
Aplicação de microrganismos e enzimas imobilizados em processos de biorremediação

Bruno Rafael de Lima Moraes, Cynthia Letícia Serra Cabeça, Grace Anne Vieira Magalhães

<https://doi.org/10.4322/mp.978-65-84548-03-9.c9>

Resumo

A biorremediação pode ser de duas formas, *in situ*, onde se faz a descontaminação do poluente no próprio local, e *ex situ*, onde o tratamento é feito fora do local de contaminação. Para esses processos, pode-se usar tanto microrganismos indígenas como microrganismos manipulados geneticamente ou com uma especificidade para biodegradação do poluente em questão. A imobilização é uma forma de otimizar o processo de descontaminação dos poluentes. Na imobilização, os microrganismos e suas enzimas possuem condições favoráveis para multiplicação e funcionamento metabólico ótimos, obtendo-se resultados melhores do que se fossem utilizados isoladamente. O biocarvão é um dos materiais mais utilizados para imobilização. As enzimas imobilizadas possuem maior eficiência na descontaminação de poluentes do que os microrganismos, e o consórcio entre enzimas e microrganismos em um material de imobilização multiplica a biodegradação dos poluentes. As aplicações de enzimas e microrganismos imobilizados são as mais diversas: biodegradação de fertilizantes, de fungicidas, inseticidas, de petróleo e produtos derivados, de resíduos da indústria farmacêutica e da indústria têxtil, de metais como o arsênio e o mercúrio, de lipídios. Em relação ao ambiente, os solos são os locais onde predomina a contaminação pelos resíduos, com destaque também para os corpos hídricos, como mares e rios. A maioria dos microrganismos imobilizados usados nos processos de biorremediação são bactérias, enquanto leveduras, fungos filamentosos e outros microrganismos são usados com menos frequência.

Palavras-chave: enzimas em biorremediação; enzimas imobilizadas; microrganismos; microrganismos imobilizados.

Abstract

Bioremediation can take two forms, *in situ*, when the pollutant decontamination is carried out on site, and *ex situ*, when treatment is carried out off-site. For these processes, one can use either indigenous microorganisms or genetically manipulated microorganisms or, still further, a microorganism possessing a specificity in biodegrading a given pollutant. Immobilization is one way to optimize

the process of pollutant decontamination. In this technique, microorganisms and their enzymes have favorable conditions for optimal multiplication and metabolic functioning, achieving better results than if they were used alone. Biochar is one of the most widely used materials for immobilization. Immobilized enzymes are more efficient in decontaminating pollutants than microorganisms and the consortium between both in an immobilization material, enhances the biodegradation of pollutants. The application of immobilized enzymes and microorganisms are the most varied: biodegradation of fertilizers, fungicides, insecticides, oil and derived products, pharmaceutical and textile industry residues, metals such as arsenic and mercury and lipids. In relation to the environment, soils are the places where contamination by residues predominates, with water bodies, such as seas and rivers, also standing out. Most immobilized microorganisms used in bioremediation processes are bacteria, while yeasts, filamentous fungi, and other microorganisms are used less frequently.

Key words: enzymes in bioremediation; immobilized enzymes; microorganisms; immobilized microorganisms.

1. Introdução

Tanto o tratamento de efluentes como a descontaminação de águas e solos poluídos, por métodos físicos e químicos muitas vezes não são eficientes, além de acarretar em problemas relacionados à sustentabilidade, ecologia e alto custo (KAUR; KROL; BRAR, 2021; ZENG *et al.*, 2021). Desta forma, o tratamento biológico por meio de microrganismos e enzimas, conhecido como biorremediação, têm sido utilizados como um tratamento ecologicamente correto dos compostos recalcitrantes (SHAKERIAN; ZHAO; LI, 2020), porém, muitas vezes com necessidade de alto tempo de retenção no tratamento (ZENG *et al.*, 2021). A utilização de microrganismos e enzimas como lacase, peróxido de lignina, peróxido de manganês, xilanase e superóxido dismutase, no tratamento de efluentes, tem a capacidade de degradar e transformar compostos tóxicos em compostos mais simples e de fácil degradação (ZENG *et al.*, 2021), além de promover adsorção, absorção, degradação parcial ou transformação dos xenobióticos, bem como a sua mineralização (GIOVANELLA *et al.*, 2020).

A biorremediação foi categorizada em 2 formas, a *in-situ*, onde ocorre o tratamento no local, sendo selecionados microrganismos nativos, presentes na natureza, e a *ex-situ*. Microrganismos resistentes a determinada composição pode ser utilizados para remoção e transformação de compostos tóxicos em menos tóxicos. Na remediação por microrganismos, alguns mecanismos de oxidação dos poluentes contam com um sistema de resistência, como no caso

da biorremediação do mercúrio, controlado pelo operon Mer, presentes em variadas espécies bacterianas (RANI; SRIVASTAV; KAUSHAL, 2021).

No processo de biorremediação, a bioaugmentação e bioestimulação são exemplos de tratamento de contaminação *in situ*, que possibilitam um tratamento mais rápido e eficiente, por meio da adição de culturas pré-cultivadas ou adição de agentes estimuladores de crescimento microbiano nativo (SOMMAGGIO *et al.*, 2018). O processo de bioaugmentação utiliza microrganismos indígenas coletados e cultivados, podendo também, após modificação genética ou não, serem depositados nos locais de origem a serem remediados, com o intuito de aumentar a velocidade de degradação de compostos poluentes por meio de grande quantidade de microrganismos mais eficientes em degradar os contaminantes (RANI; SRIVASTAV; KAUSHAL, 2021).

Já no processo de biotransformação e degradação, os compostos poluentes são transformados em compostos mais simples, que podem ser não poluentes ou de fácil degradação, remediando o composto poluente (SAEED *et al.*, 2021).

A biorremediação com microrganismos nativos requer a coleta de organismos nos locais da poluição, seguido de isolamento e identificação, por extração e amplificação do genoma (DONG *et al.*, 2021). Após o isolamento, os microrganismos podem ser modificados, por edição genômica e técnicas bioquímicas de modificações, uma vez que, a presença de genes e plasmídios responsáveis por características referentes à resistência e transformação de xenobióticos, podem auxiliar na formação de microrganismos melhores em processos de remediação de uma ampla variedade de poluentes (MADAMWAR *et al.*, 2021).

Desta forma, ferramentas biotecnológicas podem melhorar o cenário relacionado à biorremediação, tornando este processo mais eficiente, de baixo custo e sustentável.

2. Metodologia

O trabalho consistiu em revisão bibliográfica utilizando periódicos do site de busca Science Direct, considerando artigos de pesquisa do período de 2018 a 2022. As palavras chaves utilizadas para a busca de periódicos foram “bioremediation enzymes”; “bioremediation microorganism”; “immobilized

enzyme bioremediation”; “microorganisms and bioremediation” e “microorganisms immobilized in bioremediation”.

3. Enzimas e microrganismos imobilizados aplicados em processos de biorremediação

A imobilização é um método onde microrganismos selecionados podem se multiplicar em um material adequado à sobrevivência e funcionamento metabólico, com a promoção de sorção de poluentes enriquecidos nos suportes, para que haja uma interação entre os microrganismos e os poluentes e posterior remoção do poluente pelo microrganismo. Os métodos de imobilização mais comuns são: incorporação, adsorção, vinculação covalente e ligação cruzada (LU *et al.*, 2018).

Além de fornecer um ambiente adequado para o crescimento dos microrganismos, a imobilização minimiza as pressões presentes em um ambiente natural. Dessa forma, a imobilização aumenta a taxa de multiplicação e sobrevivência das células, diminui a competição, gerando uma disponibilidade maior de nutrientes, e aumenta a adaptabilidade das células ao meio onde se encontra imobilizada (ZHANG *et al.*, 2020). O tratamento por mobilização de enzimas e microrganismos apresenta alta eficiência de tratamento, estabilidade, reutilização do imobilizado e eficiente produtividade, além de baixo-custo de aplicação (DIXIT *et al.*, 2021).

Dentre os materiais que já foram utilizados para imobilização de microrganismos, existe o biocarvão, que é um material sólido, estável, poroso e bem concentrado de carbono. Esse material possui várias vantagens na remediação de solos contaminados, tais como o aumento da fertilidade e captura de carbono do solo, melhoria na adsorção de poluentes e fornecimento de nutrientes para a estabilização da comunidade microbiana. Essas características e vantagens do biocarvão oferecem um ambiente propício para os microrganismos degradarem vários tipos de compostos poluentes presentes no solo (SUN *et al.*, 2020).

Um material alternativo para substituir o biocarvão é a casca de noz, que se torna mais econômica quando usada em grande escala. É um material orgânico que não causa poluição ambiental e não é tóxico aos microrganismos. E além disso, possui propriedades que o fazem um bom produto para a adsorção

de óleo em locais contaminados (HASANZADEH *et al.*, 2020). Além da casca de noz, também já foi estudado outros materiais para a imobilização de microrganismos, como a quitosana, a palha de trigo, aparas de madeira (WAHLA *et al.*, 2020) e a escória (rocha proveniente de erupções vulcânicas) (LI *et al.*, 2020).

Dados demonstram que a biorremediação é mais eficaz quando se utiliza um material para imobilização das células do que quando se utiliza as células livres, ou seja, sem nenhum material associado às células (ZHANG *et al.*, 2020). Uma grande variedade de bactérias pode ser imobilizadas e usadas em processos de biorremediação, como pode ser visto no estudo de degradação do nitrogênio feito por Li *et al.* (2020), com destaque de bactérias dos gêneros *Pseudomonas*, *Stenotrophomonas* e *Serratia*. Na pesquisa de Zhang e colaboradores (ZHANG *et al.*, 2020), pode-se ver o potencial de um desses gêneros, a *Pseudomonas*, onde foi estudada uma cepa, *Pseudomonas stutzeri* Y2, que demonstrou ser capaz de degradar um herbicida, tanto em uma situação onde o poluente possa ser encontrado em solo, como em esgoto industrial.

Microrganismos são muito importantes nos processos de biorremediação e possuem grandes vantagens em relação à sua aplicação na descontaminação de poluentes, mas, o uso de enzimas oferece maiores vantagens em comparação ao uso de microrganismos (SHAKERIAN; ZHAO; LI, 2020). A aplicação de enzimas para biorremediação tem sido bastante utilizada em diversos setores com o objetivo de reduzir contaminações em determinados ambientes, como por exemplo na degradação de resíduos industriais, utilizando lacases, peroxidases. Enzimas imobilizadas apresentam vantagens de utilização em relação a enzimas livres, por exibirem boas propriedades que permitem sua reutilização e uma maior estabilidade por até 8 semanas, melhorando suas possibilidades de aplicação, bem como a rapidez e economia do processo, produção de menos resíduos e fácil separação da solução (SHAKERIAN; ZHAO; LI, 2020). Tais enzimas também demonstram maior resistência a variações de pH e temperatura, minimizando riscos como desnaturações e fatores que podem reduzir a atividade enzimática (MEHANDIA; SHARMA; ARYA, 2020; ALMULAIKY; AL-HARBI, 2019; DIXIT *et al.*, 2021).

No tratamento de efluentes por enzimas, o principal mecanismo ocorrido é a oxidação, onde a enzima pode ser ativada por mediadores, ácidos orgânicos

ou catalisadores auxiliares, para maior efetividade e também na reutilização. Tratamento por lacase, lignina peroxidase, peroxidase de manganês, superóxido dismutase são as mais utilizadas, conhecidas por oxidação dos compostos orgânicos, quebra de anéis aromáticos e hidroxilação de compostos e transformação em compostos de baixa solubilidade em fácil precipitação. Contudo, enzimas como a celulase, lipase e amilase também são conhecidas como ecologicamente corretas e economicamente mais baratas no processo de tratamento de efluentes, promovendo hidrólise por meio da ruptura de ésteres, halogenetos de carbono e ligações peptídicas (KARIGAR; RAO, 2011; ZENG *et al.*, 2021).

Existem muitas enzimas que são utilizadas para biodegradação de compostos prejudiciais ao meio ambiente e aos seres vivos. Um dos grupos de enzimas é o dos fosfotriesterases (PTEs) que atua na hidrólise de compostos organofosforados. Algumas enzimas deste grupo podem ser encontradas nas bactérias *Brevundimonas* sp e *Sphingomonas* sp. O primeiro gênero de bactérias já é bem conhecido por ter enzimas que degradam clorpirifós, um inseticida, enquanto que para o segundo gênero de bactérias, embora não exista muitos estudos, há enzimas capazes de degradar composto organofosforado (SANTILLAN *et al.*, 2020).

Além disso, a utilização de ferramentas biotecnológicas e engenharia genética possibilitam a produção de enzimas mais eficientes e estáveis, bem como a modificação de microrganismos pode melhorar a qualidade de enzimas produzidas, a biotransformação e bioacumulação, melhorando os processos de biorremediações. (DIXIT *et al.*, 2021).

Os microrganismos podem ser usados individualmente nos materiais de imobilização, mas a união de vários microrganismos diferentes em um mesmo processo de imobilização favorece muito mais a biodegradação do poluente do que quando se usa somente uma espécie. Além de contribuir com outras vantagens, como a estabilização e o aumento da biodiversidade da comunidade microbiana no local contaminado. Ainda, o processo de biorremediação pode ser maximizado, associando enzimas específicas à degradação de determinada molécula ao consórcio microbiano (DAI *et al.*, 2020).

4. Exemplos de biorremediação onde microrganismos e suas enzimas foram utilizados

Diversas aplicações e estudos biotecnológicos de biorremediações vêm sendo desenvolvidos, podemos ver alguns exemplos de tais aplicações na Tabela 1.

Fertilizantes são muito usados em diversos tipos de culturas agrícolas para aumentar a produtividade, o que é um benefício, porém, boa parte do nitrogênio contido nesses fertilizantes são lixiviados para os lençóis freáticos, tornando a água imprópria para o consumo. Pensando nesse contexto, bactérias imobilizadas com um meio ativo composto, em escória, uma rocha sílica proveniente de erupções vulcânicas, já foram utilizadas com sucesso em laboratório, para a remoção de compostos nitrogenados que poluem os lençóis freáticos (LI *et al.*, 2020).

Microrganismos imobilizados em biocarvão já foram utilizados com sucesso na descontaminação de solos contaminados por fungicida, além de promoverem aumento na riqueza microbiana destes solos (SUN *et al.*, 2020). Também já foram usadas bactérias em consórcio imobilizadas em biocarvão, onde foi demonstrado bons resultados na degradação de um herbicida em solo contaminado em cultivo de batatas. As vantagens do uso desse consórcio de bactérias incluem aumento da biomassa vegetal, maior taxa de crescimento da planta comparado ao uso das bactérias sem o biocarvão e reabilitação da população microbiana (WAHLA *et al.*, 2020).

Outro tipo de composto poluente presente no solo e em águas residuais, o inseticida, relatado em estudos, passou pelo processo de biodegradação por bactérias e suas enzimas (SANTILLAN *et al.*, 2020). Também presente em solos e esgotos industriais, herbicidas como o Simazine, podem ser biodegradados através da aplicação de microrganismos imobilizados (ZHANG *et al.*, 2020).

Outro tipo de contaminação, que não está diretamente ligado aos solos, mas que também é muito grave e é um problema global, é a poluição dos oceanos e mares por derramamento de óleo pesado. Esse óleo tende a ficar na zona entre marés, zona localizada entre o litoral e o mar aberto. A biorremediação desse poluente tem sido estudada usando-se consórcio de microrganismos associados a enzimas imobilizadas, e os resultados têm sido promissores (DAI *et al.*, 2020).

Tabela 1. Microrganismos e enzimas imobilizadas na biorremediação e os respectivos poluentes alvos.

FOSFOTRIESTERASE		
Microrganismo	Poluente	Referência
<i>Brevundimonas</i> sp e <i>Sphingomonas</i> sp.	Clorpirifós (inseticida)	Santillan, et al., 2020
<i>Alcaligenes faecalis</i> WZ-2	Tebuconazol (fungicida)	Sun et al., 2020
Halofílicos	Óleo	Hasanzadeh et al., 2020
Consórcio de bactérias	Metribuzin (herbicida)	Wahla, et al., 2020
Várias (<i>Pseudomonas</i> principal)	Moléculas com nitrogênio	Li et al., 2020
<i>Pseudomonas stutzeri</i> Y2	Simazine (herbicida)	Zhang et al., 2020
LACASE		
Microrganismo	Poluente	Referência
Consórcio de bactérias	Óleo (derivado do petróleo)	Dai et al., 2020
<i>Micrococcus luteus</i> AD3	Atrazina (herbicida)	Li et al., 2006
<i>Ochrobactrum</i> DGVK1	Dimetilformamida (solvente orgânico)	Sanjeev Kumar et al., 2012
<i>Phanerochaete chrysosporium</i>	Cádmio e diclorofenol (fungicida, herbicida e conservante de madeira)	Huang et al., 2015

Duas enzimas oxidorreduções, a lacase e a peroxidase, são bastante utilizadas na degradação química e podem ser aplicadas para a biorremediação de diversos compostos. A lacase pode ser usada na degradação de produtos farmacêuticos como a carbamazepina, o trimetoprim, o diclofenaco, o sulfametoxazol e as sulfonamidas; produtos da indústria têxtil, como os corantes

Remazol brilliant blue R, Sulfur blue 15 e o Sulfur brown GD; produtos químicos de desregulação endócrina fenólica como o bisfenol A. A peroxidase também pode ser usada na degradação de tinturas sintéticas, na degradação do pentaclorofenol, que assim como o bisfenol A, é um produto químico que desregula o sistema endócrino, e atua também na degradação de outros fenóis como p-clorofenol e catecol (SHAKERIAN; ZHAO; LI, 2020).

Outra aplicação de microrganismos imobilizados em processos de biorremediação é o uso deles para a descontaminação de efluentes industriais, como os da indústria farmacêutica. A dimetilformamida é um solvente orgânico usado em alguns setores, como na produção de medicamentos, e o descarte inadequado desse composto pode causar graves consequências para a saúde humana e a de outros seres vivos. Já existe um esforço de pesquisadores para a biorremediação dessa substância por bactérias imobilizadas, demonstrando resultado positivo para a descontaminação deste solvente em ambiente simulado, e perspectivas de uso dessas bactérias para o ambiente natural (SANJEEV KUMAR *et al.*, 2012).

Bactérias mobilizam e imobilizam o arsênio (As) naturalmente, pois entra na célula por serem semelhantes molecularmente ao fosfato quando em forma de arseniato (As V), por transportadores de fosfato ou via aqua-gliceroporinas, causando danos celulares internos. Bactérias podem excretar, metilar, quelar ou compartimentalizar o As, sendo a redução do As-V para As-III decorrência da desintoxicação, pois As-III é bombeado para fora da célula mais facilmente, sendo esta forma, mais facilmente tratada posteriormente. Indo-Pacífico *Theonella swinhoei* é uma esponja com presença de até 40% de microrganismos no seu volume corporal, e alta concentração de arsênio relacionado aos microrganismos presentes. No estudo de Shoham *et al.* (2021), as bactérias presentes em *T. swinhoei* resistentes ao As foram isoladas para estudo. Dos microrganismos isolados, 4 cepas reduziram As-V para As-III, tendo 2, apresentado bom potencial de remediação em ambientes de baixa salinidade (SHOHAM *et al.*, 2021).

Já na área de tratamento de efluentes com microrganismos, grande potencial na remediação por meio de bioacumulação e biossorção vêm sendo notados. A remoção de mercúrio, por exemplo, pode ser via redução por enzimas, como flavoenzima mercúrica redutase citoplasmática, sintetizadas por

genes de resistência ao mercúrio. Neste caso, o mecanismo de desintoxicação elucidado se deu por meio do transporte de mercúrio para o citoplasma, com redução de Hg(II) para Hg(0), seguida de difusão passiva da célula, a responsável pela remoção de Hg(0) (RANI; SRIVASTAV; KAUSHAL, 2021).

A utilização de co-cultura de simbiose entre leveduras e bactérias com o objetivo de biorremediação também tem demonstrado grandes resultados. Em efluente de fábrica de óleo de palma, com aumento de biomassa bacteriana e produção de lipídios, simultaneamente, Karim *et al.* (2021) estudaram, além da remediação, a valorização do efluente. Isto porque a produção de lipídios provenientes de microrganismos tem superioridade em relação aos óleos vegetais por conter maior percentual de gordura por massa, menor tempo de produção e não está sujeito às condições climáticas. Como o meio complexo pode sensibilizar os microrganismos, uma co-cultura em simbiose pode auxiliar na estabilidade e aumento da produção de compostos de interesse pelos microrganismos. O processo de remediação do carbono orgânico dissolvido (COD) aumentou o tempo de incubação dos microrganismos, devido a degradação ocorrida pela presença dos fungos e assimilação de compostos do efluente pelas bactérias. Para testar a remediação ocorrida, testes de toxicidade por meio da germinação de sementes de feijão foram realizados, demonstrando que o efluente tratado pela co-cultura apresentou maior índice de germinação em relação ao tratado somente por levedura, a bactéria e ao efluente sem tratamento, uma vez que compostos presentes no efluente apresentaram fitotoxicidade (KARIM *et al.*, 2021).

Essas características também são observadas em células de bactérias imobilizadas para a biorremediação. Em um estudo feito com uma associação de bactérias para remoção de óleos hidrocarbonetos, os microrganismos imobilizados foram capazes de degradar até 90% dos poluentes em condições normais e até 70% em condições de estresse (LAOTHAMTEEP; NALOKA; PINYAKONG, 2022). Em outro trabalho foi relatada uma maior capacidade de degradação para as células da associação de bactérias imobilizadas em relação às células livres, sendo capazes de remover até 88% dos compostos xenobióticos após 50 dias submetidas a 4 °C, enquanto os microrganismos livres apresentaram redução na capacidade de degradação a partir de 30 dias (GANESH KUMAR *et al.*, 2019).

Alguns microrganismos têm a capacidade de transformar metais pesados por meio de precipitação de carbonato induzida por micróbios (MICP), um processo bioquímico microbiológico, que transforma metais pesados em carbonato, promovendo a mineralização destes contaminantes. Para isto, a estabilidade e qualidade ecológica do solo é de extrema importância, pois microagregados podem desestabilizar o solo, promovendo adsorção dos metais pesados e sua migração para solos mais profundos e maiores danos ambientais, sendo mais interessante os macroagregados, que diminuem a capacidade de migração e transformações de metais pesados. Nos estudos conduzidos por Chen *et al.* (2021), em 15 dias de tratamento com *Bacillus pasteurii* ATCC 11859 e bactérias indígenas, isoladas do solo e armazenada, houve mudança das propriedades químicas e físicas do solo, apresentando aumento da condutividade e teor de sal. Também houve aumento de matéria orgânica, nitrogênio e fósforo, reduzindo a lixiviação de chumbo em 76% e aumento de carbonato no solo em 116%. O tratamento por MICP mostrou capacidade de aumentar a granulometria e porosidade do solo. Apresentaram também, maior resistência na redução de agregados de solo e aumento de peso (CHEN *et al.*, 2021).

O uso de bactérias e resíduos industriais produziu biossurfactante a partir de *Pseudomonas cepacia*, testado na remediação e dispersão de hidrocarbonetos em água do mar, se mostrando eficiente também na remoção de óleo em areia e solos, e pedras do mar (SOARES DA SILVA *et al.*, 2021).

Com o uso de outros microrganismos, alguns estudos puderam ser observados. Uma das principais enzimas lignolíticas é a lacase, oxidando os hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (PAHs) em quinonas, sendo mais solúveis em água e podendo ser degradados por microrganismos. Esse processo de oxidação pode resultar em compostos mais tóxicos e mais resistentes à mineralização, sendo este, um fator limitante para a aplicação da biorremediação. Quando no solo, os xenobióticos podem sofrer absorção por plantas, lixiviação para lençol freático e incorporação na matriz do solo, formando compostos não extraíveis. Zeng *et al.* (2021) realizaram estudos para verificar se a oxidação ocorrida pela lacase proveniente da micorremediação produziu compostos mais tóxicos derivados de benzo-antraceno e benzo-pireno. Foram coletadas amostras de solo contaminadas com PAHs, extraídos e purificados e

analisados em HPLC. O solo foi cultivado em condições para crescimento dos microrganismos presentes, para teste de microcosmo, e posteriormente houve aplicação de PAH, havendo identificação dos microrganismos presentes, posteriormente. Os estudos mostraram que biorremediação por lacase pode ser considerada ecologicamente correta, uma vez que a toxicidade dos intermediários pode ser desintoxicados pela formação de resíduos não extraíveis e mais degradáveis por conta da maior solubilidade em água para PAH de alto peso molecular (ZENG *et al.*, 2021).

Outros autores testaram a remediação de águas residuárias com a microalga *Chlorella vulgaris*, demonstrando a importância da composição do efluente na escolha da microalga remediadora. No estudo, os autores testaram água residuais domésticas e municipais, demonstrando que as águas residuais domésticas, por apresentarem moderada concentração de nitrato e pH neutro, promoveram crescimento algal 10 vezes maior em relação aos cultivados em efluente municipal, com remoção de 99% do nitrato presente inicialmente, em 7 dias, demonstrando que amônio e pH ácido interferem negativamente no crescimento de microalgas. Com eficiente potencial de remoção de nitrogênio ou fósforo acima de 80%, o potencial de remediação do *Chlorella vulgaris* fica comprometido em sua utilização em temperaturas de 15°C, não sendo observado diferença entre 25 e 35°C, bem como em relação a fotoperíodos de 24 horas de luz direta ou 12 horas de períodos de claro e escuro (SOUSA *et al.*, 2021).

Diante dos presentes achados, podemos verificar a utilização com sucesso de microrganismos livres, imobilizados e associados, bem como a utilização de suas enzimas, nos diversos processos de biorremediação, demonstrando que a utilização de microrganismos é um processo verde e eficiente, podendo ser aplicado com segurança em processos de larga escala.

5. Conclusões

O processo de biorremediação é utilizado para minimizar o impacto ambiental gerado pela dispersão descontrolada de compostos xenobióticos. Os métodos empregados para retirar esses poluentes do meio ambiente, ou transformá-los em substâncias menos prejudiciais, são variados. Entre eles, encontra-se o de imobilização de microrganismos. Esse método oferece diversas

vantagens que otimizam a biorremediação dos poluentes. O biocarvão, é um dos materiais mais utilizados para a imobilização de microrganismos, mas não se pode menosprezar os outros materiais que podem oferecer benefícios, por exemplo, material mais sustentável. Além dos microrganismos, suas enzimas podem ser utilizadas isoladamente, ou em consórcio com diferentes microrganismos, aumentando a capacidade de converter substâncias tóxicas em moléculas que não agredem o meio ambiente. Dentre os poluentes onde se há estudos comprovando resultados positivos usando-se microrganismos e enzimas imobilizadas estão: herbicidas, pesticidas, moléculas nitrogenadas, derivados de petróleo, entre outros. A biorremediação é uma forma eficiente de retirar e minimizar os efeitos negativos causados por diversos poluentes, industriais ou não, e com a imobilização de microrganismos e enzimas, a capacidade de descontaminação é elevada e tem demonstrado ótimos e promissores resultados. A ampliação e estabilização do método ainda necessita de mais estudos, mas o que se tem feito e demonstrado através das pesquisas é que a imobilização é um método que gera boas expectativas em relação à descontaminação de diversos poluentes com mais eficácia e precisão, melhorando e restabelecendo solos e águas contaminadas.

6. Agradecimentos

Os autores agradecem os apoios financeiros ofertados pela Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) e Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico – Brasil (CNPq).

7. Referências

ALMULAIKY, Yaaser Q.; AL-HARBI, Sami A. A novel peroxidase from Arabian balsam (*Commiphora gileadensis*) stems: Its purification, characterization and immobilization on a carboxymethylcellulose/Fe₃O₄ magnetic hybrid material. **International Journal of Biological Macromolecules**, [s. l.], v. 133, p. 767–774, 2019. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2019.04.119>.

CHEN, Minjie *et al.* Study on soil physical structure after the bioremediation of Pb pollution using microbial-induced carbonate precipitation methodology. **Journal of Hazardous Materials**, [s. l.], v. 411, p. 125103, 2021. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2021.125103>.

DAI, Xiaoli *et al.* Bioremediation of intertidal zones polluted by heavy oil spilling using immobilized laccase-bacteria consortium. **Bioresource Technology**, [s. l.],

v. 309, p. 123305, 2020. [https://doi.org/ 10.1016/j.biortech.2020.123305](https://doi.org/10.1016/j.biortech.2020.123305).

DIXIT, Mandeep *et al.* Enhanced bioremediation of pulp effluents through improved enzymatic treatment strategies: A greener approach. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, [s. l.], v. 152, p. 111664, 2021. <https://doi.org/10.1016/j.rser.2021.111664>.

DONG, Die *et al.* Improving microbial bioremediation efficiency of intensive aquacultural wastewater based on bacterial pollutant metabolism kinetics analysis. **Chemosphere**, [s. l.], v. 265, p. 129151, 2021. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2020.129151>.

GANESH KUMAR, A. *et al.* Biodegradation of crude oil using self-immobilized hydrocarbonoclastic deep sea bacterial consortium. **Marine Pollution Bulletin**, [s. l.], v. 146, n. May, p. 741–750, 2019. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2019.07.006>.

GIOVANELLA, Patricia *et al.* Metal and organic pollutants bioremediation by extremophile microorganisms. **Journal of Hazardous Materials**, [s. l.], v. 382, p. 121024, 2020. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2019.121024>.

HASANZADEH, Reyhaneh *et al.* Application of isolated halophilic microorganisms suspended and immobilized on walnut shell as biocarrier for treatment of oilfield produced water. **Journal of Hazardous Materials**, [s. l.], v. 400, p. 123197, 2020. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2020.123197>.

KARIGAR, Chandrakant S; RAO, Shwetha S. Role of Microbial Enzymes in the Bioremediation of Pollutants: A Review. **Research Enzyme Research**, [s. l.], v. 2011, p. 11, 2011. <https://doi.org/10.4061/2011/805187>.

KARIM, Ahasanul *et al.* Microbial lipid accumulation through bioremediation of palm oil mill effluent using a yeast-bacteria co-culture. **Renewable Energy**, [s. l.], v. 176, p. 106–114, 2021. <https://doi.org/10.1016/j.renene.2021.05.055>.

KAUR, Gurpreet; KROL, Magdalena; BRAR, Satinder Kaur. Geothermal heating: Is it a boon or a bane for bioremediation?. **Environmental Pollution**, [s. l.], v. 287, p. 117609, 2021. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2021.117609>.

LAOTHAMTEEP, Natthariga; NALOKA, Kallayanee; PINYAKONG, Onruthai. Bioaugmentation with zeolite-immobilized bacterial consortium OPK results in a bacterial community shift and enhances the bioremediation of crude oil-polluted marine sandy soil microcosms. **Environmental Pollution**, [s. l.], v. 292, n. PA, p. 118309, 2022. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2021.118309>.

LI, Shuo *et al.* Dynamic characteristics of immobilized microorganisms for remediation of nitrogen-contaminated groundwater and high-throughput sequencing analysis of the microbial community. **Environmental Pollution**, [s. l.], v. 267, p. 114875, 2020. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2020.114875>.

LU, Li *et al.* Removal of acenaphthene from water by Triton X-100-facilitated

biochar-immobilized *Pseudomonas aeruginosa*. [s. l.], 2018. <https://doi.org/10.1039/C8RA03529F>.

MISHRA, Sandhya *et al.* Recent Advanced Technologies for the Characterization of Xenobiotic-Degrading Microorganisms and Microbial Communities. **Frontiers in Bioengineering and Biotechnology** [s. l.], v. 9, p. 632059, 2021. <https://doi.org/10.3389/fbioe.2021.632059>.

MEHANDIA, Seema; SHARMA, S. C.; ARYA, Shailendra Kumar. Immobilization of laccase on chitosan-clay composite beads to improve its catalytic efficiency to degrade industrial dyes. **Materials Today Communications**, [s. l.], v. 25, n. March, p. 101513, 2020. <https://doi.org/10.1016/j.mtcomm.2020.101513>.

RANI, Lata; SRIVASTAV, Arun Lal; KAUSHAL, Jyotsna. Bioremediation: An effective approach of mercury removal from the aqueous solutions. **Chemosphere**, [s. l.], v. 280, p. 130654, 2021. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2021.130654>.

SAEED, Muhammad Usama *et al.* Microbial bioremediation strategies with wastewater treatment potentialities – A review. **Science of The Total Environment**, [s. l.], p. 151754, 2021. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2021.151754>.

SANJEEV KUMAR, S. *et al.* Generation of continuous packed bed reactor with PVA–alginate blend immobilized *Ochrobactrum* sp. DGVK1 cells for effective removal of N,N-dimethylformamide from industrial effluents. **Journal of Hazardous Materials**, [s. l.], v. 199–200, p. 58–63, 2012. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2011.10.053>.

SANTILLAN, Julia Yamila *et al.* Organophosphorus compounds biodegradation by novel bacterial isolates and their potential application in bioremediation of contaminated water. **Bioresource Technology**, [s. l.], v. 317, p. 124003, 2020. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2020.124003>.

SHAKERIAN, Farid; ZHAO, Jing; LI, Shao Ping. Recent development in the application of immobilized oxidative enzymes for bioremediation of hazardous micropollutants – A review. **Chemosphere**, [s. l.], v. 239, p. 124716, 2020. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2019.124716>.

SHOHAM, Shani *et al.* Arsenate reducing bacteria isolated from the marine sponge *Theonella swinhoei*: Bioremediation potential. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, [s. l.], v. 222, p. 112522, 2021. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2021.112522>.

SOARES DA SILVA, Rita de Cássia F. *et al.* Ecotoxicity of the formulated biosurfactant from *Pseudomonas cepacia* CCT 6659 and application in the bioremediation of terrestrial and aquatic environments impacted by oil spills. **Process Safety and Environmental Protection**, [s. l.], v. 154, p. 338–347, 2021. <https://doi.org/10.1016/j.psep.2021.08.038>.

SOMMAGGIO, Lais Roberta Deroldo *et al.* Ecotoxicological and microbiological assessment of sewage sludge associated with sugarcane bagasse. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, [s. l.], v. 147, p. 550–557, 2018. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2017.09.009>

SOUSA, Cátia A. *et al.* Microalgae-based bioremediation of wastewaters - Influencing parameters and mathematical growth modelling. **Chemical Engineering Journal**, [s. l.], v. 425, p. 131412, 2021. <https://doi.org/10.1016/j.cej.2021.131412>.

SUN, Tong *et al.* Bacterial compatibility and immobilization with biochar improved tebuconazole degradation, soil microbiome composition and functioning. **Journal of Hazardous Materials**, [s. l.], v. 398, p. 122941, 2020. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2020.122941>.

WAHLA, Abdul Qadeer *et al.* Immobilization of metribuzin degrading bacterial consortium MB3R on biochar enhances bioremediation of potato vegetated soil and restores bacterial community structure. **Journal of Hazardous Materials**, [s. l.], v. 390, p. 121493, 2020. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2019.121493>.

ZENG, Jun *et al.* Effects of polycyclic aromatic hydrocarbon structure on PAH mineralization and toxicity to soil microorganisms after oxidative bioremediation by laccase. **Environmental Pollution**, [s. l.], v. 287, p. 117581, 2021. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2021.117581>.

ZHANG, Baoyu *et al.* Bead-immobilized *Pseudomonas stutzeri* Y2 prolongs functions to degrade s-triazine herbicides in industrial wastewater and maize fields. **Science of The Total Environment**, [s. l.], v. 731, p. 139183, 2020. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.139183>.

Autores

Bruno Rafael de Lima Moraes¹, Cynthia Letícia Serra Cabeça², Grace Anne Vieira Magalhães¹.

1. Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia Ambiental, Universidade Estadual de Maringá e Universidade Federal do Maranhão. E-mails: dfbrunorafael123@hotmail.com, gveiramagalhaes@gmail.com.
2. Programa de Pós-graduação em Bioquímica, Universidade Estadual de Maringá, E-mail: leticiascabeca@gmail.com.