



**THIAGO DE NUNO MENDES PERY DE LINDE**

## **Biotecnologia Sustentável: uso de probióticos na revitalização ambiental**

**Orientadora: Mirian Araujo Carlos Crapez**

**Niterói – RJ  
2023**

**THIAGO DE NUNO MENDES PERY DE LINDE**

**Biotecnologia Sustentável: uso de probióticos na  
revitalização ambiental**

Tese apresentada ao curso de Pós-Graduação em Dinâmica dos Oceanos e da Terra da Universidade Federal Fluminense como requisito à avaliação para obtenção do grau de Doutor.

Orientadora: Mirian Araujo Carlos Crapez

**Niterói – RJ  
2023**

Thiago de Nuno Mendes Pery de Linde

## Biotecnologia Sustentável: uso de probióticos na revitalização ambiental


Tese apresentada ao curso de Pós-Graduação em Dinâmica dos Oceanos e da Terra da Universidade Federal Fluminense como requisito à avaliação para obtenção do grau de Doutor.

Aprovada em 27/10/2023

Banca Examinadora:



MIRIAN ARAUJO CARLOS CRAPEZ, Dr (a). (PPGDOT-UFF) - Orientador(a)



CAROLINA COELHO DA COSTA WAITE, Dr (a). (UFF)



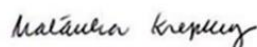
FREDERICO SOBRINHO DA SILVA, Dr . (UFRJ)



GILBERTO TAVARES DE MACEDO DIAS, Dr . (PPGDOT-UFF)



LUCIANA CHEQUER, Dr (a). (FAMATH)



NATASCHA KREPSKY, Dr (a). (Unirio)

Niterói – RJ

2023

## **AGRADECIMENTOS**

Anos de curso, anos de estudo, descobertas, aprendizados, esforço. Gostaria de agradecer a várias pessoas que me acompanharam, apoiaram, suportaram e me foram fundamentais para a concretização deste objetivo. Não conseguirei falar de todos mas vou citar algumas que estiveram, a todo momento, a meu lado.

À minha família, vocês me deram o apoio inestimável, paciência e carinho, sem os quais eu não teria conseguido chegar até aqui.

Ao meu amigo Fernando, obrigado pela amizade, disposição, por me ensinar tanto, pelo apoio em diversos momentos, principalmente me desafiando, tirando da zona de conforto, levando para as mais incríveis experiências e aprendizados em campo (visitas técnicas, coletas, análises laboratoriais, tratamento de dados). Meus sinceros agradecimentos a sua prontidão e ensinamentos que foram essenciais para a concretização desta etapa.

Um agradecimento especial à minha dedicada professora, orientadora e amiga Mírian Crapez. Você foi mais que uma educadora para mim. Você me inspirou, desafiou e me incentivou a pensar de maneira mais crítica e ir além dos meus limites. A todo momento você esteve disponível também com seus conselhos, sugestões e interesse em contribuir para o desenvolvimento deste projeto, tantas vezes abdicando de momentos de descanso e lazer para me orientar e auxiliar. Obrigado por ser uma fonte de inspiração e por me guiar nesta jornada acadêmica.

Agradeço a todos vocês por acreditarem em mim e por me darem a força e o suporte de que eu precisava para completar esta etapa tão importante da minha vida. Esta formação não é só minha, mas de todos nós, conquistada com a contribuição de cada um de vocês.

## Sumário

RESUMO .....	1
ABSTRACT .....	1
LISTA DE FIGURAS .....	3
LISTA DE TABELAS .....	4
INTRODUÇÃO GERAL.....	5
CAPÍTULO 1.....	9
MICROORGANISMOS PARA A SUSTENTABILIDADE AMBIENTAL .....	9
RESUMO .....	9
ABSTRACT .....	10
INTRODUÇÃO.....	11
FIGURA 1 VINCULAÇÃO ENTRE BIODIVERSIDADE, GESTÃO SUSTENTÁVEL, PROCESSOS E SERVIÇOS ECOSSISTÊMICOS. ....	12
MECANISMOS DE AÇÃO DOS MICRORGANISMOS PROBIÓTICOS .....	14
MICRORGANISMOS PROBIÓTICOS NA REVITALIZAÇÃO DE SISTEMAS HÍDRICOS .....	17
CONCLUSÃO.....	21
CAPÍTULO 2.....	23
EXPERIMENTOS PARA AFERIÇÃO DE PARÂMETROS DO CRESCIMENTO DE EM1® EM MEIO LÍQUIDO E EM PRESENÇA DE MATÉRIA ORGÂNICA SEDIMENTAR.....	23
INTRODUÇÃO.....	23
OBJETIVOS .....	24
MATERIAIS E MÉTODOS .....	25
LOCAL DE COLETA .....	25
FIGURA 2: LOCALIZAÇÃO DA ENSEADA DE JURUJUBA NA BAÍA DE GUANABARA, RIO DE JANEIRO (BAPTISTA NETO ET AL. 2005. REVISTA TAMOIOS 02:11-21). ....	25
EXPERIMENTO 1.....	26
TABELA 1 EXPERIMENTO 1, EM MEIO LÍQUIDO, CONTENDO MELAÇO, EM1® E ALGAS CALCÁRIAS EM DIVERSAS PROPORÇÕES.....	27
EXPERIMENTO 2.....	27
TABELA 2 EXPERIMENTO 2 COM AMOSTRAS DE SEDIMENTO DA ENSEADA DE JURUJUBA, BAÍA DE GUANABARA, RJ.....	28
PARÂMETROS ANALISADOS .....	28
RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	29

FIGURA 3: PRODUÇÃO DE CÉLULAS DOS MICRORGANISMOS DO EM1® EM MEIO LÍQUIDO COM MELAÇO EM VÁRIAS PROPORÇÕES, À TEMPERATURA AMBIENTE E AGITAÇÃO EM 100 RPM. ....	30
FIG. 4: NÚMERO DE CÉLULAS DOS MICRORGANISMOS PROBIÓTICOS DE EM1® EM T0 E T15 DIAS, CRESCIDOS EM MEIO DE CULTURA CONTENDO SEDIMENTO NOS BIOENSAIOS A, B E C E EM MEIO DE CULTURA LÍQUIDO NOS BIOENSAIOS D E E. ....	31
FIGURA 5A: CONSUMO DE PROTEÍNAS (PRT) (MG/G), CARBOIDRATOS (MG/G) E DE LIPÍDIOS (MG/G) EM AMOSTRAS DE SEDIMENTO DA ENSEADA DE JURUJUBA, DURANTE 15 DIAS. ....	33
FIGURA 6B E C: CONSUMO DE PROTEÍNAS (MG/G) (PRT), CARBOIDRATOS (MG/G) E DE LIPÍDIOS (MG/G) EM AMOSTRAS DE SEDIMENTO DA ENSEADA DE JURUJUBA, EM PRESENÇA DE EM1® E ALGAS CALCÁRIAS, DURANTE 15 DIAS. ....	35
FIGURA 7D E E: PRODUÇÃO DE PROTEÍNAS (MG/G) (PRT), CARBOIDRATOS (MG/G) E DE LIPÍDIOS (MG/G), EM PRESENÇA DE EM1® E ALGAS CALCÁRIAS, DURANTE 15 DIAS.....	36
CONCLUSÃO.....	37
CAPÍTULO 3.....	38
EXPERIMENTO COM EM1® DEGRADANDO MATÉRIA ORGÂNICA COLETADA NO SEDIMENTO DA LAGOA DE PIRATININGA, NITERÓI, RJ.....	38
INTRODUÇÃO.....	38
OBJETIVOS.....	39
MATERIAIS E MÉTODOS.....	40
LOCAL DE COLETA.....	40
FIGURA 8: MAPA DA LAGOA DE PIRATININGA COM LOCAL DE COLETA ASSINALADO ( ). ....	40
BIOENSAIOS.....	41
PARÂMETROS ANALISADOS.....	42
RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	43
FIGURA 9: QUANTIFICAÇÃO DE CÉLULAS BACTERIANAS NAS AMOSTRAS DE SEDIMENTO DAS ÁREAS CONTROLE (C0, CF), MUDBALL COM EM1® (M0, MF) E MUDBALL COM EM1® E AERAÇÃO (M+P0, M+PF), DURANTE OS EXPERIMENTOS DE DEGRADAÇÃO DE BIOPOLÍMEROS. ....	44
FIGURA 10: EXPERIMENTOS DE DEGRADAÇÃO DE BIOPOLÍMEROS EM MG/G: PRT (PROTEÍNAS), CHO (CARBOIDRATOS) E LPD (LIPÍDIOS) EM AMOSTRAS DE SEDIMENTO DAS ÁREAS CONTROLE (C0, CF), MUDBALL COM EM1® (M0, MF) E MUDBALL COM EM1® E AERAÇÃO (M+P0, M+PF). ....	46
CONCLUSÃO.....	47
CONCLUSÃO GERAL.....	48
BIBLIOGRAFIA.....	49
ANEXO.....	63

## **RESUMO**

A sustentabilidade ambiental passa pela utilização responsável dos recursos naturais, garantindo a sua disponibilidade agora e para as gerações futuras. Esta sustentabilidade está ligada aos serviços ecossistêmicos. O trabalho apresenta o papel potencial dos probióticos, microrganismos vivos que, quando utilizados corretamente, revitalizam os sistemas humanos, animais, vegetais e da microbiota. O uso de probióticos na revitalização de sistemas hídricos pode contribuir para a resiliência e sustentabilidade ambiental. O foco foi o desenvolvimento de protocolos de utilização do EM® para melhoria da qualidade da água comprometida pelo esgoto doméstico na Enseada de Jurujuba, Baía de Guanabara e Lagoa de Piratininga em Niterói. Em 7 dias foram obtidas 10<sup>9</sup> células/mL. Nas amostras de sedimentos da Enseada de Jurujuba, o EM® consumiu carboidratos, lipídios e proteínas da matéria orgânica. Após as chuvas de setembro/2022, os parâmetros físico-químicos da Lagoa de Piratininga destacaram a importância do aporte de carbono da bacia de drenagem (46,48 km<sup>2</sup>), ampliando sua situação como sumidouro de carbono. O EM® atuou parcialmente na degradação de lipídios, ligados ao coprostanol, mas consumiu carboidratos e proteínas ligados ao esgoto. Nos dois locais estudados, os probióticos tiveram efeito na poluição orgânica.

**Palavras-chave:** Biotecnologia, probióticos, sustentabilidade ambiental, sedimento

## **ABSTRACT**

Environmental sustainability involves the responsible use of natural resources, ensuring their availability now and for future generations. This sustainability is linked to ecosystem services. The work presents the potential role of probiotics, live microorganisms that, when used correctly, revitalize human, animal, plant and microbiota systems. The use of probiotics

in the revitalization of water systems can contribute to environmental resilience and sustainability. The focus was on developing protocols for using EM® to improve water quality compromised by domestic sewage in Enseada de Jurujuba, Guanabara Bay and Lagoa de Piratininga in Niterói. In 7 days,  $10^9$  cells/mL were obtained. In sediment samples from Enseada de Jurujuba, EM® consumed carbohydrates, lipids and proteins from organic matter. After the rains of September/2022, the physical-chemical parameters of Lagoa de Piratininga highlighted the importance of the carbon input from the drainage basin (46.48 km<sup>2</sup>), expanding its situation as a carbon sink. EM® partially acted on the degradation of lipids, linked to coprostanol, but consumed carbohydrates and proteins linked to sewage. In the two places studied, probiotics had an effect on organic pollution.

**Keywords:**

Sustainability - water quality - biotechnology - probiotics.

## LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1 VINCULAÇÃO ENTRE BIODIVERSIDADE, GESTÃO SUSTENTÁVEL, PROCESSOS E SERVIÇOS ECOSISTÊMICOS, CAP. 1.....	12
FIGURA 2: LOCALIZAÇÃO DA ENSEADA DE JURUJUBA NA BAÍA DE GUANABARA, RIO DE JANEIRO (BAPTISTA NETO ET AL. 2005. REVISTA TAMOIOS 02:11-21).....	<b>ERRO! INDICADOR NÃO DEFINIDO.</b>
FIGURA 3: PRODUÇÃO DE CÉLULAS DOS MICRORGANISMOS DO EM1® EM MEIO LÍQUIDO COM MELAÇO EM VÁRIAS PROPORÇÕES, À TEMPERATURA AMBIENTE E AGITAÇÃO EM 100 RPM. <b>ERRO! INDICADOR NÃO DEFINIDO.</b>	
FIG. 4: NÚMERO DE CÉLULAS DOS MICRORGANISMOS PROBIÓTICOS DE EM1® EM T0 E T15 DIAS, CRESCIDOS EM MEIO DE CULTURA CONTENDO SEDIMENTO NOS BIOENSAIOS A, B E C E EM MEIO DE CULTURA LÍQUIDO NOS BIOENSAIOS D E E. ....	31
FIGURA 5A: CONSUMO DE PROTEÍNAS (PRT) (MG/G), CARBOIDRATOS (MG/G) E DE LIPÍDIOS (MG/G) EM AMOSTRAS DE SEDIMENTO DA ENSEADA DE JURUJUBA, DURANTE 15 DIAS. ....	33
FIGURA 6B E C: CONSUMO DE PROTEÍNAS (MG/G) (PRT), CARBOIDRATOS (MG/G) E DE LIPÍDIOS (MG/G) EM AMOSTRAS DE SEDIMENTO DA ENSEADA DE JURUJUBA, EM PRESENÇA DE EM1® E ALGAS CALCÁRIAS, DURANTE 15 DIAS. ....	35
FIGURA 7D E E: PRODUÇÃO DE PROTEÍNAS (MG/G) (PRT), CARBOIDRATOS (MG/G) E DE LIPÍDIOS (MG/G), EM PRESENÇA DE EM1® E ALGAS CALCÁRIAS, DURANTE 15 DIAS. ....	36
FIGURA 8: MAPA DA LAGOA DE PIRATININGA COM LOCAL DE COLETA	40
FIGURA 9: QUANTIFICAÇÃO DE CÉLULAS BACTERIANAS NAS AMOSTRAS DE SEDIMENTO DAS ÁREAS CONTROLE (C0, CF), MUDBALL COM EM1® (M0, MF) E MUDBALL COM EM1® E AERAÇÃO (M+P0, M+PF), DURANTE OS EXPERIMENTOS DE DEGRADAÇÃO DE BIOPOLÍMEROS. ....	44
FIGURA 10: EXPERIMENTOS DE DEGRADAÇÃO DE BIOPOLÍMEROS EM MG/G: PRT (PROTEÍNAS), CHO (CARBOIDRATOS) E LPD (LIPÍDIOS) EM AMOSTRAS DE SEDIMENTO DAS ÁREAS CONTROLE (C0, CF), MUDBALL COM EM1® (M0, MF) E MUDBALL COM EM1® E AERAÇÃO (M+P0, M+PF). ....	46

## **LISTA DE TABELAS**

TABELA 1 EXPERIMENTO 1, EM MEIO LÍQUIDO, CONTENDO MELAÇO, EM1® E ALGAS CALCÁRIAS EM DIVERSAS PROPORÇÕES. ....	27
TABELA 2 BIOENSAIO 2 COM AMOSTRAS DE SEDIMENTO DA ENSEADA DE JURUJUBA, BAÍA DE GUANABARA, RJ. .....	28

## INTRODUÇÃO GERAL

Nos últimos anos muito se fala sobre o consumo de probióticos, voltado, inicialmente, para a questão da alimentação e tratamento da flora intestinal. O interesse pelo assunto tem aumentado substancialmente também em outras áreas.

Em 1680, Antonie van Leeuwenhoek, usou seu microscópio para observar células de levedura na fermentação da cerveja (HUXLEY, 1871). No final de 1700, Lavoisier descreveu o processo de transformação dos açúcares em álcool e dióxido de carbono como “um dos mais extraordinários da química”. Na década de 1840, Theodor Schwann e Charles Cagniard-Latour sugeriram uma possível associação entre o crescimento de leveduras e o processo de fermentação alcoólica. Finalmente, Louis Pasteur definiu a fermentação como “respiração sem ar” e afirmou: “sou da opinião que a fermentação alcoólica nunca ocorre sem organização, desenvolvimento e multiplicação de células. Se perguntado em que consiste o ato químico pelo qual o açúcar está decomposto, eu desconheço completamente”. Pasteur publicou seus resultados em um artigo preliminar em 1857 e em versão final em 1860, intitulada “Memórias sobre a fermentação alcoólica” (PASTEUR, 1858).

O conceito de probióticos nasceu com base nas observações de Elie Metchnikoff em 1907. Ele postulou que a saúde e o aumento da longevidade dos búlgaros mais velhos estavam ligados à ingestão diária de produtos lácteos fermentados e as bactérias lácticas teriam efeito benéfico na microbiota intestinal. Em 1907, o químico alemão Eduard Buchner recebeu o Prêmio Nobel por evidenciar que a levedura possuía enzimas de fermentação. Arthur Harden e Hans Euler-Chelpin receberam o Prêmio Nobel em 1929, elucidando o processo enzimático de fermentação. Em 1930, Minoru Shirota, microbiologista japonês, isolou, cultivou e demonstrou que *Lactobacillus casei* resistia à acidez do estômago. Em 1935 passou a fabricar e vender o produto Yakult (GOGINENI et al., 2013).

Em 1953, KOLLACH usou o termo probiótico pela primeira vez. Em 2010, foi estabelecido o primeiro catálogo genético do microbioma intestinal humano. Em 2016, a FAO e a OMS definiram os probióticos como microorganismos vivos que podem exercer efeitos benéficos à saúde daqueles que os consomem (MARKOWIAK and SLIZEWSKA, 2017). SAVAIANO and LEVITT (1987) conseguiram monitorar a má digestão da lactose e demonstrar que as bactérias vivas do iogurte (*Lactobacillus bulgaricus* e *Streptococcus thermophilus*) foram capazes de compensar o déficit da lactase em adultos.

Nas últimas três décadas, análises metagenômicas forneceram informações sobre as diferenças da microbiota intestinal entre indivíduos saudáveis e doentes. Atualmente, muitas doenças têm sido associadas às alterações da microbiota intestinal como doenças inflamatórias intestinais, intestino irritável e câncer colorretal, doença de Alzheimer, transtornos do espectro autista, síndrome da fadiga crônica, doença de Parkinson e doenças autoimunes como artrite reumatóide e esclerose múltipla (SCOTT et al. 2015).

Atualmente, os probióticos são considerados ferramentas que oferecem múltiplas soluções para a vida humana como a prevenção de doenças, saúde animal, fertilização do solo e proteção ambiental. Eles estão agrupados em bactérias lácticas (*Lactobacillus* sp. e *Bifidobacterium* sp.), bactérias do solo (*Bacillus* sp.) e leveduras (*Saccharomyces* sp.), Funcionam como biorremediadores ambientais, controlando patógenos, consumindo poluentes orgânicos, detoxificando poluentes inorgânicos e aumentando a biodisponibilidade de nutrientes (GOYAL et al. 2019; HELMY et al. 2019; KOUHOUNDE et al. 2022).

Os microrganismos eficazes (EM) são formados por microrganismos selecionados do meio ambiente e por sua compatibilidade de atuação em consórcio. O uso do EM começou no final de 1960 em Okinawa, Japão, com Terugo Higa, da Universidade de Ryukyus (HIGA, 1991). HIGA and WIDIDANA (1991) isolaram vários consórcios de microrganismos com capacidade de restaurar a degradação do solo e aumentar a produtividade e rendimento de

colheitas. Eles são capazes de melhorar o crescimento vegetal porque são capazes de mudar a estrutura do solo, solubilizando nutrientes e alterando a físico-química local e favorecendo, assim, o crescimento da raiz e de relações simbióticas (HALPERN et al. 2015; MURUGAN et al. 2022).

O EM® é um produto que contém um consórcio de bactérias lácticas e leveduras. Este consórcio bacteriano controla a produção de odores e de moscas na compostagem de resíduos orgânicos e inibe o crescimento de microrganismos patógenos (JUSOH et al. 2013). No tratamento de esgoto não foram encontradas publicações usando especificamente o EM® (HESNAWI et al. 2014), mas consórcios de *Bacillus* spp. (GLUSHCHENKO et al. 2019). Ele foi testado com sucesso na produção de gramíneas forrageiras, maçãs, milho, trigo, gestão de resíduos de madeira e em águas residuais de aquicultura na redução de amônia e de fósforo (KATO et al. 1999; HU and QI, 2013; SREENIVASAN et al. 2013; LANANAN et al. 2014; BALOGUN et al. 2016; NAIK et al. 2020). Todas as publicações, nas diversas áreas citadas acima, seguem o protocolo de preparo do EM® em presença de melaço e de água sem cloro, na proporção 1:1:18, respectivamente, à temperatura ambiente e sem agitação. O uso pode ser por aspersão ou em *mudball*, acrescentando-se argila e farelo de trigo.

CRAPEZ et al. (2022) estudaram a degradação da matéria orgânica *in situ* em lagoa salobra, utilizando biopolímeros para quantificar a degradação/qualidade da matéria orgânica. Entretanto, outros trabalhos com esta abordagem são inexistentes, bem como bioensaios que se utilizam de parâmetros como contagem do número de células em meios de cultura com agitação e à temperatura ambiente, possibilidade de uso do EM® diluído, produção de biopolímeros pelo EM®. O objetivo deste trabalho foi o de elaborar protocolos para uso do EM® na degradação de matéria orgânica de áreas comprometidas com esgoto

doméstico/metais da Baía de Guanabara, RJ e de lagoa salobra na região oceânica de Niterói, RJ.

A tese é composta por três capítulos: (1) publicação em *Brazilian Journal of Development* (2020); (2) experimentos para aferição de parâmetros do crescimento de em1® em meio líquido e em presença de matéria orgânica sedimentar; e (3) bioensaio com EM® egradando matéria orgânica de amostras de sedimento da Lagoa de Piratininga, Niterói, RJ.

## Capítulo 1

### MICROORGANISMOS PARA A SUSTENTABILIDADE AMBIENTAL

Thiago de Nuno Mendes Pery de Linde<sup>1</sup>, Fernando Neves Pinto<sup>1</sup>, Hugo Vidaurre Mendes<sup>1</sup>,  
Mirian A. C. Crapez<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>Programa de Pós-Graduação em Dinâmica dos Oceanos e da Terra, Instituto de Geociências,  
Universidade Federal Fluminense, Av. Milton Tavares de Souza, Niterói, RJ, CEP 24210-  
346

\*Autor correspondente: miriancrapez@id.uff.br

#### RESUMO

Os probióticos são microrganismos vivos que conferem benefícios à saúde animal ou ambiental. São constituídos de consórcios de microrganismos e seus genomas, que modulam as respostas metabólicas a fatores internos e externos, participando da manutenção do equilíbrio ecológico. Por conta disso, eles podem ser utilizados como uma estratégia de baixo custo na restauração da resiliência de um ecossistema. Este trabalho apresenta uma revisão sobre os principais microrganismos usados como probióticos como *Lactobacillus* sp., *Bifidobacterium* sp., *Streptomyces* sp., *Saccharomyces* sp., *Aspergillus* sp., *Bacillus* sp., *Rhodopseudomonas* sp. e *Rhodobacter* sp. e seus mecanismos de ação. Estes mecanismos são regulados pelo *quorum sensing*, que permite aos microrganismos atuarem coletivamente na competição para exploração, competição por interferência e aderência epitelial. Eles atuam no aumento da disponibilidade de nutrientes e geração de compostos bioativos, como bacteriocinas, ácidos graxos de cadeia curta, exopolissacarídeos, enzimas e vitaminas. Adicionalmente, eles também participam da desintoxicação de micotoxinas, sequestro de metais pesados, biorremediação de hidrocarbonetos aromáticos policíclicos, amins

aromáticas heterocíclicas, nitrosaminas e pesticidas. O presente trabalho também relata a utilização de microrganismos probióticos na remediação de águas contaminadas por diversas fontes, descrevendo as possibilidades de uso desta tecnologia sustentável para revitalizar o meio ambiente.

Palavras chaves: probióticos, *quorum sensing*, biorremediação, corpos hídricos, resiliência ambiental.

### **ABSTRACT**

Probiotics are live microorganisms that provide animal or environmental health benefits. They are formed by consortia of microorganisms and their genomes, which modulate metabolic responses to internal and external factors, participating in the maintenance of ecological balance. Hence, they can be used as a low-cost strategy to restore an ecosystem's resilience. This work presents a review of the main microorganisms used as probiotics such as *Lactobacillus* sp., *Bifidobacterium* sp., *Streptomyces* sp., *Saccharomyces* sp., *Aspergillus* sp., *Bacillus* sp., *Rhodopseudomonas* sp. and *Rhodobacter* sp. and its mechanisms of action. These mechanisms are regulated by *quorum sensing*, which allows microorganisms to act collectively in competition for exploration, competition for interference and epithelial adhesion. They act to increase the availability of nutrients and generate bioactive compounds such as bacteriocins, short-chain fatty acids, exopolysaccharides, enzymes and vitamins. In addition, they also participate in mycotoxin detoxification, heavy metal sequestration, bioremediation of polycyclic aromatic hydrocarbons, heterocyclic aromatic amines, nitrosamines and pesticides. The present work also reports the use of probiotic microorganisms in the remediation of contaminated water from different sources, describing the possibilities of using this sustainable technology to revitalize the environment.

Keywords: probiotics, *quorum sensing*, bioremediation, water bodies, environmental resilience

## **INTRODUÇÃO**

As atividades humanas utilizam recursos naturais e produzem resíduos sólidos urbanos e industriais descartados no ambiente, como metais, hidrocarbonetos poliaromáticos, bifenilas e pesticidas (ANH *et al.* 2019; BASAVIAH *et al.* 2017; MBUSNUM *et al.*, 2020). A transferência de poluentes para o meio ambiente altera o equilíbrio dos ecossistemas e compromete a biodiversidade (BASSEM 2020). A manutenção da biodiversidade, definida como a diversidade, abundância e identidade das espécies e seus genes, é essencial para a saúde humana e a dos ecossistemas. Existe uma interdependência entre a biodiversidade, os processos biológicos e as condições ambientais que, quando em equilíbrio, mantêm a qualidade dos sistemas. Assim, a diversidade biológica está intrinsecamente ligada ao funcionamento dos ecossistemas e sua capacidade de fornecer bens e serviços (CARDINALE *et al.* 2012). Por sua vez, os serviços ecossistêmicos e o bem-estar humano estão intimamente ligados, porque representam a base da sustentabilidade (FANG *et al.* 2018) (Figura 1).

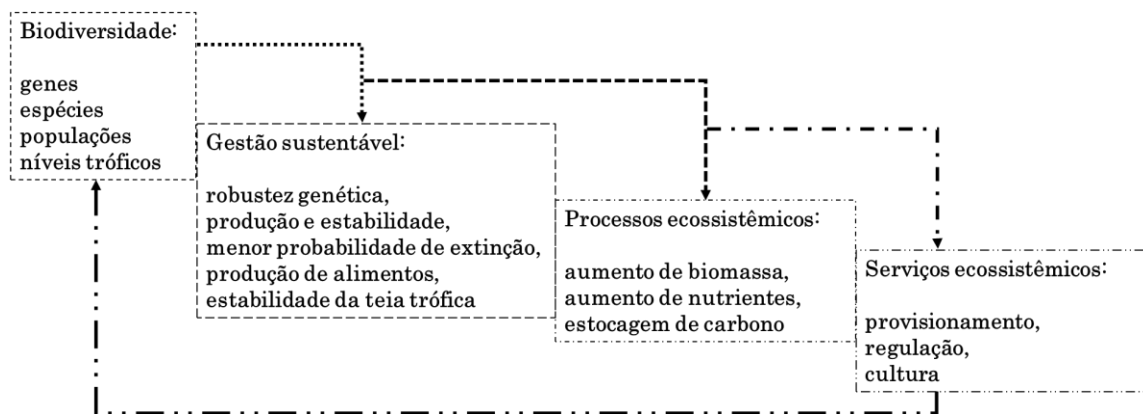


Figura 1 Vinculação entre biodiversidade, gestão sustentável, processos e serviços ecossistêmicos.

O microbioma é um dos itens da sustentabilidade e é composto por comunidade microbiana, que ocupa um habitat razoavelmente bem definido com propriedades físico-químicas distintas (BERG *et al.* 2020). O estudo do microbioma humano, de outros animais, plantas e microrganismos pode fornecer soluções para doenças e/ou adaptações às mudanças climáticas (JANSSON and HOFMOCKEL 2020; NAYFACH *et al.* 2021). O microbioma também desempenha um papel importante na manutenção da saúde ambiental pois é o principal conector entre microrganismos e a estrutura e função de um ecossistema (Fig. 1). A saúde do planeta e de seus habitantes é dependente dos parceiros microbianos, presentes há 3,5 bilhões de anos (BLASER *et al.* 2016; NAYFACH *et al.* 2021).

Os probióticos fazem parte do microbioma humano e/ou do microbioma ambiental e são definidos como microrganismos vivos que conferem benefícios à saúde quando consumidos em quantidades adequadas (HILL *et al.* 2014). São resistentes, resilientes e formados por consórcios de microrganismos e seus genomas, que modulam as respostas metabólicas a fatores internos e externos, para manter um equilíbrio ecológico com o hospedeiro e o meio ambiente (LLOYD-PRICE and HUTTENHOWER 2016).

*Bifidobacterium* sp. e *Lactobacillus* sp. representam o grupo mais bem estudado de probióticos do microbioma humano (BARKO *et al.* 2018).

As atividades humanas mudam o meio ambiente e seus sistemas biológicos, mas os microrganismos probióticos podem ser usados para restaurar a resiliência ambiental (BASKENT 2020). Este processo de restauração é denominado biorremediação e envolve microrganismos metabolicamente sinérgicos, capazes de consumir contaminantes, reequilibrar parâmetros físicos e químicos e induzir a restauração da cadeia alimentar no solo, sedimento e coluna d'água. As principais vantagens são a utilização de métodos ecológicos sustentáveis e de baixo custo quando comparados a outros métodos físicos e químicos. (DIVYA *et al.*, 2015).

A principal fonte de poluição dos recursos hídricos no país é a falta de saneamento, setor regulamentado em 2007, com o estabelecimento da Política Nacional de Saneamento Básico e modificada pela Lei nº 14.026/2020. De acordo com (TOLEDO *et al.* 2020), regiões com estações de tratamento de esgoto não oferece tratamento adequado, lançando esgoto doméstico “in natura” em rios e valões.

A política de saneamento ainda não está implantada no país e, como não existe política ambiental para tratamento de corpos hídricos que recebem continuamente o esgoto “in natura”, o uso de microrganismos probióticos poderia ajudar na revitalização desses sistemas. Uma estação de tratamento de esgoto de nível terciário por reator anaeróbio e lodos ativados, tem custo mensal de R\$ 0,38·m<sup>-3</sup>, levando-se em conta os dados de vazão, operação e manutenção (SOUZA *et al.* 2021). O custo de instalação e manutenção do tratamento com probióticos é mais barato que os métodos convencionais (SUBASHINI 2016).

O objetivo desta revisão é demonstrar que o uso de microrganismos probióticos na revitalização de sistemas hídricos e contribui para a resiliência e sustentabilidade ambientais, através de seus mecanismos de ação e aplicações diversas.

## MECANISMOS DE AÇÃO DOS MICRORGANISMOS PROBIÓTICOS

Os microorganismos mais usados como probióticos são *Lactobacillus sp.*, *Bifidobacterium sp.* e *Saccharomyces sp.*, acrescentando-se outros, dependendo da área em que são utilizados. Na aquicultura são utilizadas as espécies microencapsuladas em alginatos de *Bacillus thuringiensis*, *B. amyloliquefaciens*, *B. megaterium*, *B. polymyxa*, *B. licheniformis*, *B. subtilis* e a levedura *Debaryomyces hansenii*. No crescimento de animais são acrescentadas as espécies de *Enterococcus faecium*, *B. licheniformis*, *B. subtilis*, *Propionibacterium sp.* Como biofertilizantes são usados *Azospirillum sp.*, *Enterobacter sp.*, *Serratia sp.*, *Microbacterium sp.*, *Pseudomonas sp.*, *Trichoderma sp.* e *Achromobacter sp.* (FIORENTINO *et al.* 2018; HASAN and BANERJEE 2020; NAIK *et al.* 2020; ONGARATO and NETO 2021; SANDERS *et al.* 2018). Há evidências da eficácia do uso dos probióticos em distúrbios gastrointestinais, obesidade, diabetes, intolerância à lactose, hipertensão, alguns tipos de câncer e crescimento animal e vegetal (SANDERS *et al.* 2018). Eles agem no equilíbrio da microflora intestinal, do solo e da água, através do aumento da disponibilidade de nutrientes e na geração de compostos bioativos, como bacteriocinas, ácidos graxos de cadeia curta, exopolissacarídeos, enzimas (esterases, lipases e coenzimas A, Q, NAD e NADP) e vitaminas do grupo B (B1, B2, B3, B6, B8, B9, B12). (INDIRA *et al.* 2019). Eles também participam da desintoxicação de micotoxinas, metais pesados, hidrocarbonetos aromáticos policíclicos, aminas aromáticas heterocíclicas, nitrosaminas e pesticidas (MOHAMMADI *et al.* 2021).

Todas estas ações dos microorganismos são regidas por sensores que capturam informações físicas e químicas do ambiente e de outros organismos. De acordo com as informações recebidas, cada população microbiana produz e libera moléculas sinalizadoras no ambiente - *quorum sensing*, dependentes da densidade populacional. Ao atingirem a

densidade ideal, ocorre uma mudança na expressão gênica, seguida pela sincronização de novos padrões populacionais. O *quorum sensing* favorece as comunicações celulares e as interações micróbio-micróbio, permitindo que os microrganismos atuem coletivamente, em grupos multicelulares (MUKHERJEE and BONNIE 2019).

Os mecanismos de ação dos probióticos com o microbioma do hospedeiro são complexos, diversos, heterogêneos, frequentemente específicos e ocorrem através de efetores moleculares. Estes últimos estão presentes na estrutura celular ou secretados como produtos metabólicos e são dependentes do *quorum sensing*. Inicialmente as populações de microrganismo irão responder às condições físico-químicas e às fontes de carbono e nitrogênio do ambiente através de sistemas enzimáticos. Esta fase irá selecionar populações que vivem em sistemas sinérgicos como o mutualismo ou simbiose. A partir daí, prevalecerão os mecanismos de ação coletiva: competição para exploração, competição por interferência e aderência epitelial (GOGINENI and MORROW 2013).

A competição por exploração ocorre quando algumas populações de microrganismos consomem rapidamente nutrientes e/ou fontes de carbono para investir na reprodução (*r* estrategistas). A captura de nutrientes ocorre de maneira cooperativa na população microbiana, favorecendo a produção de enzimas extra- e intracelulares para a hidrólise de ligações covalentes e sideróforos quelantes de ferro (KÜMMERLI *et al.* 2015). Outras enzimas também são importantes nesta fase: as oxidoredutases catalisam a dessulfurização, desalogenação, desnitrificação, amonificação e hidroxilação; as transferases catalisam a translocação de amina, carbonila, carboxila e fosfato de uma molécula para outra; as liases catalisam a clivagem de substâncias, produzindo ligações duplas e/ou adição de grupos em ligações duplas; as isomerases catalisam a conversão geométrica ou óptica e as ligases catalisam a união de duas moléculas pré-existentes (HECKMANN and PARADISI 2020).

A competição por interferência ocorre quando populações de microrganismos produzem compostos antimicrobianos via *quorum sensing* para suprimir o crescimento de um patógeno, através da liberação de substâncias antimicrobianas, como bacteriocinas e microcinas. As bacteriocinas permeabilizam a membrana interna das bactérias gram-negativas, levando à ruptura e formação de poros. Microcinas, também produzidos por bactérias gram-negativas, atuam na membrana interna e nas enzimas envolvidas na estrutura e síntese de DNA e RNA ou enzimas de síntese de proteínas (KNIPE *et al.* 2021). Vários produtos do metabolismo microbiano probiótico também têm efeitos antimicrobianos, como peróxido de hidrogênio, óxido nítrico e ácidos graxos de cadeia curta, como ácidos láctico e acético. Estes últimos, além de diminuir o pH, também lisam as membranas de patógenos gram-negativos (CASTILLO *et al.* 2012). A atividade antipatogênica é multifatorial, incluindo competição pela exploração e competição por interferência.

A aderência de microrganismos probióticos ao epitélio de seus hospedeiros impede a adesão patógenos, favorece a produção e ação local de metabólitos como os ácidos graxos de cadeia curta que possuem efeitos imunomoduladores. A adesão dos probióticos à superfície intestinal ocorre inicialmente por interações hidrofóbicas, seguida por adesão através de componentes da parede celular. A presença de proteínas como proteinases e adesinas da parede celular, aumentam a adesão de bactérias ácido lácticas. Esta adesão se dá por competição pelos sítios de ligação da célula hospedeira, bloqueando a aderência de patógenos (MONTEAGUDO-MERA *et al.* 2019). Probióticos estão sendo usados na aquicultura por atuarem na microbiota intestinal dos animais, trazendo como benefícios o aumento da produtividade, que está ligada à imunidade, crescimento animal, desova e melhoria da qualidade da água (HASAN and BANERJEE 2020).

## MICROORGANISMOS PROBIÓTICOS NA REVITALIZAÇÃO DE SISTEMAS HÍDRICOS

A qualidade de águas superficiais está cada vez mais comprometida pela descarga de águas residuais domésticas e industriais. Os contaminantes podem ser orgânicos biodegradáveis, nutrientes inorgânicos, metais pesados, microrganismos patogênicos e orgânicos sintéticos recalcitrantes como hidrocarbonetos poliaromáticos, aditivos alimentares, pesticidas sintéticos, bifenilos policlorados, detergentes sintéticos, produtos farmacêuticos, cosméticos, óleos, tintas, plásticos, fibras sintéticas e substâncias radioativas (PARWEEN and RAMANATHAN 2019). A gestão tem custo elevado e, na maioria das vezes, é inexistente, mas pode ser minimizada pelo manejo e disposição adequada dos resíduos sólidos, antes de atingirem os corpos hídricos (SILVA *et al.* 2020). Além disto, a carga orgânica promove a eutrofização, acarretando mudanças físico-químicas na coluna d'água e sedimento. Assim, a contaminação ambiental afeta a biodiversidade e o funcionamento do ecossistema e seus serviços, dos quais a sociedade é dependente (NORAH 2015).

A remoção de nitrogênio e fósforo é o objetivo principal do tratamento de efluentes domésticos. Os actinomicetos *Streptomyces griseorubens* e *S. griseus* removeram amônia e ortofosfato em 77,35, 79,02%, respectivamente, em 7 dias (MADKOUR *et al.* 2019). O nitrogênio é removido pelas vias metabólicas de desnitrificação e de nitrificação autotrófica (GUERRERO *et al.* 2015). O fósforo está presente no ambiente como ortofosfato, polifosfato e fósforo orgânico, sendo 70% representado pelos dois últimos. Tratamentos mecânicos e biológicos tradicionais removem até 30% do fósforo (BUNCE *et al.*, 2018). Além disto, os actinomicetos são versáteis no uso de fontes de carbono (carboidratos, proteínas e aromáticos), resistem à dissecação e à radiação ultravioleta e armazenam polifosfatos e ácido poli- $\beta$ -hidroxibutírico e os *Streptomyces* fornecem 70% dos antibióticos de ocorrência natural (CHAROUSOVÁ *et al.* 2019).

As leveduras são fungos unicelulares, crescem em pH 5,0 ~ 6,0, são ácido-resistentes e possuem alta eficiência metabólica para degradar aromáticos e óleos. Elas foram usadas no tratamento de águas residuais do processamento de óleo de soja. A concentração de carbono orgânico dissolvido, demanda bioquímica de oxigênio e óleo eram, respectivamente, 39.300 mg/L, 18.200 mg/L e 11.900 mg/L e a taxa de remoção foi maior que 93%. (QADIR 2019).

O uso de probióticos para combater *Salmonella* sp. em corpos hídricos é uma das formas de proteger a biodiversidade local. *Salmonella* sp. produz infecções de natureza e gravidade diferentes, com tratamento à base de antibióticos (VIEIRA *et al.* 2021). Entretanto, o desenvolvimento de resistência aos antimicrobianos limita sua eficácia e a proposta atual é usar probióticos (CASTILLO *et al.* 2012). Há evidências clínicas de que os probióticos são eficazes na prevenção e/ou tratamento da diarreia e da salmonelose (CANANI *et al.* 2007). *Lactobacillus plantarum*, *L. casei*, *L. bulgaricus*, *L. rhamnosus* e *L. acidophilus* são probióticos que estabilizam a barreira da mucosa intestinal, aumentam a secreção de muco, melhoram a motilidade intestinal e, deste modo, interferem na capacidade de colonizar e infectar a mucosa; competem por nutrientes; secretam substâncias antimicrobianas como as bacteriocinas e regulam a homeostase microbiana intestinal (INDIRA *et al.* 2019; LEBLANC *et al.* 2017). O muco forma complexos de probióticos com as cepas de *Salmonella* sp. e o peristaltismo favorece a rápida remoção deles pelas fezes (HOOPER and MACPHERSON 2010). Os probióticos também modulam a resposta inflamatória, pois estimulam a produção de citocinas, a atividade fagocítica de macrófagos e neutrófilos, aumentando as respostas de anticorpos específicos, especialmente a atividade secretora de IgA pela mucosa (GOBBATO *et al.* 2008).

*Escherichia coli* O157:H7 foi inibida por culturas puras de *Lactobacillus casei* subsp. *pseudoplantarum*, *L. plantarum*, *L. reuteri* e *L. delbrueckii* subsp. *delbrueckii* e dois sobrenadantes de culturas agrupadas de *L. reuteri* e *L. delbrueckii* subsp. *delbrueckii* (POPPI *et al.* 2015). *Lactobacillus* sp. previne também o crescimento e produção de toxinas

bacterianas de *Campylobacter jejuni*, *Listeria monocytogenes*, *Helicobacter pylori*, *Salmonella* e *Shigella*. A atividade dos probióticos sobre bactérias patogênicas está associada à competição por nutrientes, produção de dióxido de carbono, peróxido de hidrogênio, bacteriocina e os ácidos láctico, acético e outros ácidos orgânicos de cadeia curta (VARALAKSHMI *et al.* 2014).

Um grave problema nos sistemas aquáticos é a contaminação por metais pesados. *Bacillus acidiproducens* isolado de solo contaminado, foi capaz de remover 10 ppm de mercúrio, cádmio, cromo e chumbo de coluna d'água (ANDREA *et al.* 2017). *Lactobacillus plantarum* MF042018 cresceu em 100 ppm de cromo e foi capaz de sequestrar cádmio e chumbo em pH 2.0, temperatura de 22°C em 1 hora (AMEEN *et al.* 2020).

Os pesticidas organoclorados são lipofílicos e persistentes, com capacidade de bioacumular e biomagnificar na cadeia alimentar. O consórcio formado pelos probióticos *Lactobacillus plantarum*, *L. brevis*, *L. helveticus*, *L. lactis*, *L. bulgaricus* e *Streptococcus thermophilus* foi capaz de degradar 20,9% de pesticidas organoclorados como paration, malation em 24h (MOHAMMADI *et al.* 2021). Diferentes cepas de *Lactobacillus plantarum* também foram capazes de utilizar pesticidas organofosforados como fonte de carbono, à temperatura ambiente durante 10 semanas (ZHANG *et al.* 2016). Enzimas como carboxilesterases, fosfatases, fosfotriesterases e organofosfato hidrolases catalisam a degradação de pesticidas organofosforados através da hidrólise de ésteres de ácido fosfórico (LI *et al.* 2018). Outras cepas já possuem genes que codificam para enzimas com atividade de degradação para metil-paration hidrolases e anidrases ácidas (SIDHU *et al.* 2019).

Os rios da Malásia são classificados como poluídos e impróprios para consumo humano. A tecnologia EM® foi escolhida por ser econômica e ecologicamente sustentável para tratamento de um dos rios. Esta tecnologia é formada por consórcio de bactérias fotossintéticas (*Rhodospseudomonas palustris*, *Rhodobacter sphaeroides*), bactérias ácido

láticas (*Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus casei*), levedura (*Saccharomyces cerevisiae*), actinobactéria (*Streptomyces albus*) e fungo (*Aspergillus oryzae*). A concentração de amônia no sistema hídrico variou entre 0,15-0,23 mg/L e, em 5 dias, houve decréscimo de 4,8%. A concentração de nitrato aumentou 59% em 5 dias, graças à nitrificação a partir de amônia (HOO and SWEE-SEN 2021).

A eficácia de EM® no tratamento de águas residuais revelou que houve diminuição da demanda bioquímica de oxigênio em 75,9%, do carbono orgânico dissolvido em 76,6%, de sólidos totais em 98,5%, nitrato em 85,9% e carbono inorgânico em 82,2%. A redução de coliformes totais e coliformes fecais foi de 99,9% e 99,8%, respectivamente, em 20 dias (EL SHAFEI and ABD ELMOTELEB 2018). Tratamento de esgoto doméstico durante 20 dias com EM® alterou as concentrações de demanda bioquímica de oxigênio (28,4 mg/L para 11,4 mg/L), sólidos totais (94,0 mg/L para 71,4 mg/L), sólidos dissolvidos totais (60,0 mg/L para 48,0 mg/L), nitrato (6,7 mg/L para 1,6 mg/L) e fosfato (3,2 mg/L para 1,0 mg/L) (VICTORIA and MAHESWARI, 2016).

Consumo de esgoto doméstico foi estudado com *Bacillus subtilis*, *B. subtilis* var. *amyloliquefaciens*, *B. licheniformis*, *B. pumilus* e *B. megaterium* na concentração de 0,01 mg/L, com e sem aeração, durante 72h. Os parâmetros apresentaram maior queda em presença de aeração: carbono orgânico dissolvido (3.630 mg/L para 770,0 mg/L), nitrato (8,50 mg/L para 2,64 mg/L), fosfato (83,92 mg/L para 35,16 mg/L). Apenas a amônia apresentou maior queda na ausência de aeração (9,94 mg/L para 5,20 mg/L), indicando a desnitrificação como processo metabólico predominante (GLUSHCHENKO et al. 2019).

## CONCLUSÃO

Até 2030, nosso compromisso com o 6<sup>o</sup> objetivo de desenvolvimento sustentável é “melhorar a qualidade de água, reduzindo a poluição, eliminando despejo e minimizando a liberação de produtos químicos e materiais perigosos, reduzindo à metade a proporção de águas residuais não tratadas e aumentando substancialmente a reciclagem e reutilização segura globalmente”. Um dos graves problemas do Brasil é o não atendimento ao objetivo da ONU, pela inexistência de política pública de saneamento, apesar da legislação existir desde 2007. Outro agravante é que a maioria das ETE's existentes não tratam adequadamente o esgoto, devolvendo para o sistema hídrico contaminantes orgânicos, inorgânicos e microrganismos patogênicos. Processos biogeoquímicos comandados pela anaerobiose microbiana se instalam, acarretando mudanças nos parâmetros físico-químicos, que favorecem a perda da biodiversidade, da balneabilidade e a reutilização segura da água.

Através do *quorum sensing*, microrganismos probióticos estabelecem mecanismos de ação para capturar nutrientes, suprimir patógenos e aderir às superfícies, ocupando novos nichos ecológicos.

Os microrganismos probióticos, consorciados por bactérias ácido lácticas, actinobactérias, bacilos, fungos e leveduras, são efetivos no consumo da matéria orgânica, na melhoria de parâmetros físico-químicos da água, na degradação de pesticidas, no sequestro de metais e têm efeito bactericida sobre os patógenos. Todos estes processos favorecerão a revitalização do sistema hídrico, com consequente instalação da resiliência e sustentabilidade ambientais. *Lactobacillus* sp. foram os probióticos mais bem estudados na saúde humana, animal e ambiental, além de eliminarem as bactérias patogênicas e possuírem efeitos imunomoduladores.

A adição de probióticos a um sistema de tratamento de águas residuais ou nos corpos hídricos também é altamente eficiente no controle do mau odor, devido à sinergia metabólica

das espécies probióticas consorciadas. Esta sinergia favorece a degradação da matéria orgânica, sem produção de amônia e de sulfetos, consumo de fósforo e do particulado, com consequente melhoria das condições sanitárias e da qualidade ambiental bem como o restabelecimento da cadeia trófica. Além do mais, o custo de instalação e manutenção deste processo biotecnológico de remediação é inferior aos tratamentos tradicionais.

## Capítulo 2

### **EXPERIMENTOS PARA AFERIÇÃO DE PARÂMETROS DO CRESCIMENTO DE EM1® EM MEIO LÍQUIDO E EM PRESENÇA DE MATÉRIA ORGÂNICA SEDIMENTAR.**

#### **INTRODUÇÃO**

O aporte contínuo de esgoto sanitário e outros poluentes nos corpos d'água tem impossibilitado a manutenção da biodiversidade e equilíbrio físico-químico destes sistemas. Entretanto, relatos e publicações têm apontado o uso de probióticos como biotecnologia para a saúde humana e ambiental.

LILLY and STILLWELL (1965) descreveram probióticos como microrganismos que estimulam o crescimento de outros microrganismos. Para enfatizar sua origem microbiana, FULLER (1989) afirmou que os probióticos deveriam ser microrganismos viáveis, exercendo um efeito benéfico no hospedeiro. A definição atual foi dada pela FAO e OMS (2002), que definiram que os probióticos são “microrganismos vivos, estritamente selecionados e que, quando administrados em quantidades adequadas, conferem um efeito benéfico à saúde do hospedeiro”. Esta definição foi mantida pela Associação Científica Internacional para Probióticos e Prebióticos - ISAPP (HILL et al. 2014).

Os microrganismos probióticos do EM® são eficazes no tratamento de águas residuais, com redução de coliformes totais e coliformes fecais, demanda bioquímica de oxigênio, carbono orgânico total, entre outros parâmetros (VICTORIA and MAHESWARI, 2016; EL SHAFEI and ABD ELMOTELEB 2018; HOO and SWEE-SEN 2021).

A fim de dar suporte ao crescimento dos microrganismos probióticos, foram utilizadas as algas calcárias nos meios de cultura, líquido, pois têm elevada porosidade (>

40%) (DIAS, 2001). Além disto, entram em sua composição o carbonato de cálcio e o de magnésio e mais de 20 oligoelementos presentes em quantidades variáveis como Fe, Mn, B, Ni, Cu, Zn, Mo, Se e Sr. Elas não são fonte de proteína, vitaminas, carboidratos e lipídios, mas de macro- e microminerais.

A Enseada de Jurujuba é uma região de afunilamento da entrada da Baía de Guanabara, proporcionando o acúmulo de detritos provenientes da baía e da falta de saneamento local. Além disso, é uma região que abriga aquicultura realizada pela maior comunidade pesqueira da região, conhecida como Associação de Maricultores de Jurujuba, (LAGE and JABLONSKI 2008; MELLO et al. 2019). Entretanto, esta atividade produz microplásticos, que trazem risco para os seres vivos (AMARAL 2021).

O objetivo do trabalho foi aferir os parâmetros do crescimento de EM1® em meio líquido e em presença de matéria orgânica sedimentar da Enseada de Jurujuba, Niterói, RJ.

## **OBJETIVOS**

Os objetivos são:

1-quantificar a proporcionalidade de EM1®, melão e de alga calcária a fim de se determinar o melhor rendimento dos microrganismos probióticos;

2-quantificar a biodegradação de biopolímeros – carboidratos, proteínas e lipídios, de amostras de sedimento da Enseada de Jurujuba, Baía de Guanabara, RJ, por microrganismos do EM1®;

3-quantificar a produção de biopolímeros - carboidratos, proteínas e lipídios, em meio de cultura líquido, por microrganismos do EM1®.

## MATERIAIS E MÉTODOS

### LOCAL DE COLETA

Enseada de Jurujuba está localizada na entrada da Baía de Guanabara, Niterói, RJ, 22°56'03,97" de latitude sul e 43°06'46,59" de longitude oeste. Ela é uma reentrância e recebe o aporte de detritos e poluentes na maré vazante da Baía de Guanabara, não possui saneamento sanitário e seu espelho d'água abriga extensa atividade de aquicultura (MELLO et al. 2019).



Figura 2: Localização da Enseada de Jurujuba na Baía de Guanabara, Rio de Janeiro (Baptista Neto et al. 2005. Revista Tamoios 02:11-21).

Jurujuba abriga a maior comunidade pesqueira da região, conhecida como Associação de Maricultores de Jurujuba, que contribui com 50 - 70% da produção de mariscos na Baía de Guanabara e suas ilhas adjacentes (LAGE and JABLONSKI 2008; MELLO et al. 2019).

AMARAL (2021) evidenciou no sedimento da enseada microplásticos de polietileno e de poliestireno, empregados na confecção de bombonas de até 60L e isopor, respectivamente, resultado da pesca artesanal e criação de mariscos na região.

De acordo com o INEA, em outubro/2023, a enseada foi considerada imprópria, com mais de 1.000 NMP/100 mL de coliformes fecais (INEA, 2023).

As amostras de sedimento foram coletadas na área de aquicultura a  $\pm 2,0$  m da margem da praia, acondicionadas em plástico estéril e caixa de isopr com gelo fundente até a chegada ao laboratório. A montagem dos bioensaios ocorreu no mesmo dia da coleta do sedimento.

## **EXPERIMENTO 1**

Todos os bioensaios foram realizados em erlenmeyers estéreis de 500 mL, em triplicata. A incubação foi à temperatura ambiente ( $\pm 22^{\circ}\text{C}$ ) e mesa agitadora com 100 rpm.

O EM1® contendo *Lactobacillus casei* ( $4,7 \times 10^4$  UFC/mL), *Lactobacillus acidophilus* ( $7,9 \times 10^4$  UFC/mL) e *Saccharomyces cerevisiae* ( $1,5 \times 10^6$  UFC/mL) foi cedido gentilmente pela Empresa EMPAR.

Amostras de algas calcárias moídas foram cedidas gentilmente pelo Prof. Gilberto T.M. Dias do Departamento de Geologia e Geofísica Marinha da Universidade Federal Fluminense.

A composição do melaço varia de acordo com as diferentes cultivares, condições de plantio e a físico-química do solo. Entretanto, de maneira geral, possui, principalmente, sacarose, glicose e frutose, água, proteína e gordura, vitaminas e minerais presentes, tais como nitrogênio, fosfato, cálcio, magnésio, zinco, manganês, carbono, cobre e ferro (JIANG et al. 2009). De acordo com PREICHARDT et al. (2010), o melaço de cana-de-açúcar tem 22,43% de umidade, 1,25% de cinzas, 0,04% de nitrogênio, 12,49% de açúcares redutores em glicose e 35,63% de açúcares não redutores em sacarose.

A fim de se determinar o(s) melhor(es) parâmetro(s) para crescimento de EM1®, foi testado, em meio de cultura líquido, a proporcionalidade de EM1®, melaço e algas calcárias

(Tabela 1).

Tabela 1 Experimento 1, em meio líquido, contendo melão, EM1® e algas calcárias em diversas proporções.

Bioensaio	Meio de cultura (g/L)			
	Melão	EM1®	Algas calcárias	Proporcionalidade
1	50	25	50	2:1:2
2	50	25	100	2:1:4
3	100	50	50	4:2:2
4	100	50	100	4:2:4

## EXPERIMENTO 2

Foram coletadas amostras de sedimento da Enseada de Jurujuba, Baía de Guanabara, RJ, para estudar a degradação da matéria orgânica – carboidratos, proteínas e lipídios, em presença de EM1® e melão, à temperatura ambiente e agitação com mesa agitadora com 100 rpm, listados a seguir na Tabela 2.

O bioensaio A continha apenas sedimento e água deionizada, sendo denominado o controle dos bioensaios. Os experimentos B e C foram réplicas e continham sedimento, EM1® e água deionizada.

A fim de se verificar o potencial dos microrganismos probióticos sintetizarem biopolímeros – carboidratos, proteínas e lipídios, em meio líquido, foram realizados os bioensaios D e E, contendo apenas EM1® e o melão.

Tabela 2 Experimento 2 com amostras de sedimento da Enseada de Jurujuba, Baía de Guanabara, RJ.

Bioensaio	Meio de cultura			
	Sedimento (g/L)	EM1® (g/L)	Melaço (g/L)	Água deionizada (mL)
A	20	x	x	180
B	20	20	x	160
C	20	20	x	160
D	X	20	20	160
E	X	20	20	160

### PARÂMETROS ANALISADOS

O número de células (células/g) foi obtido em microscopia de epifluorescência (Axiosp 1, Zeiss, filtro triplo Texas Red—DAPI—fluorescein isothiocyanate, aumento de 1.000), usando o fluorocromo fluoresceína diacetato e radiação UV (KEPNER and PRATT 1994).

Biopolímeros ou matéria orgânica lábil caracterizados por carboidratos (CHO), lipídios (LPD) e proteínas (PRT), foram quantificados nas amostras de sedimento, em triplicata. CHO foram quantificados segundo DUBOIS et al. (1956), de acordo com o método modificado de GERCHAKOV AND HATCHER (1972) para análise de sedimentos, utilizando a glicose como padrão. LPD foram extraídos com clorofórmio e metanol e analisados segundo MARSH AND WEINSTEIN (1966); a tripalmitina foi usada como padrão. PRT foi quantificada segundo HARTREE (1972), para compensar a interferência do fenol. Albumina bovina, fração V (Sigma), foi usada como padrão.

Lipídeos, carboidratos e proteínas foram convertidos em equivalentes de carbono usando os fatores de conversão equivalentes de 0,75, 0,40 e 0,49, respectivamente, em µgC /g (FABIANO and PUSCEDDU 1998).

Inicialmente foi testada a normalidade dos resultados. Em seguida, foi realizado o teste Wilcoxon para evidenciar diferenças significativas entre os bioensaios e o teste não

paramétrico Kruskal-Wallis (equivalente ANOVA) para comparar as variáveis entre os diferentes experimentos (A; B; C; D e E).

## **RESULTADOS E DISCUSSÃO**

### **Experimento 1**

A maior produção celular de microrganismos do EM1® ocorreu aos 7 dias nos bioensaios 2 e 4, com  $10^9$  células/mL, com as seguintes proporções de melão: EM1®:algas calcárias: 2:1:4 e 4:2:4 (Tabela 1, Figura 3). Do ponto de vista econômico, pode-se optar pelo uso da proporção 2:1:4 para experimentos *in situ*, inclusive. Outro resultado importante é que em 7 dias foi obtida o maior número de células, sendo desnecessário estender o bioensaio até 24 dias (Figura 3).

As algas calcárias, nos primeiros 7 dias, impulsionaram o crescimento dos microrganismos do EM1® e, provavelmente, serviram de abrigo e fonte de minerais.

Em 12 dias, houve decréscimo do número de células do EM1® em todos os bioensaios. Em 24 dias, não houve resultados promissores que justifiquem a extensão dos bioensaios ((Figura 3).

O aumento da concentração do melão como fonte de carbono não contribuiu para aumentar o rendimento celular, apesar de ser uma fonte de carbono contendo sacarose, glicose e frutose, água, proteína e gordura, vitaminas e minerais presentes, tais como nitrogênio, fosfato, cálcio, magnésio, zinco, manganês, carbono, cobre e ferro (JIANG et al. 2009). Os resultados obtidos indicam, mais uma vez, o uso da proporção 2:1:4.

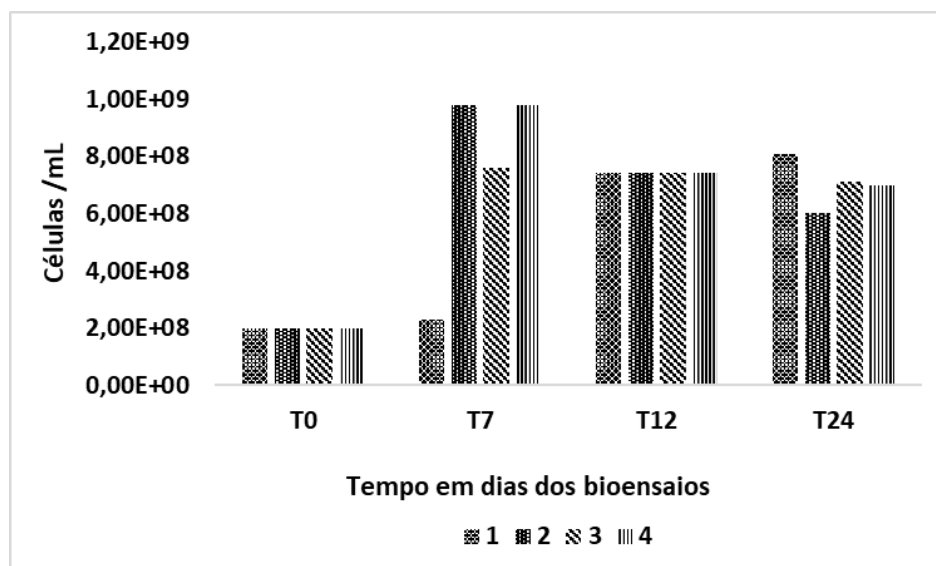


Figura 3: Produção de células dos microrganismos do EM1® em meio líquido com melaço em várias proporções, à temperatura ambiente e agitação em 100 rpm.

## Experimento 2

Os bioensaios de A a E tiveram  $4,0 \times 10^5$  células/g no T0 (Figura 4).

O bioensaio A, contendo apenas sedimento da Enseada de Jurujuba, teve  $6,0 \times 10^8$  células/g no T15 dias. As réplicas B e C, contendo sedimento da Enseada de Jurujuba e microrganismos do EM1® tiveram  $8,0 \times 10^8$  células/g no T15 dias. As réplicas D e E, com EM1® e melaço, em meio de cultura líquido, teve  $4,0 \times 10^8$  células/g e  $2,0 \times 10^8$  células/g no T15 dias, respectivamente (Figura 4).

Apesar dos bioensaios apresentarem  $10^8$  células/g, o maior rendimento celular foi obtido em presença de sedimento e EM1®, evidenciando que a presença de microrganismos probióticos favoreceu o consumo de matéria orgânica e crescimento de biomassa. Este resultado indica que os microrganismos probióticos foram capazes de concorrer com a microbiota local, graças a sua diversidade de espécies consorciada. Entre elas, estão as bactérias ácido-lácticas, que podem ser anaeróbias, anaeróbias facultativas, aeróbias e

microaerófilas, que também produzem enzimas glicolíticas, lipolíticas e proteolíticas. Produzem também vários fatores antimicrobianos, incluindo ácidos orgânicos, bacteriocinas, diacetil e acetaldeído, que favorecem o seu crescimento *in situ* (LIMA et al. 2009). (Figura 5A). As leveduras têm estrutura celular eucariótica, são fermentativas, mas também anaeróbicas e oxidam amônia e, preferencialmente, açúcares (VENTURINI FILHO et al. 2018)

Os bioensaios D e E, com produção celular de  $10^8$  células/g, também apresentou pequena diferença de crescimento em E, sugerindo que os microrganismos probióticos não cresceram de maneira uniforme (Figura 4).

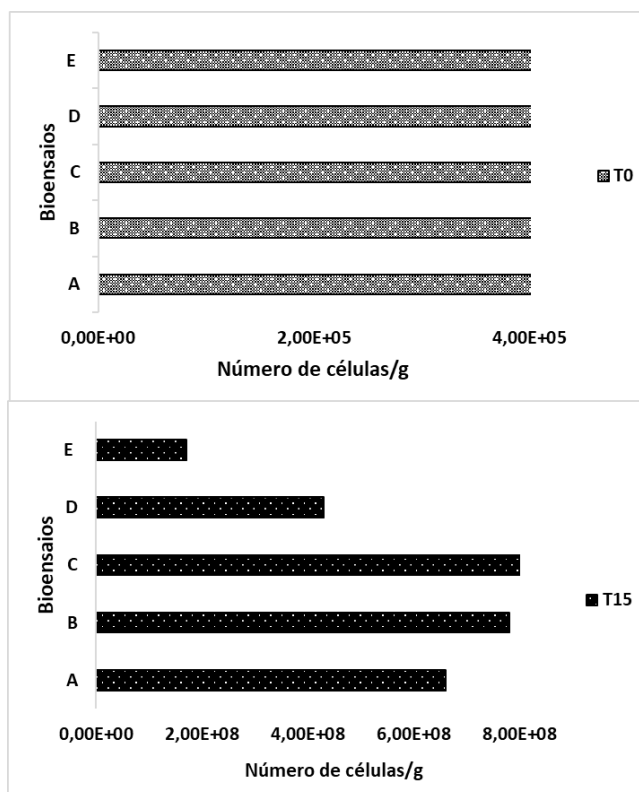


Fig. 4: Número de células dos microrganismos probióticos de EM1® em T0 e T15 dias, crescidos em meio de cultura contendo sedimento nos bioensaios A, B e C e em meio de cultura líquido nos bioensaios D e E.

Os bioensaios apresentaram número de células compatível para uso em processos de

biorremediação, quando comparado com outros microrganismos aplicados em tecnologias de remediação de petróleo e sequestro de metais (WAITE et al. 2020; CHEQUER et al. 2022).

No experimento 2 foi estudado o consumo de biopolímeros da matéria orgânica coletada em amostras de sedimento da Enseada de Jurujuba pelos microrganismos do EM1®.

As concentrações iniciais dos biopolímeros – carboidratos, lipídios e proteínas, nos experimentos A, B e C são diferentes, porque a pesagem das amostras é realizada individualmente para cada bioensaio, tendo ciência de que a distribuição da matéria orgânica/biopolímeros não é homogênea no sedimento (Figuras 5A, 6B e C, 7D e E). Este fenômeno também ocorreu com as amostras de sedimento coletadas na Lagoa de Piratininga, Niterói, RJ, que recebe esgoto sanitário sem tratamento (CRAPEZ et al. 2022).

Comparando as concentrações de biopolímeros entre os tempos de cada experimento não foram encontradas diferenças significativas (Wilcoxon -  $p > 0,05$ ). Não havendo diferenças entre os tempos, foi realizado o teste não paramétrico Kruskal-Wallis (equivalente ANOVA) para comparar as variáveis entre os diferentes experimentos (A; B; C; D e E). Somente para carboidrato (CHO) e lipídio (LPD) foram encontradas diferenças significativas entre os experimentos (Figuras 5A, 6B e C, 7D e E).

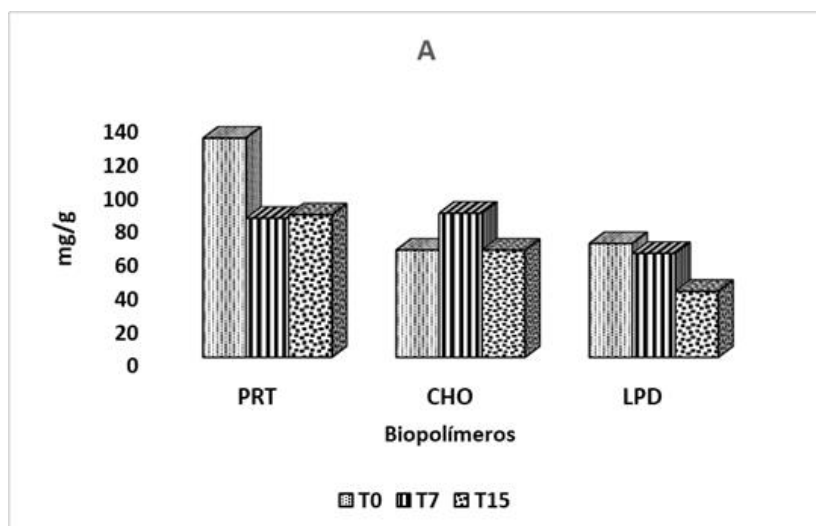


Figura 5A: Consumo de proteínas (PRT) (mg/g), carboidratos (mg/g) e de lipídios (mg/g) em amostras de sedimento da Enseada de Jurujuba, durante 15 dias.

O bioensaio controle (A), apresentou concentrações elevadas de proteína e lipídio nas amostras de sedimento, indicando que a Enseada de Jurujuba está eutrofizada (Figura 5A), em grande parte devido ao esgoto sanitário sem tratamento, além de ser uma área ocupada pela aquicultura (SABADINI-SANTOS et al. 2014; MELLO et al. 2019). Em amostras de sedimentos superficiais distribuídas na Baía de Guanabara, carboidratos e lipídios foram predominantes (SILVA et al. 2011), sendo o primeiro ligado à produção primária e o segundo, ligado à falta de infraestrutura sanitária para o tratamento de esgoto. Este último também ocorreu na enseada, pelos mesmos motivos acima citados. Entretanto, na Enseada de Jurujuba, um dos biopolímero predominante é proteína, molécula essencial para processos de sínteses celulares. Estes resultados indicam o cultivo de mariscos como fonte majoritária dois biopolímeros. Houve consumo de 64,9% de proteínas e 57,3% de lipídios pelos microrganismos presentes nas amostras de sedimento da enseada.

A quantificação atual dos biopolímeros no T0 indicaram aumento nas concentrações, quando comparada com resultados obtidos por SILVA et al. (2010). Estes dados evidenciam que a aquicultura local tem eutrofizado o sedimento, provocando desequilíbrio no

ecossistema local.

No bioensaio B, as maiores concentrações iniciais foram as proteínas (PRT) e carboidratos (CHO), com consumo deles e de lipídios ao longo de 15 dias (Figura 2B).

No bioensaio C, os três biopolímeros apresentaram concentrações iniciais maiores e os microrganismos consumiram, preferencialmente, carboidratos (CHO) e lipídios (LPD) (Figura 2C). Apesar dos bioensaios B e C serem réplicas, os microrganismos não tiveram o mesmo rendimento no consumo dos biopolímeros.

Nos bioensaios controle e com os microrganismos probióticos houve degradação de lipídios, moléculas recalcitrantes no ambiente (MALONE and NEWTON 2020). Estes resultados sugerem a especiação metabólica da microbiota local pelo aporte contínuo de biopolímeros da produção/excreção de mariscos locais.

Os bioensaios D e E evidenciaram que os microrganismos do EM1® consumiram o melaço como fonte de carbono e de energia e produziram biopolímeros – carboidratos (CHO) e lipídios (LPD) (Figura 7). As concentrações de proteínas (PRT) foram similares entre os tempos dos dois bioensaios. Os carboidratos (CHO) tinham concentrações iniciais  $\cong$  800 mg/g e foram consumidos ao longo do bioensaio. Os lipídios (LPD) foram produzidos e consumidos com maior intensidade durante o bioensaio D.

Nos bioensaios A, B e C, os biopolímeros da matéria orgânica - lipídios, carboidratos e proteínas foram consumidos e, ao final de 15 dias, foram convertidos em equivalentes de carbono, com os valores de 96,5  $\mu\text{gC/g}$ , 23,0  $\mu\text{gC/g}$  e 29,7  $\mu\text{gC/g}$ , respectivamente. Vale salientar que a área controle deteve a maior taxa de carbono biopolimérico, que é o carbono biodisponível para a teia trófica bêntica.

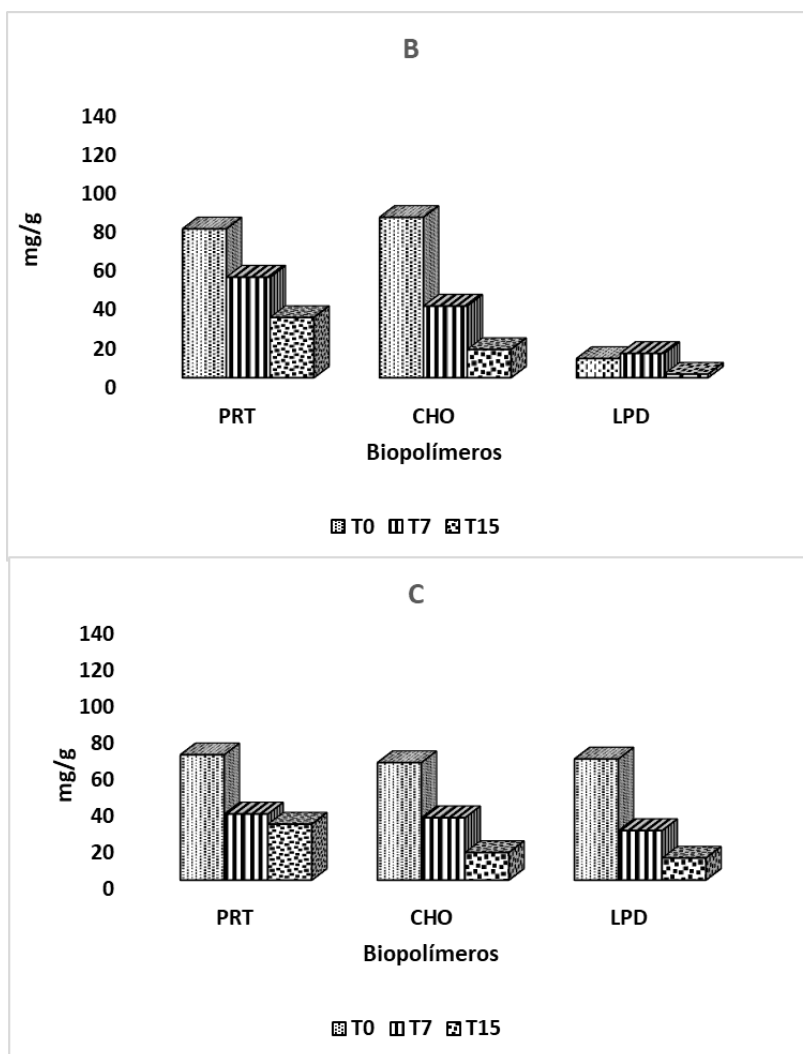


Figura 6B e C: Consumo de proteínas (mg/g) (PRT), carboidratos (mg/g) e de lipídios (mg/g) em amostras de sedimento da Enseada de Jurujuba, em presença de EM1® e algas calcárias, durante 15 dias.

A razão proteínas:carboidratos (PRT:CHO) dos bioensaios A, B e C foi 1,32, 2,06 e 2,00, respectivamente, e está diretamente ligada à importância da fração nitrogenada na matéria orgânica. Esta razão indica que a enseada não possui matéria orgânica detritica, cuja razão seria  $<1,0$ . Áreas produtivas, como os ambientes estuarinos e regiões costeiras, tendem a ter valores que podem oscilar entre 0,00 - 12,40 (FABIANO et al. 1999).

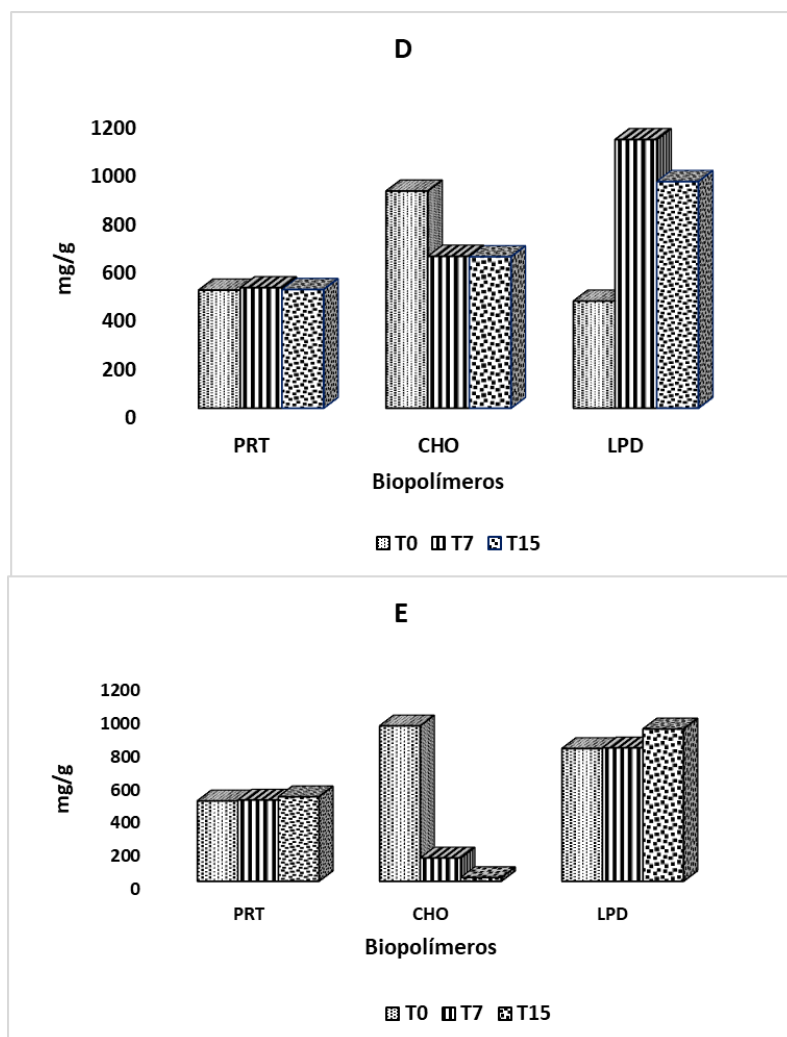


Figura 7D e E: Produção de proteínas (mg/g) (PRT), carboidratos (mg/g) e de lipídios (mg/g), em presença de EM1® e algas calcárias, durante 15 dias.

Nossos resultados indicam que os consórcios bacterianos probióticos do EM1® podem ser utilizados em sistemas que necessitam de biorremediação, como efluentes domésticos, águas residuais e para inibir bactérias patogênicas para o homem (VICTORIA and MAHESWARI, 2016; HOO EL SHAFEI and ABD ELMOTELEB 2018; HOO and SWEE-SEN 2021).

## CONCLUSÃO

O crescimento de microrganismos probióticos para produção celular, visando aplicações biotecnológicas deverá ter proporcionalidade 2:1:4 (melaço: EM1® :algas calcárias).

O melhor tempo de incubação foi de sete dias para obter  $10^9$  células/mL em mesa agitadora com 100 rpm.

O número de células obtido durante os bioensaios é compatível com o uso dos microrganismos probióticos em processos de biorremediação.

Em meio líquido, à temperatura ambiente e agitação de 100 rpm, o uso de algas calcárias apresentou melhor resultado em até 7 dias, independente das concentrações de melaço e de EM1®. Além de fornecer substrato para fixação e crescimento do consórcio de microrganismos, as algas calcárias foram fonte de macro- e microminerais.

Houve consumo de carboidratos, lipídios e proteínas da matéria orgânica de amostras de sedimento coletadas na Enseada de Jurujuba, local poluído por esgoto sanitário e produção de mexilhões pelos pescadores locais. Apesar dos resultados não serem estatisticamente significativos, o uso de microrganismos para o consumo de matéria orgânica antrópica se mostrou válida.

Os teores elevados de proteínas e de lipídios nos bioensaios evidenciaram a poluição da enseada ligada à produção local de mariscos. Este fato também favoreceu a especialização da microbiota local para consumo destes biopolímeros.

### Capítulo 3

## EXPERIMENTO COM EM1® DEGRADANDO MATÉRIA ORGÂNICA COLETADA NO SEDIMENTO DA LAGOA DE PIRATININGA, NITERÓI, RJ.

### INTRODUÇÃO

A Lagoa de Piratininga faz parte do sistema lagunar da cidade de Niterói e o seu entorno abriga população de 16.098 habitantes (IBGE 2010). A intensa urbanização nesta área tem contribuído para o grande aporte de esgoto doméstico sem tratamento, o que acarreta aumento de matéria orgânica nos corpos hídricos (CARDOSO et al. 2018).

A região passou por várias interferências antrópicas ao longo de sua história de desenvolvimento urbano. Em 1979, a Imobiliária Veplan executou na região da lagoa de Itaipu o projeto urbanístico do arquiteto Henry Cole, que encerrou o ciclo de manejo artesanal das águas através dos lidos, reduzindo a profundidade e o espelho d'água da lagoa de Piratininga. No início do século XXI a lagoa de Piratininga foi caracterizada por avançado estado de eutrofização. A solução sugerida para minimizar a situação da lagoa foi criar ligação permanente com o mar, não através do lido, mas por intermédio de um túnel de quase um quilômetro, escavado na rocha, ligando a lagoa ao mar. Após a conclusão do Túnel do Tibau foi efetuada dragagem, que usou a ilha do Tibau como parte do bota-fora, criando uma área mais profunda junto ao vertedouro do túnel. Em 1992, a Prefeitura Municipal de Niterói construiu uma comporta no canal de Camboatá para controlar e estabilizar o nível da lagoa. Após a construção desta comporta, as estimativas de T50% passaram de 16 dias (KNOPPERS et al. 1991) para 95 dias (CUNHA, 1996).

Entre 2005-2006, a lagoa era heterotrófica, exportava fósforo e importava nitrogênio.

Entre 2009-2010, houve mudança no estado trófico da lagoa, que passou de heterotrófica para autotrófica e se tornou um sistema importador de fósforo e de nitrogênio (CERDA et al., 2013). Em 2019, a evolução do estado trófico da lagoa de Piratininga indicou que se tornou sumidouro de carbono, i.e., absorve e estoca carbono na ordem de 146,3 mmol C/m<sup>2</sup>/dia. Esta característica está ligada à produção primária da lagoa por microalgas bentônicas e análise conjunta dos resultados obtidos com os balanços de fósforo, nitrogênio inorgânico dissolvido, pressão parcial de dióxido de carbono, carbono orgânico dissolvido, carbono orgânico particulado, clorofila e alcalinidade total (ANGELINI et al., 2021).

O INEA (2022) classificou a lagoa com IQA médio de 43,60 a 60,29 (outubro a dezembro de 2021) variando de ruim a médio. Em março/2023, o IQA medido foi 53,67 (INEA 2023). Entre 1976-2010, o bairro de Piratininga apresentou maior crescimento em número de domicílios, (481,8%) (FONTENELLE and CORRÊA 2013). No início de outubro/2022 houve mortandade de peixes na lagoa ligada, provavelmente, às chuvas intensas no mês de setembro (112,4 mm) (INMET 2023), que alterou todos os parâmetros físico-químicos da lagoa. Os indicadores de eutrofização assinalaram grande aporte de matéria orgânica, nitrogênio e fósforo para a lagoa, vindo da bacia de drenagem de 22.000 km<sup>2</sup> e do entorno da lagoa (UFF-FEC 2022)

A fim de verificar a resposta de microrganismos probióticos do EM1® ao aumento de indicadores de eutrofização após chuvas intensas, foram realizados bioensaios para quantificar a degradação de biopolímeros em amostras de sedimento coletadas nas áreas controle e experimentais.

## **OBJETIVOS**

O objetivo foi estudar a degradação de biopolímeros - proteínas, carboidratos e lipídios, em lodo sedimentado da lagoa de Piratininga, após chuvas intensas em

setembro/2022 (112,4 mm).

## MATERIAIS E MÉTODOS

### LOCAL DE COLETA

O principal sistema lagunar da região oceânica de Niterói, RJ, é o de Itaipú-Piratininga, definido pelos meridianos das longitudes 043° 06' 21" W e 043° 01' 54" W e pelos paralelos das latitudes 22° 54' 34" S e 22° 58' 26" S. A bacia de drenagem tem 46,48 km<sup>2</sup>, ocupando 3,5% da área do município (CLIP 2015).

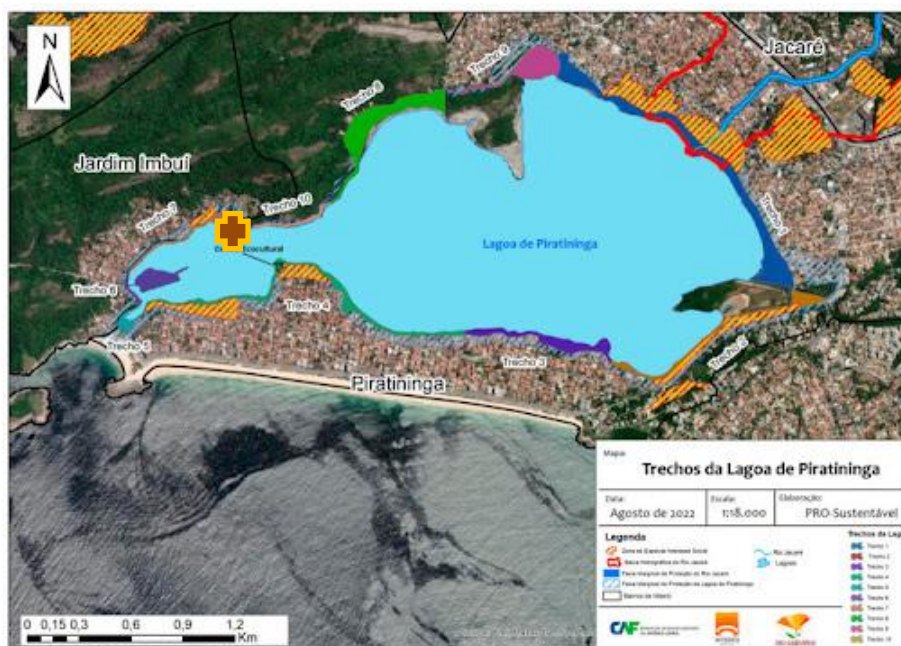


Figura 8: Mapa da Lagoa de Piratininga com local de coleta assinalado (✚).

A área do espelho d'água de Piratininga é de 2,87 km<sup>2</sup>, com profundidade média de 0,50 m. Os afluentes que chegam à Lagoa de Piratininga são Vala do Tibau, córrego da Viração (ex-córrego Tamboatá), córrego do Cafubá, (ex-córrego Aperta a Cinta), rio Arrozal (ex-rio Piratininga) e o Valão do Santo Antônio (exvala da Fonte), totalizando uma área de

22.000 km<sup>2</sup> (CLIP 2015).

Através do Contrato SMO/UGP/CAF N° 007/2021 entre a Prefeitura Municipal de Niterói e UFF-FEC, tem sido utilizado mensalmente o probiótico EM1® na Lagoa de Piratininga, região do Tibau, desde março/2021, com experimentos in situ nas áreas *mudball* com EM1® (M), *mudball* com EM1® e aeração (M+P) e área controle (C). Os *mudball* são bolas de  $\cong$  100g contendo EM1®, argila e farelo de trigo.

A região do Tibau foi caracterizada antes de iniciar os experimentos, com a quantificação de matéria orgânica (10,94%), carbono orgânico total (4,21%) e coprostanol (4,8  $\mu$ g/g), indicando região contaminada por esgoto (UFF-FEC 2021). Nas campanhas realizadas durante os experimentos, a forma predominante de nitrogênio foi o nitrato, que ultrapassou os limites estabelecidos pelo CONAMA 357/2005. A predominância de nitrato na coluna d'água, em todos os pontos amostrais e os baixos valores de nitrito são indicativos de que o nitrogênio amoniacal está sendo oxidado através da nitrificação, graças à (1) pouca profundidade da coluna d'água, que facilita a dissolução do oxigênio e (2) somente concentrações de oxigênio menores que 2 mg O<sub>2</sub>/L são limitantes para a atividade das bactérias nitrificantes (HIDAKA et al. 2002). A presença de nitrato também indica poluição antiga no sistema (PROSAB 2009).

Após 112,4 mm de chuva em setembro/2022, o carbono orgânico total, na área do Tibau, ultrapassou 20 % na coluna d'água, mas chegou ao sedimento apenas 5,7%-6,4%, 7,1%- 8,2% e 5,2-9,14% nas áreas *mudball* com EM1® (M), *mudball* com EM1® e aeração (M+P) e área controle (C), respectivamente. Os teores de fósforo no sedimento das áreas amostradas atenderam o limite estabelecido pelo CONAMA 454/2012.

## **BIOENSAIOS**

Todos os bioensaios foram realizados em erlenmeyers estéreis em triplicata.

A composição do meio de cultura foi EM1® (40,0 g/L), água destilada (1,0 L) e sedimento (100 g/L). A incubação foi à temperatura ambiente ( $\pm 22^{\circ}\text{C}$ ) e 100 rpm com mesa agitadora. A duração dos experimentos foi de 15 dias, com amostras coletadas nas áreas experimentais da Lagoa de Piratininga após chuvas intensas em setembro/2022: mudball com EM1® (M), mudball com EM1® e aeração (M+P) e área controle (C).

O EM1® contendo *Lactobacillus casei* ( $4,7 \times 10^4$  UFC/mL), *Lactobacillus acidophilus* ( $7,9 \times 10^4$  UFC/mL) e *Saccharomyces cerevisiae* ( $1,5 \times 10^6$  UFC/mL) foi cedido gentilmente pela Empresa EMPAR.

## PARÂMETROS ANALISADOS

O número de células (células/g) foi obtido em microscopia de epifluorescência (Axiosp 1, Zeiss, filtro triplo Texas Red—DAPI—fluorescein isothiocyanate, aumento de 1.000), usando o fluorocromo fluoresceína diacetato e radiação UV (KEPNER and PRATT 1994).

Biopolímeros ou matéria orgânica lábil caracterizados por carboidratos (CHO), lipídios (LPD) e proteínas (PRT), foram quantificados nas amostras de sedimento, em triplicata. CHO foram quantificados segundo DUBOIS et al. (1956), de acordo com o método modificado de GERCHAKOV AND HATCHER (1972) para análise de sedimentos, utilizando a glicose como padrão. LPD foram extraídos com clorofórmio e metanol e analisados segundo MARSH AND WEINSTEIN (1966); a tripalmitina foi usada como padrão. PRT foi quantificada segundo HARTREE (1972), para compensar a interferência do fenol. Albumina bovina, fração V (Sigma), foi usada como padrão.

A quantificação inicial dos biopolímeros no sedimento está representada em C0 (área controle), M0 (área *mudball*) e M+P0 (área *mudball*+*aeração*). A quantificação final dos biopolímeros no sedimento está representada em Cf (área controle), Mf (área *mudball*),

M+Pf (área *mudball*+aeração).

Lipídeos, carboidratos e proteínas foram convertidos em equivalentes de carbono usando os fatores de conversão equivalentes de 0,75, 0,40 e 0,49, respectivamente, em mgC /g (FABIANO and PUSCEDDU 1998).

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

No início dos bioensaios, as amostras de sedimento das áreas controle (C0), *mudball* com EM1® (M0) e *mudball* com EM1® e aeração (M+P0), o número de células ficou em  $10^8$  células/g. No final do experimento, após 15 dias, o número de bactérias ficou em  $10^9$  células/g nas áreas controle (Cf), *mudball* com EM1® (Mf) e *mudball* com EM1® e aeração (M+Pf) (Figura 9). O sedimento da Lagoa de Piratininga tem matéria orgânica com estressores ambientais, possibilitando o aumento do número de células bacterianas. Ao contrário da Baía de Sepetiba, RJ, a presença de cobre e chumbo condicionou o número de células em  $10^8$ /g (WAITE et al. 2020). Na Baía de Guanabara, que contém estressores ambientais, como os metais, consórcios isolados de sedimento, alcançaram  $10^9$  células/g (BITENCOURT et al. 2023).

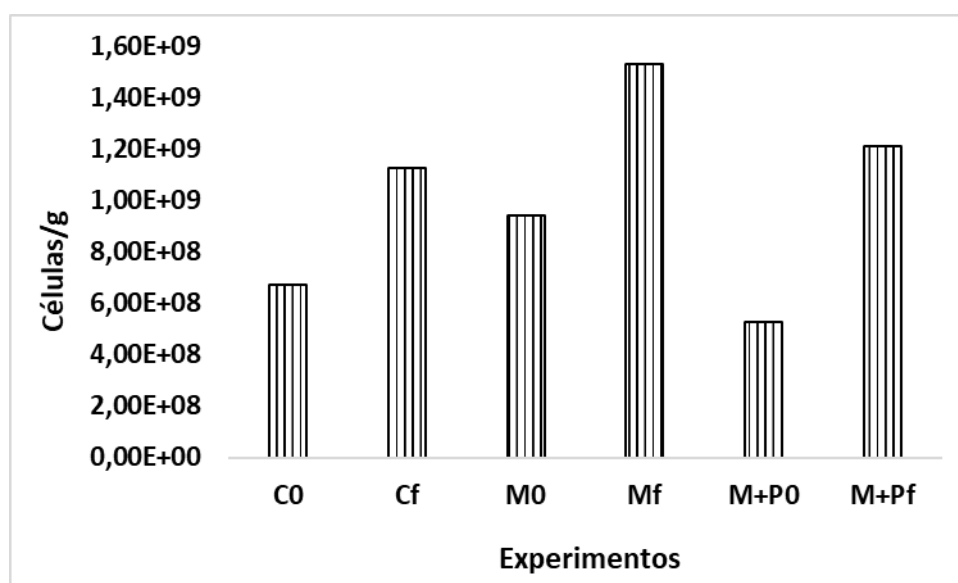


Figura 9: Quantificação de células bacterianas nas amostras de sedimento das áreas controle (C0, Cf), *mudball* com EM1® (M0, Mf) e *mudball* com EM1® e aeração (M+P0, M+Pf), durante os experimentos de degradação de biopolímeros.

Os valores de biopolímeros nas amostras de sedimento coletadas na área do Tibau da Lagoa de Piratininga foram equivalentes aos quantificados na Baía de Guanabara (SABADINI-SANTOS et al. 2014; SENEZ; et al. 2014).

A concentração inicial de proteínas (PRT) foi 0,25 mg/g nas amostras de sedimento das áreas controle (C0), *mudball* com EM1® (M0) e *mudball* com EM1® e aeração (M+P0). No final do experimento, nas amostras Cf, Mf e M+Pf, elas foram consumidas, restando 0,07 mg/g, 0,06 mg/g e 0,10 mg/g, respectivamente (Figura 10). Vale destacar a atuação similar dos microrganismos das áreas Cf e Mf, onde apenas a última contém EM1®. As proteínas são moléculas essenciais para os seres vivos e a sua biodegradação facilita o aporte de aminoácidos para a síntese de novas proteínas pelos microrganismos bênticos.

A concentração inicial de carboidratos (CHO) foi 0,17 mg/g nas amostras de sedimento das áreas controle (C0), *mudball* com EM1® (M0) e *mudball* com EM1® e aeração (M+P0). No final do experimento, nas amostras Cf, Mf e M+Pf, eles foram consumidos, restando 0,06 mg/g, 0,06 mg/g e 0,05 mg/g, respectivamente (Figura 10). Vale também ressaltar que o consumo de carboidratos foi semelhante em todos os bioensaios, independente da presença de microrganismos probióticos EM1®.

A concentração inicial de lipídios (LPD) foi 0,85 mg/g nas amostras de sedimento das áreas controle (C0), *mudball* com EM1® (M0) e *mudball* com EM1® e aeração (M+P0). No final do experimento, nas amostras Cf, Mf e M+Pf, eles foram consumidos, restando 0,08 mg/g, 0,14 mg/g e 0,13 mg/g, respectivamente (Figura 10). Nossos resultados indicam a especialização da microbiota local no bioensaio controle para degradar lipídios em região da lagoa rica em coprostanol, indicador fecal (UFF-FEC 2021).

Os teores de carbono biopolimérico expresso em equivalentes de carbono após degradação microbiana foram na área controle, 0,118  $\mu\text{gC/g}$ , *mudball*, 0,159  $\mu\text{gC/g}$  e *mudball*+ pulmão, 0,170  $\mu\text{gC/g}$ . O carbono biopolimérico indica a disponibilidade de fonte de carbono para uso da teia bêntica. Os resultados mais expressivos ocorreram nos bioensaios com *mudball* e *mudball*+pulmão, indicando a influência dos microrganismos probióticos EM1®, que, após consumo da matéria orgânica, preserva a qualidade da matéria biopolimérica para os organismos bênticos.

A razão proteína:carboidrato (PRT:CHO) é um indicador do conteúdo protéico e da produção autotrófica de carbono no sedimento. Nas áreas controle, *mudball* e *mudball*+pulmão as razões foram: 1,41, 1,25 e 2,50, respectivamente.

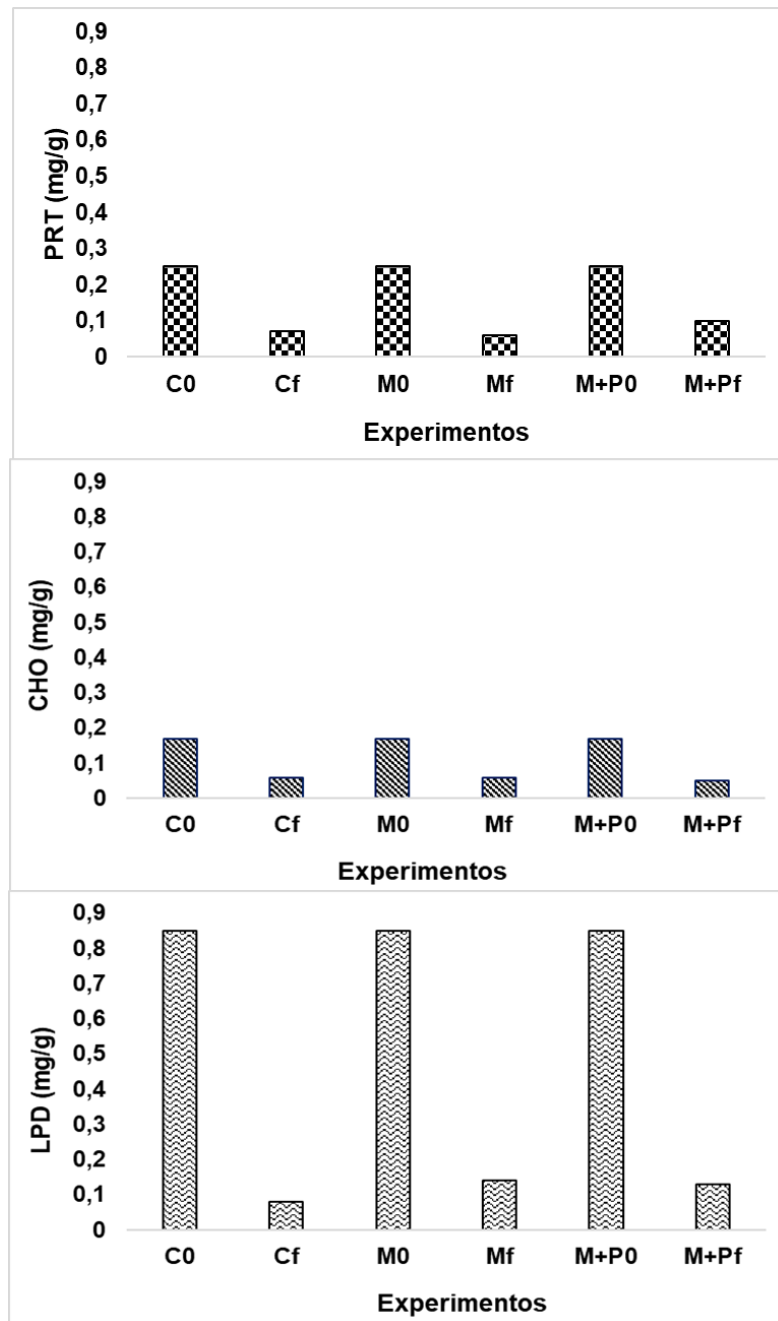


Figura 10: Experimentos de degradação de biopolímeros em mg/g: PRT (proteínas), CHO (carboidratos) e LPD (lipídios) em amostras de sedimento das áreas controle (C0, Cf), mudball com EM1® (M0, Mf) e mudball com EM1® e aeração (M+P0, M+Pf).

No início do experimento, as amostras de sedimento continham biopolímeros na seguinte ordem: PRT>LPD>CHO. No final do experimento os biopolímeros se apresentaram

na seguinte ordem: CHO>LPD>PRT (Figura 2).

## **CONCLUSÃO**

Em 2021, a região do Tibau tinha 4,21% de carbono orgânico total e 10,94% de matéria orgânica no sedimento. Em 2022, após as chuvas no mês de setembro, o carbono orgânico na coluna d'água alcançou 20%, mas chegou ao sedimento entre 5,7% a 9,14%. Estes resultados ressaltam a importância do aporte de carbono da bacia de drenagem (46,48 km<sup>2</sup>) para a lagoa, amplificando sua situação de sumidouro de carbono.

Após as chuvas, nossos resultados para a Lagoa de Piratininga sinalizam que grande parte do carbono orgânico total é consumido na coluna d'água. Inicialmente, as amostras de sedimento continham proteínas como biopolímeros majoritário nas três áreas experimentais, que foram consumidas pelos microrganismos probióticos. Os lipídios são moléculas recalcitrantes e ligados ao coprostanol na área do Tibau da lagoa, tendo menor degradação nas amostras de sedimento, mesmo em presença do probiótico.

Os microrganismos probióticos foram capazes de atuar nas amostras de sedimento durante o experimento, degradando a matéria orgânica lábil e indicando que os sistemas hídricos podem responder ao estressores ambientais, como esgoto doméstico.

## **CONCLUSÃO GERAL**

A perda de biodiversidade de microrganismos autóctones, concomitante às mudanças do perfil físico-químico dos sistemas hídricos contaminados por esgoto doméstico, acarreta a perda da resiliência ambiental da base da teia trófica.

A literatura tem mostrado que os microrganismos probióticos podem ser usados como biorremediadores da poluição orgânica em sistemas hídricos.

Os bioensaios com o probiótico EM1® em meio de cultura líquido e com sedimento de regiões poluídas resultaram (1) em produção de células suficientes para serem usadas em sistemas a serem biorremediadores e (2) a matéria orgânica lábil, formada pelos biopolímeros – proteínas, carboidratos e lipídios, foram consumidos, com possibilidade de diminuição da carga orgânica dos sistemas poluídos.

Estudos complementares deverão ser realizados, a fim de verificar a frequência de aplicação dos probióticos bem como se a adição de prebióticos melhoraria o rendimento do consumo de matéria orgânica do sistema hídrico poluído.

## BIBLIOGRAFIA

AMARAL, S.S.G. 2021. Caracterização de microplásticos nas praias de Jurujuba e Cambinhas, Niterói, RJ. Monografia de Conclusão de Graduação em Física, UFF. 50 pp.

AMEEN, F.A.; HAMDAN, A.M.; EL-NAGGAR, M.Y. 2020. Assessment of the heavy metal bioremediation efficiency of the novel marine lactic acid bacterium, *Lactobacillus plantarum* MF042018. *Scientific Reports*. 10:1–11.

ANDREA, M.; HUËT, L.; PUCHOOA, D. 2017. Bioremediation of heavy metals from aquatic environment through microbial processes: A potential role for probiotics? *Journal of Applied Biology & Biotechnology*. 5:14–23.

ANGELINI, R.; MARQUES Jr, A.N.; COSTA, M.R.; MONTEIRO-NETO, C.; MORETTI, T.; MONTEIRO, L.F.A.; BELLO, M.; SILVA, P.H.A.; LEMA, M.C.; ERBAS, T.; ALVES, L.; LAMEGO, F.; ABRIL, G.; TUBINO, R.A. 2021. Integrando informações e dados em modelos ecológicos. In: Sistemas lagunares do Leste Fluminense, Pesca e Sustentabilidade, Passado, Presente e Futuro. M.R. Costa, C. Monteiro-Neto, R.A. Tubino, R. Angelini (org.). 1a Edição. AH Edições, Rio de Janeiro, RJ. 131-143 pp.

ANH, H.Q.A.; WATANABE, I.; TOMIOKA, K.; MINH, T.B.; TAKAHASHI, S. 2019. Characterization of 209 polychlorinated biphenyls in street dust from northern Vietnam: Contamination status, potential sources, and risk assessment. *Science of the Total Environment*. 652:345–355.

BALOGUN, R.B.; OGBU, J.U.; UMEOKECHUKWU, E.C.; KALEJAIYE-MATTI, R.B. 2016. Effective micro-organisms (EM) as sustainable components in organic farming: principles, applications and validity. In: Nandwani D, editor. Organic farming for sustainable agriculture. Sustainable development and biodiversity, vol. 9. Cham: Springer. 259–291.

BARKO, P.C.; MCMICHAEL, M.A.; SWANSON, K.S.; WILLIAMS, D.A. 2018. The Gastrointestinal Microbiome: A Review. *Journal of Veterinary Internal Medicine*. 32:9–25.

BASAVAIHAH, N.; MOHITE, R.D.; SINGARE, P.U.; REDDY, A.V.R.; SINGHAL, R.K.; BLAHA, U. 2017. Vertical distribution, composition profiles, sources and toxicity assessment of PAH residues in the reclaimed mudflat sediments from the adjacent Thane Creek of Mumbai. *Marine Pollution Bulletin*. 118:112–124.

BASKENT, E.Z. 2020. A framework for characterizing and regulating ecosystem services

in a management planning context. *Forests*. 11:1–20.

BASSEM, S. M. 2020. Water pollution and aquatic biodiversity. *Biodiversity International Journal:Review Article*. 4:10–16.

BERG, G.; RYBAKOVA, D.; FISCHER, D.; CERNAVA, T.; VERGÈS, M.C.C.; CHARLES, T.; CHEN, X.; COCOLIN, L.; EVERSOLE, K.; CORRAL, G.H.; KAZOU, M.; KINKEL, L.; LANGE, L.; LIMA, N.; LOY, A.; MACKLIN, J.A.; MAGUIN, E.; MAUHLIN, T.; MCCLURE, R.; MITTER, B.; RYAN, M.; SARAND, I.; SMIDT, H.; SCHELKLE, B.; ROUME, H.; KIRAN, G. S.; SELVIN, J.; SOUZA, R.; SOARES C.V.O.; LEO, S.; BRAJESH, K.W.; MICHAEL, W.; AARON, S.; SCHLOTER, A. 2020. Microbiome definition re-visited: old concepts and new challenges. *Microbiome*. 8:1–22.

CARDOSO, L.; RADLER, M.E.; QUINTANILHA, P. 2018. Estudo de caso Lagoa de Piratininga. UFRJ- Escola de Belas Artes. Monografia de conclusão de curso.62p. (<https://pantheon.ufrj.br/bitstream/11422/8527/1/LVCBarros%3B%20MERAquino%3B%20PQuintanilha.pdf>).

CERDA, M.; NUNES-BARBOZA, C.D.; SCALI-CARVALHO, C.N.; ANDRADE-JANDRE, K.; MARQUES Jr, A.N. 2013. Nutrient budgets in the Piratininga-Itaipu lagoon system (southeastern Brazil): effects of sea-exchange management. nutrient budgets in the Itaipu-Piratininga lagoon system. Proceedings of the 3rd Brazilian Congress of Marine Biology Lat. Am. J. Aquat. Res. 41:226-238.

CLIP. 2015. Estratégia para Gerenciamento Ambiental Compartilhado dos Ecossistemas Lagunares de Itaipu e Piratininga e da Região Hidrográfica. Subcomitê do Sistema Lagunar Itaipu-Piratininga, Governo do Estado do Rio de Janeiro. Niterói.

CUNHA, L. C. 1996. Dinâmica de nutrientes e biomassa algal no sistema lagunar de Piratininga, Niterói, RJ: efeitos da instalação de uma comporta. Universidade Federal Fluminense. p. 118.

BITENCOURT, J.A.P.; CHEQUER, L.P.T.; WAITE, C.C.; OLIVEIRA, G.; OLIVEIRA, A.M.S.; PEREIRA, D.C.; CRAPEZ, M.A.C. 2023. Biomass and enzymatic activities of marine bacteria in the presence of multiple metals. *Brazilian J. Microbiol.* <https://doi.org/10.1007/s42770-023-00993-5>.

BLASER, M.J.; CARDON, Z.G.; CHO, M.K.; DANG, J.L.; DONOHUE, T.J.; GREEN, J.L.; KNIGHT, R.; MAXON, M.E.; NORTHEN, T.R.; Pollard, K.S.; BRODIE, E.L. 2016. Toward a predictive understanding of earth's microbiomes to address 21st century

challenges. *mBio*. 7:1–16.

BRASIL. CONAMA. Resolução no 357, de 17 de março de 2005. Dispõe sobre a classificação dos corpos de água e diretrizes ambientais para o seu enquadramento, bem como estabelece as condições e padrões de lançamento de efluentes, e dá outras providências. Diário Oficial da União, Brasília, DF, 18 de março de 2005. Seção 1, n. 53, p. 58-63.

BRASIL. CONAMA. Resolução n° 454, de 1° de novembro de 2012. Estabelece as diretrizes gerais e os procedimentos referenciais para o gerenciamento do material a ser dragado em águas sob jurisdição nacional.

BUNCE, J.T.; NDAM, E.; OFITERU, I.D.; MOORE, A.; GRAHAM, D.W. 2018. A review of phosphorus removal technologies and their applicability to small-scale domestic wastewater treatment systems. *Frontiers in Environmental Science*. 6:1–15.

CANANI, R.B.; CIRILLO, P.T.; GIANLUCA C.; SPAGNUOLO, L.; VINCENZO, M.A.; ALBANO, A.; PASSARIELLO, F.; MARCO, A.; MANGUSO, G.; GUARINO, A. 2007. Probiotics for treatment of acute diarrhoea in children: Randomised clinical trial of five different preparations. *British Medical Journal*. 335:340–342.

CARDINALE, B.J.; DUFFY, J.E.; GONZALEZ, A.; HOOPER, D.U.; PERRINGS, C.; VENAIL, P.; NARWANI, A.; MACE, G.M.; TILMAN, D.; WARDLE, D.A.; KINZIG, A.P.; DAILY, G.C.; LOREAU, M.; GRACE, J.B.; LARIGAUDERIE, A.; SRIVASTAVA, D.S.; NAEEM, S. 2012. Biodiversity loss and its impact on humanity. *Nature*. 486:59–67.

CASTILLO, N.A.; MORENO LEBLANC, A.; GALDEANO, C.M.; PERDIGÓN, G. 2012. Probiotics: An alternative strategy for combating salmonellosis. Immune mechanisms involved. *Food Research International*. 45:831–841.

CHAROUSOVÁ, I.; MEDO, J.; HLEBA, L.; CÍSAROVÁ, M.; JAVOREKOVÁ, S. 2019. Antimicrobial activity of actinomycetes and characterization of actinomycin-producing strain KRG-1 isolated from Karoo, South Africa. *Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences*. 55:1–11.

CHEQUER, L.P.T.; BITENCOURT, J.A.P., WAITE, C.C.C.; SILVA, G.O.A.; PEREIRA, D.C.; CRAPEZ, M.A.C. 2022. Development of *Rhizophora mangle* (Rhizophoraceae) and *Avicennia schaueriana* (Avicenniaceae) in the presence of a hydrocarbon-degrading bacterial consortium and marine diesel oil. *3 Biotech* 12:157.

CORTÉS, A. 2016. Simultaneous nitrification–denitrification of wastewater: effect of zeolite

as a support in sequential batch reactor with step-feed strategy. *International Journal of Environmental Science and Technology*. 13:2325–2338.

CRAPEZ, M.A.C.; DEGRAVE, W.M.S.; PINTO, F.N.; LINDE, T.N.M.P.; REMER, R.A.; DIAS, G.T.M.; OLIVEIRA FILHO, S.R.; MENDES, H.V. 2022. Biodegradação de matéria orgânica em lama sedimentada - definição de parâmetros na Lagoa de Piratininga, RJ. *Brazilian J. Develop.* 8:67051-67069.

DIAS, G.T.M. 2001. Granulados bioclásticos – algas calcárias. *BRAZ. J. GEOPHYSICS*. 18: 307-318.

DIVYA, M.; DIVYA, M.; AANAND, S.; SRINIVASAN, A.; AHILAN, B. 2015. . Bioremediation – An eco-friendly tool for effluent treatment: A Review. *International Journal of Applied Research*. 1:530–537.

DUBOIS, M., GILLES, K.A., HAMILTON, J.K., REBERS, P.A., SMITH, F., 1956. Colorimetric method for determination of sugars and related substances. *Anal. Chem.* 28:350–356.

EL SHAFEI, M.; ABD ELMOTELEB, E.. 2018. Investigate the Effect of Effective Microorganism (EM) on Improving the Quality of Sewage Water from Al-Gabal Al-Asfar Area in Egypt. *SSRN Electronic Journal*. p. 1–9.

FABIANO, M.; PUSCEDDU, A. 1998. Total and hydrolyzable particulate organic matter (carbohydrates, proteins and lipids) at a coastal station in Terra Nova Bay (Ross Sea, Antarctica). *Polar Biology*, 19: 125–132.

FABIANO, M.; POVERO, P.; DANOVARO, R.; MISIC, C. 1999. Particulate organic matter composition in a semi-enclosed Periantartic system: the Strait of Magellan. *Scientia Marina*. 63(1): 89–98

FANG, L.; WEI, X.; CAI, P.; HUANG, Q.; CHEN, H.; LIANG, W.; RONG, X. 2018. What kind of a science is sustainability science? An evidence-based reexamination. *Sustainability* (Switzerland). 10, n. 5.

FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION (FAO). 2002. Guidelines for the Evaluation of Probiotics in Food; Report of a Joint FAO/WHO Working Group on Drafting Guidelines for the Evaluation of Probiotics in Food; FAO: London, ON, Canada, 30 April–1 May.

FIorentino, N.; VENTORINO, V.; WOO, S.L.; PEPE, O.; DE ROSA, A.; GIOIA, L.;

- ROMANO, I.; LOMBARDI, N.; NAPOLITANO, M.; COLLA, G.; ROUPHAEL, Y. 2018. Trichoderma-based biostimulants modulate rhizosphere microbial populations and improve N uptake efficiency, yield, and nutritional quality of leafy vegetables. *Frontiers in Plant Science*. 9:1–15.
- FONTENELLE, T.H. and CORREA, W.B. 2013. Urbanização efetiva e densidade de domicílios na região oceânica de Niterói (RJ) entre 1976 e 2010. *Caminhos de Geografia* 14:172–182.
- FULLER, R. 1989. Probiotics in man and animals. *J. Appl. Microbiol.* 66:365–378.
- GERCHAKOV, S.M., HATCHER, P.G., 1972. Improved technique for analysis of carbohydrates in sediments. *Limnol. Oceanogr.* 17:938–943.
- GLUSHCHENKO, E. S.; VIALKOVA, E. I.; SIDORENKO, O. V. 2019. Probiotics as one of methods for dairy wastewaters' treatment intensification. *IOP Conference Series: Materials Science and Engineering*. 687:6.
- GOBBATO, N.; GALDEANO, C.M.; PERDIGÓN, G. 2008. Study of some of the mechanisms involved in the prevention against Salmonella enteritidis serovar Typhimurium infection by lactic acid bacteria. *Food and Agricultural Immunology*. 19:11–23.
- GOGINENI, V.K; MORROW, L.E. 2013. Probiotics: Mechanisms of Action and Clinical Applications. *Journal of Probiotics & Health*. 01:1–11.
- GOYAL, P.; BELAPURKAR, P.; KAR, A. 2019. A Review on in Vitro and in Vivo Bioremediation Potential of Environmental and Probiotic Species of Bacillus and Other Probiotic Microorganisms for Two Heavy Metals, Cadmium and Nickel. *Biosci. Biotechnol. Res. Asia*. 16:01–13.
- GUERRERO, L.; MONTALVO, S.; HUILÑIR, C.; BARAHONA, A.; BORJA, R.; ALPERN, M.; BAR-TAL, A.; OFEK, M.; MINZ, D.; MULLER, T.; YERMIYAHU, U. 2015. The use of biostimulants for enhancing nutrient uptake. In: *Advances in agronomy*. Academic, New York, pp 141–174.
- HARTREE, E.F., 1972. Determination of protein: a modification of the lowry method that gives a linear photometric response. *Anal. Biochem.* 48:422–427.
- HASAN, K.N.; BANERJEE, G. 2020. Recent studies on probiotics as beneficial mediator in aquaculture: a review. *The Journal of Basic and Applied Zoology*. 81, n. 1.

- HECKMANN, C.M.; PARADISI, F. 2020. Looking Back: A Short History of the Discovery of Enzymes and How They Became Powerful Chemical Tools. *ChemCatChem*. 12:6082–6102.
- HELMY, Q.; KARDENA, E. 2019. Gustiani, S. Probiotics and Bioremediation. In *Microorganisms*; IntechOpen: London, UK
- HESNAWI, R.; DAHMANI, K.; AL-SWAYAH, A.; MOHAMED, S.; MOHAMMED, S.A. 2014. Biodegradation of municipal wastewater with local and commercial bacteria. 12th *International Conference on Computing and Control for the Water Industry, CCWI2013*. *Procedia Engineering* 70:810-814.
- HIDAKA, T.; YAMADA, H.; KAWAMURA, M.; TSUNO, H. 2002. Effect of dissolved oxygen conditions on nitrogen removal in continuously fed intermittent-aeration process with two tanks. *Water Science and Technology*. 45:181-188.
- HILL, C.; GUARNER, F.; REID, G.; GIBSON, G.R.; MERENSTEIN, D.J.; POT, B.; MORELLI, L.; CANANI, R.B.; FLINT, H.J.; SALMINEN, S.; CALDER, P.C.; SANDERS, M.E. 2014. Expert consensus document: The international scientific association for probiotics and prebiotics consensus statement on the scope and appropriate use of the term probiotic. *Nature Reviews Gastroenterology and Hepatology*. 11:506–514.
- HIGA, T. 1991. Effective microorganisms: a biotechnology for mankind. In: Proc. First Int. Conf. Kyusei Nat, Farming, USDA, Washington, DC. pp 8–14.
- HIGA, T.; WIDIDANA, G.N. 1991. The concept and theories of effective microorganisms. In: Proc. of the First Intl Conf. on Kyusei Nature Farming. U.S. Dept of Agric., Washington, DC, USA. pp. 118–124
- HOO, M.W.S.; SWEE-SEN T. 2021. Investigation on the Efficiency of Effective Microorganisms for Polluted Water Treatment. *Applied Microbiology: Theory & Technology*. 2:1–17.
- HOOPER, L.V.; MACPHERSON, A.J. 2010. Immune adaptations that maintain homeostasis with the intestinal microbiota. *Nature Reviews Immunology*. 10:159–169.
- HU, C.; QI, Y. 2013. Long-term effective microorganisms application promote growth and increase yields and nutrition of wheat in China. *Europ. J. Agronomy* 46:63–67.
- HUXLEY, A. 1871 Discourses: Biological & Geological (volumeVIII): *Yeast. Collected Essays*.

IBGE. 2010. <https://censo2010.ibge.gov.br/> (acesso em 23/05/2023)

INEA-INSTITUTO ESTADUAL DO AMBIENTE. 2022. Boletim de qualidade das águas da Região Hidrográfica V - Baía de Guanabara, Bacia do Sistema Lagunar de Itaipu e Piratininga (acesso em 6/11/2022) (<http://www.inea.rj.gov.br/wp-content/uploads/2022/08/Boletim-IQA-RH-V-Bacia-do-Sistema-Lagunar-de-Itaipu-e-Piratininga-2022-N3.pdf>).

INEA-INSTITUTO ESTADUAL DO AMBIENTE. 2023. Boletim de qualidade das águas da Região Hidrográfica V - Baía de Guanabara, Bacia do Sistema Lagunar de Itaipu e Piratininga (acesso em 26/10/2023) (<https://comitebaiadeguanabara.org.br/wp-content/uploads/2023/03/Relatorio-Simplificado-18.pdf>)

INDIRA, M.; VENKATESWARULU, T.C.; ABRAHAM PEELE, K.; NAZNEEN BOBBY, M.; KRUPANIDHI, S. 2019. Bioactive molecules of probiotic bacteria and their mechanism of action: a review. *3 Biotech.* 9:1–11.

INEA 2023. (acesso em 26/10/2023; <https://www.inea.rj.gov.br/wp-content/uploads/2023/10/Niter%C3%B3i-23-10-23.pdf>).

JANSSON, J.K.; HOFMOCKEL, K.S. 2020. Soil microbiomes and climate change. *Nature Reviews Microbiology.* 18:35–46.

JIANG, L.; WANG, J.; LIANG, S.; WANG, X.; CEN, P.; XU, Z. 2009. Butyric acid fermentation in a fibrous bed bioreactor with immobilized *Clostridium tyrobutyricum* from cane molasses. *Bioresource Technology.* 100:3403-3409.

JUSOH, M.L.C.; MANAF, L.A.; LATIFF, P.A. 2013. Composting of rice straw with effective microorganisms (EM) and its influence on compost quality. *Iranian J. Environ. Health Sciences & Engineering.* 10:2-9.

KATO, S.; XU, H.L.; FUJITA, M.; YAMADA, K.; KARASE, K.; UMEMURA, H. 1999. Effect of organic fertilizations and EM applications on growth pattern, nutrient uptake and grain yield of sweet corn. South Africa. In: 6th International Conference on Kyusei Nature Farming Pretoria. Pretoria.

KEPNER, J. AND PRATT, J. R. 1994. Use of fluorochromes for direct enumerations of total bacteria in environmental samples: past and present. *Microbiol. Rev.* 58:603–615.

KNIFE, H.; TEMPERTON, B.; LANGE, A.; BASS, D.; TYLER, C.R. 2021. Probiotics and

competitive exclusion of pathogens in shrimp aquaculture. *Reviews in Aquaculture*. 13:324–352.

KNOPPERS, B.; KJERFVE, B.; CARMOUZE, J. P. 1991. Trophic state and water turn-over time in six choked coastal lagoons in Brazil. *Biogeochemistry*. 14:149-166.

KOUHOUNDE, S.; ADÉOTI, K.; MOUNIR, M.; GIUSTI, A.; REFINETTI, P.; OTU, A.; EFFA, E.; EBENSO, B.; ADETIMIRIN, V.O.; BARCELÓ, J.M.; THIARE, O.; RABETAFIKA, H.N.; RAZAFINDRALAMBO, H.L. 2022. Applications of Probiotic-Based Multi-Components to Human, Animal and Ecosystem Health: Concepts, Methodologies, and Action Mechanisms. *Microorganisms*, 10,1700.

KÜMMERLI, R.; SANTORELLI, L.A.; GRANATO, E.T.; DUMAS, Z.; DOBAY, A.; GRIFFIN, A.S.; West, S.A. 2015. . Co-evolutionary dynamics between public good producers and cheats in the bacterium *Pseudomonas aeruginosa*. *Journal of Evolutionary Biology*. 28:2264–2274.

LAGE H. and JABLONSKI, S. 2008. A extração e a comercialização do mexilhão perna perna na Baía de Guanabara, Brasil. *Atlântica (Rio Grande)*, v. 30:161–169.

LANANAN, F.; HAMID, SHA.; DIN, WNS.; KHATOON, H.; JUSOH, A.; ENDUT, A. 2014. Symbiotic bioremediation of aquaculture wastewater in reducing ammonia and phosphorus utilizing effective microorganism (EM-1) and microalgae (*Chlorella* sp.). *Int. Biodeterior. Biodegrad.* 95:127–134.

LEBLANC, J.G.; CHAIN, F.; MARTÍN, R.; BERMÚDEZ-HUMARÁN, L.G.; COURAU, S.; LANGELLA, P. 2017. Beneficial effects on host energy metabolism of short-chain fatty acids and vitamins produced by commensal and probiotic bacteria. *Microbial Cell Factories*. 16:1–10.

LI, W.J.; NI, Y.Z. 2001. Use of effective microorganisms to suppress malodors of poultry manure. *J Crop Prod.* 3:215–21.

LI, C.; MA, Y.; MI, Z.; HUO, R.; ZHOU, T.; HAI, H.; KWOK, L.; SUN, Z.; CHEN, Y.; ZHANG, H. 2018. Screening for *Lactobacillus plantarum* strains that possess organophosphorus pesticide-degrading activity and metabolomic analysis of phorate degradation. *Frontiers in Microbiology*. 9:1–13.

- LILLY, D.M.; STILLWELL, R.H. Probiotics: Growth promoting factors produced by microorganisms. *Science* 1965. 147:747–748.
- LIMA, C.; LIMA, L.; CERQUEIRA, M.; FERREIRA, E.; ROSA, C. 2009. Bactérias do ácido láctico e leveduras associadas com o queijo-de-minas artesanal produzido na região da Serra do Salitre, Minas Gerais. *Arquivo Brasileiro Medicina Veterinária e Zootecnia*. 1:266-272.
- LLOYD-PRICE, J; ABU-ALI, G; HUTTENHOWER, C. 2016. The healthy human microbiome. *Genome Medicine*. 8:1–11.
- MADKOUR, A.G.; HAMED, M.M.; DAR, M.A. 2019. Removal of ammonia and orthophosphate from domestic wastewater using marine actinomycetes. *Egyptian Journal of Aquatic Biology and Fisheries*. 23:455–465.
- MALONE, T.C.; NEWTON, A. 2020. The globalization of cultural eutrophication in the coastal ocean: causes and consequences. *Front. Mar. Sci.* 7:670. doi:10.3389/fmars.2020.00670
- MARKOWIAK, P.; SLIZEWSKA, K. 2017. Effects of Probiotics, Prebiotics, and Synbiotics on Human Health. *Nutrients*, 9, 1021.
- MBUSNUM, K.G.; MALLERET, L.; DESCHAMPS, P.; KHABOUCHE, I.; ASIA, L.; LEBARILLIER, S.; MENOT, G.; ONGUENE, R.; DOUMENQ, P. 2020. Persistent organic pollutants in sediments of the Wouri Estuary Mangrove, Cameroon: Levels, patterns and ecotoxicological significance. *Marine Pollution Bulletin* 160, 111542.
- MELLO, L.O.F.; LEAL, T.S.; BRAGA, V.A.; DO VALE, V.H.C. 2019. Projeto piloto de saneamento como ação mitigadora ao risco de deslizamentos em Jurujuba, Niterói – RJ. In: XVIII SGBFA - *Simpósio Brasileiro de Geografia Física Aplicada*. Fortaleza, CE.
- MOHAMMADI, M.M.; SHADNOUSH, M.; SOHRABVANDI, S.; YOUSEFI, M.; KHORSHIDIAN, N.; MORTAZAVIAN, A.M. 2021. Probiotics as potential detoxification tools for mitigation of pesticides: a mini review. *International Journal of Food Science and Technology*. 56:2078–2087.
- MONTEAGUDO-MERA, A.; RASTALL, R.A.; GIBSON, G.R.; CHARALAMPOPOULOS, D.; CHATZIFRAGKOU, A. 2019. Adhesion mechanisms mediated by probiotics and prebiotics and their potential impact on human health. *Applied Microbiology and Biotechnology*. 103:6463–6472.

MUKHERJEE, S.; BONNIE L. B. 2019. Bacterial quorum sensing in complex and dynamically changing environments. *Nat Rev Microbiol.* 176:371–382.

MURUGAN, A. C.; PERUMAL, V.; KANNAN, S. 2022. Production, Cost Analysis, and Marketing of Agricultural Effective Microorganisms. In: *Industrial Microbiology Based Entrepreneurship, Microorganisms for Sustainability*. N. Amaesan, D. Dharumadurai and D.R. Cundell (eds.). Chapter 14: 199-225.

NAIK, K.; MISHRA, S.; SRICHANDAN, H.; SINGH, P.K.; CHOUDHARY, A. 2020. Microbial formulation and growth of cereals, pulses, oilseeds and vegetable crops. *Sustainable Environment Research.* 30, 1.

NAYFACH, S.; ROUX, S.; SESHADRI, R.; UDWARY, D.; VARGHESE, N.; SCHULZ, F.; WU, D.; PAEZ-ESPINO, D.; CHEN, I.M.; HUNTEMANN, M.; PALANIAPPAN, K.; LADAU, J.; MUKHERJEE, S.; REDDY, T.B.K.; NIELSEN, T.; KIRTON, E.; FARIA, J.P.; EDIRISINGHE, J.N.; HENRY, C.S.; JUNGBLUTH, S.P.; CHIVIAN, D.; DEHAL, P.; WOOD-CHARLSON, E.M.; ARKIN, A.P.; TRINGE, S.G.; VISEL, A.; ABREU, H.; ACINAS, S.G.; ALLEN, E.; ALLEN, M.A.; ALTEIO, L.V.; ANDERSEN, G.; ANESIO, A.M.; ATTWOOD, G.; AVILA-MAGAÑA, V.; BADIS, Y.; BAILEY, J.; BAKER, B.; BALDRIAN, P.; BARTON, H.A.; BECK, D.A.C.; BECRAFT, E.D.; BELLER, H.R.; BEMAN, J.M.; BERNIER-LATMANI, R.; BERRY, T.D.; BERTAGNOLLI, A.; BERTILSSON, S.; BHATNAGAR, J.M.; BIRD, J.T.; BLANCHARD, J.L.; BLUMER-SCHUETTE, S.E.; BOHANNAN, B.; BORTON, M.A.; BRADY, A.; BRAWLEY, S.H.; BRODIE, J.; BROWN, S.; BRUM, J.R.; BRUNE, A.; BRYANT, D.A.; BUCHAN, A.; BUCKLEY, D.H.; BUONGIORNO, J.; CADILLO-QUIROZ, H.; CAFFREY, S.M.; CAMPBELL, A.N.; CAMPBELL, B.; CARR, S.; CARROLL, J.L.; CARY, S.C.; CATES, A.M.; CATTOLICO, R.A.; CAVICCHIOLI, R.; CHISTOSERDOVA, L.; COLEMAN, M.L.; CONSTANT, P.; CONWAY, J.M.; MAC CORMACK, W.P.; CROWE, S.; CRUMP, B.; CURRIE, C.; DALY, R.; DEANGELIS, KRISTEN M.; DENEFF, V.; DENMAN, S.E.; DESTA, A.; DIONISI, H.; DODSWORTH, J.; DOMBROWSKI, N.; DONOHUE, T.; DOPSON, M.; DRISCOLL, T.; DUNFIELD, P.; DUPONT, C.L.; DYNARSKI, K.A.; EDGCOMB, V.; EDWARDS, E.A.; ELSHAHEED, M.S.; FIGUEROA, I.; FLOOD, B.; FORTNEY, N.; FORTUNATO, C.S.; FRANCIS, C.; GACHON, C.M.M.; GARCIA, S.L.; GAZITUA, M.C.; GENTRY, T.; GERWICK, L.; GHARECHAHI, J.; GIRGUIS, P.; GLADDEN, J.; GRADOVILLE, M.; GRASBY, S.E.; GRAVUER, K.; GRETTEBERGER, C.L.; GRUNINGER, R.J.; GUO, J.; HABTESELASSIE, M.Y.;

HALLAM, S.J.; HATZENPICHLER, R.; HAUSMANN, B.; HAZEN, T.C.; HEDLUND, B.; HENNY, C.; HERFORT, L.; HERNANDEZ, M.; HERSHEY, O.S.; HESS, M.; HOLLISTER, E.B.; HUG, L.A.; HUNT, D.; JANSSON, J.; JARETT, J.; KADNIKOV, V.V.; KELLY, C.; KELLY, R.; KELLY, W.; KERFELD, C.A.; KIMBREL, J.; KLASSEN, J.L.; KONSTANTINIDIS, K.T.; LEE, L.L.; LI, W.J.; LODER, A.J.; LOY, A.; LOZADA, M.; MACGREGOR, B.; MAGNABOSCO, C.; MARIA DA SILVA, A.; MCKAY, R.M.; MCMAHON, K.; MCSWEENEY, C.S.; MEDINA, M.; MEREDITH, L.; MIZZI, J.; MOCK, T.; MOMPER, L.; MORAN, M.A.; MORGAN-LANG, C.; MOSER, D.; MUYZER, G.; MYROLD, D.; NASH, M.; NESBØ, C.L.; NEUMANN, A.P.; NEUMANN, R.B.; NOGUERA, D.; NORTHEN, T.; NORTON, J.; NOWINSKI, B.; NÜSSLEIN, K.; O'MALLEY, M.A.; OLIVEIRA, R.S.; MAIA DE OLIVEIRA, V.; ONSTOTT, T.; OSVATIC, J.; OUYANG, Y.; PACHIADAKI, M.; PARNELL, J.; PARTIDA-MARTINEZ, LP.; PEAY, K.G.; PELLETIER, D.; PENG, X.; PESTER, M.; PETT-RIDGE, J.; PEURA, S.; PJEVAC, P.; PLOMINSKY, A.M.; POEHLEIN, A.; POPE, P.B.; RAVIN, N.; REDMOND, M.C.; REISS, R.; RICH, V.; RINKE, C.; RODRIGUES, J.L.M.; RODRIGUEZ-REILLO, W.; ROSSMASSLER, K.; SACKETT, J.; SALEKDEH, G.H.; SALESKA, S.; SCARBOROUGH, M.; SCHACHTMAN, D.; SCHADT, C.W.; SCHRENK, M.; SCZYRBA, A.; SENGUPTA, A.; SETUBAL, J.C.; SHADE, A.; SHARP, C.; SHERMAN, D.H.; SHUBENKOVA, O.V.; SIERRA-GARCIA, I.N.; SIMISTER, R.; SIMON, H.; SJÖLING, S.; SLONCZEWSKI, J.; CORREA DE SOUZA, R.S.; SPEAR, J.R.; STEGEN, J.C.; STEPANAUSKAS, R.; STEWART, F.; SUEN, G.; SULLIVAN, M.; SUMNER, D.; SWAN, B.K.; SWINGLEY, W.; TARN, J.; TAYLOR, G.T.; TEELING, H.; TEKERE, M.; TESKE, A.; THOMAS, T.; THRASH, C.; TIEDJE, J.; TING, C.S.; TULLY, B.; TYSON, G.; ULLOA, O.; VALENTINE, D.L.; VAN GOETHEM, M.W.; VANDERGHEYNST, J.; VERBEKE, T.J.; VOLLMERS, J.; VUILLEMIN, A.; WALDO, N.B.; WALSH, D.A.; WEIMER, B.C.; WHITMAN, T.; VAN DER WIELEN, P.; WILKINS, M.; WILLIAMS, T.J.; WOODCROFT, B.; WOOLET, J.; WRIGHTON, K.; YE, J.; YOUNG, E.B.; YOUSSEF, N.H.; YU, F.B.; ZEMSKAYA, T.I.; ZIELS, R.; WOYKE, T.; MOUNCEY, N.J.; IVANOVA, N.N.; KYRPIDES, N.C.; ELOE-FADROSH, E.A. 2021. A genomic catalog of Earth's microbiomes. *Nature Biotechnology*. 39:499–509.

NORAH, M. 2015. Impacts of Untreated Sewage Discharge on Water Quality of Middle Manyame River: A Case of Chinhoyi Town, Zimbabwe. *International Journal of Environmental Monitoring and Analysis*. 3:133.

ONGARATO, G.; NETO, J.F. 2021. Componentes da produção do feijão preto cultivado em

solo arenoso em função da inoculação das suas sementes com *Azospirillum* Brasiliense  
Production components of black bean grown on sandy soil as a function of inoculation of its  
seeds with *Azospirillum* Br. *Brazilian Journal of Development*. 7: 95385–95396.

PASTEUR, L. 1858. Mèmoire sur la fermentation appeleé lactique. *Annales de Chimie et de  
Physique* 3e. 52:404-418.

POPPI, L.B.; RIVALDI, J.D.; COUTINHO, T.S.; ASTOLFI-FERREIRA, C.S.;  
FERREIRA, A.J.P.; MANCILHA, I.M. 2015. Effect of *Lactobacillus* sp. isolates  
supernatant on *Escherichia coli* O157: H7 enhances the role of organic acids production as  
a factor for pathogen control. *Pesquisa Veterinaria Brasileira*. 35:353–359.

PREICHARDT, L.D.; FIORENTINI, A.M; SAWITZKI, M.C.; SILVA, W.P. 2010.  
Composição química de melão obtido do beneficiamento de Cana-de-açúcar de uma  
cooperativa do noroeste do estado do Rio Grande do Sul. CT & I e Sociedade. UNIJUI -  
Universidade Regional.

PROSAB – PROGRAMA DE PESQUISA EM SANEAMENTO BÁSICO. 2009. Nutrientes  
de esgoto sanitário: utilização e remoção. Francisco Suetônio Bastos Mota and Marcos von  
Sperling (Coord.). 1a Ed., Tomo 2. 430p.

QADIR, G. 2019. Yeast a magical microorganism in the wastewater treatment. ~ 1498 ~  
*Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*. 8:1498–1500.

SANDERS, M.E.; MERENSTEIN, D.; MERRIFIELD, C.A.; HUTKINS, R. 2018.  
Probiotics for human use. *Nutrition Bulletin*. 43:212–225.

SABADINI-SANTOS, E.; SILVA, T.S.; LOPES-ROSA, T.D.; MENDONÇA-FILHO, J.G.;  
SANTELLI, R.E.; CRAPEZ, M.A.C. 2014. Microbial Activities and Bioavailable  
Concentrations of Cu, Zn, and Pb in Sediments from a Tropic and Eutrophicated Bay. *Water  
Air Soil Pollut*. 225:1949.

SAVAIANO, D.A.; LEVITT, M.D. 1987. Milk intolerance and microbecontaining dairy  
foods. *J Dairy Sci*. 70:397-406.

SENEZ, T.M.; SILVA, T.S.; MOREIRA, M.R.; SANTELLI, R.E.; CRAPEZ, M.A.C. 2014.  
Organic matter and pyritization relationship in recent sediments from a tropical and eutrophic  
bay. *Marine Pollution Bulletin* 89:220–228.

SIDHU, G.K.; SINGH, S.; KUMAR, V.; DHANJAL, D.S.; DATTA, S.; SINGH, J.  
2019. Toxicity, monitoring and biodegradation of organophosphate pesticides: A review.

*Critical Reviews in Environmental Science and Technology*. 49:1135–1187.

SILVA, F.S.; SABADINI-SANTOS, E.; LAUT, L.L.M.; SANCHEZ-NUÑES, M.L.; FONSECA, E.M.; BAPTISTA-NETO, J.A.; MENDONÇA-FILHO, J.C.; CRAPEZ, M.A.C. 2010. Geomicrobiology and Biochemical Composition of Two Sediment Cores from Jurujuba Sound - Guanabara Bay – SE Brazil. *An. Inst. Geociências - U F R J*. 33:73-84.

SILVA, F.S. ; BITENCOURT, J.P.A.; SAVERGNINI, F.; GUERRA, L.V.; BAPTISTA-NETO, J.A.; CRAPEZ, M.A.C. 2011. Bioavailability of Organic Matter in the Superficial Sediment of Guanabara Bay, Rio de Janeiro, Brazil. *An. Inst. Geociências U F R J*. 34:52-63.

SILVA, M.S.; CAMARGO, S.C.; MARTELLI, A.; MAZZOCCA DOURADO, F.F.; MIRANDA SAMUDIO, E.M. 2020. Estudo e projeto de uma usina de compostagem / Study and design of a composting plant. *Brazilian J. Technology*. 3:169–189.

SOUZA, B.M.; DUARTE, M.A.C.; TINÔCO, J.D. 2021. Custos de operação e manutenção de estação de tratamento de esgotos por reator anaeróbio e lodos ativados. *Engenharia Sanitaria e Ambiental*. 26:505–515.

SREENIVASAN, E. 2013. Evaluation of effective microorganisms technology in industrial wood waste management. *Int J Adv Eng Tech*. IV:21–2.

SUBASHIN, L.M. 2016. Waste Water Treatment using Probiotics. *J. Chemical Pharmaceutical Sciences*. 9:E226-E228.

TOLEDO, G.A.; COHEN, S.C.; KLIGERMAN, D.C.; SAGGIORO, E.M. 2020. Cidade do Rio de Janeiro (RJ) sustentável? Análise da evolução do planejamento para o Esgotamento Sanitário. *Saúde em Debate*. 44:234–250.

UFF-FEC - Universidade Federal Fluminense-Fundação Euclides da Cunha. 2021. Relatório 1 – Descrição e caracterização de amostras de sedimentos lamosos da Lagoa de Piratininga para caracterização do tipo de matéria orgânica. Contrato SMO/UGP/CAF N° 007/2021 com a Prefeitura Municipal de Niterói – PRO Sustentável.

UFF-FEC - Universidade Federal Fluminense-Fundação Euclides da Cunha 2022. Relatório 6 – Campanha T3 – Edital ETEC. Contrato: SMO/UGP/CAF N° 007/2021

VARALAKSHMI, S.; BALASUBRAMANYAM, B.V.; SURENDRANATH, B.; BAGATH, M.; RAJENDRAN, D. 2014. Use of Novel Lactic Acid Bacterial Strains with Antagonistic Activity for the Preparation of Safe Indigenous Fermented Dairy Foods (Dahi

and Raita). *Journal of Food Safety*. 34:26–33.

VENTURINI FILHO, W. G.; FIGUEIRA, R.; SARTORI, M. M. P.; AUER, S.; ANDRADE, T. L.P. 2018. Quantificação do metabolismo aeróbio e anaeróbio de levedura alcoólica sob diferentes condições ambientais. *Boletim do CEPPA*. 35:1-10.

VERGIN, F. 1954. Anti-und Probiotica. *Hipokrates*. 25:116–119.

VICTORIA, J; UMA MAHESWARI, N. 2016. Effective Microorganisms – an Incredible Alternative for Wastewater Treatment. *International Journal of Development Research*. 6:9399–9403.

VIEIRA, R.; Gabriel, C.; Silva, A.C. 2021. Detecção de *S almonella* spp . em alimentos preparados com produtos de origem avícola com risco de contaminação cruzada Detection of *Salmonella* spp . in foods prepared with poultry products with risk of cross contamination. *Brazilian Journal of Development*. 7:101813–101822.

WAITE, C.C.C.; SILVA, G.O.A.; BITENCOURT, J.A.P.; CHEQUER, L.P.T.; PENNAFIRME, S.; JURELEVICIUS, D.A.; SELDIN, L.; CRAPEZ, M.A.C. 2020. Potential application of *Pseudomonas stutzeri* W228 for removal of copper and lead from marine environments. *PLOS ONE* 15(10): e0240486.

ZHANG, Y.H.; Xu, D.; Zhao, X.H.; Song, Y.; Liu, Y.L.; Li, H.N. 2016. Biodegradation of two organophosphorus pesticides in whole corn silage as affected by the cultured *Lactobacillus plantarum*. *3 Biotech*. 6, n. 1.

## **ANEXO**

**Microorganismos para a sustentabilidade ambiental**  
/  
**Microorganisms for environmental sustainability**

DOI:10.34117/bjdv8n3-158

Recebimento dos originais: 14/02/2022

Aceitação para publicação: 12/03/2022

**Thiago de Nuno Mendes Pery de Linde**

Publicidade e Propaganda

Instituição: Programa de Pós-graduação em Dinâmica dos Oceanos e da Terra  
Universidade Federal Fluminense

Endereço: Av. Milton Tavares de Souza, Niterói, RJ, CEP: 24210-346

E-mail: thiagolinde@id.uff.br

**Fernando Neves Pinto**

Doutor em Biologia Marinha e Ecossistemas Costeiros

Instituição: Programa de Pós-graduação em Dinâmica dos Oceanos e da Terra  
Universidade Federal Fluminense

Endereço: Av. Milton Tavares de Souza, Niterói, RJ, CEP: 24210-346

E-mail: fernandopinto@id.uff.br

**Hugo Vidaurre Mendes**

Engenheiro químico

Instituição: Programa de Pós-graduação em Dinâmica dos Oceanos e da Terra  
Universidade Federal Fluminense

Endereço: Av. Milton Tavares de Souza, Niterói, RJ, CEP: 24210-346

E-mail: hugovidaurre@id.uff.br

**Mirian Araujo Carlos Crapez**

Doutora em Bioquímica e Biologia Celular

Instituição: Programa de Pós-graduação em Dinâmica dos Oceanos e da Terra  
Universidade Federal Fluminense

Endereço: Av. Milton Tavares de Souza, Niterói, RJ, CEP: 24210-346

E-mail: miriancrapez@id.uff.br

**RESUMO**

Os probióticos são microrganismos vivos que conferem benefícios à saúde animal ou ambiental. São constituídos de consórcios de microrganismos e seus genomas, que modulam as respostas metabólicas a fatores internos e externos, participando da manutenção do equilíbrio ecológico. Por conta disso, eles podem ser utilizados como uma estratégia de baixo custo na restauração da resiliência de um ecossistema. Este trabalho apresenta uma revisão sobre os principais microrganismos usados como probióticos como *Lactobacillus* sp., *Bifidobacterium* sp., *Streptomyces* sp., *Saccharomyces* sp., *Aspergillus* sp., *Bacillus* sp., *Rhodopseudomonas* sp. e *Rhodobacter* sp. e seus mecanismos de ação. Estes mecanismos são regulados pelo *quorum sensing*, que permite aos microrganismos atuarem coletivamente na competição para exploração, competição por interferência e aderência epitelial. Eles atuam no aumento da disponibilidade de nutrientes e geração de compostos bioativos, como bacteriocinas, ácidos graxos de cadeia curta,

exopolissacarídeos, enzimas e vitaminas. Adicionalmente, eles também participam da desintoxicação de micotoxinas, sequestro de metais pesados, biorremediação de hidrocarbonetos aromáticos policíclicos, amins aromáticas heterocíclicas, nitrosaminas e pesticidas. O presente trabalho também relata a utilização de microrganismos probióticos na remediação de águas contaminadas por diversas fontes, descrevendo as possibilidades de uso desta tecnologia sustentável para revitalizar o meio ambiente.

**Palavras-chave:** probióticos, *quorum sensing*, biorremediação, corpos hídricos, resiliência ambiental.

#### ABSTRACT

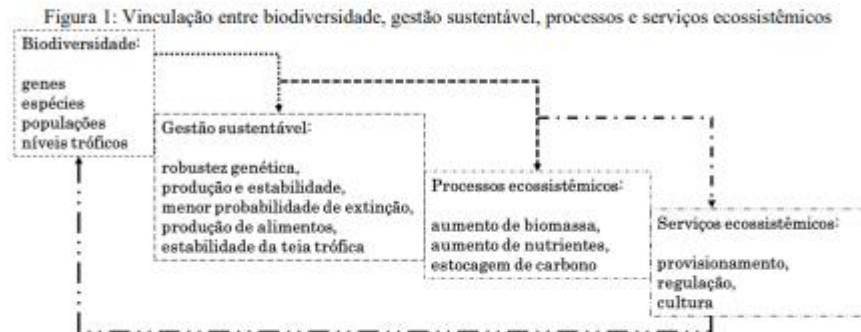
Probiotics are live microorganisms that provide animal or environmental health benefits. They are formed by consortia of microorganisms and their genomes, which modulate metabolic responses to internal and external factors, participating in the maintenance of ecological balance. Hence, they can be used as a low-cost strategy to restore an ecosystem's resilience. This work presents a review of the main microorganisms used as probiotics such as *Lactobacillus* sp., *Bifidobacterium* sp., *Streptomyces* sp., *Saccharomyces* sp., *Aspergillus* sp., *Bacillus* sp., *Rhodopseudomonas* sp. and *Rhodobacter* sp. and its mechanisms of action. These mechanisms are regulated by *quorum sensing*, which allows microorganisms to act collectively in competition for exploration, competition for interference and epithelial adhesion. They act to increase the availability of nutrients and generate bioactive compounds such as bacteriocins, short-chain fatty acids, exopolysaccharides, enzymes and vitamins. In addition, they also participate in mycotoxin detoxification, heavy metal sequestration, bioremediation of polycyclic aromatic hydrocarbons, heterocyclic aromatic amines, nitrosamines and pesticides. The present work also reports the use of probiotic microorganisms in the remediation of contaminated water from different sources, describing the possibilities of using this sustainable technology to revitalize the environment.

**Keywords:** probiotics, *quorum sensing*, bioremediation, water bodies, environmental resilience

## 1 INTRODUÇÃO

As atividades humanas utilizam recursos naturais e produzem resíduos sólidos urbanos e industriais descartados no ambiente, como metais, hidrocarbonetos poliaromáticos, bifenilas e pesticidas (ANH *et al.*, 2019; BASAVIAIAH *et al.*, 2017; MBUSNUM *et al.*, 2020). A transferência de poluentes para o meio ambiente altera o equilíbrio dos ecossistemas e compromete a biodiversidade (BASSEM, 2020). A manutenção da biodiversidade, definida como a diversidade, abundância e identidade das espécies, seus genes e ecossistemas, é essencial para a saúde humana e a dos ecossistemas. Existe uma interdependência entre a biodiversidade, os processos biológicos e as condições ambientais que, quando em equilíbrio, mantêm a qualidade dos sistemas. Assim, a diversidade biológica está intrinsecamente ligada ao funcionamento dos

ecossistemas e sua capacidade de fornecer bens e serviços (CARDINALE *et al.*, 2012). Por sua vez, os serviços ecossistêmicos e o bem-estar humano estão intimamente ligados, porque representam a base da sustentabilidade (FANG *et al.*, 2018) (Figura 1).



O microbioma é um dos itens da sustentabilidade e é composto por comunidade microbiana, que ocupa um habitat razoavelmente bem definido com propriedades físico-químicas distintas (BERG *et al.*, 2020). O estudo do microbioma humano, de outros animais, plantas e microrganismos pode fornecer soluções para doenças e/ou adaptações às mudanças climáticas (JANSSON; HOFMOCKEL, 2020; NAYFACH *et al.*, 2021). O microbioma também desempenha um papel importante na manutenção da saúde ambiental pois é o principal conector entre microrganismos e a estrutura e função de um ecossistema (Fig. 1). A saúde do planeta e de seus habitantes é dependente dos parceiros microbianos, presentes há 3,5 bilhões de anos (BLASER *et al.*, 2016; NAYFACH *et al.*, 2021).

Os probióticos fazem parte do microbioma humano e/ou do microbioma ambiental e são definidos como microrganismos vivos que conferem benefícios à saúde quando consumidos em quantidades adequadas (HILL *et al.*, 2014). São resistentes, resilientes e formados por consórcios de microrganismos e seus genomas, que modulam as respostas metabólicas a fatores internos e externos, para manter um equilíbrio ecológico com o hospedeiro e o meio ambiente (LLOYD-PRICE; ABU-ALI; HUTTENHOWER, 2016). *Bifidobacterium* sp. e *Lactobacillus* sp. representam o grupo mais bem estudado de probióticos do microbioma humano (BARKO *et al.*, 2018).

As atividades humanas mudam o meio ambiente e seus sistemas biológicos, mas os microrganismos probióticos podem ser usados para restaurar a resiliência ambiental

(BASKENT, 2020). Este processo de restauração é denominado biorremediação e envolve microrganismos metabolicamente sinérgicos, capazes de consumir contaminantes, reequilibrar parâmetros físicos e químicos e induzir a restauração da cadeia alimentar no solo, sedimento e coluna d'água. As principais vantagens são a utilização de métodos ecológicos sustentáveis e de baixo custo quando comparados a outros métodos físicos e químicos. (DIVYA *et al.*, 2015).

A principal fonte de poluição dos recursos hídricos no país é a falta de saneamento, setor regulamentado em 2007, com o estabelecimento da Política Nacional de Saneamento Básico e modificada pela Lei nº 14.026/2020. De acordo com (TOLEDO *et al.*, 2020), regiões com estações de tratamento de esgoto não oferece tratamento adequado, lançando esgoto doméstico "in natura" em rios e valões.

A política de saneamento ainda não está implantada no país e, como não existe política ambiental para tratamento de corpos hídricos que recebem continuamente o esgoto "in natura", o uso de microrganismos probióticos poderia ajudar na revitalização desses sistemas. Uma estação de tratamento de esgoto de nível terciário por reator anaeróbio e lodos ativados, tem custo mensal de R\$  $0,38 \cdot m^{-3}$ , levando-se em conta os dados de vazão, operação e manutenção (SOUZA; DUARTE; TINÓCO, 2021). O custo de instalação e manutenção do tratamento com probióticos é mais barato que os métodos convencionais (MARIA SUBASHINI, 2016).

O objetivo desta revisão é demonstrar que o uso de microrganismos probióticos na revitalização de sistemas hídricos e contribui para a resiliência e sustentabilidade ambientais, através de seus mecanismos de ação e aplicações diversas.

## 2 MECANISMOS DE AÇÃO DOS MICRORGANISMOS PROBIÓTICOS

Os microorganismos mais usados como probióticos são *Lactobacillus sp.*, *Bifidobacterium sp.* e *Saccharomyces sp.*, acrescentando-se outros, dependendo da área em que são utilizados. Na aquicultura são utilizadas as espécies microencapsuladas em alginatos de *Bacillus thuringiensis*, *B. amyloliquefaciens*, *B. megaterium*, *B. polymyxa*, *B. licheniformis*, *B. subtilis* e a levedura *Debaryomyces hansenii*. No crescimento de animais são acrescentadas as espécies de *Enterococcus faecium*, *B. licheniformis*, *B. subtilis*, *Propionibacterium sp.* Como biofertilizantes são usados *Azospirillum sp.*, *Enterobacter sp.*, *Serratia sp.*, *Microbacterium sp.*, *Pseudomonas sp.*, *Trichoderma sp.* e *Achromobacter sp.* (FIORENTINO *et al.*, 2018; HASAN; BANERJEE, 2020; NAIK *et al.*, 2020; ONGARATO; NETO, 2021; SANDERS *et al.*, 2018). Há evidências da

eficácia do uso dos probióticos em distúrbios gastrointestinais, obesidade, diabetes, intolerância à lactose, hipertensão, alguns tipos de câncer e crescimento animal e vegetal (SANDERS *et al.*, 2018). Eles agem no equilíbrio da microflora intestinal, do solo e da água, através do aumento da disponibilidade de nutrientes e na geração de compostos bioativos, como bacteriocinas, ácidos graxos de cadeia curta, exopolissacarídeos, enzimas (esterases, lipases e co-enzimas A, Q, NAD, e NADP) e vitaminas do grupo B (B1, B2, B3, B6, B8, B9, B12). (INDIRA *et al.*, 2019). Eles também participam da desintoxicação de micotoxinas, metais pesados, hidrocarbonetos aromáticos policíclicos, amins aromáticas heterocíclicas, nitrosaminas e pesticidas (MOHAMMADI *et al.*, 2021).

Todas estas ações dos microorganismos são regidas por sensores que capturam informações físicas e químicas do ambiente e de outros organismos. De acordo com as informações recebidas, cada população microbiana produz e libera moléculas sinalizadoras no ambiente - *quorum sensing*, dependentes da densidade populacional. Ao atingirem a densidade ideal, ocorre uma mudança na expressão gênica, seguida pela sincronização de novos padrões populacionais. O *quorum sensing* favorece as comunicações celulares e as interações micróbio-micróbio, permitindo que os microorganismos atuem coletivamente, em grupos multicelulares (MUKHERJEE; BONNIE L. BASSLER, 2019).

Os mecanismos de ação dos probióticos com o microbioma do hospedeiro são complexos, diversos, heterogêneos, frequentemente específicos e ocorrem através de efetores moleculares. Estes últimos estão presentes na estrutura celular ou secretados como produtos metabólicos e são dependentes do *quorum sensing*. Inicialmente as populações de microrganismo irão responder às condições físico-químicas e às fontes de carbono e nitrogênio do ambiente através de sistemas enzimáticos. Esta fase irá selecionar populações que vivem em sistemas sinérgicos como o mutualismo ou simbiose. A partir daí, prevalecerão os mecanismos de ação coletiva: competição para exploração, competição por interferência e aderência epitelial (K GOGINENI; MORROW, 2013).

A competição por exploração ocorre quando algumas populações de microrganismos consomem rapidamente nutrientes e/ou fontes de carbono para investir na reprodução (*r* estrategistas). A captura de nutrientes ocorre de maneira cooperativa na população microbiana, favorecendo a produção de enzimas extra- e intracelulares para a hidrólise de ligações covalentes e sideróforos quelantes de ferro (KÜMMERLI *et al.*, 2015). Outras enzimas também são importantes nesta fase: as oxidoredutases catalisam a dessulfurização, desalogenação, desnitrificação, amonificação e hidroxilação; as

transferases catalisam a translocação de amina, carbonila, carboxila e fosfato de uma molécula para outra; as liases catalisam a clivagem de substâncias, produzindo ligações duplas e/ou adição de grupos em ligações duplas; as isomerases catalisam a conversão geométrica ou óptica e as ligases catalisam a união de duas moléculas pré-existent (HECKMANN; PARADISI, 2020).

A competição por interferência ocorre quando populações de microrganismos produzem compostos antimicrobianos via *quorum sensing* para suprimir o crescimento de um patógeno, através da liberação de substâncias antimicrobianas, como bacteriocinas e microcinas. As bacteriocinas permeabilizam a membrana interna das bactérias gram-negativas, levando à ruptura e formação de poros. Microcinas, também produzidos por bactérias gram-negativas, atuam na membrana interna e nas enzimas envolvidas na estrutura e síntese de DNA e RNA ou enzimas de síntese de proteínas (KNIPE *et al.*, 2021). Vários produtos do metabolismo microbiano probiótico também têm efeitos antimicrobianos, como peróxido de hidrogênio, óxido nítrico e ácidos graxos de cadeia curta, como ácidos láctico e acético. Estes últimos, além de diminuir o pH, também lisam as membranas de patógenos gram-negativos (CASTILLO *et al.*, 2012). A atividade antipatogênica é multifatorial, incluindo competição pela exploração e competição por interferência.

A aderência de microrganismos probióticos ao epitélio de seus hospedeiros impede a adesão patógenos, favorece a produção e ação local de metabólitos como os ácidos graxos de cadeia curta que possuem efeitos imunomoduladores. A adesão dos probióticos à superfície intestinal ocorre inicialmente por interações hidrofóbicas, seguida por adesão através de componentes da parede celular. A presença de proteínas como proteinases e adesinas da parede celular, aumentam a adesão de bactérias ácido lácticas. Esta adesão se dá por competição pelos sítios de ligação da célula hospedeira, bloqueando a aderência de patógenos (MONTEAGUDO-MERA *et al.*, 2019). Probióticos estão sendo usados na aquicultura por atuarem na microbiota intestinal dos animais, trazendo como benefícios o aumento da produtividade, que está ligada à imunidade, crescimento animal, desova e melhoria da qualidade da água (HASAN; BANERJEE, 2020).

### 3 MICRORGANISMOS PROBIÓTICOS NA REVITALIZAÇÃO DE SISTEMAS HÍDRICOS

A qualidade de águas superficiais está cada vez mais comprometida pela descarga de águas residuais domésticas e industriais. Os contaminantes podem ser orgânicos biodegradáveis, nutrientes inorgânicos, metais pesados, microrganismos patogênicos e orgânicos sintéticos recalcitrantes como hidrocarbonetos poliaromáticos, aditivos alimentares, pesticidas sintéticos, bifenilos policlorados, detergentes sintéticos, produtos farmacêuticos, cosméticos, óleos, tintas, plásticos, fibras sintéticas e substâncias radioativas (PARWEEN; RAMANATHAN, 2019). A gestão tem custo elevado e, na maioria das vezes, é inexistente, mas pode ser minimizada pelo manejo e disposição adequada dos resíduos sólidos, antes de atingirem os corpos hídricos (E SILVA *et al.*, 2020). Além disto, a carga orgânica promove a eutrofização, acarretando mudanças físico-químicas na coluna d'água e sedimento. Assim, a contaminação ambiental afeta a biodiversidade, o funcionamento do ecossistema e seus serviços, dos quais a sociedade é dependente (NORAH, 2015).

A remoção de nitrogênio e fósforo é o objetivo principal para o tratamento de efluentes domésticos. Os actinomicetos *Streptomyces griseorubens* e *S. griseus* removeram amônia e ortofosfato em 77,35, 79,02%, respectivamente, em 7 dias (MADKOUR; HAMED; DAR, 2019). O nitrogênio é removido pelas vias metabólicas de desnitrificação e de nitrificação autotrófica (GUERRERO *et al.*, 2016). O fósforo está presente como ortofosfato, polifosfato e fósforo orgânico, sendo 70% representado pelos dois últimos. Tratamentos mecânicos e biológicos tradicionais removem até 30% do fósforo (BUNCE *et al.*, 2018). Além disto, os actinomicetos são versáteis no uso de fontes de carbono (carboidratos, proteínas e aromáticos), resistem à dissecação e à radiação ultravioleta e armazenam polifosfatos e ácido poli- $\beta$ -hidroxibutírico e os *Streptomyces* fornecem 70% dos antibióticos de ocorrência natural (CHAROUSOVÁ *et al.*, 2019).

As leveduras são fungos unicelulares, crescem em pH 5,0 ~ 6,0, são ácido-resistentes e possuem alta eficiência metabólica para degradar aromáticos e óleos. Elas foram usadas no tratamento de águas residuais do processamento de óleo de soja. A concentração de carbono orgânico dissolvido, demanda bioquímica de oxigênio e óleo eram, respectivamente, 39.300 mg/L, 18.200 mg/L e 11.900 mg/L e a taxa de remoção foi maior que 93%. (QADIR, 2019).

O uso de probióticos para combater *Salmonella* sp. em corpos hídricos é uma das formas de proteger a biodiversidade local. *Salmonella* sp. produz infecções de natureza e

gravidade diferentes, com tratamento à base de antibióticos (VIEIRA *et al.*, 2021). Entretanto, o desenvolvimento de resistência aos antimicrobianos limita sua eficácia e a proposta atual é usar probióticos (CASTILLO *et al.*, 2012). Há evidências clínicas de que os probióticos são eficazes na prevenção e/ou tratamento da diarreia e da salmonelose (CANANI *et al.*, 2007). *Lactobacillus plantarum*, *L. casei*, *L. bulgaricus*, *L. rhamnosus* e *L. acidophilus* são probióticos que estabilizam a barreira da mucosa intestinal, aumentam a secreção de muco, melhoram a motilidade intestinal e, deste modo, interferem na capacidade de colonizar e infectar a mucosa; competem por nutrientes; secretam substâncias antimicrobianas como as bacteriocinas e regulam a homeostase microbiana intestinal (INDIRA *et al.*, 2019; LEBLANC *et al.*, 2017). O muco forma complexos de probióticos com as cepas de *Salmonella* sp. e o peristaltismo favorece a rápida remoção deles pelas fezes (HOOPER; MACPHERSON, 2010). Os probióticos também modulam a resposta inflamatória, pois estimulam a produção de citocinas, a atividade fagocítica de macrófagos e neutrófilos, aumentando as respostas de anticorpos específicos, especialmente a atividade secretora de IgA pela mucosa (GOBBATO; GALDEANO; PERDIGÓN, 2008).

*Escherichia coli* O157:H7 foi inibida por culturas puras de *Lactobacillus casei* subsp. *pseudoplantarum*, *L. plantarum*, *L. reuteri* e *L. delbrueckii* subsp. *delbrueckii* e dois sobrenadantes de culturas agrupadas de *L. reuteri* e *L. delbrueckii* subsp. *delbrueckii* (POPPI *et al.*, 2015). *Lactobacillus* sp. previne também o crescimento e produção de toxinas bacterianas de *Campylobacter jejuni*, *Listeria monocytogenes*, *Helicobacter pylori*, *Salmonella* e *Shigella*. A atividade dos probióticos sobre bactérias patogênicas está associada à competição por nutrientes, produção de dióxido de carbono, peróxido de hidrogênio, bacteriocina e os ácidos láctico, acético e outros ácidos orgânicos de cadeia curta (VARALAKSHMI *et al.*, 2014).

Um grave problema nos sistemas aquáticos é a contaminação por metais pesados. *Bacillus acidiproducens* isolado de solo contaminado, foi capaz de remover 10 ppm de mercúrio, cádmio, cromo e chumbo de coluna d'água (ANDREA; HUËT; PUCHOOA, 2017). *Lactobacillus plantarum* MF042018 cresceu em 100 ppm de cromo e foi capaz de sequestrar cádmio e chumbo em pH 2.0, temperatura de 22°C em 1 hora (AMEEN; HAMDAN; EL-NAGGAR, 2020).

Os pesticidas organoclorados são lipofílicos e persistentes, com capacidade de bioacumular e biomagnificar na cadeia alimentar. O consórcio formado pelos probióticos *Lactobacillus plantarum*, *L. brevis*, *L. helveticus*, *L. lactis*, *L. bulgaricus* e *Streptococcus*

*thermophilus* foi capaz de degradar 20,9% de pesticidas organoclorados como paration, malation em 24h (MOHAMMADI *et al.*, 2021). Diferentes cepas de *Lactobacillus plantarum* também foram capazes de utilizar pesticidas organofosforados como fonte de carbono, à temperatura ambiente durante 10 semanas (ZHANG *et al.*, 2016). Enzimas como carboxilesterases, fosfatases, fosfotriesterases e organofosfato hidrolases catalisam a degradação de pesticidas organofosforados através da hidrólise de ésteres de ácido fosfórico (LI *et al.*, 2018). Outras cepas já possuem genes que codificam para enzimas com atividade de degradação para metil-paration hidrolases e anidrases ácidas (SIDHU *et al.*, 2019).

Os rios da Malásia são classificados como poluídos e impróprios para consumo humano. A tecnologia EM® foi escolhida por ser econômica e ecologicamente sustentável para tratamento de um dos rios. Esta tecnologia é formada por consórcio de bactérias fotossintéticas (*Rhodospseudomonas palustris*, *Rhodobacter sphaeroides*), bactérias ácido lácticas (*Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus casei*), levedura (*Saccharomyces cerevisiae*), actinobactéria (*Streptomyces albus*) e fungo (*Aspergillus oryzae*). A concentração de amônia no sistema hídrico variou entre 0,15-0,23 mg/L e, em 5 dias, houve decréscimo de 4,8%. A concentração de nitrato aumentou 59% em 5 dias, graças à nitrificação a partir de amônia (MUN WEI SE HOO; SWEE-SEN TEO, 2021).

A eficácia de EM® no tratamento de águas residuais revelou que houve diminuição da demanda bioquímica de oxigênio em 75,9%, do carbono orgânico dissolvido em 76,6%, de sólidos totais em 98,5%, nitrato em 85,9% e carbono inorgânico em 82,2%. A redução de coliformes totais e coliformes fecais foi de 99,9% e 99,8%, respectivamente, em 20 dias (EL SHAFEI; ABD ELMOTELEB, 2018). Tratamento de esgoto doméstico durante 20 dias com EM® alterou as concentrações de demanda bioquímica de oxigênio (28,4 mg/L para 11,4 mg/L), sólidos totais (94,0 mg/L para 71,4 mg/L), sólidos dissolvidos totais (60,0 mg/L para 48,0 mg/L), nitrato (6,7 mg/L para 1,6 mg/L) e fosfato (3,2 mg/L para 1,0 mg/L) (VICTORIA; UMA MAHESWARI, 2016).

Consumo de esgoto doméstico foi estudado com *Bacillus subtilis*, *B. subtilis* var. *amyloliquefaciens*, *B. licheniformis*, *B. pumilus* e *B. megaterium* na concentração de 0,01 mg/L, com e sem aeração, durante 72h. Os parâmetros apresentaram maior queda em presença de aeração: carbono orgânico dissolvido (3.630 mg/L para 770,0 mg/L), nitrato (8,50 mg/L para 2,64 mg/L), fosfato (83,92 mg/L para 35,16 mg/L). Apenas a amônia apresentou maior queda na ausência de aeração (9,94 mg/L para 5,20 mg/L), indicando a

desnitrificação como processo metabólico predominante (GLUSHCHENKO; VIALKOVA; SIDORENKO, 2019).

#### 4 CONCLUSÃO

Até 2030, nosso compromisso com o 6<sup>o</sup> objetivo de desenvolvimento sustentável é “melhorar a qualidade de água, reduzindo a poluição, eliminando despejo e minimizando a liberação de produtos químicos e materiais perigosos, reduzindo à metade a proporção de águas residuais não tratadas e aumentando substancialmente a reciclagem e reutilização segura globalmente”. Um dos graves problemas do Brasil é o não atendimento ao objetivo da ONU, pela inexistência de política pública de saneamento, apesar da legislação existir desde 2007. Outro agravante é que a maioria das ETE's existentes não tratam adequadamente o esgoto, devolvendo para o sistema hídrico contaminantes orgânicos, inorgânicos e microrganismos patógenos. Processos biogeoquímicos comandados pela anaerobiose microbiana se instalam, acarretando mudanças nos parâmetros físico-químicos, que favorecem a perda da biodiversidade, da balneabilidade e a reutilização segura da água.

Através do *quorum sensing*, microrganismos probióticos estabelecem mecanismos de ação para capturar nutrientes, suprimir patógenos e aderir às superfícies, ocupando novos nichos ecológicos.

Os microrganismos probióticos, consorciados por bactérias ácido lácticas, actinobactérias, bacilos, fungos e leveduras, são efetivos no consumo da matéria orgânica, na melhoria de parâmetros físico-químicos da água, na degradação de pesticidas, no sequestro de metais e têm efeito bactericida sobre os patógenos. Todos estes processos favorecerão a revitalização do sistema hídrico, com consequente instalação da resiliência e sustentabilidade ambientais. *Lactobacillus* sp. foram os probióticos mais bem estudados na saúde humana, animal e ambiental, além de eliminarem as bactérias patogênicas e possuírem efeitos imunomoduladores.

A adição de probióticos a um sistema de tratamento de águas residuais ou nos corpos hídricos também é altamente eficiente no controle do mau odor, devido à sinergia metabólica das espécies probióticas consorciadas. Esta sinergia favorece a degradação da matéria orgânica, sem produção de amônia e de sulfetos, consumo de fósforo e do particulado, com consequente melhoria das condições sanitárias e da qualidade ambiental bem como o restabelecimento da cadeia trófica. Além do mais, o custo de instalação e manutenção deste processo biotecnológico de remediação é inferior aos tratamentos tradicionais.

## REFERÊNCIAS

- AMEEN, Fatma A.; HAMDAN, Amira M.; EL-NAGGAR, Moustafa Y. Assessment of the heavy metal bioremediation efficiency of the novel marine lactic acid bacterium, *Lactobacillus plantarum* MF042018. *Scientific Reports*, v. 10, n. 1, p. 1–11, 2020.
- ANDREA, Marie; HUËT, Laetitia; PUCHOOA, Daneshwar. Bioremediation of heavy metals from aquatic environment through microbial processes: A potential role for probiotics? *Journal of Applied Biology & Biotechnology*, v. 5, n. 6, p. 14–23, 2017.
- ANH, Hoang Quoc *et al.* Characterization of 209 polychlorinated biphenyls in street dust from northern Vietnam: Contamination status, potential sources, and risk assessment. *Science of the Total Environment*, v. 652, p. 345–355, 2019. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.10.240>>.
- BARKO, P. C. *et al.* The Gastrointestinal Microbiome: A Review. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, v. 32, n. 1, p. 9–25, 2018.
- BASAVAIHAH, N. *et al.* Vertical distribution, composition profiles, sources and toxicity assessment of PAH residues in the reclaimed mudflat sediments from the adjacent Thane Creek of Mumbai. *Marine Pollution Bulletin*, v. 118, n. 1–2, p. 112–124, 2017. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.marpolbul.2017.02.049>>.
- BASKENT, Emin Zeki. A framework for characterizing and regulating ecosystem services in a management planning context. *Forests*, v. 11, n. 1, p. 1–20, 2020.
- BASSEM, S. M. Water pollution and aquatic biodiversity. *Biodiversity International Journal: Review Article*, v. 4, n. 1, p. 10–16, 2020.
- BERG, Gabriele *et al.* Microbiome definition re-visited: old concepts and new challenges. *Microbiome*, v. 8, n. 1, p. 1–22, 2020.
- BLASER, Martin J. *et al.* Toward a predictive understanding of earth's microbiomes to address 21st century challenges. *mBio*, v. 7, n. 3, p. 1–16, 2016.
- BUNCE, Joshua T. *et al.* A review of phosphorus removal technologies and their applicability to small-scale domestic wastewater treatment systems. *Frontiers in Environmental Science*, v. 6, n. FEB, p. 1–15, 2018.
- CANANI, Roberto Berni *et al.* Probiotics for treatment of acute diarrhoea in children: Randomised clinical trial of five different preparations. *British Medical Journal*, v. 335, n. 7615, p. 340–342, 2007.
- CARDINALE, Bradley J. *et al.* Biodiversity loss and its impact on humanity. *Nature*, v. 486, n. 7401, p. 59–67, 2012. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1038/nature11148>>.
- CASTILLO, Natalia A. *et al.* Probiotics: An alternative strategy for combating salmonellosis. Immune mechanisms involved. *Food Research International*, v. 45, n. 2, p. 831–841, 2012. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.foodres.2011.04.031>>.
- CHAROUSOVÁ, Ivana *et al.* Antimicrobial activity of actinomycetes and characterization of actinomycin-producing strain KRG-1 isolated from Karoo, South

Africa. *Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences*, v. 55, p. 1–11, 2019.

DIVYA, M *et al.* Bioremediation – An eco-friendly tool for effluent treatment: A Review. *International Journal of Applied Research*, v. 1, n. 12, p. 530–537, 2015. Disponível em: <[www.allresearchjournal.com](http://www.allresearchjournal.com)>.

E SILVA, Matheus da Silva *et al.* Estudo e projeto de uma usina de compostagem / Study and design of a composting plant. *Brazilian Journal of Technology*, v. 3, n. 4, p. 169–189, 2020.

EL SHAFEI, Maha; ABD ELMOTELEB, Enas. Investigate the Effect of Effective Microorganism (EM) on Improving the Quality of Sewage Water from Al-Gabal Al-Asfar Area in Egypt. *SSRN Electronic Journal*, p. 1–9, 2018.

FANG, Xuening *et al.* “What kind of a science is sustainability science?” An evidence-based reexamination. *Sustainability (Switzerland)*, v. 10, n. 5, 2018.

FIORENTINO, Nunzio *et al.* Trichoderma-based biostimulants modulate rhizosphere microbial populations and improve N uptake efficiency, yield, and nutritional quality of leafy vegetables. *Frontiers in Plant Science*, v. 9, n. June, p. 1–15, 2018.

GLUSHCHENKO, E. S.; VIALKOVA, E. I.; SIDORENKO, O. V. Probiotics as one of methods for dairy wastewaters’ treatment intensification. *IOP Conference Series: Materials Science and Engineering*, v. 687, n. 6, 2019.

GOBBATO, Nadia; GALDEANO, Carolina Maldonado; PERDIGÓN, Gabriela. Study of some of the mechanisms involved in the prevention against Salmonella enteritidis serovar Typhimurium infection by lactic acid bacteria. *Food and Agricultural Immunology*, v. 19, n. 1, p. 11–23, 2008.

GUERRERO, L. *et al.* Simultaneous nitrification–denitrification of wastewater: effect of zeolite as a support in sequential batch reactor with step-feed strategy. *International Journal of Environmental Science and Technology*, v. 13, n. 10, p. 2325–2338, 2016.

HASAN, Kazi Nurul; BANERJEE, Goutam. Recent studies on probiotics as beneficial mediator in aquaculture: a review. *The Journal of Basic and Applied Zoology*, v. 81, n. 1, 2020.

HECKMANN, Christian M.; PARADISI, Francesca. Looking Back: A Short History of the Discovery of Enzymes and How They Became Powerful Chemical Tools. *ChemCatChem*, v. 12, n. 24, p. 6082–6102, 2020.

HILL, Colin *et al.* Expert consensus document: The international scientific association for probiotics and prebiotics consensus statement on the scope and appropriate use of the term probiotic. *Nature Reviews Gastroenterology and Hepatology*, v. 11, n. 8, p. 506–514, 2014.

HOOPER, Lora V.; MACPHERSON, Andrew J. Immune adaptations that maintain homeostasis with the intestinal microbiota. *Nature Reviews Immunology*, v. 10, n. 3, p. 159–169, 2010. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1038/nri2710>>.

INDIRA, M. *et al.* Bioactive molecules of probiotic bacteria and their mechanism of

action: a review. *3 Biotech*, v. 9, n. 8, p. 1–11, 2019. Disponível em: <<https://doi.org/10.1007/s13205-019-1841-2>>.

JANSSON, Janet K.; HOFMOCKEL, Kirsten S. Soil microbiomes and climate change. *Nature Reviews Microbiology*, v. 18, n. 1, p. 35–46, 2020. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1038/s41579-019-0265-7>>.

K GOGINENI, Vijaya; MORROW, Lee E. Probiotics: Mechanisms of Action and Clinical Applications. *Journal of Probiotics & Health*, v. 01, n. 01, p. 1–11, 2013.

KNIPE, Hazel *et al.* Probiotics and competitive exclusion of pathogens in shrimp aquaculture. *Reviews in Aquaculture*, v. 13, n. 1, p. 324–352, 2021.

KÜMMERLI, R. *et al.* Co-evolutionary dynamics between public good producers and cheats in the bacterium *Pseudomonas aeruginosa*. *Journal of Evolutionary Biology*, v. 28, n. 12, p. 2264–2274, 2015.

LEBLANC, Jean Guy *et al.* Beneficial effects on host energy metabolism of short-chain fatty acids and vitamins produced by commensal and probiotic bacteria. *Microbial Cell Factories*, v. 16, n. 1, p. 1–10, 2017.

LI, Changkun *et al.* Screening for *Lactobacillus plantarum* strains that possess organophosphorus pesticide-degrading activity and metabolomic analysis of phorate degradation. *Frontiers in Microbiology*, v. 9, n. SEP, p. 1–13, 2018.

LLOYD-PRICE, Jason; ABU-ALI, Galeb; HUTTENHOWER, Curtis. The healthy human microbiome. *Genome Medicine*, v. 8, n. 1, p. 1–11, 2016. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1186/s13073-016-0307-y>>.

MADKOUR, Amany G.; HAMED, Moaz M.; DAR, Mahmoud A. Removal of ammonia and orthophosphate from domestic wastewater using marine actinomycetes. *Egyptian Journal of Aquatic Biology and Fisheries*, v. 23, n. 3, p. 455–465, 2019.

MBUSNUM, Kevin G. *et al.* Persistent organic pollutants in sediments of the Wouri Estuary Mangrove, Cameroon: Levels, patterns and ecotoxicological significance. *Marine Pollution Bulletin*, v. 160, n. October, p. 111542, 2020. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2020.111542>>.

MOHAMMADI, Mehrdad *et al.* Probiotics as potential detoxification tools for mitigation of pesticides: a mini review. *International Journal of Food Science and Technology*, v. 56, n. 5, p. 2078–2087, 2021.

MONTEAGUDO-MERA, Andrea *et al.* Adhesion mechanisms mediated by probiotics and prebiotics and their potential impact on human health. *Applied Microbiology and Biotechnology*, v. 103, n. 16, p. 6463–6472, 2019.

MUKHERJEE, Sampriti; BONNIE L. BASSLER. Bacterial quorum sensing in complex and dynamically changing environments. *Nat Rev Microbiol.*, v. 176, n. 6, p. 371–382, 2019.

MUN WEI SE HOO; SWEE-SEN TEO. Investigation on the Efficiency of Effective Microorganisms for Polluted Water Treatment. *Applied Microbiology: Theory &*

*Technology*, v. 2, n. 1, p. 1–17, 2021.

NAIK, Kalyani *et al.* Microbial formulation and growth of cereals, pulses, oilseeds and vegetable crops. *Sustainable Environment Research*, v. 30, n. 1, 2020.

NAYFACH, Stephen *et al.* A genomic catalog of Earth's microbiomes. *Nature Biotechnology*, v. 39, n. 4, p. 499–509, 2021.

NORAH, Muisa. Impacts of Untreated Sewage Discharge on Water Quality of Middle Manyame River: A Case of Chinhoyi Town, Zimbabwe. *International Journal of Environmental Monitoring and Analysis*, v. 3, n. 3, p. 133, 2015.

ONGARATO, Gustavo; NETO, Jayme Ferrari. Componentes da produção do feijão preto cultivado em solo arenoso em função da inoculação das suas sementes com *Azospirillum Brasiliense* Production components of black bean grown on sandy soil as a function of inoculation of its seeds with *Azospirillum* Br. *Brazilian Journal of Development*, v. 7, n. 10, p. 95385–95396, 2021.

POPPI, Larissa B. *et al.* Effect of *Lactobacillus* sp. isolates supernatant on *Escherichia coli* O157: H7 enhances the role of organic acids production as a factor for pathogen control. *Pesquisa Veterinaria Brasileira*, v. 35, n. 4, p. 353–359, 2015.

QADIR, Gousia. Yeast a magical microorganism in the wastewater treatment. ~ 1498 ~ *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*, v. 8, n. 4, p. 1498–1500, 2019.

SANDERS, M. E. *et al.* Probiotics for human use. *Nutrition Bulletin*, v. 43, n. 3, p. 212–225, 2018.

SIDHU, Gurpreet Kaur *et al.* Toxicity, monitoring and biodegradation of organophosphate pesticides: A review. *Critical Reviews in Environmental Science and Technology*, v. 49, n. 13, p. 1135–1187, 2019. Disponível em: <<https://doi.org/10.1080/10643389.2019.1565554>>.

SOUZA, Bruno de Medeiros; DUARTE, Marco Antonio Calazans; TINÔCO, Juliana Delgado. Custos de operação e manutenção de estação de tratamento de esgotos por reator anaeróbio e lodos ativados. *Engenharia Sanitaria e Ambiental*, v. 26, n. 3, p. 505–515, 2021.

TOLEDO, Graziella de Araújo *et al.* Cidade do Rio de Janeiro (RJ) sustentável? Análise da evolução do planejamento para o Esgotamento Sanitário. *Saúde em Debate*, v. 44, n. 124, p. 234–250, 2020.

VARALAKSHMI, S. *et al.* Use of Novel Lactic Acid Bacterial Strains with Antagonistic Activity for the Preparation of Safe Indigenous Fermented Dairy Foods (Dahi and Raita). *Journal of Food Safety*, v. 34, n. 1, p. 26–33, 2014.

VICTORIA, J; UMA MAHESWARI, N. Effective Microorganisms – an Incredible Alternative for Wastewater Treatment. *International Journal of Development Research*, v. 6, p. 9399–9403, 2016.

VIEIRA, Renata *et al.* Detecção de *Salmonella* spp. em alimentos preparados com produtos de origem avícola com risco de contaminação cruzada Detection of *Salmonella*



spp . in foods prepared with poultry products with risk of cross contamination. *Brazilian Journal of Development*, v. 7, n. 10, p. 101813–101822, 2021.

ZHANG, Ying Hua *et al.* Biodegradation of two organophosphorus pesticides in whole corn silage as affected by the cultured lactobacillus plantarum. *3 Biotech*, v. 6, n. 1, 2016.