JOSÉ, M.B. Toxicidad y bioacumulación de Cromo (Cr) en la almeja *Polymesoda solida* del sistema estuarino Lago de Maracaibo. **Boletín del Centro de Investigaciones Biológicas**, v. 49, n. 1, p. 5-25, 2015. <https://produccioncientificaluz.org/index.php/boletin/article/view/20876>

FABRÍCIO, S.A., FERREIRA, D.D.M., & BORBA, J.A. PANORAMA DOS DESASTRES DE MARIANA E BRUMADINHO: O QUE SABEMOS ATÉ AGORA?. **REAd. Revista Eletrônica de Administração (Porto Alegre)**, v. 27, n. 1, p. 128-152, 2021. <https://doi.org/10.1590/1413-2311.310.102806>

FAROUX, J.M., URETA, M.M., TYMCZYSZYN, E.E., & GÓMEZ-ZAVAGLIA, A. An overview of peroxidation reactions using liposomes as model systems and analytical methods to monitor them. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, p. 111254, 2020. <https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2020.111254>

FAWAD, M., YOUSAFZAI, A.M., HASEEB, A., REHMAN, H.U., JAN AFRIDI, A., AKHTAR, N., ... & USMAN, K. Acute toxicity and bioaccumulation of chromium in gills, skin and intestine of goldfish (*Carassius auratus*). **Journal of Entomology and Zoology studies**, v. 5, n. 1, p. 568-571, 2017.

FENG, Y., YU, Y., WANG, Y., & LIN, X. Biosorption and bioreduction of trivalent aurum by photosynthetic bacteria *Rhodobacter capsulatus*. **Current Microbiology**, v. 55, n. 5, p. 402-408, 2007. <https://doi.org/10.1007/s00284-007-9007-6>

FREITAS, C. M. D., SILVA, M. A. D., & MENEZES, F. C. D. O desastre na barragem de mineração da Samarco: fratura exposta dos limites do Brasil na redução de risco de desastres. **Ciência e Cultura**, v. 68, n. 3, p. 25-30, 2016. <http://dx.doi.org/10.21800/231766602016000300010>

FU, J., LIANG, X., CHEN, Y., TANG, L., ZHANG, Q.H., & DONG, Q. Oxidative stress as a component of chromium-induced cytotoxicity in rat calvarial osteoblasts. **Cell Biology and Toxicology**, v. 24, n. 3, p. 201-212, 2008. <https://doi.org/10.1007/s10565-007-9029-7>

GARBISU, C., ALKORTA, I. Basic concepts on heavy metal soil bioremediation. **ejmp & ep (European Journal of Mineral Processing and Environmental Protection)**, v. 3, n. 1, p. 58-66, 2003.

GARG, U.K., KAUR, M.P., GARG, V.K., & SUD, D. Removal of hexavalent chromium from aqueous solution by agricultural waste biomass. **Journal of Hazardous materials**, v. 140, n. 1-2, p. 60-68, 2007. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2006.06.056>

GIKAS, P., & ROMANOS, P. Effects of tri-valent (Cr (III)) and hexa-valent (Cr (VI)) chromium on the growth of activated sludge. **Journal of Hazardous Materials**, v. 133, n. 1-3, p. 212-217, 2006. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2005.10.023>

GIORDANO, G. Tratamento E Controle De Efluentes Industriais. (Desenvolvimento de material didático ou instrucional - Bibliográfica) 2009.

GIOTTA, L., AGOSTIANO, A., ITALIANO, F., MILANO, F., & TROTTA, M. Heavy metal ion influence on the photosynthetic growth of *Rhodobacter sphaeroides*. **Chemosphere**, v. 62, n. 9, p. 1490-1499, 2006. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2005.06.014>

GORBI, G., CORRADI, M.G., INVIDIA, M., & BASSI, M. Light intensity influences chromium bioaccumulation and toxicity in *Scenedesmus acutus* (Chlorophyceae). **Ecotoxicology and environmental safety**, v. 48, n. 1, p. 36-42, 2001. <https://doi.org/10.1006/eesa.2000.2000>

GRACEPAVITHRA, K., JAIKUMAR, V., KUMAR, P.S., & SUNDARRAJAN, P. A review on cleaner strategies for chromium industrial wastewater: present research and future perspective. **Journal of Cleaner Production**, v. 228, p. 580-593, 2019. <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2019.04.117>

HALLENBECK, P.C., & LIU, Y. Recent advances in hydrogen production by photosynthetic bacteria. **International Journal of Hydrogen Energy**, v. 41, n. 7, p. 4446-4454, 2016. <https://doi.org/10.1016/j.ijhydene.2015.11.090>

HAN, X., WONG, Y.S., WONG, M.H., & TAM, N.F.Y. Biosorption and bioreduction of Cr (VI) by a microalgal isolate, *Chlorella miniata*. **Journal of hazardous materials**, v. 146, n. 1-2, p. 65-72, 2007. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2006.11.053>

HARTIGAN, N., THARIA, H.A., SWEENEY, F., LAWLESS, A.M., & Papiz, M.Z. The 7.5-Å electron density and spectroscopic properties of a Novel Low-Light B800 LH2 from *Rhodospseudomonas palustris*. **Biophysical journal**, v. 82, n. 2, p. 963-977, 2002. [https://doi.org/10.1016/S0006-3495\(02\)75456-8](https://doi.org/10.1016/S0006-3495(02)75456-8)

HAYASHI, A.M. Remoção de cromo hexavalente através de processos de bio-sorção em algas marinhas, Tese de Doutorado da Faculdade de Engenharia Química, Unicamp, Campinas, SP, p. 209, 2001. <http://repositorio.unicamp.br/jspui/handle/REPOSIP/266215>

HE, X., LI, P. Surface water pollution in the middle Chinese Loess Plateau with special focus on hexavalent chromium (Cr⁶⁺): occurrence, sources and health risks. **Exposure and Health**, p. 1-17, 2020. <https://doi.org/10.1007/s12403-020-00344-x>

HOLLEMAN, A.F., WIBERG, N., WIBERG, N. Lehrbuch der anorganischen Chemie 1995. **Walter de Gruyter Verlag, Berlin**, v. 101, p. 1534-1604, 1995. <https://doi.org/10.1002/ange.19961082135>

HOSHINO, Y. Isolation, culture and identification. In: Kitamura, H., Morita, S., Yamashita, J. (Eds.), *Photosynthetic Bacteria*. Japan Scientific Societies Press, Center for Academic Publications, Tokyo, pp. 18-33 (in Japanese), 1984.

HU, L., LIU, B., LI, S., ZHONG, H., & HE, Z. Study on the oxidative stress and transcriptional level in Cr (VI) and Hg (II) reducing strain *Acinetobacter indicus* yy-1 isolated from chromium-contaminated soil. **Chemosphere**, v. 269, p. 128741, 2021. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2020.128741>

HÜLSEN, T., BATSTONE, D.J., KELLER, J. Phototrophic bacteria for nutrient recovery from domestic wastewater. **Water research**, v. 50, p. 18-26, 2014. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2013.10.051>

HU, Y., CHEN, N., LIU, T., FENG, C., MA, L., CHEN, S., & LI, M. The mechanism of nitrate-Cr (VI) reduction mediated by microbial under different initial pHs. **Journal of hazardous materials**, v. 393, p. 122434, 2020. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2020.122434>

IKEGAMI, K., HIROSE, Y., SAKASHITA, H., MARUYAMA, R., SUGIYAMA, T. Role of polyphenol in sugarcane molasses as a nutrient for hexavalent chromium bioremediation using bacteria. **Chemosphere**, v. 250, p. 126267, 2020. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2020.126267>

ILIAS, M., RAFIQULLAH, I.M., DEBNATH, B.C., BIN MANNAN, K.S., HOQ, M.M. Isolation and characterization of chromium (VI)-reducing bacteria from tannery effluents. **Indian journal of microbiology**, v. 51, n. 1, p. 76-81, 2011. <https://doi.org/10.1007/s12088-011-0095-4>

IMHOFF, J.F. Taxonomy and physiology of phototrophic purple bacteria and green sulfur bacteria. In: **Anoxygenic photosynthetic bacteria**. Springer, Dordrecht, p. 1-15, 1995. https://doi.org/10.1007/0-306-47954-0_1

ITALIANO, F., BUCCOLIERI, A., GIOTTA, L., AGOSTIANO, A., VALLI, L., MILANO, F., & TROTTA, M. Response of the carotenoidless mutant *Rhodobacter sphaeroides* growing cells to cobalt and nickel exposure. **International Biodeterioration & Biodegradation**, v. 63, n. 7, p. 948-957, 2009. <https://doi.org/10.1016/j.ibiod.2009.05.001>

ITALIANO, F., RINALDUCCI, S., AGOSTIANO, A., ZOLLA, L., DE LEO, F., CECI, L.R., & TROTTA, M. 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. <https://doi.org/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. **Interdisciplinary toxicology**, v. 7, n. 2, p. 60, 2014. <https://doi.org/10.2478/intox-2014-0009>

JAROSŁAWIECKA, A., PIOTROWSKA-SEGET, Z. Lead resistance in micro-organisms. **Microbiology**, v. 160, n. 1, p. 12-25, 2014. <https://doi.org/10.1099/mic.0.070284-0>

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. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2004.10.003>

JIANG, B., GONG, Y., GAO, J., SUN, T., LIU, Y., OTURAN, N., & OTURAN, M.A. The reduction of Cr (VI) to Cr (III) mediated by environmentally relevant carboxylic acids: state-of-the-art and perspectives. **Journal of hazardous materials**, v. 365, p. 205-226, 2019. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2018.10.070>

JIANG, B., NIU, Q., LI, C., OTURAN, N., & OTURAN, M.A. Outstanding performance of electro-Fenton process for efficient decontamination of Cr (III) complexes via alkaline precipitation with no accumulation of Cr (VI): Important roles of iron species. **Applied Catalysis B: Environmental**, v. 272, p. 119002, 2020. <https://doi.org/10.1016/j.apcatb.2020.119002>

- JOBBY, R., JHA, P., GUPTA, A., GUPTE, A., DESAI, N. Biotransformation of chromium by root nodule bacteria *Sinorhizobium* sp. SAR1. **PloS one**, v. 14, n. 7, p. e0219387, 2019. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0219387>
- JOBBY, R., JHA, P., YADAV, A.K., & DESAI, N. Biosorption and biotransformation of hexavalent chromium [Cr (VI)]: a comprehensive review. **Chemosphere**, v. 207, p. 255-266, 2018. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2018.05.050>
- JOBBY, R., SHAH, K., SHAH, R., JHA, P., & DESAI, N. Differential expression of antioxidant enzymes under arsenic stress in *Enterobacter* sp. **Environmental Progress & Sustainable Energy**, v. 35, n. 6, p. 1642-1645, 2016. <https://doi.org/10.1002/ep.12406>
- KADER, J., SANNASI, P., OTHMAN, O., ISMAIL, B.S., & SALMIJAH, S. Removal of Cr (VI) from aqueous solutions by growing and non-growing populations of environmental bacterial consortia. **Global Journal of Environmental Research**, v. 1, n. 1, p. 12-17, 2007.
- KALOLA, V., DESAI, C. Biosorption of Cr(VI) by *Halomonas* sp. DK4, a halotolerant bacterium isolated from chrome electroplating sludge. *Environ. Sci. Pollut. Res.* 27, 27330–27344, 2020. <https://doi.org/10.1007/s11356-019-05942-0>
- KANMANI, P., ARAVIND, J., PRESTON, D. Remediation of chromium contaminants using bacteria. **International Journal of Environmental Science and Technology**, v. 9, n. 1, p. 183-193, 2012. <https://doi.org/10.1007/s13762-011-0013-7>
- KANOJIA, R.K., JUNAID, M., MURTHY, R.C. Embryo and fetotoxicity of hexavalent chromium: a long-term study. **Toxicology letters**, v. 95, n. 3, p. 165-172, 1998. [https://doi.org/10.1016/S0378-4274\(98\)00034-4](https://doi.org/10.1016/S0378-4274(98)00034-4)
- KAPOOR, A., VIRARAGHAVAN, T., CULLIMORE, D.R. Removal of heavy metals using the fungus *Aspergillus niger*. **Bioresource technology**, v. 70, n. 1, p. 95-104, 1999. [https://doi.org/10.1016/S0960-8524\(98\)00192-8](https://doi.org/10.1016/S0960-8524(98)00192-8)
- KAREGA, S., BHARGAVI, M., DIVEKAR, S.V. Treatment of wastewater from chrome plating industry by ion exchange method. **International Journal of Research in Engineering and Technology**, v. 4, n. 7, p. 393-401, 2015. <https://doi.org/10.15623/IJRET.2015.0407063>
- KARTHIK, C., BARATHI, S., PUGAZHENDHI, A., RAMKUMAR, V.S., THI, N.B.D., & ARULSELVI, P.I. 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. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2017.03.037>
- KATSUDA, T., LABABPOUR, A., SHIMAHARA, K., & KATOH, S. Astaxanthin production by *Haematococcus pluvialis* under illumination with LEDs. **Enzyme and microbial technology**, v. 35, n. 1, p. 81-86, 2004. <https://doi.org/10.1016/j.enzmictec.2004.03.016>
- KELLY, C.J., TUMSAROJ, N., LAJOIE, C.A. Assessing wastewater metal toxicity with bacterial bioluminescence in a bench-scale wastewater treatment system. **Water Research**, v. 38, n. 2, p. 423-431, 2004. [https://doi.org/10.1016/S0043-1354\(03\)00432-9](https://doi.org/10.1016/S0043-1354(03)00432-9)
- KIEU, H.T., MÜLLER, E., HORN, H. Heavy metal removal in anaerobic semi-continuous stirred tank reactors by a consortium of sulfate-reducing bacteria. **Water research**, v. 45, n. 13, p. 3863-3870, 2011. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2011.04.043>

KILIÇ, N.K., STENSALLE, A., OTZEN, D.E., & DÖNMEZ, G. Proteomic changes in response to chromium (VI) toxicity in *Pseudomonas aeruginosa*. **Bioresource technology**, v. 101, n. 7, p. 2134-2140, 2010. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2009.11.008>

KIMBROUGH, D.E., COHEN, Y., WINER, A.M., CREELMAN, L., & MABUNI, C. A Critical Assessment of Chromium in the Environment. **Critical reviews in environmental science and technology**, v. 29, n. 1, p. 1-46, 1999. <https://doi.org/10.1080/10643389991259164>

KIS, M., SIPKA, G., ASZTALOS, E., RÁZGA, Z., & MARÓTI, P. Purple non-sulfur photosynthetic bacteria monitor environmental stresses. **Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology**, v. 151, p. 110-117, 2015. <https://doi.org/10.1016/j.jphotobiol.2015.07.017>

KOKU, H., EROĞLU, İ., GÜNDÜZ, U., YÜCEL, M., & TÜRKER, L. Aspects of the metabolism of hydrogen production by *Rhodobacter sphaeroides*. **International Journal of Hydrogen Energy**, v. 27, n. 11-12, p. 1315-1329, 2002. [https://doi.org/10.1016/S0360-3199\(02\)00127-1](https://doi.org/10.1016/S0360-3199(02)00127-1)

KUMAR, K.S., DAHMS, H.U., WON, E.J., LEE, J.S., & SHIN, K.H. Microalgae—A promising tool for heavy metal remediation. **Ecotoxicology and environmental safety**, v. 113, p. 329-352, 2015. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2014.12.019>

KUO, F.S., CHIEN, Y.H., CHEN, C.J. Effects of light sources on growth and carotenoid content of photosynthetic bacteria *Rhodospseudomonas palustris*. **Bioresource Technology**, v. 113, p. 315-318, 2012. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2012.01.087>

KURNIAWAN, S.B., IMRON, M.F., PURWANTI, I.F. Biosorption of chromium by living cells of *Azotobacter s8*, *Bacillus subtilis* and *Pseudomonas aeruginosa* using batch system reactor. **Journal of Ecological Engineering**, v. 20, n. 6, 2019. <https://doi.org/10.12911/22998993/108629>

LAMB, A., TOLLEFSON, E.L. Toxic effects of cupric, chromate and chromic ions on biological oxidation. **Water research**, v. 7, n. 4, p. 599-613, 1973. [https://doi.org/10.1016/0043-1354\(73\)90060-2](https://doi.org/10.1016/0043-1354(73)90060-2)

LAZAROVA, N., KRUMOVA, E., STEFANOVA, T., GEORGIEVA, N., & ANGELOVA, M. The oxidative stress response of the filamentous yeast *Trichosporon cutaneum* R57 to copper, cadmium and chromium exposure. **Biotechnology & Biotechnological Equipment**, v. 28, n. 5, p. 855-862, 2014. <https://doi.org/10.1080/13102818.2014.965020>

LEE, H.J., PARK, J.Y., HAN, C.H., CHANG, S.T., KIM, Y.H., & MIN, J. Blue LED and succinic acid enhance the growth of *Rhodobacter sphaeroides*. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, v. 27, n. 1, p. 189-192, 2011. <https://doi.org/10.1007/s11274-010-0434-3>

LENNTECH, H. Lenntech water treatment and Air Purification. Water Treatment. **Rotterdamseweg, Netherlands**, pp.10, 2004.

LI, M., HE, Z., HU, Y., HU, L., ZHONG, H. Both cell envelope and cytoplasm were the locations for chromium (VI) reduction by *Bacillus* sp. M6. **Bioresource technology**, v. 273, p. 130-135, 2019. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2018.11.006>

LI, X., PENG, W., JIA, Y., LU, L., & FAN, W. Bioremediation of lead contaminated soil with *Rhodobacter sphaeroides*. **Chemosphere**, v. 156, p. 228-235, 2016. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2016.04.098>

LI, X., PENG, W., JIA, Y., LU, L., & FAN, W. Removal of cadmium and zinc from contaminated wastewater using *Rhodobacter sphaeroides*. **Water Science and Technology**, v. 75, n. 11, p. 2489-2498, 2017. <https://doi.org/10.2166/wst.2016.608>

LIAN, G., WANG, B., LEE, X., LI, L., LIU, T., & LYU, W. Enhanced removal of hexavalent chromium by engineered biochar composite fabricated from phosphogypsum and distillers grains. **Science of the Total Environment**, v. 697, p. 134119, 2019. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.134119>

LOPES, L.M.N. O rompimento da barragem de Mariana e seus impactos socioambientais. **Sinapse Múltipla**, v. 5, n. 1, p. 1-14, 2016. <http://periodicos.pucminas.br/index.php/sinapsemultipla/article/view/11377>

LOVLEY, D.R., PHILLIPS, E. J. Reduction of chromate by *Desulfovibrio vulgaris* and its c3 cytochrome. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 60, n. 2, p. 726-728, 1994. <https://doi.org/10.1128/aem.60.2.726-728.1994>

LU, H., ZHANG, G., WAN, T., & LU, Y. Influences of light and oxygen conditions on photosynthetic bacteria macromolecule degradation: different metabolic pathways. **Bioresource technology**, v. 102, n. 20, p. 9503-9508, 2011. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2011.07.114>

MA, L., XU, J., CHEN, N., LI, M., FENG, C. Microbial reduction fate of chromium (Cr) in aqueous solution by mixed bacterial consortium. **Ecotoxicology and environmental safety**, v. 170, p. 763-770, 2019. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2018.12.041>

MADIGAN, M.I.C.H.A.E.L., COX, J.C., GEST, H. Photopigments in *Rhodopseudomonas capsulata* cells grown anaerobically in darkness. **Journal of bacteriology**, v. 150, n. 3, p. 1422-1429, 1982. <https://doi.org/10.1128/jb.150.3.1422-1429.1982>

MADONI, P., DAVOLI, D., GUGLIELMI, L. Response of SOUR and AUR to heavy metal contamination in activated sludge. **Water Research**, v. 33, n. 10, p. 2459-2464, 1999. [https://doi.org/10.1016/S0043-1354\(98\)00455-2](https://doi.org/10.1016/S0043-1354(98)00455-2)

MAGNIN, J. P., GONDREXON, N., & WILLISON, J. C. Zinc biosorption by the purple non-sulfur bacterium *Rhodobacter capsulatus*. **Canadian journal of microbiology**, v. 60, n. 12, p. 829-837, 2014. <https://doi.org/10.1139/cjm-2014-0231>

MALA, J.G.S., SUJATHA, D., ROSE, C. Inducible chromate reductase exhibiting extracellular activity in *Bacillus methylotrophicus* for chromium bioremediation. **Microbiological research**, v. 170, p. 235-241, 2015. <https://doi.org/10.1016/j.micres.2014.06.001>

MANAGEMENT, D. Health risk assessment of chromium-accumulated fish and vegetables at gulshan lake of Bangladesh. A Case Study 4, 459-469, 2018. <https://doi.org/10.22059/poll.2018.246483.344>

MARISCAL, A., GARCÍA, A., CARNERO, M., GÓMEZ, J., PINEDO, A., & FERNÁNDEZ-CREHUET, J. Evaluation of the toxicity of several heavy metals by a fluorescent bacterial bioassay. **Journal of applied toxicology**, v. 15, n. 2, p. 103-107, 1995. <https://doi.org/10.1002/jat.2550150208>

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>

MAZIERSKI, J. Effect of chromium (CrVI) on the growth rate of denitrifying bacteria. **Water Research**, v. 28, n. 9, p. 1981-1985, 1994. [https://doi.org/10.1016/0043-1354\(94\)90173-2](https://doi.org/10.1016/0043-1354(94)90173-2)

MAZIERSKI, J. Effect of chromium (CrVI) on the growth rate of activated sludge bacteria. **Water Research**, v. 29, n. 6, p. 1479-1482, 1995. [https://doi.org/10.1016/0043-1354\(94\)00315-X](https://doi.org/10.1016/0043-1354(94)00315-X)

McCARTOR, A., BECKER, D. World's worst pollution problems report. **New York, NY: Blacksmith Institute**, p. 76, 2010.

MEDEIROS, M.G., RODRIGUES, A.S., BATOREU, M.C., LAIRES, A., RUEFF, J., ZHITKOVICH, A. Elevated levels of DNA-protein crosslinks and micronuclei in peripheral lymphocytes of tannery workers exposed to trivalent chromium. **Mutagenesis**, v. 18, n. 1, p. 19-24, 2003. <https://doi.org/10.1093/mutage/18.1.19>

MIHAILEANU, R.G., NEAMTIU, I.A., FLEMING, M., POP, C., BLOOM, M.S., ROBA, C., SURCEL, M., STAMATIAN, F., GURZAU, E., SURCEL, M., STAMATIAN, F., MIHAILEANU, R.G., NEAMTIU, I.A., GURZAU, E., POP, C., ROBA, C., FLEMING, M., BLOOM, M.S., 2019. Assessment of heavy metals (total chromium, lead, and manganese) contamination of residential soil and homegrown vegetables near a former chemical manufacturing facility in Tarnaveni, Romania. **Environmental monitoring and assessment**, v. 191, n. 1, p. 1-13, 2019. <https://doi.org/10.1007/s10661-018-7142-0>

MITRA, S., SARKAR, A., SEN, S. Removal of chromium from industrial effluents using nanotechnology: a review. **Nanotechnology for Environmental Engineering**, v. 2, n. 1, p. 1-14, 2017. <https://doi.org/10.1007/s41204-017-0022-y>

MOHAMED, M.S.M., EL-ARABI, N.I., EL-HUSSEIN, A., SHEREEN, A., EL-MAATY, ABDELHADI, A.A. Reduction of chromium-VI by chromium-resistant *Escherichia coli* FACU: a prospective bacterium for bioremediation. **Folia microbiologica**, v. 65, n. 4, p. 687-696, 2020. <https://doi.org/10.1007/s12223-020-00771-y>

MORILLO PÉREZ, J.A., GARCÍA-RIBERA, R., QUESADA, T., AGUILERA, M., RAMOS-CORMENZANA, A., MONTEOLIVA-S' ANCHEZ, M. Biosorption of heavy metals by the exopolysaccharide produced by *Paenibacillus jamilae*. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, v. 24, n. 11, p. 2699-2704, 2008. <https://doi.org/10.1007/s11274-008-9800-9>

NAKKEERAN, E., PATRA, C., SHAHNAZ, T., RANGABHASHIYAM, S., & SELVARAJU, N. J. B. T. R. Continuous biosorption assessment for the removal of hexavalent chromium from aqueous solutions using *Strychnos nux vomica* fruit shell. **Bioresource Technology Reports**, v. 3, p. 256-260, 2018. <https://doi.org/10.1016/j.biteb.2018.09.001>

NATH, K., DAS, D. 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. <https://doi.org/10.1016/j.ijhydene.2008.11.065>

NCBI. Representative genome: *Rhodobacter capsulatus*. Disponível em: [https://www.ncbi.nlm.nih.gov/genome?term=txid1061\[orgn\]](https://www.ncbi.nlm.nih.gov/genome?term=txid1061[orgn]). Acesso em: 29 de novembro de 2021.

- NDUNGU, K. Dissolved silver in the Baltic Sea. **Environmental research**, v. 111, n. 1, p. 45-49, 2011. <https://doi.org/10.1016/j.envres.2010.09.015>
- PARAMESWARI, E., LAKSHMANAN, A., THILAGAVATHI, T. Chromate resistance and reduction by bacterial isolates. **Australian Journal of Basic and Applied Sciences**, v. 3, n. 2, p. 1363-1368, 2009.
- PARK, C.-H., GONZALEZ, D., ACKERLEY, D., KEYHAN, M., MATIN, A. Molecular engineering of soluble bacterial proteins with chromate reductase activity. **Remediation and beneficial reuse of contaminated sediments**, p. 103-112, 2001.
- PECHOVA, A., PAVLATA, L. Chromium as an essential nutrient: a review. **Veterinarni Medicina-Praha-**, v. 52, n. 1, p. 1, 2007.
- PHILIP, L., IYENGAR, L., VENKOBACHAR, C. Cr (VI) reduction by *Bacillus coagulans* isolated from contaminated soils. **Journal of environmental engineering**, v. 124, n. 12, p. 1165-1170, 1998. [https://doi.org/10.1061/\(ASCE\)0733-9372\(1998\)124:12\(1165\)](https://doi.org/10.1061/(ASCE)0733-9372(1998)124:12(1165))
- PRACHANURAK, P., CHIEMCHAI SRI, C., CHIEMCHAI SRI, W., & YAMAMOTO B, K. Biomass production from fermented starch wastewater in photo-bioreactor with internal overflow recirculation. **Bioresource technology**, v. 165, p. 129-136, 2014. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2014.03.119>
- PRADHAN, D., SUKLA, L.B., MISHRA, B.B., DEVI, N. Biosorption for removal of hexavalent chromium using microalgae *Scenedesmus* sp. **Journal of Cleaner Production**, v. 209, p. 617-629, 2019. <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2018.10.288>
- PRASAD, S., YADAV, K.K., KUMAR, S., GUPTA, N., CABRAL-PINTO, M.M., REZANIA, S., ... & ALAM, J. Chromium contamination and effect on environmental health and its remediation: A sustainable approaches. **Journal of Environmental Management**, v. 285, p. 112174, 2021. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2021.112174>
- PRATHEESHKUMAR, P., SON, Y.O., DIVYA, S.P., TURCIOS, L., ROY, R.V., HITRON, J.A., WANG, L., KIM, D., DAI, J., ASHA, P. Hexavalent chromium induces malignant transformation of human lung bronchial epithelial cells via ROS-dependent activation of miR-21-PDCD4 signaling. **Oncotarget**, v. 7, n. 32, p. 51193, 2016. <https://doi.org/10.18632/oncotarget.9967>
- PUSHKAR, B., SEVAK, P., PARAB, S., & NILKANTH, N. Chromium pollution and its bioremediation mechanisms in bacteria: A review. **Journal of Environmental Management**, v. 287, p. 112279, 2021. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2021.112279>
- QI, X., REN, Y., TIAN, E., & WANG, X. The exploration of monochromatic near-infrared LED improved anoxygenic photosynthetic bacteria *Rhodospseudomonas* sp. for wastewater treatment. **Bioresource technology**, v. 241, p. 620-626, 2017. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2017.05.202>
- RAMAN, N.M., ASOKAN, S., SUNDARI, N.S., & RAMASAMY, S. Bioremediation of chromium (VI) by *Stenotrophomonas maltophilia* isolated from tannery effluent. **International journal of environmental science and technology**, v. 15, n. 1, p. 207-216, 2018. <https://doi.org/10.1007/s13762-017-1378-z>
- RIZVI, A., AHMED, B., ZAIDI, A., KHAN, M.S. Biosorption of heavy metals by dry biomass of metal tolerant bacterial biosorbents: an efficient metal clean-up strategy. **Environmental**

Monitoring and Assessment, v. 192, n. 12, p. 1-21, 2020. <https://doi.org/10.1007/s10661-020-08758-5>

ROUNDHILL, D.M., KOCH, H.F. Methods and techniques for the selective extraction and recovery of oxoanions. **Chemical Society Reviews**, v. 31, n. 1, p. 60-67, 2002. <https://doi.org/10.1039/B003141K>

RUGGABER, T.P., TALLEY, J.W. Enhancing bioremediation with enzymatic processes: a review. **Practice Periodical of Hazardous, Toxic, and Radioactive Waste Management**, v. 10, n. 2, p. 73-85, 2006. [https://doi.org/10.1061/\(ASCE\)1090-025X\(2006\)10:2\(73\)](https://doi.org/10.1061/(ASCE)1090-025X(2006)10:2(73))

SAIDA, S., ABDELKADER, G. Inhibition of chrome (III) on the activated sludge activity. **Environmental Technology**, 1994.

SANJAY, M.S., SUDARSANAM, D., RAJ, G.A., & BASKAR, K. Isolation and identification of chromium reducing bacteria from tannery effluent. **Journal of King Saud University-Science**, v. 32, n. 1, p. 265-271, 2020. <https://doi.org/10.1016/j.jksus.2018.05.001>

SCHAGERL, M., MÜLLER, B. Acclimation of chlorophyll a and carotenoid levels to different irradiances in four freshwater cyanobacteria. **Journal of plant physiology**, v. 163, n. 7, p. 709-716, 2006. <https://doi.org/10.1016/j.jplph.2005.09.015>

SHAHID, M., SHAMSHAD, S., RAFIQ, M., KHALID, S., BIBIB, I., KHAN, N., NIAZIB, DUMATE, C., RASHIDA, M.I. Chromium speciation, bioavailability, uptake, toxicity and detoxification in soil-plant system: a review. **Chemosphere**, v. 178, p. 513-533, 2017. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2017.03.074>

SHANKAR, A.K., VENKATESWARLU, B. Chromium: environmental pollution, health effects and mode of action A2. **Encyclopedia of environmental health**. Elsevier, Burlington, p. 650-659, 2011.

SHEEHAN, N.L., VAN HEESWIJK, R.P., FOSTER, B.C., AKHTAR, H., SINGHAL, N., SEGUIN, I., ... & CAMERON, D.W. The effect of β -carotene supplementation on the pharmacokinetics of nelfinavir and its active metabolite M8 in HIV-1-infected patients. **Molecules**, v. 17, n. 1, p. 688-702, 2012. <https://doi.org/10.3390/molecules17010688>

SHEN, H., PRITCHARD, P.H., SEWELL, G.W. Microbial reduction of Cr (VI) during anaerobic degradation of benzoate. **Environmental science & technology**, v. 30, n. 5, p. 1667-1674, 1996. <https://doi.org/10.1021/es950657y>

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

SIEFERT, E., IRGENS, R.L., PFENNIG, N. Phototrophic purple and green bacteria in a sewage treatment plant. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 35, n. 1, p. 38-44, 1978. <https://doi.org/10.1128/aem.35.1.38-44.1978>

SILVER, S. The bacterial view of the periodic table: specific functions for all elements. In: Banfield, J.F., Nealson, K.H. (Eds.). *Geomicrobiology: Integration between Microbes and Minerals*. Mineralogical Society of America, Washington, DC, pp. 345-360. 1997. <https://doi.org/10.1515/9781501509247-012>

SINGH, S., KANG, S.H., MULCHANDANI, A., & CHEN, W. Bioremediation: environmental clean-up through pathway engineering. **Current opinion in biotechnology**, v. 19, n. 5, p. 437-444, 2008. <https://doi.org/10.1016/j.copbio.2008.07.012>

SNEDDON, C. Chromium and its Adverse Effects on the Environment: Case Study. Department of Earth Sciences, Montana State University. 2012.

SODHI, K.K., KUMAR, M., AGRAWAL, P.K., & SINGH, D.K. Perspectives on arsenic toxicity, carcinogenicity and its systemic remediation strategies. **Environmental Technology & Innovation**, v. 16, p. 100462, 2019. <https://doi.org/10.1016/j.eti.2019.100462>

SRINATH, T., VERMA, T., RAMTEKE, P.W., & GARG, S.K. Chromium (VI) biosorption and bioaccumulation by chromate resistant bacteria. **Chemosphere**, v. 48, n. 4, p. 427-435, 2002. [https://doi.org/10.1016/S0045-6535\(02\)00089-9](https://doi.org/10.1016/S0045-6535(02)00089-9)

SRIVASTAV, A., YADAV, K. K., YADAV, S., GUPTA, N., SINGH, J. K., KATIYAR, R., & KUMAR, V. Nano-phytoremediation of pollutants from contaminated soil environment: Current scenario and future prospects. In: **Phytoremediation**. Springer, Cham, p. 383-401, 2018. https://doi.org/10.1007/978-3-319-99651-6_16

STASINAKIS, A.S., MAMAI, D., THOMAIDIS, N.S., & LEKKAS, T.D. Effect of chromium (VI) on bacterial kinetics of heterotrophic biomass of activated sludge. **Water Research**, v. 36, n. 13, p. 3341-3349, 2002. [https://doi.org/10.1016/S0043-1354\(02\)00018-0](https://doi.org/10.1016/S0043-1354(02)00018-0)

STASINAKIS, A.S., THOMAIDIS, N.S., MAMAI, D., PAPANIKOLAOU, E.C., TSAKON, A., & LEKKAS, T.D. Effects of chromium (VI) addition on the activated sludge process. **Water Research**, v. 37, n. 9, p. 2140-2148, 2003. [https://doi.org/10.1016/S0043-1354\(02\)00623-1](https://doi.org/10.1016/S0043-1354(02)00623-1)

SUDO, R., AIBA, S. Effect of copper and hexavalent chromium on the specific growth rate of ciliata isolated from activated-sludge. **Water Research**, v. 7, n. 9, p. 1301-1307, 1973. [https://doi.org/10.1016/0043-1354\(73\)90007-9](https://doi.org/10.1016/0043-1354(73)90007-9)

SU, Y.Q., YUAN, S., GUO, Y.C., TAN, Y.Y., MAO, H.T., CAO, Y., & CHEN, Y.E. Highly efficient and sustainable removal of Cr (VI) in aqueous solutions by photosynthetic bacteria supplemented with phosphor salts. **Chemosphere**, p. 131031, 2021. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2021.131031>

SUN, Y., LAN, J., DU, Y., GUO, L., DU, D., CHEN, S., ... & ZHANG, T. C. Chromium (VI) bioreduction and removal by *Enterobacter* sp. SL grown with waste molasses as carbon source: impact of operational conditions. **Bioresour. Technol.**, v. 302, p. 121974, 2020. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2019.121974>

TAMIAKI, H., MATSUNAGA, S., TAIRA, Y., WADA, A., KINOSHITA, Y., & KUNIEDA, M. Synthesis of zinc 20-substituted bacteriochlorophyll-d analogs and their self-aggregation. **Tetrahedron Letters**, v. 55, n. 22, p. 3351-3354, 2014. <https://doi.org/10.1016/j.tetlet.2014.04.057>

TANG, C.Y., FU, Q.S., CRIDDLE, C.S., & LECKIE, J.O. Effect of flux (transmembrane pressure) and membrane properties on fouling and rejection of reverse osmosis and nanofiltration membranes treating perfluorooctane sulfonate containing wastewater. **Environmental science & technology**, v. 41, n. 6, p. 2008-2014, 2007. <https://doi.org/10.1021/es062052f>

TANG, X., HUANG, Y., LI, Y., WANG, L., PEI, X., ZHOU, D., ... HUGHES, S.S. Study on detoxification and removal mechanisms of hexavalent chromium by microorganisms. **Ecotoxicology and environmental safety**, v. 208, p. 111699, 2021. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2020.111699>

THATHEYUS, A.J., RAMYA, D. Biosorption of chromium using bacteria: an overview. **Science International**, v. 4, n. 2, p. 74-79, 2016. <https://doi.org/10.17311/sciintl.2016.74.79>

TORANZO, R., FERRARO, G., BELIGNI, M.V., PEREZ, G.L., CASTIGLIONI, D., PASQUEVICH, D., & BAGNATO, C. Natural and acquired mechanisms of tolerance to chromium in a *Scenedesmus dimorphus* strain. **Algal Research**, v. 52, p. 102100, 2020. <https://doi.org/10.1016/j.algal.2020.102100>

TSENG, C.H., LEE, I.H., & CHEN, Y.C. Evaluation of hexavalent chromium concentration in water and its health risk with a system dynamics model. **Science of The Total Environment**, v. 669, p. 103-111, 2019. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.03.103>

TUMOLO, M., ANCONA, V., DE PAOLA, D., LOSACCO, D., CAMPANALE, C., MASSARELLI, C., & URICCHIO, V. F. Chromium pollution in European water, sources, health risk, and remediation strategies: an overview. **International Journal of Environmental Research and Public Health**, v. 17, n. 15, p. 5438, 2020. <https://doi.org/10.3390/ijerph17155438>

TURICK, C.E., APEL, W.A., CARMIOLO, N.S. Isolation of hexavalent chromium-reducing anaerobes from hexavalent-chromium-contaminated and noncontaminated environments. **Applied microbiology and biotechnology**, v. 44, n. 5, p. 683-688, 1996. <https://doi.org/10.1007/BF00172503>

VAIOPOULOU, E., GIKAS, P. Effects of chromium on activated sludge and on the performance of wastewater treatment plants: a review. **water research**, v. 46, n. 3, p. 549-570, 2012. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2011.11.024>

VANKOVA, S., KUPEC, J., HOFFMANN, J. Toxicity of chromium to activated sludge. **Ecotoxicology and Environmental Safety** 42, 16-21, 1999. <https://doi.org/10.1006/eesa.1998.1703>

VIDALI, M. " Bioremediation. An overview", Pure and Applied Chemistry, vol. 73, pp. 1163-1172. 2001. <https://doi.org/10.1351/pac200173071163>

VOGEL, A.I. Vogel's Qualitative Inorganic Analysis. Longman Scientific and Technical, England. 1987.

VOLESKY, B. Biosorption and biosorbents. **Biosorption of heavy metals**, p. 3-5, 1990.

VU, B., CHEN, M., CRAWFORD, R.J., IVANOVA, E.P. Bacterial extracellular polysaccharides involved in biofilm formation. **Molecules**, v. 14, n. 7, p. 2535-2554, 2009. <https://doi.org/10.3390/molecules14072535>

WANG, G., ZHANG, B., LI, S., YANG, M., & YIN, C. Simultaneous microbial reduction of vanadium (V) and chromium (VI) by *Shewanella loihica* PV-4. **Bioresource technology**, v. 227, p. 353-358, 2017. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2016.12.070>

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, X., SON, Y.O., CHANG, Q., SUN, L., HITRON, J.A., BUDHRAJA, A., ZHANG, Z., KE, Z., CHEN, F., LUO, J., SHI, X. NADPH oxidase activation is required in reactive oxygen species generation and cell transformation induced by hexavalent chromium. **Toxicological Sciences**, v. 123, n. 2, p. 399-410, 2011. <https://doi.org/10.1093/toxsci/kfr180>

WANG, Y.-T. Microbial reduction of chromate. In: Lovley, D.R. (Ed.), *Environmental Microbe–Metal Interactions*. American Society for Microbiology Press, Washington DC. 2000. <https://doi.org/10.1128/9781555818098.ch10>

WANG, Y.T., SHEN, H. Bacterial reduction of hexavalent chromium. **Journal of industrial microbiology and biotechnology**, v. 14, n. 2, p. 159-163, 1995. <https://doi.org/10.1007/BF01569898>

WANG, Y.T., SHEN, H. Modelling Cr (VI) reduction by pure bacterial cultures. **Water Research**, v. 31, n. 4, p. 727-732, 1997. [https://doi.org/10.1016/S0043-1354\(96\)00309-0](https://doi.org/10.1016/S0043-1354(96)00309-0)

WANI, P.A., WAHID, S., KHAN, M.S.A., RAFI, N., & WAHID, N. Investigation of the role of chromium reductase for Cr (VI) reduction by *Pseudomonas* species isolated from Cr (VI) contaminated effluent. **Biotechnology Research and Innovation**, v. 3, n. 1, p. 38-46, 2019. <https://doi.org/10.1016/j.biori.2019.04.001>

WEAVER, P.F., WALL, J.D., GEST, H. Characterization of *Rhodopseudomonas capsulata*. **Archives of Microbiology**, v. 105, n. 1, p. 207-216, 1975. <https://doi.org/10.1007/BF00447139>

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

WHO (World Health Organization). **Guidelines for Drinking-Water Quality**. 4 ed. Geneva: WHO, 2017.

WIELINGA, B., MIZUBA, M.M., HANSEL, C.M., & FENDORF, S. Iron promoted reduction of chromate by dissimilatory iron-reducing bacteria. **Environmental science & technology**, v. 35, n. 3, p. 522-527, 2001. <https://doi.org/10.1021/es001457b>

WONG, K.Y., ZHANG, M.Q., LI, X.M., & LO, W. A luminescence-based scanning respirometer for heavy metal toxicity monitoring. **Biosensors and Bioelectronics**, v. 12, n. 2, p. 125-133, 1997. [https://doi.org/10.1016/S0956-5663\(97\)87058-3](https://doi.org/10.1016/S0956-5663(97)87058-3)

WUANA, R.A., & OKIEIMEN, F.E. Heavy metals in contaminated soils: a review of sources, chemistry, risks and best available strategies for remediation. **International Scholarly Research Notices**, v. 2011, 2011. <https://doi.org/10.5402/2011/402647>

YIN, J., WANG, L., CHEN, Y., ZHANG, D., HEGAZY, A.M., & ZHANG, X. 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. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2019.01.186>

YU, C., TANG, X., LI, L.S., CHAI, X.L., XIAO, R., WU, D., TANG, C.J., CHAI, L.Y. 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. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2019.03.081>

YU, F., WANG, L., MA, H., & PAN, Y. Zeolitic imidazolate framework-8 modified active carbon fiber as an efficient cathode in electro-Fenton for tetracycline degradation. **Separation and Purification Technology**, v. 237, p. 116342, 2020. <https://doi.org/10.1016/j.seppur.2019.116342>

ZHOU, Q., ZHANG, P., & ZHANG, G. Biomass and pigments production in photosynthetic bacteria wastewater treatment: effects of light sources. **Bioresource technology**, v. 179, p. 505-509, 2015. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2014.12.077>

ZHOU, Q., ZHANG, P., ZHANG, G. Biomass and carotenoid production in photosynthetic bacteria wastewater treatment: effects of light intensity. **Bioresource technology**, v. 171, p. 330-335, 2014. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2014.08.088>

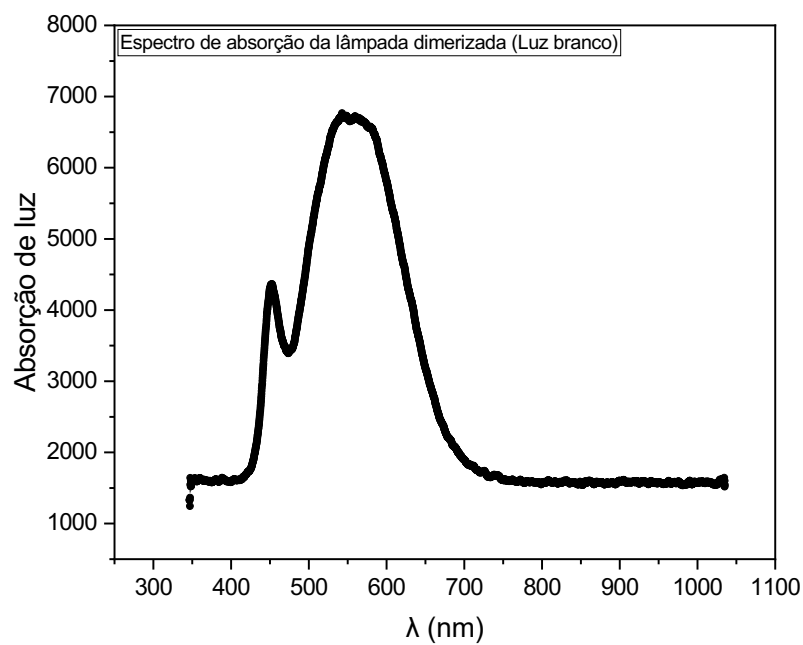
ZHOU, Q., ZHANG, P., ZHANG, G., & PENG, M. Biomass and pigments production in photosynthetic bacteria wastewater treatment: effects of photoperiod. **Bioresource technology**, v. 190, p. 196-200, 2015. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2015.04.092>

ZOUBOULIS, A.I., LOUKIDOU, M.X., MATIS, K.A. Biosorption of toxic metals from aqueous solutions by bacteria strains isolated from metal-polluted soils. **Process biochemistry**, v. 39, n. 8, p. 909-916, 2004. [https://doi.org/10.1016/S0032-9592\(03\)00200-0](https://doi.org/10.1016/S0032-9592(03)00200-0)

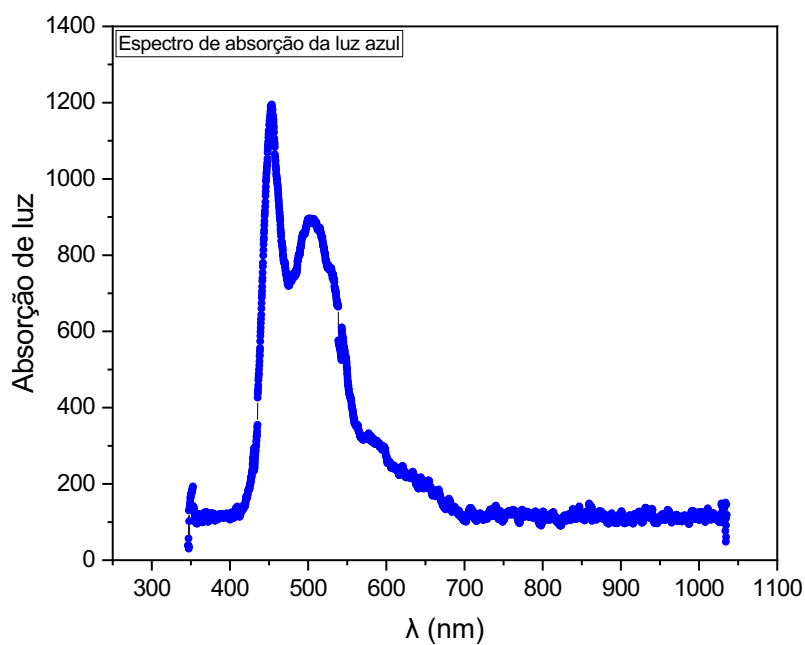
CAPÍTULO 9

APÊNDICE

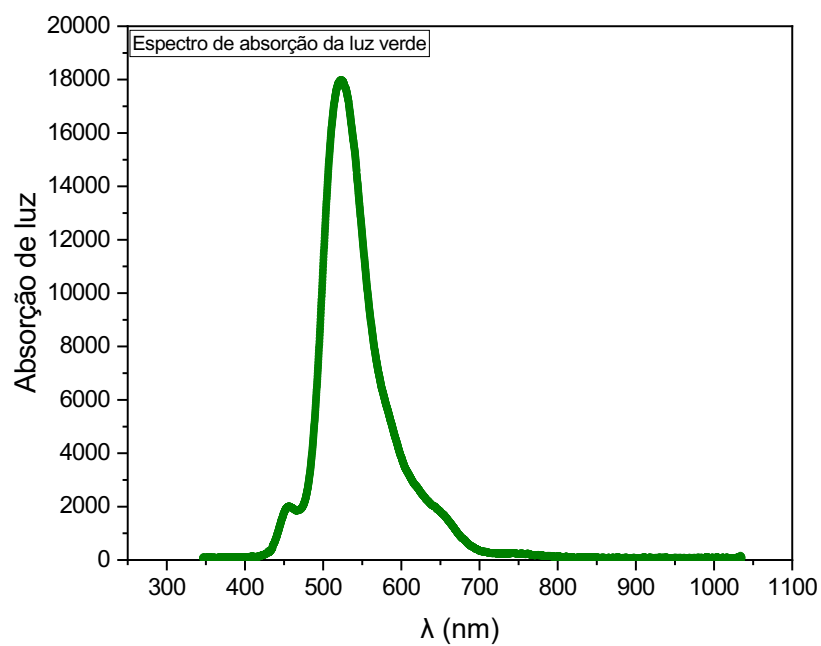
A – Espectro de absorção da luz branco.



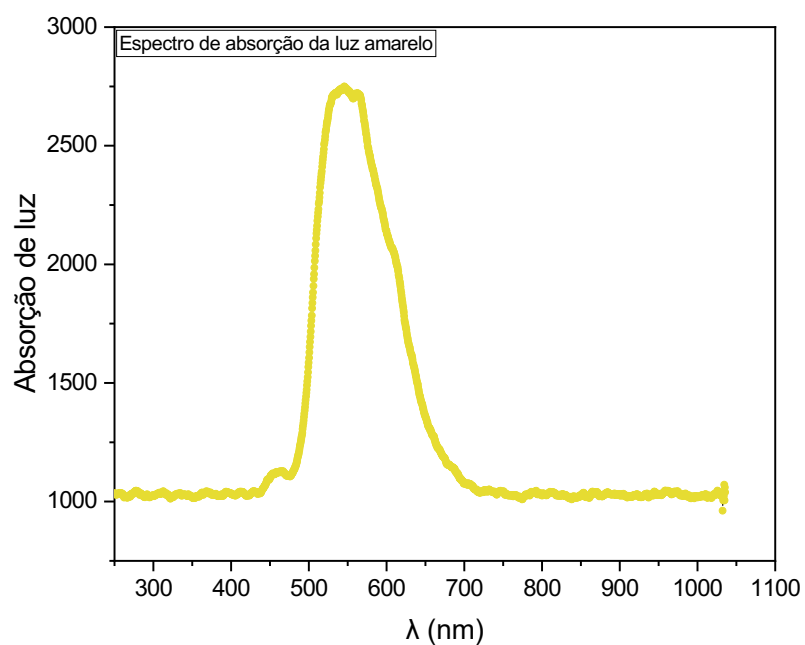
B – Espectro de absorção da luz azul.



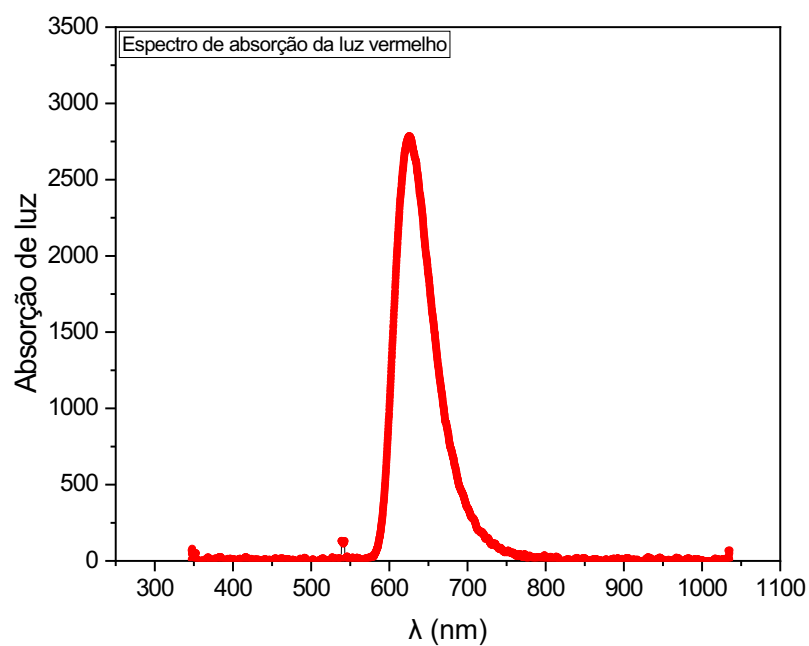
C – Espectro de absorção da luz verde.



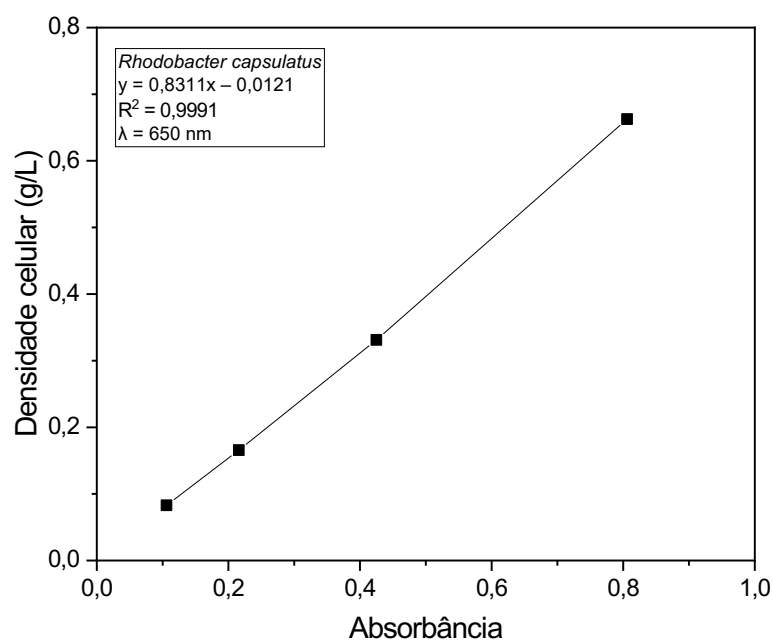
D – Espectro de absorção da luz amarelo.



E – Espectro de absorção da luz vermelho.



F - Curva de calibração para concentração de *Rhodobacter capsulatus*.



G - Curva de calibração para concentração de cromo hexavalente.

