

Avaliação de resistência a metais pesados pela bactéria *Bacillus aerius* BA04

Evaluation of resistance to heavy metals by the bacteria *Bacillus aerius* BA04

Eliza Tabora Afonso¹, Andréia Anschau²

RESUMO

A poluição ambiental por metais pesados teve início com as atividades industriais, resultante do descarte inadequado e da ausência de tratamento adequado dos resíduos provenientes de indústrias metalúrgica, químicas e agrícola. Este estudo avaliou a capacidade de resistência da bactéria *Bacillus aerius* BA04 frente a diferentes concentrações de sais de metais pesados. Foram realizados oito cultivos empregando a técnica de placa inclinada em meio sólido Mueller Hinton. Utilizou-se as concentrações conforme estabelecido pela Resolução 430/2011 do CONAMA e posteriormente um aumento de 5 a 15 vezes. Os sais de metais pesados utilizados incluíram acetato de chumbo II, sulfato de cobre, sulfato de ferro II, sulfato de alumínio, nitrato de cobalto, sulfato de zinco, sulfato de mercúrio e cloreto de cobalto. Realizou-se os cultivos em duplicata a uma temperatura de 35°C durante 7 dias. A *B. aerius* teve seu crescimento inibido no primeiro teste com a presença do mercúrio e com o aumento de concentração de 15 vezes dos sais de cloreto de cobalto, sulfato de cobre e sulfato de zinco. Nas demais meios e concentrações houve o crescimento bacteriano perante toda a linha do inóculo, tornando a bactéria *Bacillus aerius* um grande alvo de estudo para a biorremediação.

PALAVRAS-CHAVE: Biorremediação; *Bacillus*; metais pesados.

ABSTRACT

Environmental pollution by heavy metals began with industrial activities, resulting from inadequate disposal and lack of adequate treatment of waste from metallurgical, chemical and agricultural industries. This study evaluated the resistance capacity of the bacteria *Bacillus aerius* BA04 against different concentrations of heavy metal salts. Eight cultures were carried out using the inclined plate technique in Mueller Hinton solid medium. Concentrations were used as established by CONAMA Resolution 430/2011 and subsequently increased by 5 to 15 times. Heavy metal salts used included lead II acetate, copper sulfate, iron II sulfate, aluminum sulfate, cobalt nitrate, zinc sulfate, mercury sulfate, and cobalt chloride. Cultures were carried out in duplicate at a temperature of 35°C for 7 days. *B. aerius*' growth was inhibited in the first test with the presence of mercury and with a 15-fold increase in the concentration of cobalt chloride, copper sulfate and zinc sulfate salts. In other media and concentrations, there was bacterial growth across the entire inoculum line, making the *Bacillus aerius* bacteria a major target of study for bioremediation.

KEYWORDS: Bioremediation; *Bacillus*; Heavy metals.

INTRODUÇÃO

Em decorrência do aumento populacional, as atividades industriais aumentaram significativamente. Advindo disso, um dos grandes problemas que afetam o meio ambiente atualmente é a contaminação por metais pesados provenientes dos descartes

¹ Bolsista voluntária. Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Dois Vizinhos, Paraná, Brasil. E-mail: eliza_aafonso@outlook.com. ID Lattes: 9494855985854807.

² Docente no Curso de Engenharia de Bioprocessos e Biotecnologia. Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Dois Vizinhos. Paraná. Brasil. E-mail: andreaanschau@utfpr.edu.br. ID Lattes: 3961734985713527.



incorretos de resíduos de indústrias químicas, metalúrgicas e agrícolas, uma vez que, esses metais pesados, são tóxicos e podem causar danos à saúde ambiental, humana e animal (BOVENSCHULTE, 2022).

A remediação desempenha um papel fundamental na preservação do meio ambiente pois são empregadas técnicas para minimizar os danos causados ao meio ambiente, especialmente em áreas contaminadas por produtos químicos tóxicos. Existem as técnicas que envolvem processos físico-químicos de alto custo, com baixa eficiência operacional e que demandam tempo, e que após aplicação faz-se necessário restabelecer o ambiente para que seja possível o desenvolvimento de espécies animais, vegetais e microbianas (MENDES, 2010).

A biorremediação é uma técnica que utiliza organismos vivos, como bactérias, fungos ou plantas para degradar ou transformar os poluentes tóxicos em substâncias menos nocivas ou inertes, tornando-se uma alternativa eficaz pois apresenta menores custos, alta eficiência e menor geração de rejeitos (DIAS, 2019).

A utilização da biorremediação com microrganismos oferece diversas vantagens, tais como, fácil cultivo e crescimento, aplicação prática e eficiente, não são tóxicos para o meio ambiente e a saúde humana, baixo custo, são capazes de resistir e suportar íons de metais pesados acumulados e a biomassa pode ser recuperada após o processo tornando esse método altamente sustentável e econômico (BIONDO et al., 2012).

As bactérias do gênero *Bacillus* despertam interesse em estudos voltados para a biorremediação devido à capacidade de se desenvolver em ambientes com condições extremas, as mesmas são capazes de produzir endósporos inativos aeróbicos que promovem maior resistência e sobrevivência, podendo ser isoladas de amostras de solo, água, efluentes, sedimentos oceânicos entre outros. Suas características variam entre aeróbicas ou anaeróbicas facultativas, esporuladas, acidófilas, alcalófilas ou termofílicas (GOTO et al., 2000, LOGAN; POPOVIC; HOFFMASTER, 2007, ZEIGLER, 2018).

Este trabalho teve como objetivo avaliar resistência da bactéria *Bacillus aerius* BA04 frente aos sais de metais pesados acetato de chumbo II, sulfato de cobre, sulfato de ferro II, sulfato de alumínio, nitrato de cobalto, sulfato de zinco, sulfato de mercúrio e cloreto de cobalto em diferentes concentrações.

MATERIAIS E MÉTODOS

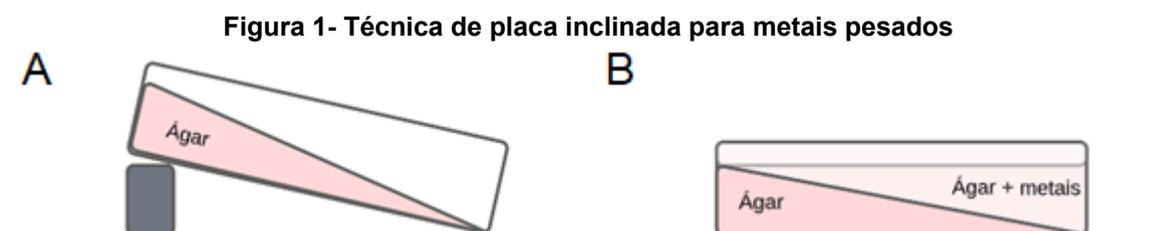
Neste trabalho utilizou-se o isolado *Bacillus aerius* BA04, proveniente de quatro corpos d'água do Córrego Jaboti, Lago Jaboti, Represa do Barreiro e Ribeirão Biguaçu, da cidade de Apucarana – norte do Estado do Paraná e gentilmente cedido pela UTFPR campus Londrina. Para o cultivo e crescimento das bactérias em placas de petri utilizou-se o Ágar Mueller-Hinton. Foram testados 8 sais de metais pesados. O primeiro teste foi feito utilizando as concentrações máximas permitidas pela Resolução 430/2011 do CONAMA e posteriormente essas concentrações foram aumentadas em cinco vezes (5x) e então, a partir dessa nova concentração, foi realizado um aumento de dez vezes (10x) e posteriormente quinze vezes (15x). A Tabela 1 abaixo apresenta os sais de metais pesados estudados e as respectivas concentrações.

Tabela 1 – Concentrações de sais de metais pesados usados nos meios de cultivo

Sais de metais pesados	Concentrações (mg/L)	5x	10x	15x
Acetato de chumbo II	0,915	4,575	45,750	686,250
Sulfato de cobre	3,930	19,650	196,500	2947,500
Sulfato de ferro II	74,600	373,000	3730,000	55950,000
Sulfato de alumínio	2,530	12,650	126,500	1897,500
Nitrato de cobalto	0,308	1,540	15,400	231,000
Sulfato de zinco	22,000	110,000	1100,000	16500,000
Sulfato de mercúrio	0,012	0,060	0,600	0,900
Cloreto de cobalto	5,327	26,635	266,350	3995,250

Fonte: Autoria própria (2023)

Foi utilizada a técnica de placa inclinada para analisar a resistência da bactéria perante cada metal pesado. Para tal, foram usadas duas camadas de meio contendo Ágar Mueller-Hinton e realizado o esgotamento por estrias. A camada inferior foi composta por 10 mL de Ágar Mueller-Hinton de forma inclinada (Figura 1A). A camada superior continha 10 mL de Ágar Mueller-Hinton contendo sais de metais pesados, obtendo-se assim um gradiente de concentração de metais (Figura 1B).



Fonte: Autoria Própria (2023)

Após, as placas (em duplicata) foram inoculadas partindo da posição de menor concentração para a de maior concentração de metal pesado. As placas foram incubadas a 35°C por 7 dias e foram observadas presença ou ausência de crescimento ao longo da linha do inóculo.

RESULTADOS E DISCUSSÕES

Na concentração permitida pela CONAMA após 7 dias de cultivo, observou-se que a bactéria *B. aerius* BA04 cresceu em todos os meios supracitados, exceto no meio contendo sulfato de mercúrio. Com base no trabalho de Abreu (2021) acredita-se que não houve crescimento devido as moléculas de mercúrio apresentarem propriedades

antissépticas e antibacterianas, usadas em desinfetantes tópicos (merbromina) e em conservantes em formulações farmacêuticas (timerosal e fenilmercúrio).

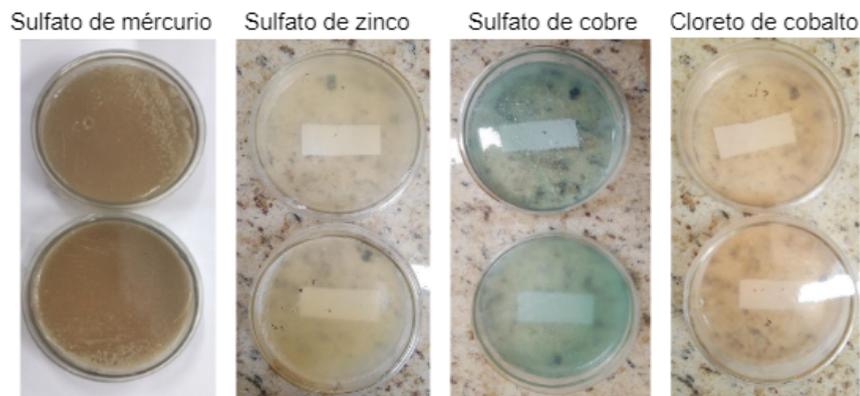
Nos outros 7 meios com o aumento de concentração de 5x e 10x houve um crescimento homogêneo da bactéria perante toda linha do inóculo. Já na concentração de 15x, a bactéria *Bacillus aerius* não se desenvolveu no meio contendo os sais, cloreto decobalto, sulfato de cobre, de zinco e de mercúrio (Figura 2 e 3).

Figura 2- Cultivos que resultaram crescimento da bactéria em todas as concentrações testadas.



Fonte: Autoria própria (2023).

Figura 3 - Cultivos em que não apresentaram crescimento celular nos sais de metais na concentração de 15x



Fonte: Autoria própria (2023).

Acredita-se que houve a inibição do crescimento nesses meios devido a alta toxicidade desses metais que podem ter perturbado os processos vitais das células bacterianas, interferindo no equilíbrio iônico celular e até mesmo induzindo estresse oxidativo, limitando assim, a capacidade de desenvolvimento das bactérias.

CONCLUSÃO

Apesar da bactéria não ter suportado as concentrações de 15 vezes para os sais de cloreto de cobalto, sulfato de cobre, de zinco e de mercúrio foi possível observar o

crescimento bacteriano nas demais concentrações desses sais, além dos demais sais estudados. Com isso, conclui-se que a bactéria a *B. aerius* BA04 possui capacidade de crescer em ambientes com condições adversas a torna de grande relevância para estudos de biorremediação.

Agradecimentos

Os autores agradecem ao Laboratório Multiusuário de Biotecnologia Ambiental e Alimentos (LABMULT LABIA) da Universidade Tecnológica Federal do Paraná (UTFPR), Campus Dois Vizinhos, pelo suporte analítico durante a realização deste trabalho e à profa. Luciana Furlaneto Maia da UTFPR campus Londrina pelo fornecimento do microrganismo.

Conflito de interesse

Não há conflitos de interesse.

REFERÊNCIAS

ABREU, A. I. F. **A aplicação do mercúrio em medicina e terapêutica.** Tese de Doutorado. 2021.

BIONDO R., SILVA F.A., VICENTE E.J., SARKIS J.E.S., Schenberg ACG. *Synthetic Phytochelatin surface display in *Cupriavidus metallidurans* CH34 for enhanced metals bioremediation.* ***Environmental Science & Technology***. 46: 8325-8332, 2012.

BRAVO, G. B. G. **Resistência aos metais cobre, chumbo, cromo e zinco em bactérias gram-positivas isoladas de ambiente aquático.** 2018. 44 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Ambiental) - Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Londrina, 2018.

BOVENSCHULTE, Daiane. **Biorremediação de metais pesados utilizando a microalga *Chlorella vulgaris*: uma revisão,** 2022.

DIAS, Guilherme et al. Biorremediação de efluentes por meio da aplicação de microalgas-uma revisão. ***Química Nova***, v. 42, p. 891-899, 2019.

GOTO, K. et al. *Application of the partial 16S rDNA sequence as an index for rapid identification of species in the genus Bacillus.* ***The Journal of General and Applied Microbiology***. v. 46, p. 1-8, 2000.

LOGAN, N. A.; POPOVIC, T.; HOFFMASTER, A. *Bacillus and other aerobic endospore-forming bacteria.* In: MURRAY, P. R.; BARON, E.J.; JORGENSEN, J. H; LANDRY, M. L.; PFALLER, M. A (eds.). ***Manual of Clinical Microbiology***. 9 ed. Washington, D.C. ASM Press, 2007, p. 455-473.

XIII Seminário de Extensão e Inovação
XXVIII Seminário de Iniciação Científica e Tecnológica da UTFPR

Ciência e Tecnologia na era da Inteligência Artificial: Desdobramentos no Ensino Pesquisa e Extensão
20 a 23 de novembro de 2023 - Campus Ponta Grossa, PR



SEI-SICITE
2023



MENDES FILHO, P.F.; VASCONCELLOS, R.L.F.; PAULA, A.M.; CARDOSO, E.J.B.N. Evaluating the potential of forest species under microbial management of the restoration of degraded mining areas. **Water, Air and Soil Pollution**, v.208, n.1/4, p.79-89, 2010.

ZEIGLER, D.R; PERKINS, J.B. O gênero *Bacillus* . In **Practical Handbook of Microbiology**, Ed. Goldman, E. & Green, LH Second Edition, pp. 309-337. Boca Raton. FL. Imprensa CRC. 2008.