

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS (UFSCar)
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS (CCA)
DEPARTAMENTO DE CIÊNCIAS DA NATUREZA, MATEMÁTICA E EDUCAÇÃO (DCNME)

**Desenvolvimento de consórcio bacteriano de *Bacillus subtilis* e
Pseudomonas aeruginosa imobilizado em poliuretano para
biorremediação do corante Vermelho Congo**

CAIO EDUARDO TREVIZAN

Araras/SP - 2025

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS (UFSCar)
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS (CCA)
DEPARTAMENTO DE CIÊNCIAS DA NATUREZA, MATEMÁTICA E EDUCAÇÃO (DCNME)

Desenvolvimento de consórcio bacteriano de *Bacillus subtilis* e *Pseudomonas aeruginosa* imobilizado em poliuretano para biorremediação do corante Vermelho Congo

CAIO EDUARDO TREVIZAN

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Curso de Graduação em Licenciatura em Ciências Biológicas, da Universidade Federal de São Carlos, Campus de Araras, como requisito para a obtenção do título de Licenciatura em Ciências Biológicas.

Araras/SP - 2025

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Estrutura química típica encontrada em corantes azo	14
Figura 2 – Estrutura química do corante Vermelho Congo	15
Figura 3 – Curva de crescimento de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> em três diferentes meios de cultura: Caldo de Triptona de Soja (TS), Luria Bertani (LB) e Caldo Nutriente	32
Figura 4 – Curva de crescimento de <i>Bacillus subtilis</i> em três diferentes meios de cultura: Caldo Triptona de Soja (TS), Luria Bertani (LB) e Caldo Nutriente	33
Figura 5 – Inóculos de <i>B.subtilis</i> e <i>P.aeruginosa</i> em meio TSB em placas Petri e bipartidas	34
Figura 6 – Efeito de diferentes meios de cultivo no desenvolvimento de <i>B.subtilis</i> e <i>P.aeruginosa</i> , tanto em cultivo pareado direto quanto na possível produção de metabólitos voláteis	35
Figura 7 – Crescimento de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> , <i>Bacillus subtilis</i> e Consórcio	37
Figura 8 – Cinética de descoloração do corante Vermelho Congo por <i>Bacillus subtilis</i>	38
Figura 9 – Cinética de descoloração do corante Vermelho Congo por <i>Pseudomonas Aeruginosa</i>	39
Figura 10 – Cinética de descoloração do corante Vermelho Congo pelo consórcio bacteriano	40
Figura 11 – Absorbância média residual ($\lambda = 495$ nm) dos diferentes tratamentos após biossorção do corante Vermelho Congo	42
Figura 12 – Cinética da descoloração do corante Vermelho Congo por células ativas e inativas	43
Figura 13 – Placa para medição de absorção em espectrofotômetro TECAN	44
Figura 14 – Formação de biofilme bacteriano em diferentes concentrações de Vermelho Congo	45
Figura 15 – Absorbância do Vermelho Congo nas concentrações de 100 mg/L, 200 mg/L e 300 mg/L das cepas individuais e em consórcio no meio TSB e EF	48

Figura 16 – Espectros de FTIR (Espectroscopia no Infravermelho com Transformada de Fourier) das amostras de Vermelho Congo **50**

Figura 17 – Espectros de FTIR das amostras de Vermelho Congo em 24h e 48h de tratamento (100 mg/L) com *Bacillus subtilis* (BS), *Pseudomonas aeruginosa* (PA) e consórcio (PB) **52**

Figura 18 – Espectros de FTIR das amostras de Vermelho Congo em 24h e 48h de tratamento (200 mg/L) com *Bacillus subtilis* (BS), *Pseudomonas aeruginosa* (PA) e consórcio (PB) **53**

Figura 19 – Espectros de FTIR das amostras de Vermelho Congo em 24h e 48h de tratamento (300 mg/L) com *Bacillus subtilis* (BS), *Pseudomonas aeruginosa* (PA) e consórcio (PB) **54**

RESUMO

Os corantes azo estão entre os poluentes mais persistentes em efluentes industriais, especialmente os da indústria têxtil. Devido à sua alta solubilidade, estabilidade e potencial tóxico, seu descarte inadequado representa risco ambiental significativo. Estratégias baseadas em consórcios microbianos, capazes de associar bioadsorção e biodegradação, têm se destacado como alternativas sustentáveis aos processos físico-químicos tradicionais. Este trabalho teve como objetivo avaliar a remoção do corante azo Vermelho Congo por meio de cultivos puros e consorciados das bactérias *Bacillus subtilis* e *Pseudomonas aeruginosa*, além de testar a imobilização do consórcio em matriz sintética como forma de aumentar a estabilidade e o potencial de reuso do sistema biológico. As cepas foram reativadas e cultivadas em caldo TSB, com verificação prévia da compatibilidade em co-cultivo. A seguir, foram realizados ensaios de descoloração do corante a 100,0, 200,0 e 300,0 mg/L por 48 h, distinguindo-se os mecanismos de bioadsorção e biodegradação por meio de ensaios com células inativadas, testes de dessorção e análises por FTIR. A formação de biofilme foi quantificada em microplaca, e o consórcio foi imobilizado em espuma de poliuretano esterilizada, sendo testado em três ensaios de batelada com efluente têxtil simulado. O consórcio apresentou eficiência de remoção de $95\pm 3\%$ a 100,0 mg/L e $82\pm 4\%$ a 200,0 mg/L, superando as culturas individuais. A eficiência caiu para $54\pm 6\%$ a 300 mg/L, indicando efeito inibitório em altas concentrações. Os ensaios indicaram contribuição majoritária da biodegradação (dessorção $<12\%$) e revelaram, por FTIR, redução de $68\pm 5\%$ da banda azo (1580 cm^{-1}). *B. subtilis* apresentou maior índice de biofilme, enquanto *P. aeruginosa* foi responsável pela clivagem inicial do corante. A imobilização do consórcio permitiu remoção superior a 70%. Os resultados indicam que o uso de consórcio bacteriano imobilizado é uma abordagem promissora para o pré-tratamento biológico de efluentes têxteis contendo Vermelho Congo.

Palavras-chave: Bioadsorção; Biodegradação; Biofilme bacteriano; Efluentes têxteis; FTIR

ABSTRACT

Azo dyes rank among the most persistent pollutants in industrial effluents, particularly those from the textile sector. Owing to their high solubility, chemical stability and toxic potential, improper disposal poses a significant environmental risk. Microbial consortia that couple biosorption with biodegradation have emerged as sustainable alternatives to conventional physico-chemical treatments. This study aimed to evaluate the removal of the azo dye Congo Red by pure and mixed cultures of *Bacillus subtilis* and *Pseudomonas aeruginosa* and to test whether immobilising the consortium in a synthetic matrix could enhance the system's stability and reusability. The strains were reactivated and grown in TSB broth, and their compatibility was confirmed in co-cultures. Dye decolourisation assays were then carried out at 100, 200 and 300 mg/L for 48 h, distinguishing biosorption from biodegradation through heat-inactivated cells, desorption tests and FTIR analysis. Biofilm formation was quantified in microplates, and the consortium was immobilised on sterilised polyurethane foam and subjected to three batch cycles using simulated textile effluent. The consortium removed $95\pm 3\%$ of the dye at 100 mg/L and $82\pm 4\%$ at 200 mg/L, outperforming the individual cultures. Efficiency dropped to $54\pm 6\%$ at 300 mg/L, indicating inhibition at higher concentrations. Desorption remained below 12%, and FTIR revealed a $68\pm 5\%$ reduction in the azo band at 1580 cm^{-1} , confirming biodegradation as the main mechanism. *B. subtilis* exhibited the higher biofilm index, whereas *P. aeruginosa* initiated azo-bond cleavage. Immobilisation allowed dye removal above 70%. These results demonstrate that an immobilised bacterial consortium is a promising strategy for the biological pre-treatment of textile effluents containing Congo Red.

Keywords: Biosorption; Biodegradation; Bacterial biofilm; Textile effluents; FTIR spectroscopy

SUMÁRIO

RESUMO	5
ABSTRACT	6
1. INTRODUÇÃO	4
2. OBJETIVO	8
2.1. Objetivo Geral.....	8
2.2. Objetivos Específicos.....	8
3. REVISÃO DA LITERATURA	9
3.1. Indústrias Têxteis.....	9
3.2. Azocorantes.....	10
3.3. Vermelho Congo.....	11
3.4. Tratamento de Efluentes Têxteis	12
3.4. <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	13
3.5. <i>Bacillus subtilis</i>	14
3.6. Consórcio bacteriano	14
3.7. Biorremediação de corantes têxteis.....	15
4. MATERIAL E MÉTODOS	17
4.1. Azocorante Vermelho Congo.....	17
4.2. Preparação de Culturas Bacterianas	18
4.3. Biodegradação e Bioissorção	20
4.4. Ensaio de Dessorção.....	22
4.5. Análise de Dados.....	25
4.6. Manuseio e Tratamento dos Resíduos Gerados nos Experimentos.....	26
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO	27
5.1. Crescimento Bacteriano e Seleção de Meio de Cultura	27
5.2. Compatibilidade em Meio Sólido.....	28
5.3. Compatibilidade em Meio Líquido.....	30
5.4. Eficiência de Descoloração.....	32
5.5. Avaliação da Capacidade de Bioissorção.....	35
5.6. Comparação entre Células Ativas e Inativas.....	37
5.7. Formação e Quantificação de Biofilme em Microplacas	39
5.8. Fixação Bacteriana em Espuma de Poliuretano (PUF).....	41
5.9. Eficiência de Remoção do Corante por Células Imobilizadas	42
5.10. Análise por FTIR.....	44
6. CONCLUSÃO	50
7. REFERÊNCIAS	50

1. INTRODUÇÃO

Diante da crescente demanda do mercado de corantes, a extração e aplicação de corantes naturais tornaram-se impraticáveis nos parâmetros industriais, resultando na predominância de corantes sintéticos na composição dos efluentes industriais têxteis. Por conseguinte, nota-se uma intensificação ao longo dos anos no desenvolvimento de diferentes grupos de corantes sintéticos em detrimento da inibição do uso de corantes naturais, ainda que estes sejam mais ecológicos por serem extraídos de plantas, animais, microrganismos e minerais, além de também exibirem características que conferem resistência e longevidade ao produto tingido (NGO; TISCHLER, 2022; LI *et al.*, 2022).

Além da estética, os consumidores buscam por produtos que não perdem a cor facilmente, sendo necessário, portanto, a aplicação de corantes sintéticos resistentes a lavagens, transpiração, produtos químicos, à microrganismos ou exposição à luz o máximo possível, sendo necessário um alto grau de afinidade entre o produto e o corante. (GUARATINI; ZANONI, 2000). Em contrapartida, esse corante resistente também vai permanecer por muito mais tempo no ambiente em que for descartado, impactando negativamente o sistema biótico e abiótico local (WANG *et al.*, 2022). Seu despejo sem o tratamento adequado em corpos d'água diminui a penetração da luz solar, interferindo na taxa fotossintética local e gerando um efeito em cascata, impactando na concentração de oxigênio dissolvido, no carbono orgânico total (TOC), demanda biológica de oxigênio (DBO) e demanda química de oxigênio (DQO), no pH, salinidade e temperatura, além de alterar a cor da água (SARATALE *et al.*, 2011; CARMEN; DANIEL, 2012). Todos esses indicadores de qualidade de água sofrem flutuações extremas perante o descarte do efluente industrial com o corante, no entanto, ainda mais prejudicial, são os metabólitos gerados frequentemente pelo seu tratamento. Há, ainda, o processo de bioacumulação de corantes que afetam a saúde humana, sendo considerados carcinogênicos, mutagênicos e teratogênicos à medida que ocorre a bioampliação dos compostos tóxicos conforme ocorre o avanço nos níveis tróficos da cadeia alimentar (LELLIS *et al.*, 2019; MISHRA *et al.*, 2022). Nesse cenário global, estima-se que existam dez

mil tipos de corantes, sendo que apenas a indústria têxtil representa 8×10^5 toneladas de corantes sintéticos utilizados anualmente, totalizando aproximadamente 17-20% do total de efluentes industriais contaminados (BEKHIT; FARAG; ATTIA, 2022; TOMAR *et al.*, 2023). Ademais, cerca de 11% dos corantes sintéticos não são devidamente fixados nos processos de tingimento, sendo descartados no meio ambiente após processos de tratamentos convencionais insuficientes (ESPINA *et al.*, 2021).

A estrutura química dos corantes sintéticos exhibe dois componentes principais chamados de cromóforos e auxocromos, sendo que os cromóforos são responsáveis por conferir cor ao corante, enquanto os auxocromos se ligam fortemente às fibras (JVAID; QAZI, 2019). No segmento industrial, os corantes mais utilizados são classificados como corantes azo, ftalocianinas, antraquinona e trifenilmetano com base em seus cromóforos, sendo que os corantes azo, em função do seu baixo custo e versatilidade, representam mais de 60% do uso de corantes em geral e aproximadamente 70% de todos os corantes específicos da área industrial (BENKHAYA; M'RABET; EL HARFI, 2020; FAREED *et al.*, 2022). O grupo dos azocorantes são definidos pela presença de uma ligação azo ($-N=N-$) entre dois ou mais anéis aromáticos de naftaleno ou benzeno que, por sua vez, podem apresentar diferentes substituintes como hidroxila ($-OH$), carboxila ($-COOH$), cloro ($-Cl$), ácido sulfônico (SO_3H), metil ($-CH_3$) e grupos amino (MISHRA; MAITI, 2018; FAREED *et al.*, 2022). Essa variedade de grupos químicos torna os azocorantes diversificados, solúveis em água e resistentes à biodegradação (FAREED *et al.*, 2022). No entanto, a presença da ligação azo atribui ao corante um potencial tóxico e cancerígeno que se sobrepõe aos outros problemas ambientais discutidos anteriormente (BRÜSCHWEILER; MERLOT, 2017).

Por diferentes vias químicas, como os processos de biotransformação dérmica, pelo metabolismo animal ou por processos de tratamento e biorremediação de efluentes, a ligação azo do corante pode atuar como um acceptor final de elétron e ser reduzida, culminando em sua clivagem e consequente liberação de aminas aromáticas que exibem características mutagênicas e carcinogênicas (BRÜSCHWEILER; MERLOT, 2017; NGO;

TISCHLER, 2022). Portanto, a manipulação dos azocorantes exige cuidados desde sua aplicação, iniciando-se na lavagem das fibras naturais, do tingimento e acabamento, até o tratamento para posterior despejo do efluente e seus metabólitos intermediários. Ademais, diversos processos físico-químicos, químicos e físicos de tratamento foram desenvolvidos e utilizados para o tratamento de efluentes. Como processo físico-químico, destaca-se a coagulação-floculação, utilizada em diversas estações de tratamento de efluentes, mas apresentando pouca eficácia em relação aos corantes; os processos químicos envolvem o uso de agentes oxidantes como ozônio ou reagente Fenton, sendo, respectivamente, indesejáveis por apresentar natureza instável e por gerar muito resíduo secundário; enquanto os métodos físicos se baseiam em técnicas de adsorção e filtração que esbarram em altos custos ou em problemáticas envolvendo o descarte de resíduos gerados (DOS SANTOS; CERVANTES; VAN LIER, 2007; NGO; TISCHLER, 2022).

Preterindo os métodos físico-químicos discutidos, a abordagem biológica surge como melhor alternativa aliando eficiência, preço e geração de resíduos. Tal abordagem é caracterizada como biorremediação, onde os microrganismos são empregados como ferramentas no tratamento de componentes recalcitrantes despejados em solos e ambientes aquáticos, sendo capazes de reduzir ou mineralizar corantes, transformar metais pesados em compostos menos tóxicos ou não tóxicos, além de biodegradar pesticidas e hidrocarbonetos (NGO; TISCHLER, 2022). As vantagens que a biorremediação oferece envolvem a eficiência dos microrganismos em metabolizar os compostos recalcitrantes tóxicos sem gerar resíduos secundários problemáticos, ser menos perturbador ao ambiente quando comparado a métodos baseados em escavação, além de serem considerados mais econômicos e de relativa facilidade na manipulação dos agentes biológicos (PATEL *et al.*, 2022; SAEED *et al.*, 2022).

Existe uma notável diversidade de agentes biológicos que podem ser empregados de maneira eficaz no tratamento de compostos recalcitrantes. Dentre esses métodos, destacam-se a fitorremediação, que envolve o uso de plantas para a remoção de contaminantes em solos e águas subterrâneas; a ficorremediação, que utiliza microalgas e macroalgas como agentes

remediadores; e a micorremediação, na qual fungos desempenham papéis cruciais como biossorventes e biodegradadores (PATEL *et al.*, 2022). Sobretudo, as bactérias têm ganhado destaque nos estudos de tratamentos de efluentes industriais têxteis em função de sua rápida taxa de crescimento e simples manuseio, além de exibirem uma ampla gama de enzimas degradativas (NGO; TISCHLER, 2022). O sucesso na descoloração e consequente degradação dos metabólitos intermediários está relacionado à quebra das ligações azo ($-N=N-$), e o uso de uma única cepa bacteriana neste processo de tratamento pode se mostrar insuficiente, liberando metabólitos como aminas aromáticas no meio ambiente, consideradas ainda mais cancerígenas e tóxicas aos animais que os próprios azocorantes (KAPOOR *et al.*, 2021; SAEED *et al.*, 2022).

Portanto, a combinação de duas ou mais bactérias na construção de um consórcio bacteriano implica na complementação de seus metabolismos, conferindo uma multifuncionalidade e resistência perante o corante azo (BALA *et al.*, 2022). Pode-se, ainda, aumentar a eficácia de um consórcio bacteriano ao imobilizá-lo em uma matriz, uma vez que as bactérias livres estão mais suscetíveis às concentrações de corantes, alterações de pH e temperatura (RUNGSIHIRANRUT *et al.*, 2023). Isso fez com que fossem desenvolvidas técnicas de imobilização dessas células em diferentes matrizes, sintéticas ou naturais, visando garantir a estabilidade do consórcio e, do ponto de vista econômico, possibilitar a reutilização das bactérias sem perda de atividade enzimática (MOYO *et al.*, 2022). O processo de imobilização pode ser feito por aprisionamento em matrizes poliméricas, por ligação covalente ou adsorção, e microencapsulamento onde a biomassa é restrita por microesferas (BLAGA *et al.*, 2022).

Nesse contexto, o atual trabalho busca desenvolver um consórcio bacteriano composto por *Bacillus subtilis* e *Pseudomonas aeruginosa*. Essa escolha baseia-se na exploração das capacidades amplamente estudadas de *B. subtilis* como produtor de biofilme e no potencial degradador bem documentado de *P. aeruginosa*. Com o intuito de aprimorar a eficácia na biorremediação de efluentes industriais que contenham o azocorante Vermelho Congo, o consórcio será imobilizado em uma matriz sintética de poliuretano. Essa estratégia visa

explorar os metabolismos complementares das cepas, otimizando, assim, sua resistência e capacidade de biodegradar o azocorante. Além de sua relevância científica e tecnológica, a proposta alinha-se diretamente a alguns dos Objetivos de Desenvolvimento Sustentável (ODS) estabelecidos pela Agenda 2030 da ONU (Organização das Nações Unidas) em 2015. Dentre as 17 metas estabelecidas, são contempladas o ODS 6 (água potável e saneamento) ao propor soluções sustentáveis para o tratamento de efluentes, o ODS 11 (cidades e comunidades sustentáveis) que está representado na busca por tecnologias que contribuam para ambientes urbanos mais limpos e saudáveis, o ODS 12 (consumo e produção responsáveis), abordado por meio do desenvolvimento de métodos biológicos de baixo impacto ambiental e reaproveitamento de biomassa e, por fim, o ODS 14 (vida na água), integrado à medida que a proposta visa mitigar os efeitos tóxicos de corantes sintéticos sobre os ecossistemas aquáticos, contribuindo para a preservação de biodiversidade.

2. OBJETIVO

2.1. Objetivo Geral

Avaliar o potencial de descoloração do corante azo Vermelho Congo causado por processos biossorbitivos ou de biodegradação em culturas puras das bactérias *Bacillus subtilis* e *Pseudomonas aeruginosa* e culturas consorciadas desses microrganismos, incluindo a imobilização em matriz sintética.

2.2. Objetivos Específicos

- Induzir culturas de *B. subtilis* e *P. aeruginosa* para a biodegradação do corante Vermelho Congo
- Testar a compatibilidade de *P. aeruginosa* com *B. subtilis*
- Avaliar a capacidade de biossorção de *B. subtilis* e *P. aeruginosa*, individualmente e consorciadas, do corante.
- Produzir biofilme a partir do crescimento de *B. subtilis* em contato com diferentes níveis de concentração do corante.
- Desenvolver um consórcio bacteriano envolvendo *B. subtilis* e *P. aeruginosa* imobilizadas em uma matriz sintética de poliuretano para tratamento de efluente simulado contendo corante.

3. REVISÃO DA LITERATURA

3.1. Indústrias Têxteis

A indústria têxtil está presente em diversos países, impulsionada pela demanda constante por vestuário e aplicações utilitárias nos setores de decoração, saúde, defesa e outros. Sua atuação está além de apenas aspectos econômicos, exercendo influência social, cultural e política ao moldar costumes e estilos de vida em diferentes períodos históricos. Essa relevância levou ao desenvolvimento de extensos parques industriais voltados à produção em larga escala para atender tanto o mercado interno quanto o externo (FUJITA e JORENTE, 2015, p.155). No Brasil, o setor têxtil, que abrange desde a produção de fibras e tecidos até as etapas finais de confecção de peças de vestuário, como roupas, uniformes e acessórios, representa um importante segmento da economia nacional. Essa cadeia produtiva é responsável por uma significativa geração de empregos diretos e indiretos, além de apresentar alto volume de produção e exportações em constante crescimento. Contudo, embora seja incontestável sua contribuição para a economia e para a geração de renda, há uma crescente preocupação com os impactos ambientais associados à sua atividade, especialmente no que se refere ao tratamento inadequado de efluentes industriais. A liberação de corantes sintéticos nos corpos hídricos pode provocar danos significativos aos ecossistemas aquáticos, interferindo na fotossíntese e na biodiversidade, além de representar riscos à saúde humana (PEIXOTO *et al.*, 2013). Entre esses compostos, os corantes azo são os mais amplamente utilizados e, simultaneamente, os mais preocupantes do ponto de vista ambiental. Quando descartados de forma inadequada, esses resíduos apresentam elevada persistência no ambiente aquático e podem sofrer transformações abióticas ou microbiológicas que resultam na formação de aminas aromáticas tóxicas e potencialmente carcinogênicas. A presença desses subprodutos em águas superficiais e subterrâneas agrava os riscos ecológicos e sanitários, além de dificultar o tratamento convencional de águas contaminadas (NGO; TISCHLER, 2022).

3.2. Corantes sintéticos

Os corantes sintéticos estão entre os poluentes mais preocupantes gerados pela indústria têxtil, devido à sua alta solubilidade, baixa biodegradabilidade e ampla produção em escala industrial (QUEIROZ *et al.*, 2019). Durante o processo de tingimento, a fixação incompleta desses compostos às fibras têxteis resulta na liberação de grandes volumes de corante nas águas residuais. Esses efluentes, frequentemente descartados sem tratamento adequado, contaminam corpos d'água e solos, ocasionando sérios impactos ambientais.

Os corantes podem ser classificados, com base em sua composição química, em diversas categorias, como ácidos, básicos, azo, dispersos, de enxofre, pigmentares, entre outros. Em geral, essa classificação considera principalmente a estrutura química ou o método de aplicação. Sua categorização pode variar conforme critérios químicos, físicos ou mesmo sociais, incluindo aspectos como cor, solidez, técnica de síntese, origem, entre outros parâmetros (CLARK, 2011; GÜRSES *et al.*, 2016). Dentre as diversas classes de corantes sintéticos existentes, os azocorantes se destacam não apenas pela versatilidade de aplicação, mas também por sua expressiva representatividade na produção industrial.

3.3. Azocorantes

Os azocorantes representam a classe mais utilizada de corantes sintéticos na indústria têxtil, sendo responsáveis por aproximadamente 70% de toda a produção mundial. Sua estrutura é composta por pelo menos um grupo azo ($-N=N-$) ligado a anéis aromáticos, o que lhes confere coloração intensa, alta estabilidade e baixa biodegradabilidade (NGO; TISCHLER, 2022). Os corantes azo constituem a classe mais significativa de corantes sintéticos, sendo amplamente empregados nas indústrias têxtil, gráfica, de papel e em diversos outros setores industriais (BENKHAYA; M'RABET; EL HARFI, 2020). Esses corantes são obtidos por meio de uma reação clássica de diazotização seguida por acoplamento, sendo possível ajustar propriedades como tonalidade, rendimento e tamanho de partícula por meio de diferentes rotas sintéticas e modificações estruturais, visando melhorar sua dispersabilidade e aplicação industrial (SHANKARLING; DESHMUKH; JOGLEKAR, 2017).

A estrutura química dos corantes azo é composta por um esqueleto principal contendo o grupo azo (-N=N-), associado a grupos cromóforos, auxocromos e solubilizantes (Figura 1). Esses corantes são geralmente caracterizados pela presença de grupos funcionais reativos, capazes de estabelecer ligações covalentes com os substratos têxteis, o que favorece sua fixação e estabilidade. A coloração típica desses compostos resulta da interação da ligação azo com os cromóforos e auxocromos adjacentes, que modulam a absorção da luz na região do espectro visível.



Figura 1. Estrutura química típica encontrada em corantes azo. **Fonte:** Adaptado e traduzido de BENKHAYA; M'RABET; EL HARFI, 2020.

Devido as suas propriedades químicas discutidas anteriormente, os azocorantes apresentam persistência no ambiente, configurando-se como poluentes preocupantes do ponto de vista ecológico. Seu descarte inadequado nos corpos hídricos leva à contaminação dos efluentes com os próprios corantes e seus metabólitos, que podem exercer efeitos diretos na redução da penetração da luz solar, comprometendo os processos fotossintéticos de algas e plantas aquáticas (PERIYASAMY, 2025). Isso resulta na diminuição da concentração de oxigênio dissolvido e, conseqüentemente, na piora da qualidade da água, afetando a dinâmica ecológica do ambiente.

Além disso, muitos desses compostos são reconhecidamente tóxicos, mutagênicos e carcinogênicos, e podem causar impactos adversos sobre a flora e a fauna aquáticas (SARATALE *et al.*, 2011). Estudos também indicam que os corantes sintéticos prejudicam a germinação e o desenvolvimento da biomassa de diversas espécies vegetais essenciais à manutenção do equilíbrio dos

ecossistemas (SARATALE *et al.*, 2011). Em locais onde esses efluentes são descarregados continuamente, há ainda o risco de acúmulo dos poluentes nos sedimentos e de lixiviação para os sistemas de águas subterrâneas, ampliando os efeitos ambientais de longo prazo (GHANAİM; MAHDY; MOHAMED, 2025).

3.4. Vermelho Congo

O Vermelho Congo (CR) é um corante aniônico à base de benzidina, estruturalmente composto por dois grupos azo (-N=N-) e dois grupos sulfônicos, que conferem elevada solubilidade em meio aquoso (figura 2). Sua nomenclatura química é sal dissódico do ácido benzidina-diazo-bis-1-naftilamina-4-sulfônico, com fórmula molecular $C_{32}H_{22}N_6Na_2O_6S_2$ e massa molar de 696,66 g/mol (ARIM, A. L. 2014). Devido à presença de anéis aromáticos e à complexidade estrutural, este composto apresenta elevada estabilidade térmica, físico-química e óptica, o que dificulta sua degradação por processos biológicos convencionais. Além de ser resistente à biodegradação, o Vermelho Congo é tóxico para diversos organismos aquáticos e terrestres, sendo classificado como potencialmente mutagênico e carcinogênico. Embora seu uso tenha sido restringido ou banido em vários países por questões de saúde pública, ele ainda é amplamente empregado em algumas regiões (AFKHAMI; MOOSAVI, 2010). Diante de sua persistência ambiental e dos riscos associados, torna-se essencial o desenvolvimento de estratégias de remoção eficientes, sustentáveis e de baixo custo para mitigar seus impactos ecológicos e toxicológicos.

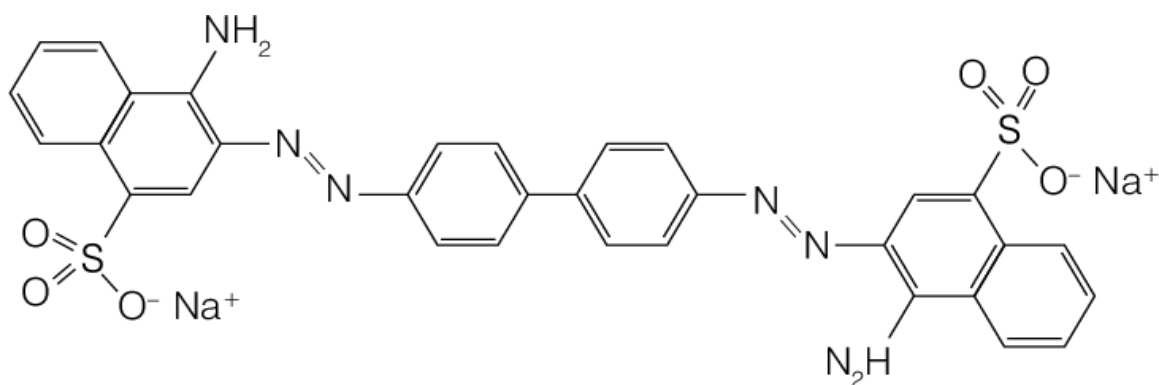


Figura 2. Estrutura química do corante Vermelho Congo. **Fonte:** RODRIGUES *et al.*, 2010.

3.5. Tratamento de Efluentes Têxteis

Efluentes contendo corantes apresentam grande complexidade de tratamento, uma vez que esses compostos orgânicos geralmente demonstram resistência à luz e à digestão aeróbica (VALLI NACHIYAR *et al.*, 2023). Para a remoção eficaz desses poluentes, empregam-se abordagens físicas, químicas e biológicas, que podem ser aplicadas isoladamente ou de forma combinada, dependendo das características do corante e do efluente. Dentre as demais abordagens, o tratamento biológico destaca-se pela combinação de fatores consideráveis como alta eficiência, custo relativamente baixo de aplicação e ausência de substâncias químicas inerentes ao processo de descontaminação (PATEL *et al.*, 2022; SAEED *et al.*, 2022).

A remoção ou degradação microbiológica de corantes pode ocorrer por diferentes mecanismos, como a adsorção, a produção de enzimas específicas ou a combinação de ambos. A adsorção se dá principalmente por trocas iônicas, uma vez que a parede celular microbiana contém grupos funcionais como hidroxilas e carboxilas, que atuam como sítios de ligação para os corantes (NGO; TISCHLER, 2022; LI *et al.*, 2022). Esse processo pode ser realizado tanto por células vivas quanto por biomassa microbiana inativa. No entanto, apresenta limitações, já que os corantes azo geralmente não são convertidos em formas menos tóxicas, o que torna o descarte dos resíduos adsorvidos ainda problemático. A degradação enzimática realizada por microrganismos representa uma das abordagens mais promissoras da biorremediação, pois permite a quebra eficiente das moléculas de corantes, favorecendo sua conversão em produtos menos tóxicos ou mesmo sua completa mineralização. O princípio fundamental da biorremediação baseia-se na capacidade de determinados microrganismos utilizarem poluentes orgânicos como fontes de carbono e/ou nitrogênio, transformando-os em compostos inócuos como dióxido de carbono, água ou metabólitos secundários ambientalmente seguros (SHABBIR *et al.*, 2018).

Diversos microrganismos têm demonstrado capacidade de descoloração e degradação de corantes, incluindo fungos filamentosos, leveduras, algas e bactérias (PATEL *et al.*, 2022). A utilização de um microrganismo pode ser limitada, uma vez que a degradação incompleta dos azocorantes pode resultar

na liberação de metabólitos intermediários, como aminas aromáticas, que são frequentemente ainda mais tóxicas e potencialmente cancerígenas do que os próprios corantes originais (KAPOOR *et al.*, 2021; SAEED *et al.*, 2022). Em comparação às culturas puras, o uso de consórcios microbianos apresenta diversas vantagens. Diferentes cepas atuam de forma complementar na degradação dos corantes, atacando distintos pontos da molécula ou metabolizando intermediários específicos. Ademais, os produtos gerados pela atividade metabólica de uma cepa podem servir como substratos para outras, promovendo uma degradação mais completa e eficiente dos compostos corantes (SAEED *et al.*, 2022).

3.4. *Pseudomonas aeruginosa*

Pseudomonas aeruginosa é uma bactéria Gram-negativa, heterotrófica, móvel e exibe forma de bastonete. Trata-se de um organismo aeróbio facultativo, capaz de crescer tanto por respiração aeróbica quanto por respiração anaeróbica, utilizando nitrato como aceptor final de elétrons (DIGGLE; WHITELEY, 2020). Esta cepa é capaz de utilizar mais de 100 compostos orgânicos distintos como fontes de carbono e/ou energia. É uma importante espécie do microbioma do solo e também é comumente encontrada em ambientes aquáticos contaminados, incluindo esgotos e locais de uso hospitalar. *P.aeruginosa* destaca-se como uma bactéria altamente versátil na biorremediação de poluentes orgânicos persistentes (EOPs), especialmente pela sua capacidade de degradar corantes azo através da ação da enzima azoredutase, a qual catalisa especificamente a clivagem das ligações azo (-N=N-), resultando na formação de aminas aromáticas incolores (BHATIA *et al.*, 2017). Esse processo ocorre preferencialmente sob condições anaeróbicas, uma vez que a presença de oxigênio compromete a transferência de elétrons do NADH para a ligação azo, reduzindo a atividade enzimática (KISHOR *et al.*, 2021). A combinação dessas propriedades torna *P. aeruginosa* uma candidata promissora para aplicações em tratamentos de efluentes complexos.

3.5. *Bacillus subtilis*

Bacillus subtilis é uma bactéria Gram-positiva, aeróbia facultativa e móvel, amplamente distribuída no solo e na vegetação, sendo reconhecida por sua capacidade de adaptação a ambientes com variação na disponibilidade de nutrientes (SU *et al.*, 2020). Em condições adversas, essa espécie pode formar esporos dormentes altamente resistentes, retomando seu ciclo vegetativo quando as condições se tornam favoráveis (MOHSIN *et al.*, 2021). *B. subtilis* secreta uma variedade de enzimas extracelulares que facilitam a degradação de diversos substratos. Essa capacidade metabólica, associada à formação de biofilmes, tem impulsionado seu uso em tecnologias de biorremediação ambiental (SU *et al.*, 2020). A aplicação de biofilmes bacterianos, especialmente em suportes sólidos, representa uma estratégia ecologicamente viável para o tratamento de efluentes, apresentando potencial para reduzir a carga poluente sem gerar subprodutos tóxicos.

3.6. Consórcio bacteriano

A completa mineralização de compostos recalcitrantes, como os corantes azo, é um processo desafiador devido à sua elevada estabilidade química e complexidade estrutural, que dificultam sua conversão total em produtos inorgânicos finais. Nessa perspectiva, a utilização de uma única cepa bacteriana dificilmente resultará na degradação completa desses poluentes, uma vez que microrganismos isolados geralmente não possuem, por si só, todo o arsenal enzimático necessário para conduzir eficientemente todas as etapas do processo de biodegradação (SARATALE *et al.*, 2011).

Uma estratégia mais eficaz para o tratamento de corantes azo recalcitrantes consiste na formação de consórcios bacterianos, que reúnem diferentes cepas capazes de atuar de forma sinérgica sobre distintas etapas do processo metabólico. Esses sistemas microbianos integrados possibilitam a complementação de rotas bioquímicas, conferindo maior robustez frente à toxicidade do corante e promovendo a degradação integral da molécula (BALA *et al.*, 2022). Cada microrganismo envolvido pode agir sobre regiões distintas da estrutura do corante ou metabolizar compostos intermediários gerados por outras cepas do consórcio, o

que amplia o espectro de atuação do sistema. Além disso, a atividade enzimática de cada integrante pode ser modulada pela interação com os demais, resultando em um desempenho coletivo superior àquele observado em culturas puras (ESKANDARI; SHAHNAVAZ; MASHREGHI, 2019). A eficácia desses consórcios pode ser ainda mais potencializada por meio da imobilização celular em suportes como espuma de poliuretano, que proporciona maior estabilidade operacional, proteção contra variações ambientais e reaproveitamento das células (RUNGSIHIRANRUT *et al.*, 2023).

No caso específico da associação entre *Pseudomonas aeruginosa* e *Bacillus subtilis*, o processo inicia-se com a atuação de azoredutases, enzimas responsáveis pela clivagem redutiva da ligação azo ($-N=N-$), levando à formação de aminas aromáticas, compostos intermediários potencialmente tóxicos (IKRAM *et al.*, 2022). Na sequência, *B. subtilis* expressa peroxidases do tipo DyP (DyP-type dyedecolorizing peroxidases), que promovem a oxidação de anéis aromáticos e a abertura de estruturas benzênicas, contribuindo para a quebra progressiva dos intermediários (DHANKHAR *et al.*, 2020). Complementarmente, *P. aeruginosa* participa do processo expressando laccases intracelulares, enzimas que catalisam a oxidação de fenóis e aminas aromáticas geradas na etapa anterior, facilitando sua despolimerização e posterior mineralização (PETER; VANDANA, 2014).

Dessa forma, a combinação entre as rotas redutiva (mediada por azoredutases) e oxidativas (via peroxidases e laccases) no consórcio bacteriano favorece uma biodegradação sequencial, reduzindo a toxicidade residual do efluente e aumentando as chances de mineralização completa dos derivados do corante.

3.7. Biorremediação de corantes têxteis

A biorremediação é caracterizada como uma abordagem econômica e ecologicamente correta para o tratamento de efluentes contendo corantes têxteis, pois emprega microrganismos que rompem estruturas cromóforas complexas, como grupos azo, antraquinona e trifenilmetano, gerando produtos menos tóxicos, passíveis de serem mineralizados, e reduzindo, portanto, cor, DQO e toxicidade aguda do efluente (PERIYASAMY, 2025). Entre as estratégias que

potencializam a eficiência microbiana destacam-se a bioestimulação e a bioaugmentação (TYAGI *et al.*, 2011). Enquanto a bioestimulação supre limitações nutricionais do microbioma local pela adição de co-substratos ricos em carbono ou nitrogênio, e quando necessário, de oxigênio via bioventilação, acelerando a atividade de enzimas chave como azo redutases e laccases, a bioaugmentação introduz culturas seletivamente adaptadas, isolados puros ou consórcios sinérgicos, que complementam metabolicamente a microbiota nativa, ampliam a faixa de corantes degradáveis e conferem maior resiliência a variações de pH, salinidade e carga orgânica (RENDÓN-CASTRILLÓN *et al.*, 2024). Estudos de bancada e pilotos indicam que a integração de suplementação nutricional moderada com inóculos bem-adaptados pode maximizar a remoção de corantes, estabilizar a comunidade microbiana e viabilizar o escalonamento industrial a custos competitivos, tornando a biorremediação uma ferramenta estratégica para mitigar o impacto ambiental da indústria têxtil (GOMAA *et al.*, 2023; RENDÓN-CASTRILLÓN *et al.*, 2024).

4. MATERIAL E MÉTODOS

Os procedimentos experimentais foram organizados em quatro grandes etapas. Primeiro, as cepas *B. subtilis* e *P. aeruginosa* foram reativadas, caracterizadas quanto ao crescimento em meio de cultura e avaliadas em ensaio de compatibilidade para confirmar a viabilidade de cultivo conjunto (i). Em seguida, avaliou-se a eficiência de descoloração do corante azo Vermelho Congo por cultivos puros e pelo consórcio, determinando-se simultaneamente a contribuição relativa de bioadsorção (células inativadas) e biodegradação (células ativas) através de leituras espectrofotométricas e análises FTIR dos metabólitos (ii). Na terceira etapa, investigou-se a formação de biofilme em microplaca de 96 poços para *B. subtilis*, *P. aeruginosa* e o consórcio, correlacionando o índice de biofilme à descoloração observada (iii). Por fim, o consórcio foi imobilizado em cubos de espuma de poliuretano, e seu desempenho foi monitorado em bateladas sucessivas com efluente têxtil simulado, avaliando a estabilidade da remoção de cor e a reutilização do biocatalisador (iv). Juntas, essas etapas forneceram uma visão integrada dos mecanismos de remoção do corante e da viabilidade de aplicação em escala prática.

4.1. Azocorante Vermelho Congo

O corante utilizado para estudos de biorremediação das culturas puras e consorciadas no presente trabalho foi o Vermelho Congo (CAS 573-58-0, Figura 2, seção 3.3), da marca Neon, dissolvido em água destilada e filtrada em membrana com porosidade de 0,22 μm , sendo armazenada como solução estoque com concentração de 2,5 g/L. Os meios de culturas contendo Ágar Tripton de Soja foram enriquecidos com concentrações de 20,0 mg/L, 40,0 mg/L e 60,0 mg/L de corante Vermelho Congo para que ocorresse aclimatação das linhagens propostas (MAURYA *et al.*, 2021).

Nos ensaios de biodegradação, o corante Vermelho Congo foi testado nas concentrações de 100,0, 200,0 e 300,0 mg/L. Esses valores não foram escolhidos ao acaso: situam-se dentro da faixa de carga típica (80-350 mg/L) reportada para efluentes têxteis contendo corantes azo, garantindo representatividade ambiental adequada (i); são gradientes de desafio crescente para as bactérias, permitindo

avaliar limites de eficiência e eventuais efeitos tóxicos (ii); e permanecem abaixo do limite de solubilidade e dentro da janela analítica do método UV-Vis, assegurando quantificação precisa da descoloração (iii) (NEIHSIAL; SINGHA; SINGH, 2022; OLADOYE *et al.*, 2022). Com isso, foram analisadas as capacidades de bioabsorção e biodegradação do azocorante por parte de *B. subtilis* e *P. aeruginosa*, individualmente e consorciadas, além de imobilizadas em uma matriz sintética.

4.2. Preparação de Culturas Bacterianas

4.2.1. Cultura Pura

Foram empregadas duas linhagens previamente identificadas pelos curadores por análise molecular: *Pseudomonas aeruginosa* CBMAI 701, obtida do Banco de Microrganismos de Ambiente e Indústria (DRM/CBMAI, UNICAMP), e *Bacillus subtilis* (acesso Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia). Ambas as cepas se encontram depositadas em suas respectivas coleções de referência e foram fornecidas como amostras liofilizadas, sendo reativadas em meio Luria Bertani (LB) antes dos ensaios.

4.2.2. Curva de Crescimento

A seleção do meio de cultura mais adequado para o crescimento bacteriano também foi avaliada, considerando que esse parâmetro variava em diversas referências bibliográficas (LABAUVE; WARGO, 2012; GALLEGOS-MONTERROSA *et al.*, 2017; JEBRIL, 2020; WU *et al.*, 2023). Os meios testados incluíram meio LB (WU *et al.*, 2023), Ágar Nutriente (NA) (JEBRIL, 2020) e Ágar Soja Triptona (TSA).

Para quantificação da absorbância, foram realizadas curvas de crescimento das cepas nos três meios de cultivo individualmente, por meio da turbidez medida em microplacas em Tecan Infinite M200. Cada variável do experimento foi testada em triplicata, ocupando três poços da microplaca. Foi determinado o tempo necessário para que as cepas atinjam a fase exponencial, sob condições ideais. Padronizou-se a concentração celular dos inóculos em 0.9

de absorvância, correspondente a UFC/mL 10^9 , nos experimentos relacionados à biodegradação do corante.

4.2.3. Compatibilidade e Co-cultivo

Para formular o consórcio bacteriano que seria aplicado nos ensaios de descoloração do Vermelho Congo, avaliou-se se *B. subtilis* e *P. aeruginosa* podiam coexistir sem antagonismo em condições de cultivo sólido e líquido, garantindo a estabilidade do sistema misto nas etapas subsequentes. O ensaio de co-cultivo de *B. subtilis* e *P. aeruginosa* ocorreu em meios sólidos e líquidos com o objetivo de verificar sua compatibilidade. Para essa etapa do experimento, a determinação de contagem por inóculo foi fundamental. As cepas foram cultivadas separadamente em caldo tripton e soja (TS) *overnight* a 35°C e 120 rpm. Também foi realizado ajuste de absorvância para 0.9 ($\lambda = 600$ nm), seguido da diluição de oitava ordem e plaqueamento em meio TSB para determinar a contagem de unidades formadoras de colônias (UFC/mL), considerando placas com 25 a 300 colônias.

O primeiro foi o teste de antagonismo de placa, onde foram realizados inóculos pontuais das cepas separadamente em placas de Petri lisas e placas bipartidas a fim de analisar um eventual antagonismo exercido por contato físico direto entre as colônias, bem como avaliar também possíveis inibições de crescimento apenas por metabólitos voláteis gerados e aprisionados dentro das placas com a divisória (ZHAO *et al.*, 2023). Para colônias não circulares foi usado o seu diâmetro médio.

Para o meio líquido, foram realizados inóculos nas proporções 9:1 de *P. aeruginosa* e *B. subtilis* (UFC/mL 10^9) e vice versa, incubados sob as mesmas condições de crescimento previamente estabelecidas. Posteriormente, foi realizada uma diluição seriada até a oitava ordem, seguida do plaqueamento em ágar, com o objetivo de repetir a contagem de unidades formadoras de colônias (UFC) e verificar possíveis alterações na ordem decimal da concentração microbiana.

4.2.4. Ensaio Livre de Células

Foi verificado se metabólitos solúveis produzidos por cada microrganismo afetam o crescimento da espécie parceira. Para isso foram conduzidos ensaios livres de células. As cepas bacterianas foram inoculadas, separadamente, em frascos contendo 100 mL de caldo TS e cultivados por 24 h, 35°C e 120 rpm. Então foram retiradas alíquotas para centrifugação a 4°C, 8000 rpm por 8 min a fim de formar um pellet bacteriano. Em seguida, o sobrenadante foi filtrado por membranas com porosidade de 0,22 µm, removendo eventuais células bacterianas ali presentes. Por fim, o sobrenadante livre de células foi utilizado para enriquecer o meio de cultivo TSA na proporção de 10% (v/v). Ao final do processo, foi obtido um meio de cultura com metabólitos gerados pela *P. aeruginosa*, utilizada como meio de cultivo da *B. subtilis*, e vice versa. O inóculo individual em meio TSA comum foi utilizado como controle, e a comparação da contagem de unidades formadoras de colônias (UFC/mL) entre os meios puros e enriquecidos foi utilizado como parâmetro na obtenção dos resultados (POPESCU *et al.*, 2024).

4.3. Biodegradação e Biossorção

Após comprovar a viabilidade do consórcio, a investigação avançou para a etapa de biodegradação do Vermelho Congo, estruturada em quatro blocos complementares. Primeiro, na análise de descoloração, monitorou-se a atenuação da absorbância a 495 nm ao longo de 48 h, comparando cultivos puros e o consórcio nas três concentrações de corante (i). Em seguida, procedeu-se ao ensaio de dessorção para distinguir cor removida por simples adsorção celular daquela efetivamente degradada, lavando os pellets bacterianos e quantificando o corante liberado (ii). Para elucidar o peso relativo de biossorção versus biodegradação, realizou-se o teste com células ativas e inativas com amostras foram inativadas por calor testadas em paralelo às vivas, permitindo inferir a contribuição metabólica para a remoção (iii). Por fim, explorou-se a biossorção em biofilme, cultivando as cepas em microplacas para relacionar a densidade de biofilme ao sequestro do corante (iv). Esse encadeamento experimental oferece uma visão integrada dos mecanismos físico-químicos e biológicos responsáveis

pela descoloração, servindo de base para a discussão dos resultados subsequentes.

4.3.1. Análise de Descoloração

A descoloração foi medida utilizando espectrofotometria para verificar e quantificar a remoção do corante no cultivo em meio líquido a partir da interação com as células bacterianas. Inicialmente, foi feita uma solução estoque com concentração de 1,0 g/L de corante Vermelho Congo, sendo então diluída e analisada consecutivamente no espectrofotômetro a fim de construir uma curva padrão confiável e assimilar a absorbância de cada amostra com a solução estoque. Também foi feita uma varredura espectral para identificar o pico de absorbância máximo do corante e utilizá-lo nas leituras ($\lambda = 495 \text{ nm}$).

Após a inoculação das cepas bacterianas individuais (culturas puras) em caldo TS e incubação *overnight*, os cultivos foram padronizados para uma absorbância de 0,9 ($\lambda = 600 \text{ nm}$). Em seguida, as culturas foram centrifugadas a 10.000 rpm por 10 min a 4°C. Para a formação do consórcio bacteriano, foram combinados 5% v/v de cada cultivo, totalizando 10% do volume final de inóculo (SINGH *et al.*, 2022). O sobrenadante foi descartado, e os pellets bacterianos foram ressuspensos em caldo TS contendo o corante Vermelho Congo nas concentrações de 100,0, 200,0 e 300,0 mg/L. Todos os experimentos foram realizados em triplicata, com alíquotas retiradas em intervalos de 12, 24, 36, 48, 60, 72, 84 e 96 h. As amostras foram centrifugadas sob os mesmos parâmetros para a formação de pellets bacterianos e submetidas à análise espectrofotométrica na faixa UV-Vis. O controle experimental foi composto pelo meio sem inóculo.

4.3.2. Análise de Estrutura do Vermelho Congo por FTIR

O sobrenadante livre de células obtido após os ensaios de biodegradação foi filtrado, extraído com volume equivalente de acetato de etila até 40 mL e concentrado em evaporador rotativo a vácuo. A pastilha foi prensada em prensa hidráulica. Os espectros foram registrados em um espectrofotômetro FTIR Tensor II (Bruker) operando na faixa de $[4000 \text{ a } 400 \text{ cm}^{-1}]$, com resolução de 4 cm^{-1} e 64

varreduras por espectro. Os dados foram exportados em formato CSV pelo software nativo do equipamento e processados em Microsoft Excel 365.

As principais bandas características do Vermelho Congo ($-\text{N}=\text{N}-$, $-\text{SO}_3\text{H}$ e anéis aromáticos) foram verificadas em $[1630, 1235 \text{ e } 1500 \text{ cm}^{-1}]$ e comparadas com espectros de padrão puro para identificar eventuais deslocamentos ou desaparecimento de picos. A redução da intensidade da banda azo ($\approx 1580 \text{ cm}^{-1}$) e surgimento de bandas foram usados como indicadores da clivagem do grupo $-\text{N}=\text{N}-$ e formação de compostos carbonílicos. Para cada condição de corante (100, 200, 300 mg L^{-1}) e tratamento biológico, foram comparados os padrões de banda de forma qualitativa, sem a integração de áreas dos picos.

4.4. Ensaio de Dessorção

4.4.1. Dessorção com Biomassa Bacteriana

As cepas bacterianas foram cultivadas em TSB contendo corante Vermelho Congo (100,0 mg/L) sob condições controladas de 35°C e agitação a 120 rpm por 24 h. O corante foi utilizado para avaliar sua interação com as células bacterianas, objetivando investigar possibilidade de biossorção do corante pelas bactérias. A densidade da suspensão bacteriana foi ajustada para uma absorbância de 0.9 ($\lambda = 600 \text{ nm}$). Após o período de incubação, as amostras foram submetidas à centrifugação a 10.000 rpm por 10 min a 4°C para separar a biomassa bacteriana do sobrenadante. O sobrenadante foi coletado para análise espectrofotométrica, enquanto a biomassa foi preparada para o processo de lavagem e dessorção do corante. A biomassa coletada foi lavada duas vezes com água destilada estéril. A utilização de meio salino foi preferida, pois facilita a ruptura das interações eletrostáticas entre as células bacterianas e o corante (YANEVA; GEORGIEVA, 2012).

Para promover a dessorção do corante, uma solução de Tween 80 na concentração de 1,0 ml/L foi adicionada à biomassa, com a finalidade de modificar a tensão superficial e ajudar na liberação do corante sem interferir nas medições espectrofotométricas do corante Vermelho Congo (REDDY *et al.*, 2019). Após a lavagem e dessorção do corante, as soluções resultantes foram analisadas em

espectrofotômetro UV-Vis a 495 nm, comprimento de onda de máxima absorvância anteriormente determinado para o corante Vermelho Congo. A absorvância foi registrada para cada amostra e comparada com o controle, que consistia apenas em TSB contendo corante, sem inóculos bacterianos. A quantidade total de corante foi determinada somando a absorvância do sobrenadante após centrifugação e a absorvância da solução de dessorção da biomassa. Esses valores foram comparados com a quantidade de corante presente no controle (TSB + corante).

Também foi realizada outra varredura espectral para verificar o pico de absorvância do corante em diferentes intervalos de comprimento de onda, com o objetivo de identificar possíveis mudanças na posição do pico principal ou o surgimento/desaparecimento de picos adicionais. Mudanças na posição do pico principal ou surgimento de picos adicionais podem indicar modificações estruturais do corante, sugerindo possível biodegradação (PANDEY *et al.*, 2024).

4.4.2. Teste com Células Ativas e Inativas

Para avaliar a diferença na capacidade de adsorção do corante entre células vivas e mortas, a biomassa bacteriana foi dividida em dois grupos. Primeiramente, as culturas bacterianas foram cultivadas em meio TSB sem corante por 24 h e ajustadas para atingir absorvância 1.5 ($\lambda = 600$ nm). Em seguida, duas amostras de biomassa foram preparadas: uma foi mantida viva e armazenadas em geladeira a 4°C, enquanto a outra foi submetida a autoclave para inativação das células. Foi pressuposta a inativação completa dos microrganismos pelo processo de esterilização. Ambas as amostras foram centrifugadas a 10.000 rpm por 10 minutos para coleta das células, e os pellets obtidos foram lavados com água destilada estéril para remover o excesso de meio de cultura.

Após a lavagem, as biomassas foram ressuspensas em meio TSB agora enriquecidos com Vermelho Congo (100,0 mg/L). As duas amostras foram deixadas em contato com o corante por um período determinado, permitindo que a sorção acontecesse. A cinética de remoção do corante foi monitorada ao longo do tempo, com medições de absorvância realizadas por espectrofotometria nos

intervalos de 0, 4, 8, 12 e 24 h. As medições espectrofotométricas permitiram a comparação direta da capacidade de remoção de corante entre as células vivas e as mortas, sem interferência de pré-adsorção (BOURAS *et al.*, 2017).

4.4.3. Bioissorção em Biofilme

4.4.3.1. Produção do Biofilme

A avaliação da eficiência da produção de biofilme foi feita sob as concentrações de 100,0, 200,0 e 300,0 mg/L de corante Vermelho Congo. Para isso, as cepas bacterianas foram inoculadas individualmente em 100 mL de caldo TS e incubadas a 35°C *overnight* a 120 rpm. No dia seguinte, após ajuste para absorbância 0,15 ($\lambda = 600$ nm), 100,0 μ L da cultura foram transferidas para um novo caldo TS em microplacas com 96 poços com as diferentes concentrações de corantes e incubadas a 35°C sob condições estacionárias para facilitar a formação de biofilme por 48 h (BARATHI *et al.*, 2022; HAQUE *et al.*, 2021). Para a quantificação da biomassa, a porção líquida dos poços foi descartada, e os mesmos foram lavados duas vezes com água destilada estéril, sendo então secos por 30 min. Em seguida, os poços foram corados com cristal violeta (125,0 μ L de solução a 1%) por 15 min, enxaguados com água destilada estéril e a placa colocada em um dessecador até o dia seguinte. O biofilme corado foi, então, solubilizado com 150,0 μ L de ácido acético a 30% para quantificação (BARATHI *et al.*, 2022). A leitura da absorbância foi realizada em um espectrofotômetro TECAN, a 600 nm. Cada tratamento foi realizado em triplicata, sendo o controle mantido sem inóculo.

4.4.3.2. Fixação em Matriz Sintética e Quantificação do Biofilme

Para verificar se a imobilização em espuma de poliuretano permitiria a possibilidade de reuso em ciclos de batelada, as culturas foram imobilizadas em um suporte sintético. As culturas bacterianas foram cultivadas separadamente em meio TSB por 24 h e ajustadas para atingir uma absorbância de 0,9 ($\lambda = 600$ nm), o que corresponde a uma concentração de 10^9 UFC/mL. Após a incubação, 10,0 mL de cada cultura foram inoculados em frascos contendo 90,0 mL de caldo TSB,

aos quais foram adicionados e submersos 1,5 g de pedaços retangulares de espuma de poliuretano (PUF, da sigla em inglês para *polyurethane foam*) com dimensões de 1,0 × 1,0 × 0,5 cm (ALESSANDRELLO *et al.*, 2017). Para o desenvolvimento do consórcio, foi utilizado um inóculo de 5,0 mL de cada cultivo. As cepas foram incubadas a 35°C por 120 h em condições estáticas para favorecer o crescimento de biofilme sobre o PUF.

Na sequência, quantificou-se o biofilme aderido para calibrar a carga celular efetivamente disponível e correlacioná-la às taxas de remoção de corante. A quantificação do biofilme formado foi feita adaptando o método descrito por Alessandrello *et al.* (2017), com base no protocolo de Quek *et al.* (2006). Os pedaços de PUF foram removidos após as 120 h de incubação e lavados com água destilada estéril para remoção de células planctônicas. Os pedaços retirados tinham o peso úmido de aproximadamente 1,0 g cada. Então, cada PUF foi colocado em tubos contendo 9,0 mL de salina, agitados em vórtex por 1 min e diluído até oitava ordem. Foi realizado contagem UFC após plaqueamento em meios TSA (para as cepas incubadas individualmente) e Meio HiCrome, que apresenta propriedades para a diferenciação do crescimento de cepas do gênero *Bacillus*, foi utilizado para o consórcio.

4.4.3.4. Remoção do Corante por Células Imobilizadas em PUF

Aproximadamente 1,0 g (peso úmido) de células imobilizadas em PUF foram colocadas em frascos contendo 10,0 mL de meio com concentrações de 100,0, 200,0 e 300,0 mg/L de corante Vermelho Congo. Além do meio TSB enriquecido com o corante, também foi desenvolvido um efluente têxtil simulado com a seguinte composição: Corante Vermelho Congo nas mesmas concentrações do meio TSB enriquecido, Na₂ CO₃ (4,0 g/L), NaOH (80,0 mg/L), NaCl (4,0 g/L), KH₂ PO₄ (1,0 g/L), MgSO₄ · 7H₂ O (40,0 mg/L), Na₂ SO₄ (1,0 g/L) (KURADE *et al.*, 2017). As cepas foram então incubadas por 7 dias, a 35°C em condições estacionárias. A cada 24 h os frascos foram levemente agitados para aerar o sistema. Após o período de incubação de 168 h, foram coletadas duas amostras: os pedaços de PUF, que foram utilizados para nova contagem de UFC e verificação da diminuição em escala decimal ou preservação do número

de células, e o meio com o corante, que foi submetido a análises por espectrofotometria.

4.5. Análise de Dados

Os dados brutos de descoloração, bioissorção e contagem de UFC foram organizados em planilha eletrônica em software Microsoft Excel 365 e expressos como média \pm desvio-padrão das réplicas biológicas. Para cada conjunto experimental (concentração de corante, tipo de cultivo e tempo de análise), calculou-se a média aritmética a partir da fórmula $x = \sum xi/n$; e o desvio-padrão pelo estimador $s = [\sum(xi-x)^2/(n-1)]^{-2}$. As curvas de descoloração e os percentuais de remoção foram plotados em gráficos de linhas, enquanto os resultados de bioissorção e viabilidade celular foram representados em colunas ou barras de erro, todos confeccionados em software de plotagem (Jamovi, Orange e MS Excel) com escala linear, legendas autoexplicativas e escalas padronizadas. Os gráficos finais foram exportados em alta resolução nos formatos PNG para inserção no manuscrito.

4.6. Manuseio e Tratamento dos Resíduos Gerados nos Experimentos

Todo material biológico potencialmente contaminado (cultivos líquidos, pellets bacterianos, cubos de espuma de poliuretano com biofilme e placas de ágar) foi submetido à inativação em autoclave (121 °C, 20 min, 1 atm). Após o ciclo, os resíduos sólidos foram acondicionados em sacos brancos. Cada recipiente líquido recebeu rótulo padronizado conforme o sistema interno de fichas de identificação de resíduos do LAMAM (código de barras, descrição, data, responsável), atendendo às diretrizes da Norma Interna de Biossegurança do laboratório e às instruções da Comissão de Biossegurança da UFSCar.

As soluções contendo azocorante Vermelho Congo remanescente, solventes do preparo de amostras para FTIR e efluentes filtrados foram segregados em frascos âmbar de tampa rosqueada, rotulados como “Resíduo químico classe II - corantes orgânicos”. Esses frascos, foram transferidos para a casa externa de armazenamento do LAMAM, onde permanecem em armários ventilados até a coleta pela equipe da Secretaria Geral de Gestão Ambiental e

Sustentabilidade (SGAS/UFSCar). Todo o fluxo de autoclave, rotulagem, transporte interno e registro em planilha eletrônica via formulário, garantindo rastreabilidade completa e conformidade com as normas federais (CONAMA 307/2022) e políticas institucionais de sustentabilidade.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1. Crescimento Bacteriano e Seleção de Meio de Cultura

As curvas de crescimento das cepas *P. aeruginosa* e *B. subtilis* em meios LB, NA e TS demonstraram que o caldo Triptona de Soja (TS) foi o mais eficiente para ambas as espécies. Para *P. aeruginosa* (Figura 3), a maior densidade óptica (OD_{600}) foi de 1,54 em TS, seguida por 1,32 em LB e apenas 0,64 em NA. *B. subtilis* (Figura 4) também apresentou crescimento superior em TS, com OD_{600} de 0,93, enquanto os valores foram ligeiramente inferiores em LB e mínimos em NA.

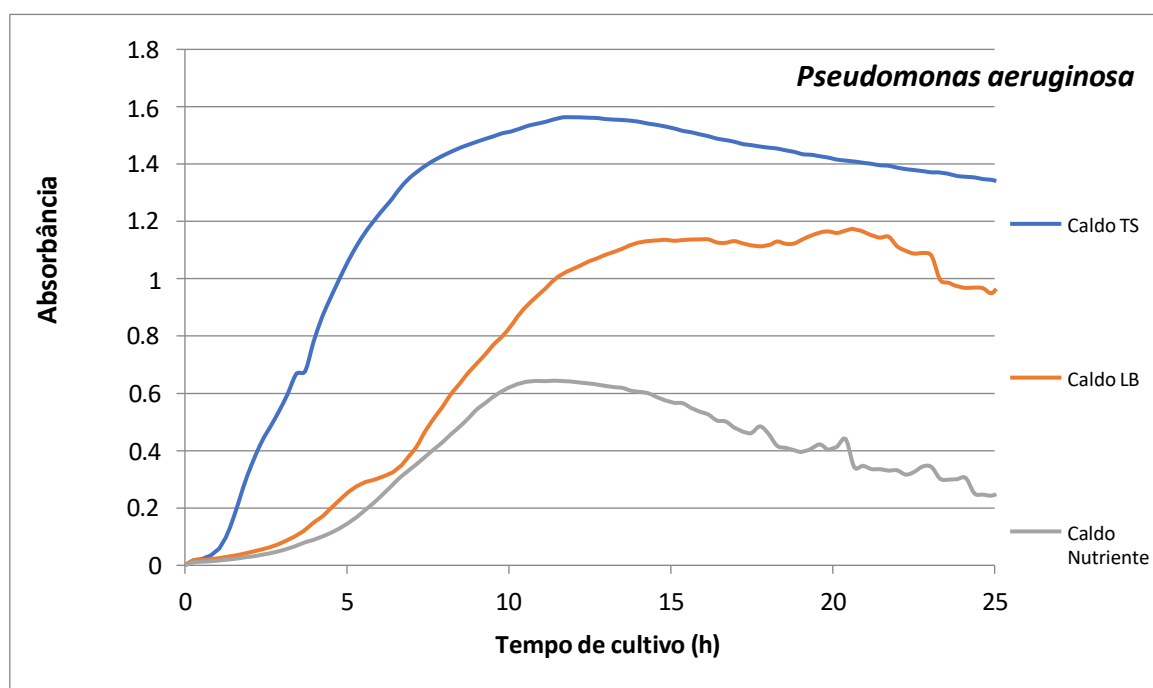


Figura 3. Curva de crescimento de *Pseudomonas aeruginosa* em três diferentes meios de cultura: Caldo de Triptona de Soja (TS), Luria Bertani (LB) e Caldo Nutriente. **Fonte:** Autoria Própria, elaborado em Microsoft Excel 365.

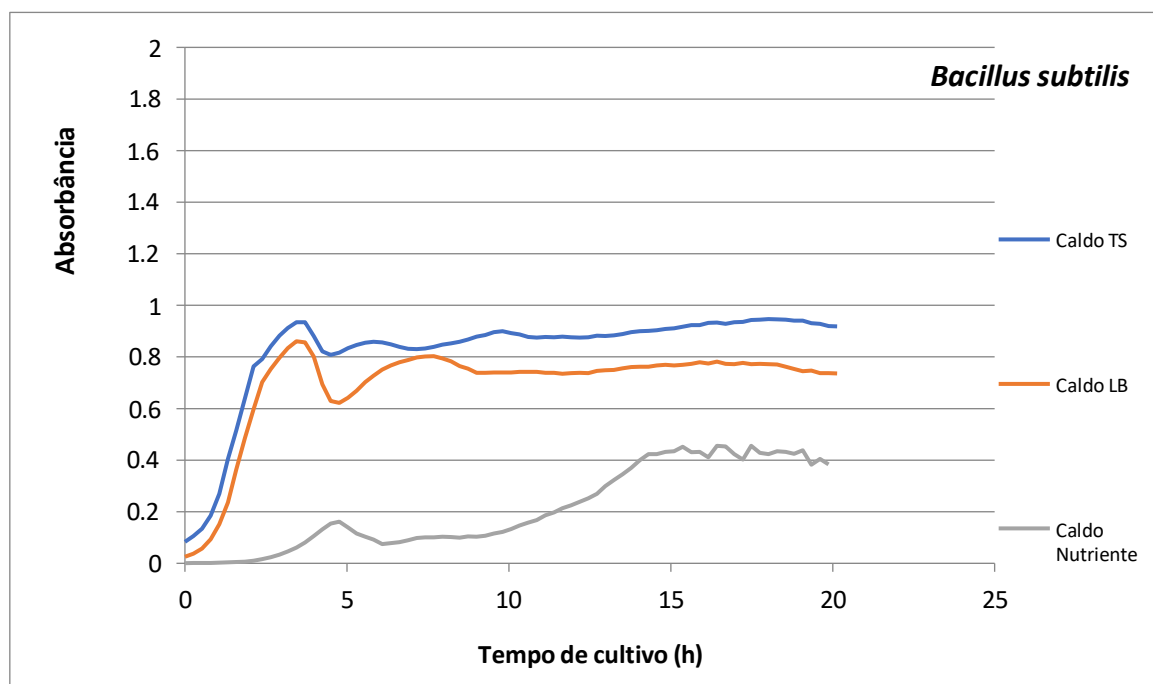


Figura 4. Curva de crescimento de *Bacillus subtilis* em três diferentes meios de cultura: Caldo Triptona de Soja (TS), Luria Bertani (LB) e Caldo Nutriente. **Fonte:** Autoria Própria, elaborado em Microsoft Excel 365.

A utilização do meio TSB demonstrou ser a mais eficaz para o crescimento das duas cepas bacterianas. Tal eficiência pode estar relacionada à sua composição rica em peptonas de soja e extrato de caseína, reconhecidamente favoráveis ao crescimento microbiano, conforme observado por Haque *et al.* (2021). A seleção adequada do meio de cultivo foi essencial para a padronização dos inóculos utilizados nos ensaios subsequentes, assegurando que todas as condições experimentais tivessem o mesmo ponto de partida metabólico. Esses ensaios foram importantes para garantir a reprodutibilidade dos ensaios de biorremediação, especialmente quando se buscou distinguir entre processos ativos (biodegradação) e passivos (biossorção) de remoção de corantes, como o Vermelho Congo.

5.2. Compatibilidade em Meio Sólido

O ensaio de co-cultivo em placas lisas (pareamento) e bipartidas foi realizado com o objetivo de avaliar a compatibilidade entre *B. subtilis* e *P.*

aeruginosa, considerando interações por contato físico direto e por metabólitos voláteis (Figura 5), uma vez que nas etapas seguintes as linhagens foram colocadas juntas para melhorar a remoção do corante.

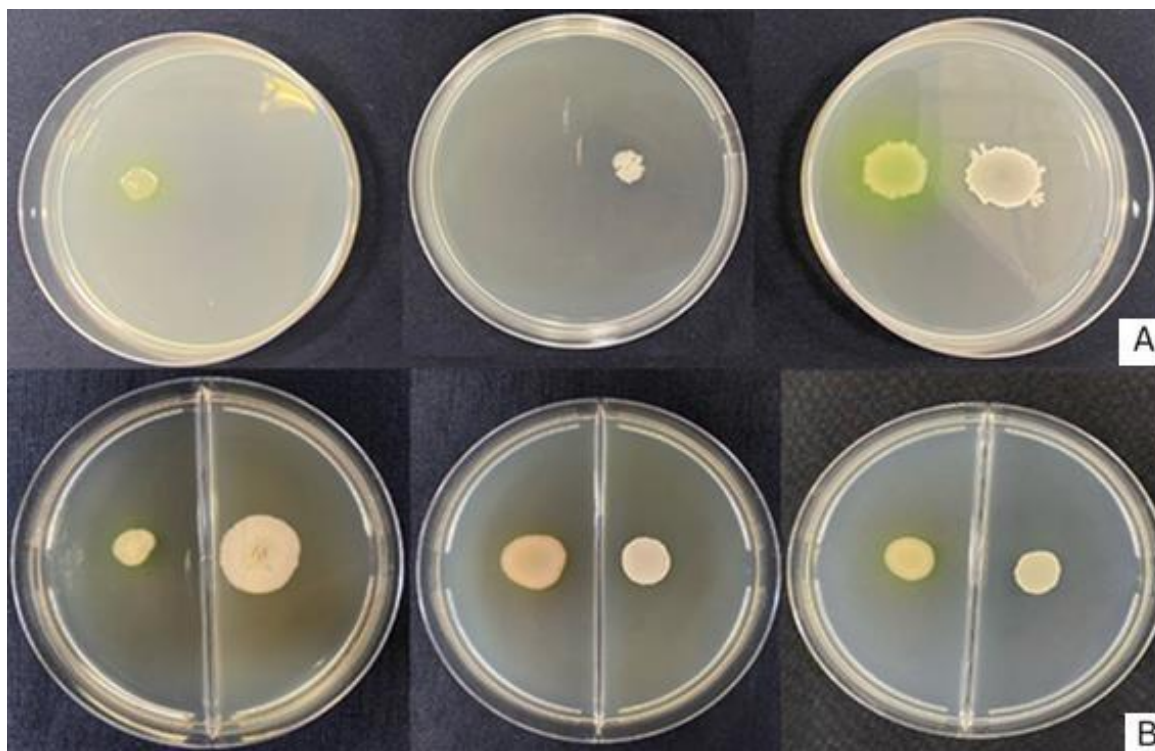


Figura 5. (A) Cultivo pareado de *Bacillus subtilis* (direita) e *Pseudomonas aeruginosa* (esquerda) em meio TSB em 3 réplicas nas placas de Petri. (B) Cultivo pareado de *B.subtilis* e *P.aeruginosa* em meio TSB em 3 réplicas nas placas de Petri bipartidas. **Fonte:** Autoria própria, fotografado em câmera digital.

Os resultados demonstraram que ambas as cepas foram capazes de crescer mesmo na presença de compostos produzidos pela outra, ainda que com padrões distintos de antagonismo (Figura 5A). Nas placas lisas, observou-se que *B. subtilis* exerceu um efeito antagonista mais evidente sobre *P. aeruginosa*, especialmente no meio TSA, onde o crescimento de *P. aeruginosa* foi significativamente reduzido. Esse comportamento é reforçado pelos dados médios de zona de inibição, que atingiram 1,44 cm para *B. subtilis* e 1,05 cm para *P. aeruginosa*. O crescimento de *B. subtilis* também foi impactado, porém em menor escala, indicando antagonismo recíproco, mas assimétrico. Nas placas bipartidas (Figura 5B), onde não há contato físico, mas sim a exposição aos metabólitos voláteis da cepa oposta, *B. subtilis* manteve sua capacidade de

inibição. As médias de crescimento de *P. aeruginosa* foram ainda mais reduzidas nessa condição (1,23 cm), enquanto *B. subtilis* apresentou crescimento superior ao observado em contato direto, sugerindo que a ação volátil de *P. aeruginosa* foi menos interferente. Esse comportamento indica que *B. subtilis* produz compostos voláteis com ação antimicrobiana eficaz, como já relatado em estudos sobre compostos voláteis bacterianos (VOC, da sigla em inglês *volatile organic compounds*) com propriedades antagonistas (ZHAO *et al.*, 2023; CHEN *et al.*, 2024). O meio TSA favoreceu a expressão das interações antagônicas, especialmente por contato direto, enquanto o meio LB potencializou o efeito dos compostos voláteis. O meio NA apresentou menor variação entre os tratamentos, indicando menor influência sobre a expressão de compostos antimicrobianos. A composição do meio de cultura pode modular a produção de metabólitos secundários pelas cepas, interferindo diretamente na intensidade das interações (RATH; MITCHELL; GOLD, 2018).

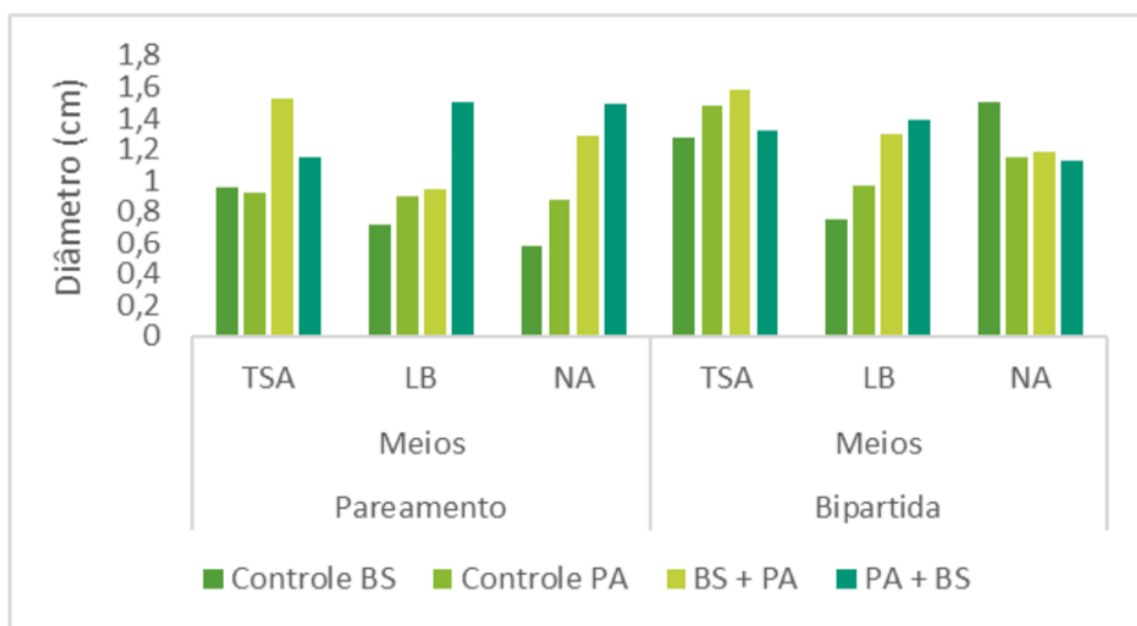


Figura 6. Efeito de diferentes meios de cultivo (TSA, LB e NA) no desenvolvimento de *Bacillus subtilis* (BS) e *Pseudomonas aeruginosa* (PA), tanto em cultivo pareado direto quanto na possível produção de metabólitos voláteis. **Fonte:** Autoria própria, elaborado em Microsoft Excel 365.

5.3. Compatibilidade em Meio Líquido

Nos cultivos líquidos (Tabela 1), a contagem de unidades formadoras de colônias (UFC/mL) indicou que *B. subtilis* sofreu uma redução de 10^9 para 10^8 , enquanto *P. aeruginosa* manteve-se estável, evidenciando maior resiliência às condições do meio e às interações microbianas durante o co-cultivo (Figura 7). Esse comportamento sugere que *P. aeruginosa* apresenta maior capacidade de competição e adaptação em ambiente compartilhado, possivelmente devido à produção de metabólitos com atividade antimicrobiana ou à sua superioridade na captação de nutrientes. Essa hipótese foi reforçada pela condição inversa (*P. aeruginosa* + *B. subtilis*), na qual, mesmo em menor proporção, *P. aeruginosa* não apenas sobreviveu, mas também parece ter estimulado o crescimento global do consórcio, com a contagem total atingindo $1,60 \times 10^9$ UFC/mL. Já nos experimentos com meio enriquecido com metabólitos livres de células, observou-se um efeito contrastante: o crescimento de *B. subtilis* foi intensamente favorecido na presença do sobrenadante de *P. aeruginosa*, atingindo $3,06 \times 10^{10}$ UFC/mL, um aumento superior a uma ordem de grandeza em comparação ao controle (Tabela 1).

Esse resultado indica que, apesar da possível competição no co-cultivo direto, os metabólitos secretados por *P. aeruginosa* podem conter compostos que promovem o crescimento de *B. subtilis* quando não há contato físico direto ou competição por recursos (LYNG & KOVÁCS, 2023). Por outro lado, *P. aeruginosa* não apresentou aumento expressivo ao ser cultivada com metabólitos de *B. subtilis*, mantendo contagens próximas ao controle ($8,70 \times 10^8$ UFC/mL), o que sugere que os compostos liberados por *B. subtilis* não têm efeito promotor relevante sobre *P. aeruginosa*.

Tabela 1. Análise de unidades formadoras de colônias (UFC/mL) de *Bacillus subtilis* (BS) e *Pseudomonas aeruginosa* (PA) individualmente, em co-cultivo e contato com metabólitos livres de células

Tratamento	Co-cultivo (com células)	Apenas metabólitos (sem células)
Controle BS	$1,36 \times 10^9$	$4,20 \times 10^8$
Controle PA	$1,04 \times 10^9$	$8,10 \times 10^8$
BS + PA	$4,30 \times 10^8$	$3,06 \times 10^{10}$
PA + BS	$1,60 \times 10^9$	$8,70 \times 10^8$

Fonte: Autoria própria.



Figura 7. Crescimento de *Pseudomonas aeruginosa* (A), *Bacillus subtilis* (B) e consórcio (C) em placas de Petri em meio HiCrome. **Fonte:** Autoria própria, fotografado em câmera digital.

Esses dados indicam uma interação assimétrica entre as cepas, com possível antagonismo competitivo em contato direto e efeitos benéficos unidirecionais mediados por metabólitos em cultivos livres de células. Tais resultados estão alinhados com estudos que evidenciam a influência das vias metabólicas bacterianas na formação de consórcios compatíveis, nos quais a produção de substâncias extracelulares pode atuar como fator regulador da coexistência (POPESCU *et al.*, 2024; KAPOOR *et al.*, 2022; ZHAO *et al.*, 2023). Apesar da competição aparente, o consórcio bacteriano permaneceu funcional, o que reforça a hipótese de que interações entre pares nem sempre representam as dinâmicas complexas observadas em consórcios mais elaborados (LYNG; KOVÁCS, 2023; MUKHERJEE; BORDOLOI, 2012; WU, 2023).

5.4. Eficiência de Descoloração

A avaliação da eficiência de descoloração do corante Vermelho Congo em meio líquido revelou desempenho significativo de *B. subtilis*, *P. aeruginosa* e do consórcio formado entre ambas. As medições espectrofotométricas ao longo de 96 horas permitiram observar distintos perfis de biodegradação conforme a cepa utilizada, o tempo de incubação e a concentração inicial do corante (100,0, 200,0 e 300,0 mg/L). *B. subtilis* apresentou redução expressiva na absorvância nas primeiras 12 a 24 h, principalmente nas menores concentrações de corante (Figura 8). Em 100,0 mg/L, a absorvância caiu de 0,588 para valores próximos de 0,030 em 96 h, o que corresponde a uma remoção superior a 95%. Em concentrações mais elevadas, como 300,0 mg/L, o efeito foi atenuado, mas ainda assim significativo, com absorvância final de aproximadamente 0,5 (aproximadamente 70% de remoção), revelando uma boa capacidade inicial de resposta, embora com limitações sob maior carga de substrato.

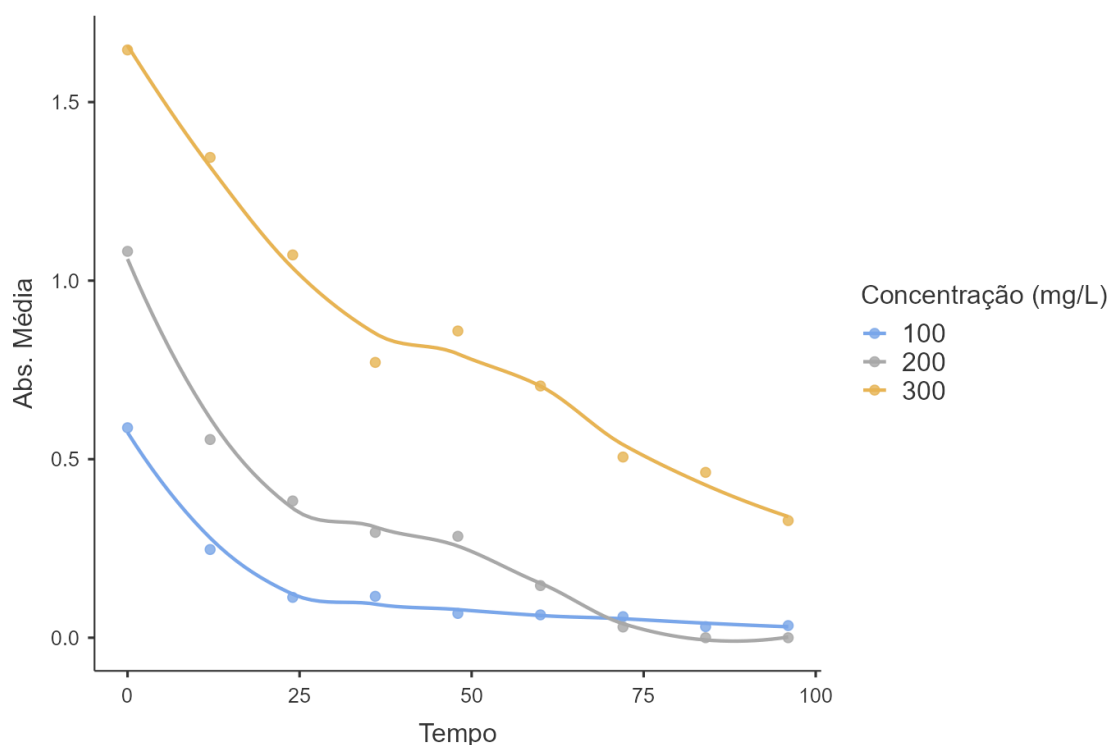


Figura 8 Descoloração do corante Vermelho Congo por *Bacillus subtilis* ao longo do tempo.

Fonte: Autoria própria, elaborado em Jamovi 2.6.26.

P. aeruginosa demonstrou desempenho ainda mais consistente e eficiente,

especialmente em concentrações médias e altas (Figura 9). Sua capacidade degradativa foi mantida ao longo do tempo, com quedas graduais, porém contínuas na absorvância, alcançando 0,029 (em 100 mg/L) e até 0,139 em 300,0 mg/L, o que representa cerca de 90% de remoção nesta última condição. Isso sugere que a cepa possui mecanismos mais robustos ou adaptativos para lidar com concentrações mais tóxicas do corante (TELKE *et al.*, 2010; MISHRA; MAITI, 2018).

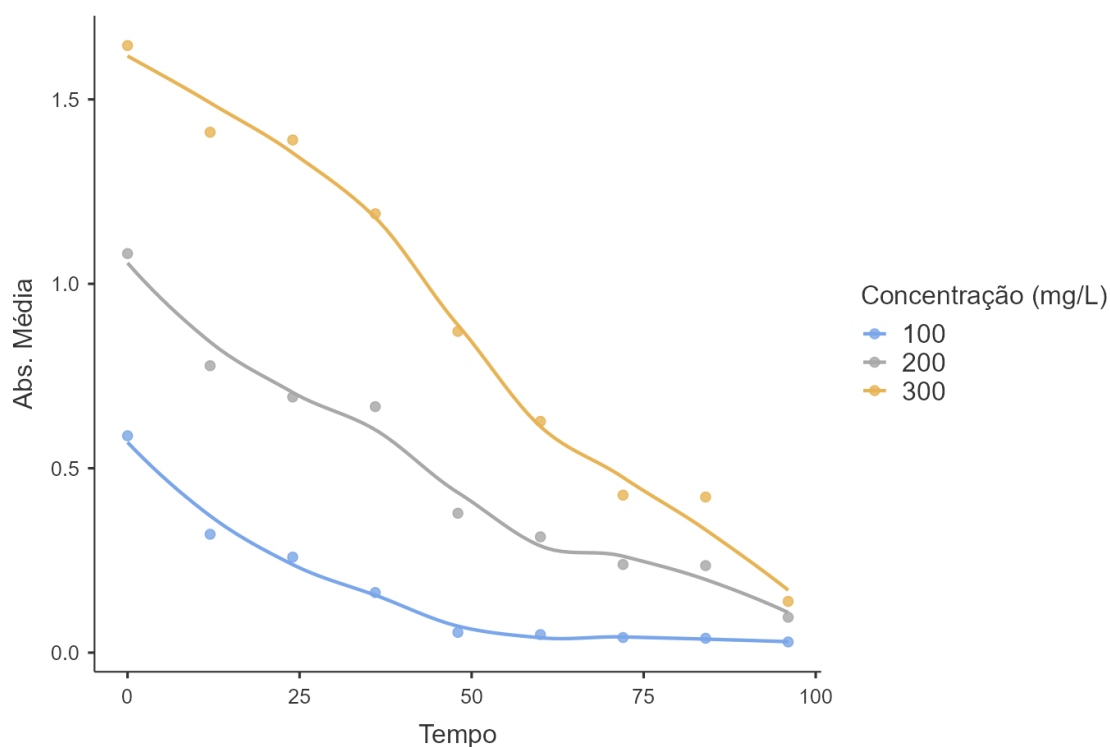


Figura 9. Descoloração do corante Vermelho Congo por *Pseudomonas Aeruginosa* ao longo do tempo. **Fonte:** Autoria própria, elaborado em Jamovi 2.6.26.

O consórcio bacteriano exibiu comportamento intermediário ou até ligeiramente superior em algumas condições quando comparado às culturas puras (Figura 10). Em baixas concentrações (100,0 mg/L), a descoloração foi quase completa em 72 h (absorbância final de 0,023-0,024), indicando uma atuação sinérgica entre bioissorção e degradação. Em 200,0 mg/L, a eficiência permaneceu alta, com absorbância final de 0,084, muito próxima à da *P. aeruginosa* isolada. Já na maior concentração testada (300,0 mg/L), o consórcio

apresentou desempenho um pouco inferior, encerrando o período com absorvância de 0,657 (aproximadamente 60% de remoção), possivelmente devido a efeitos de competição metabólica ou toxicidade excessiva (BARATHI *et al.*, 2022).

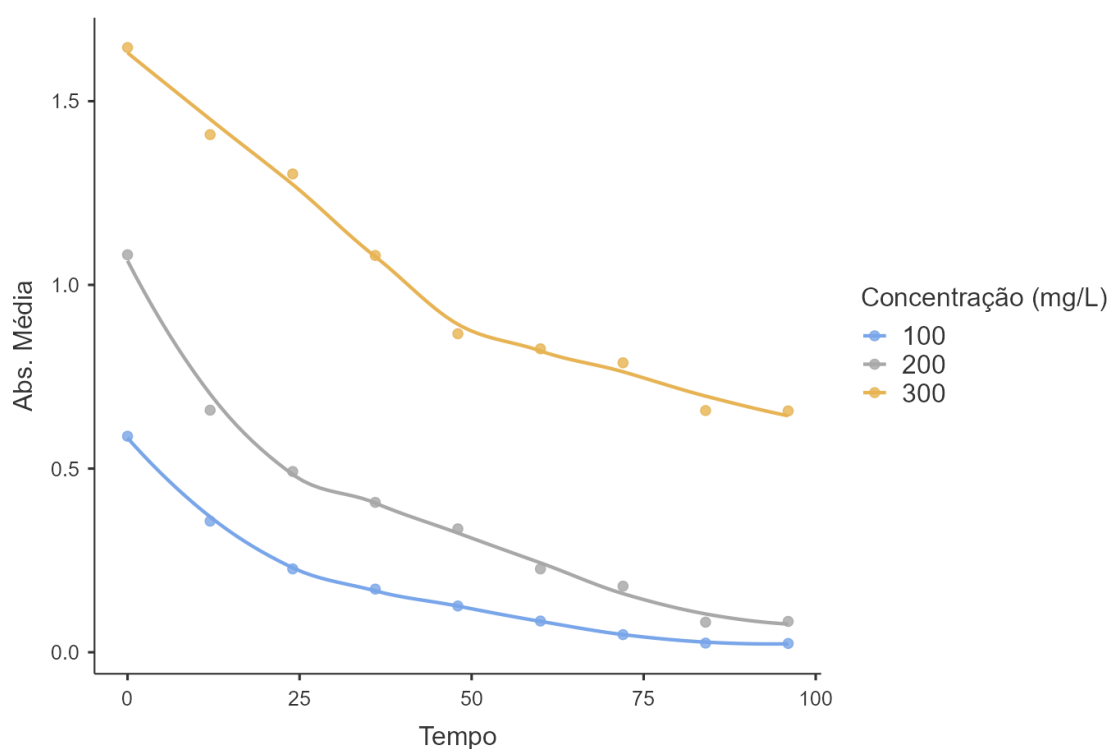


Figura 10. Descoloração do corante Vermelho Congo pelo consórcio bacteriano ao longo do tempo. **Fonte:** Autoria própria, elaborado em Jamovi 2.6.26.

Esses resultados são consistentes com a literatura, que indica que consórcios microbianos são mais eficazes na descoloração de corantes azo devido à complementaridade metabólica. Estudos como o de Biju *et al.* (2022) destacam a atuação de consórcios bacterianos na degradação de corantes azo por meio de sistemas metabólicos complexos, em que diferentes vias enzimáticas podem estar envolvidas na clivagem das ligações azo e na transformação subsequente dos subprodutos gerados.

5.5. Avaliação da Capacidade de Bioissorção

A capacidade de bioissorção das cepas bacterianas foi avaliada por meio

da quantificação da absorvência do sobrenadante após incubação em meio contendo 100,0 mg/L de corante Vermelho Congo, complementada pela análise dos pellets lavados e das frações eluídas por Tween 80. O controle manteve estabilidade ao longo de 24 h indicando ausência de remoção espontânea do corante e servindo como parâmetro de comparação. Entre os tratamentos ativos, *B. subtilis* e o consórcio bacteriano apresentaram melhor desempenho na redução da absorvência do corante em comparação com *P. aeruginosa* isoladamente (Figura 11). Após 24 h, a absorvência residual no sobrenadante foi de 0,265 para *B. subtilis*, 0,412 para o consórcio e 0,438 para *P. aeruginosa*. Esses dados indicam uma maior capacidade inicial de remoção por *B. subtilis* e pelo consórcio, possivelmente associada à bioadsorção mais eficiente ou a um metabolismo mais ativo desde as fases iniciais. Resultados semelhantes foram observados em cepas do gênero *Leclercia*, que apresentaram elevada capacidade de remoção de corantes têxteis por bioadsorção bacteriana, corroborando a relevância dessa via de remoção entre diferentes bactérias (ŞEN; KORKMAZ; KILIÇ, 2025).

A análise dos pellets lavados com água estéril permitiu verificar que uma fração considerável do corante foi retida apenas superficialmente na biomassa bacteriana, sem indícios de transformação química. As absorvências observadas nesses pellets foram de 0,077 para *B. subtilis*, 0,102 para o consórcio e 0,043 para *P. aeruginosa*. Esses resultados demonstram que parte relevante do corante estava apenas adsorvida nas superfícies celulares, e não metabolizada, reforçando a importância da bioadsorção como etapa inicial do processo de remoção. Entretanto, a adição de solução de Tween 80 para dessorção revelou valores negativos de absorvência nas frações tratadas, com -0,247 para *B. subtilis*, -0,076 para o consórcio e -0,108 para *P. aeruginosa*. Tais valores negativos indicam que, além da dessorção, houve provável degradação ou transformação do corante adsorvido, possivelmente resultando em subprodutos que não absorvem no mesmo comprimento de onda (495 nm) ou que possuem espectros alterados. Isso sugere que a ação bacteriana não se limita à bioadsorção reversível, mas envolve processos metabólicos ativos. A combinação desses resultados aponta para um sistema de remoção baseado em mecanismos

complementares: bioissorção inicial significativa, seguida de dessorção parcial e possível biodegradação.

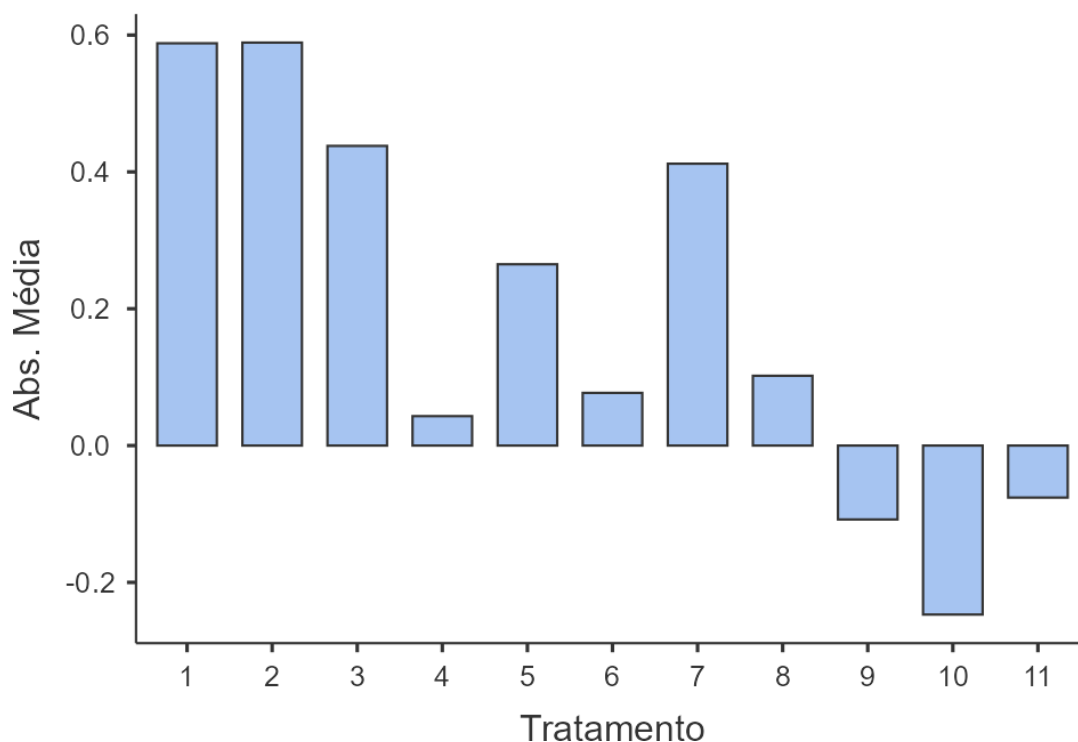


Figura 11. Absorbância média residual ($\lambda = 495 \text{ nm}$) dos diferentes tratamentos após bioissorção do corante Vermelho Congo. Os tratamentos foram Controle no tempo inicial (1), Controle após 24 horas (2), *Pseudomonas aeruginosa* (3), *P. aeruginosa* e pellet lavado (4), *Bacillus subtilis* (5), *B. subtilis* e pellet lavado (6), Consórcio (7), Consórcio e pellet lavado (8), Dessorvido e biotransformado em *P. aeruginosa* (9), Dessorvido e biotransformado em *B. subtilis* (10), Dessorvido e biotransformado em consórcio (11) **Fonte:** Autoria própria, elaborado em Jamovi 2.6.26.

5.6. Comparação entre Células Ativas e Inativas

A avaliação comparativa entre células bacterianas ativas e inativas frente ao corante Vermelho Congo permitiu distinguir os mecanismos de remoção envolvidos, especialmente entre bioissorção passiva e processos metabólicos ativos. Tanto *P. aeruginosa*, quanto *B. subtilis* e o consórcio entre ambas demonstraram diferentes comportamentos de remoção ao longo de 24 h de incubação (figura 12). No grupo com células inativas (autoclavadas), observou-

se uma redução moderada na absorvância do meio ao longo do tempo, atribuída majoritariamente à biossorção passiva, com valores de absorvância final de 0,351 para *P. aeruginosa*, 0,287 para *B. subtilis* e 0,292 para o consórcio. Já as células vivas apresentaram desempenho muito superior, com valores de 0,111, 0,031 e 0,143, respectivamente. Esses resultados indicam que, embora a biossorção esteja presente, os mecanismos metabólicos ativos exercem papel central na biodegradação do corante.

A queda acentuada na absorvância nas primeiras horas de tratamento com células vivas, especialmente no consórcio, evidencia a ação de enzimas específicas como azoredutases, que promovem a clivagem das ligações azo e, conseqüentemente, a desestruturação da molécula do corante (BARATHI *et al.*, 2022; SARIM *et al.*, 2019). Isso reforça a relevância do uso de células metabolicamente ativas em processos de biorremediação, uma vez que a simples adsorção do corante na superfície celular não é suficiente para sua completa degradação. O processo de mineralização completo requer vias metabólicas funcionais e expressão de sistemas enzimáticos especializados para possibilitar a conversão do composto em subprodutos menos prejudiciais ao ambiente. Embora essa pesquisa não tenha determinado tais subprodutos, o efeito combinado de biodegradação e biossorção apontam para o catabolismo do corante Vermelho Congo por *P. aeruginosa* e *B. subtilis* em co-cultivo.

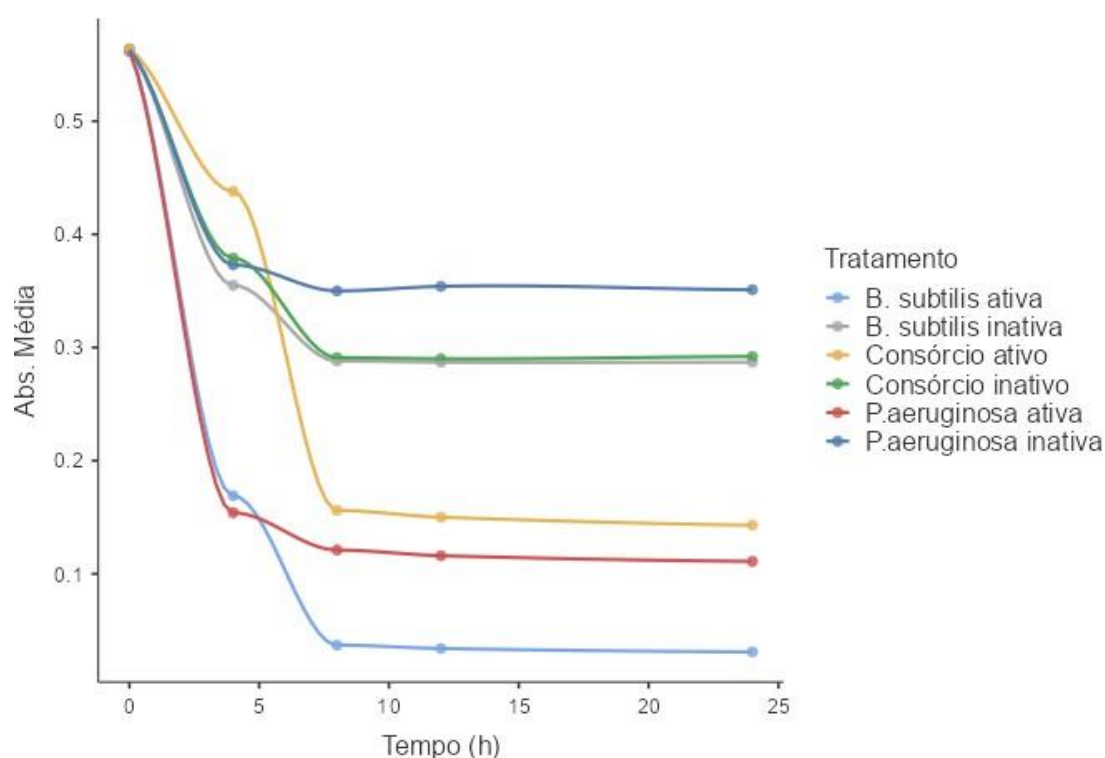


Figura 12. Descoloração do corante Vermelho Congo por células ativas e inativas ao longo do tempo. Notação em itálico nos nomes científicos ausente na legenda por limitação de renderização do *plot* pelo *software*. **Fonte:** Autoria própria, elaborado em Jamovi 2.6.26.

5.7. Formação e Quantificação de Biofilme em Microplacas

A quantificação do biofilme produzido por *P. aeruginosa*, *B. subtilis* e pelo consórcio (PB), em presença de diferentes concentrações do corante vermelho Congo (100,0, 200,0 e 300,0 mg/L), evidenciou diferenças na aderência bacteriana às superfícies da microplaca de 96 poços (Figura 13).

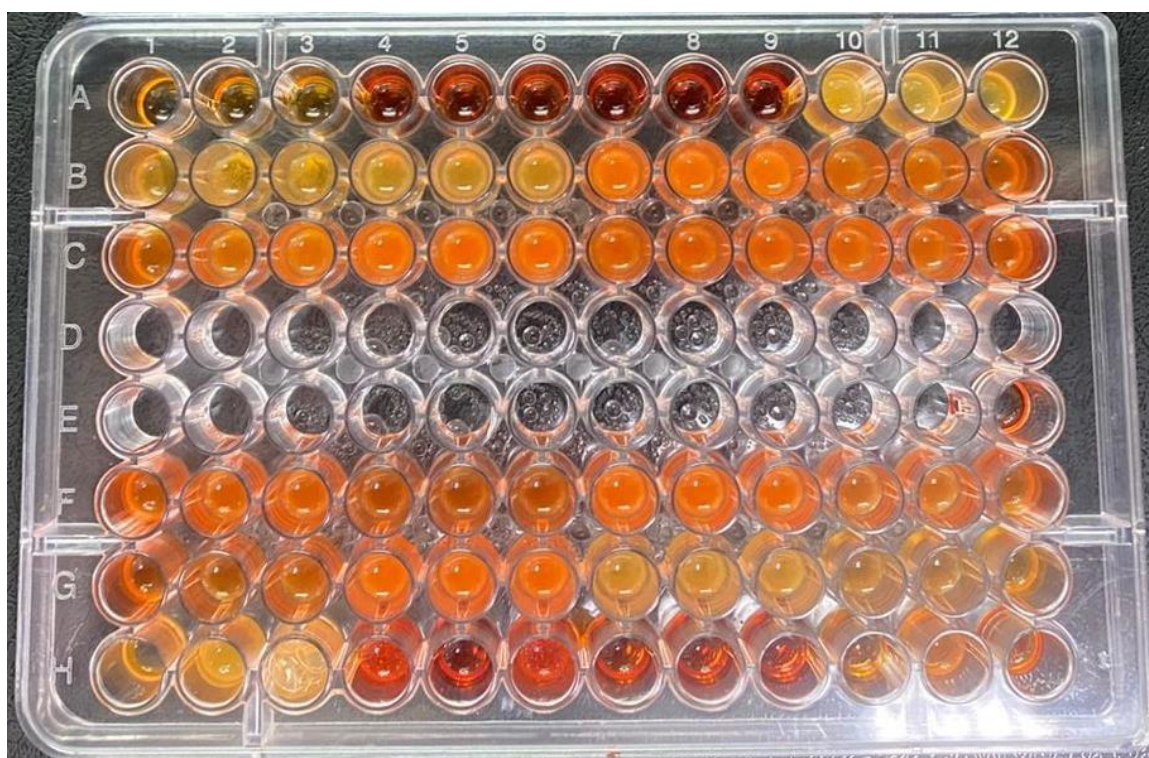


Figura 13. Placa para medição de absorção em espectrofotômetro TECAN, com amostras do meio TSB com o corante Vermelho Congo nas concentrações de 100 mg/L (A4-A5), 200 mg/L (A6-A7) e 300 mg/L (A8-9), após incubação das cepas individualmente, *P. aeruginosa* (A10-A12; B7-B9; C4-C6), *B. subtilis* (B1-B3; B10-B12; C7-C9) e em consórcio (B4-B6; C1-C3; C10-C12). **Fonte:** Autoria própria, fotografado em câmera digital.

Os resultados foram obtidos após coloração com cristal violeta e solubilização com ácido acético 30%, sendo a absorbância lida a 600 nm. Conforme observado na Figura 14, o consórcio bacteriano (PB) demonstrou os maiores valores médios de absorbância nas três concentrações, com destaque

para 200 mg/L, apresentando média de $3,86 \pm 0,03$. Esses dados sugerem um sinergismo na formação de biofilme entre as duas cepas, corroborando estudos que indicam que consórcios bacterianos frequentemente apresentam maior capacidade de adesão e formação de matriz extracelular (HAQUE *et al.*, 2021). Já *B. subtilis* isoladamente também apresentou elevada capacidade de formação de biofilme, especialmente nas concentrações de 200,0 e 300,0 mg/L, com valores médios de $3,91 \pm 0,04$ e $3,74 \pm 0,02$, respectivamente. Essa característica é atribuída à habilidade da cepa em produzir matriz polissacarídica e proteínas associadas à adesão, conforme apontado por Barathi *et al.* (2022) e Zhang *et al.* (2022), que destacam o papel de *B. subtilis* em ambientes estressantes, como a presença de corantes tóxicos. Em contrapartida, *P. aeruginosa* apresentou valores inferiores em 100,0 e 200,0 mg/L, sendo o biofilme mais fraco entre os isolados, com uma média de $2,38 \pm 0,63$ em 200,0 mg/L. A cepa possui reconhecida capacidade de formar biofilme, mas essa formação pode ser prejudicada em ambientes contaminados com corantes azo, os quais interferem na síntese da matriz extracelular e nos mecanismos de adesão, conforme discutido por Kapoor *et al.* (2021).

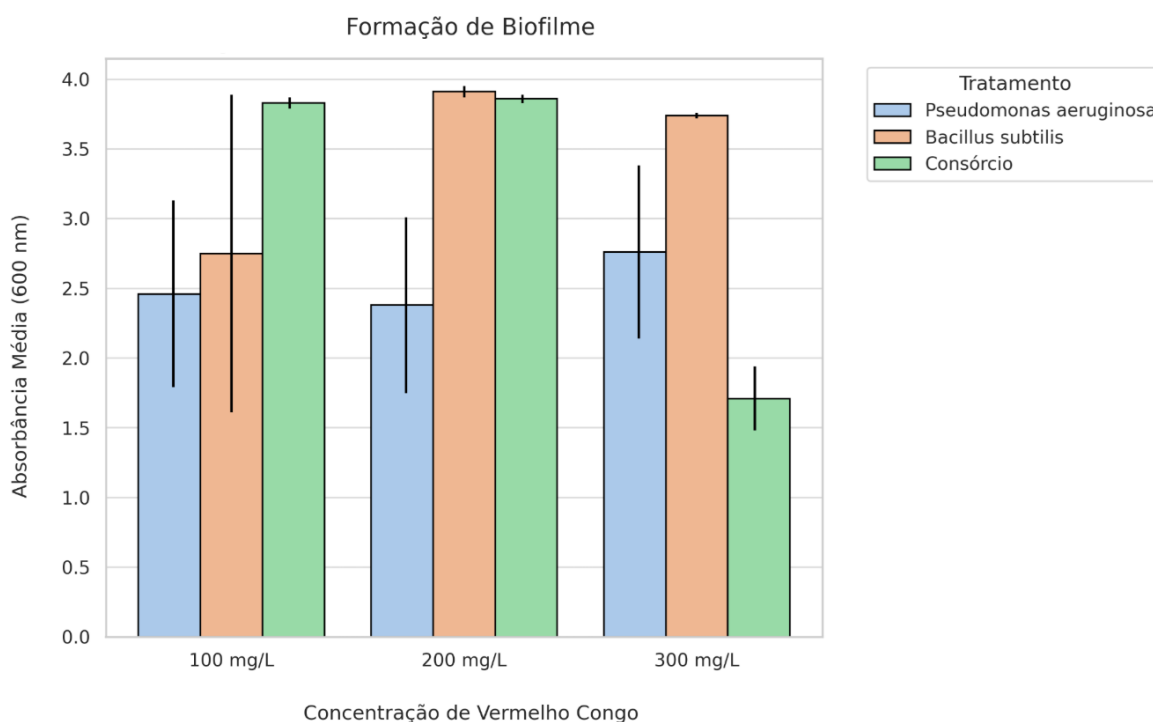


Figura 14. Formação de biofilme bacteriano em diferentes concentrações de vermelho Congo,

mensurada por leitura de absorbância (600 nm) após solubilização do cristal violeta. **Fonte:**
Autoria própria, elaborado em Orange 3.38.1.

Esses resultados indicam que o consórcio bacteriano oferece vantagens para aplicações em biorremediação, visto que a maior produção de biofilme está diretamente relacionada à capacidade de imobilização e retenção de contaminantes, potencializando mecanismos de biossorção e biodegradação.

5.8. Fixação Bacteriana em Espuma de Poliuretano (PUF)

A fixação bacteriana em matriz de espuma de poliuretano (PUF) foi avaliada com base na viabilidade das cepas após sua incubação prolongada com o corante vermelho Congo, simulando condições de biorremediação. Para isso, foi realizada uma comparação entre as contagens iniciais de unidades formadoras de colônia (UFC/mL), obtidas antes do contato com o corante (inóculo sem tratamento), e os valores obtidos após o tratamento com o corante nas concentrações de 100, 200 e 300 mg/L. Essa comparação foi realizada separadamente em dois tipos de meio: TSB (rico em nutrientes) e imitando um efluente têxtil (EF), permitindo avaliar o impacto tanto do corante quanto da disponibilidade nutricional sobre a capacidade de fixação bacteriana ao PUF.

No meio TSB, a *P. aeruginosa* isolada demonstrou crescimento considerável, passando de $3,50 \times 10^{10}$ UFC/mL (inicial) para $2,43 \times 10^{12}$, $2,84 \times 10^{12}$ e $9,64 \times 10^{12}$ UFC/mL após o tratamento com 100,0, 200,0 e 300,0 mg/L do corante, respectivamente. Isso indica forte adaptação e crescimento mesmo sob estresse, especialmente em 300,0 mg/L, compatível com estudos que destacam a habilidade de certos microrganismos em aderir a superfícies inertes e formar biofilmes estáveis mesmo em ambientes com elevada toxicidade, como discutido por Kapoor *et al.* (2021).

Já a *B. subtilis*, também em TSB, apresentou comportamento mais sensível. Sua contagem subiu levemente em 100,0 mg/L ($2,20 \times 10^{10}$ UFC/mL, frente a $1,60 \times 10^9$ inicial), mas reduziu consideravelmente nas demais concentrações ($7,10 \times 10^8$ e $8,00 \times 10^9$ UFC/mL), sugerindo que concentrações mais elevadas de corante podem dificultar sua adesão ou crescimento,

possivelmente por interferirem na formação da matriz extracelular, conforme descrito por Kapoor *et al.* (2021). No consórcio bacteriano em TSB, a *P. aeruginosa* (P-PB) manteve níveis elevados de fixação em 100,0 e 200,0 mg/L ($1,85 \times 10^{12}$ e $1,88 \times 10^{12}$ UFC/mL), mas sofreu queda para $3,76 \times 10^{11}$ em 300,0 mg/L. Já a *B. subtilis* (B-PB) apresentou crescimento considerável no consórcio em 200,0 mg/L ($4,00 \times 10^{10}$ UFC/mL), frente ao inóculo inicial de $2,00 \times 10^7$ UFC/mL, sugerindo que a presença da outra cepa pode ter promovido condições mais favoráveis de sobrevivência e fixação.

Por outro lado, no meio EF, os dados demonstraram uma redução significativa nas contagens de todas as cepas após o tratamento, refletindo o impacto da limitação nutricional na viabilidade e fixação bacteriana. A *P. aeruginosa* isolada caiu de $7,50 \times 10^8$ para $1,11 \times 10^6$, $2,70 \times 10^7$ e $3,30 \times 10^5$ UFC/mL em 100,0, 200,0 e 300,0 mg/L, respectivamente. A *B. subtilis*, de $6,40 \times 10^7$ inicial, obteve $5,50 \times 10^6$, $2,50 \times 10^7$ e $8,40 \times 10^5$ UFC/mL após o tratamento. No consórcio em EF, a *P. aeruginosa* (P-PB) teve desempenho superior nas concentrações de 100 e 300 mg/L ($3,80 \times 10^8$ e $2,84 \times 10^8$ UFC/mL), embora com queda acentuada em 200 mg/L ($2,30 \times 10^4$). Já a *B. subtilis* (B-PB), cuja contagem inicial era de $2,00 \times 10^4$, apresentou discreto crescimento ou estabilidade em todos os tratamentos, atingindo até $3,20 \times 10^5$ UFC/mL em 300 mg/L.

Os resultados mostram que o meio de cultura exerce influência decisiva na fixação bacteriana em PUF, sendo que o meio TSB proporciona melhores condições para a adesão e crescimento, inclusive em presença de corante. O consórcio bacteriano demonstrou maior estabilidade e resistência comparadas às culturas puras, sugerindo sinergismo e proteção mútua, conforme discutido por Haque *et al.* (2021). A utilização da espuma de poliuretano como suporte fixador mostra-se eficaz, sendo corroborada por estudos anteriores (ALESSANDRELLO *et al.*, 2017; QUEK *et al.*, 2006), e apresenta-se como alternativa promissora em sistemas de biorremediação de ambientes contaminados com corantes azo.

5.9. Eficiência de Remoção do Corante por Células Imobilizadas

A avaliação da eficiência de remoção do corante Vermelho Congo por células imobilizadas em espuma de poliuretano (PUF) foi realizada em dois

diferentes meios: o meio de cultura TSB e um efluente têxtil simulado com baixa disponibilidade de nutrientes. Após sete dias de incubação estática, as leituras espectrofotométricas das amostras, coletadas ao final do experimento, indicaram a permanência ou degradação do corante com base na absorbância a 495 nm. No meio TSB, observou-se redução significativa na absorbância nas concentrações de 100,0, 200,0 e 300,0 mg/L, indicando alta eficiência de remoção do corante pelas células imobilizadas (Figura 15). A *P. aeruginosa* apresentou valores médios de absorbância final de 0,17, 0,35 e 0,41, respectivamente, para as três concentrações, partindo de controles com valores médios de 1,17, 1,63 e 2,79. A *B. subtilis* apresentou comportamento semelhante, com valores finais de 0,22, 0,45 e 0,54, respectivamente. O consórcio bacteriano (PB) obteve resultados ainda mais expressivos, especialmente nas concentrações de 200 e 300 mg/L, com absorbâncias finais de 0,31 e 0,30.

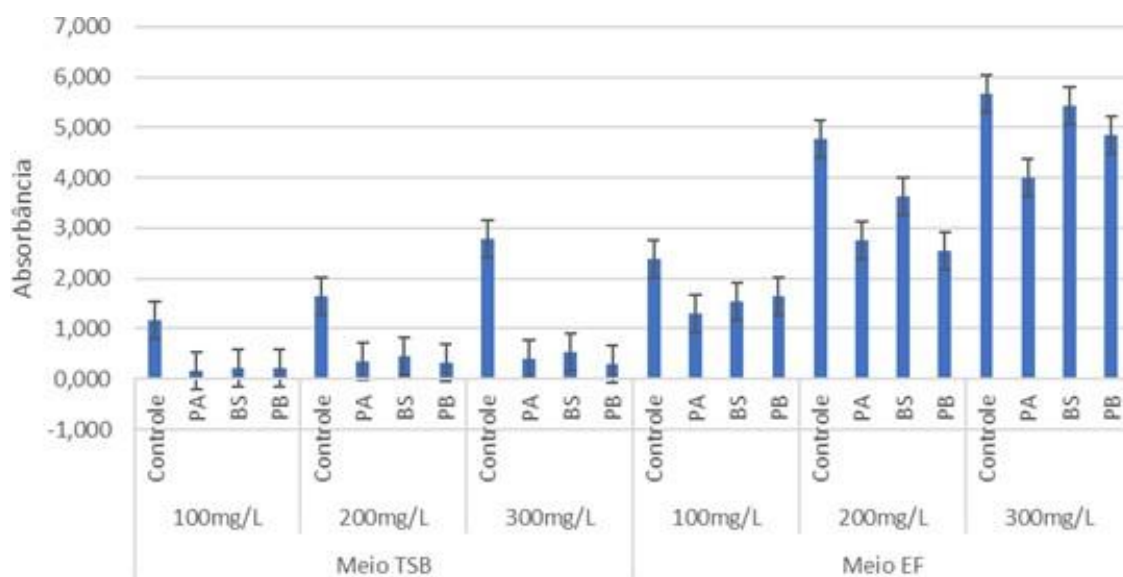


Figura 15. Absorbância do Vermelho Congo nas concentrações de 100 mg/L, 200 mg/L e 300 mg/L das cepas individuais e em consórcio no meio TSB e EF nos ensaios controle, *Pseudomonas aeruginosa* (PA), *Bacillus subtilis* (BS) e consórcio (PB). **Fonte:** Autoria própria, elaborado em Microsoft Excel 365.

Esses resultados indicam que a associação entre as cepas conferiu maior eficiência na remoção do corante, sugerindo sinergismo entre os mecanismos de bioadsorção e biodegradação. Estudos anteriores corroboram essa evidência,

destacando que consórcios bacterianos frequentemente apresentam maior robustez e estabilidade em sistemas imobilizados (HAQUE *et al.*, 2021; KURADE *et al.*, 2017). Já no efluente simulado (EF), apesar da presença das mesmas cepas imobilizadas, observou-se uma menor eficiência de remoção. Os controles apresentaram valores de absorvância superiores (2,38, 4,79 e 5,64, em média) e, ainda que as cepas tenham promovido redução dos níveis de corante, os valores finais permaneceram elevados. A *P. aeruginosa* obteve valores médios de 1,31, 2,77 e 4,01, enquanto *B. subtilis* apresentou 1,51, 3,68 e 5,44. O consórcio, por sua vez, apesar de ligeira melhora, apresentou absorvâncias finais de 1,64, 2,58 e 4,87, respectivamente. Esses dados sugerem que a limitação nutricional do meio EF pode ter afetado negativamente a atividade metabólica das bactérias, especialmente os mecanismos enzimáticos responsáveis pela degradação do corante, conforme apontado por Kurade *et al.* (2017).

A comparação entre os dois meios destacou o impacto do ambiente sobre a eficiência de biorremediação. Em meio nutritivo (TSB), a imobilização em PUF favoreceu a formação de biofilme e a consequente remoção do corante. Em contrapartida, em meio de baixo aporte nutricional, a mesma estratégia apresentou limitação na atividade biodegradativa. Isso reforça a importância do suporte adequado e das condições ambientais na aplicação de biorremediadores em sistemas reais. A utilização de PUF como matriz para imobilização demonstrou-se eficiente para reter células viáveis e manter a atividade biorremediadora em ambos os contextos, ainda que com variações de desempenho.

5.10. Análise por FTIR

Além da análise de descoloração, também foi feita uma análise FTIR, onde foram coletadas amostras dos cultivos bacterianos em TSB com as concentrações de 100,0, 200,0 e 300,0 mg/L nos períodos de 24 e 48 h.

O espectro de FTIR do corante Vermelho Congo não tratado apresenta um pico amplo e intenso em aproximadamente 3425 cm^{-1} , atribuível ao estiramento O-H de grupos hidroxila ou moléculas de água adsorvidas na matriz (Figura 16). Observa-se também uma banda significativa em torno de 1630 cm^{-1} ,

correspondente à vibração de estiramento da ligação azo (-N=N-) e possivelmente às ligações C=C dos anéis aromáticos. Além disso, o pico localizado próximo a 1235 cm^{-1} é atribuído ao estiramento assimétrico S=O dos grupos sulfonato ($-\text{SO}_3^-$), característicos da estrutura do corante (MAURYA *et al.*, 2021).

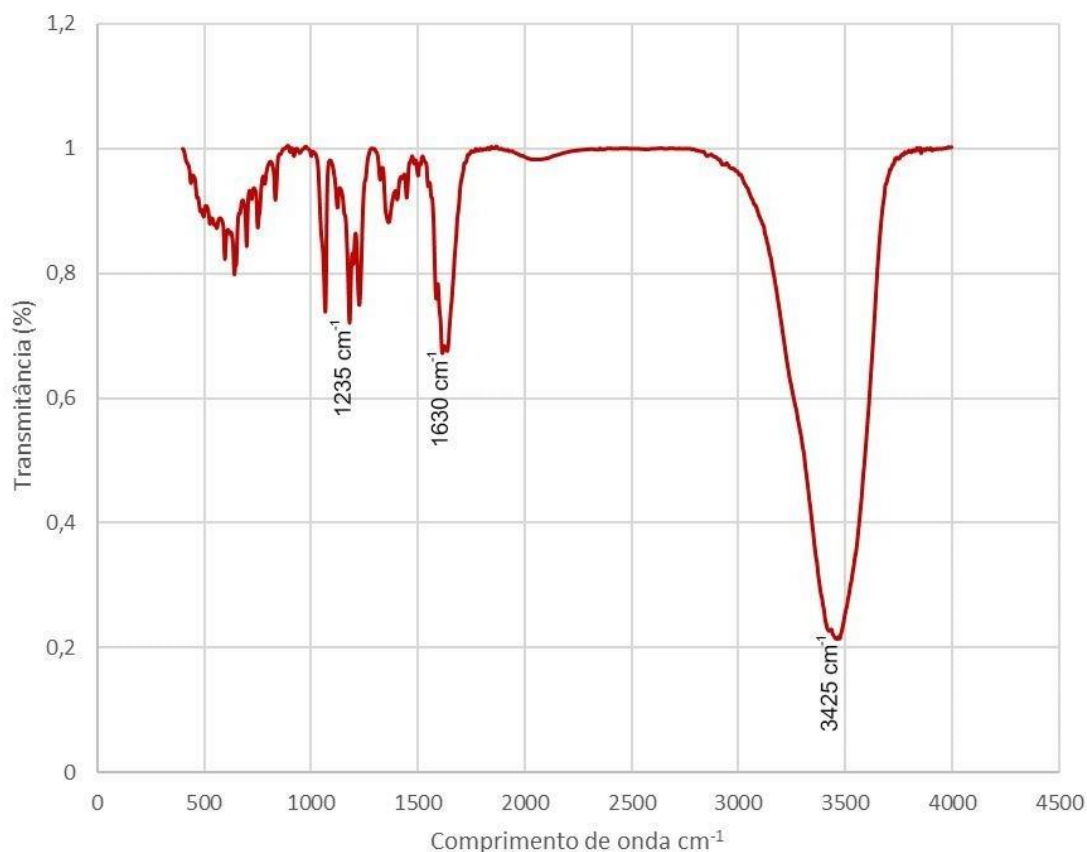


Figura 16 Espectros de FTIR das amostras de Vermelho Congo em formulação comercial pura não processada biologicamente. **Fonte:** Autoria própria, dados coletados em equipamento Tensor II da marca Bruker, elaborado em Microsoft Excel 365.

A comparação entre os espectros de FTIR obtidos após 24 e 48h de tratamento revela a influência direta do tempo de exposição sobre a eficiência da biorremediação do corante Vermelho Congo. Os resultados são discutidos seguindo o agrupamento por concentração do corante, começando por $100,0\text{ mg/L}$ (Figura 17). Para o consórcio PB, observou-se uma progressiva atenuação dos sinais espectrais associados aos grupos funcionais do corante,

especialmente nas faixas de $\sim 1200\text{ cm}^{-1}$ e $\sim 1500\text{-}1600\text{ cm}^{-1}$, sendo a supressão desses picos mais acentuada após 48h (LADE; GOVINDWAR; PAUL, 2015). A banda em $\sim 3500\text{ cm}^{-1}$ no seu espectro indica a presença de grupos hidroxila e/ou amina, típicos de produtos de degradação do Vermelho Congo (como fenóis e anilinas).

Isso está alinhado com a literatura sobre biorremediação, onde esse pico funciona como um indicador de transformação química efetiva, e não meramente de adsorção temporária (MAURYA *et al.*, 2021). Juntamente com a redução de picos azo e sulfonato, reforça a evidência de que processos como *B. subtilis* e o consórcio PB realizaram degradação estrutural do corante. O tratamento com *B. subtilis* isolado também demonstrou comportamento dependente do tempo, com intensificação da redução das bandas associadas à estrutura do corante após 48h, embora de forma menos acentuada que no consórcio. Tais achados sugerem que *B. subtilis* possui capacidade degradativa intrínseca, a qual pode ser potencializada pela extensão do tempo de contato com o corante. Por outro lado, os espectros correspondentes ao tratamento com *P. aeruginosa* permaneceram semelhantes ao do controle em ambos os tempos, com apenas pequenas alterações nas intensidades das bandas principais. Esse padrão sugere que a contribuição dessa cepa isolada ao processo de remoção do corante, sob as condições testadas, ocorre predominantemente por bioadsorção, e não por degradação estrutural efetiva.

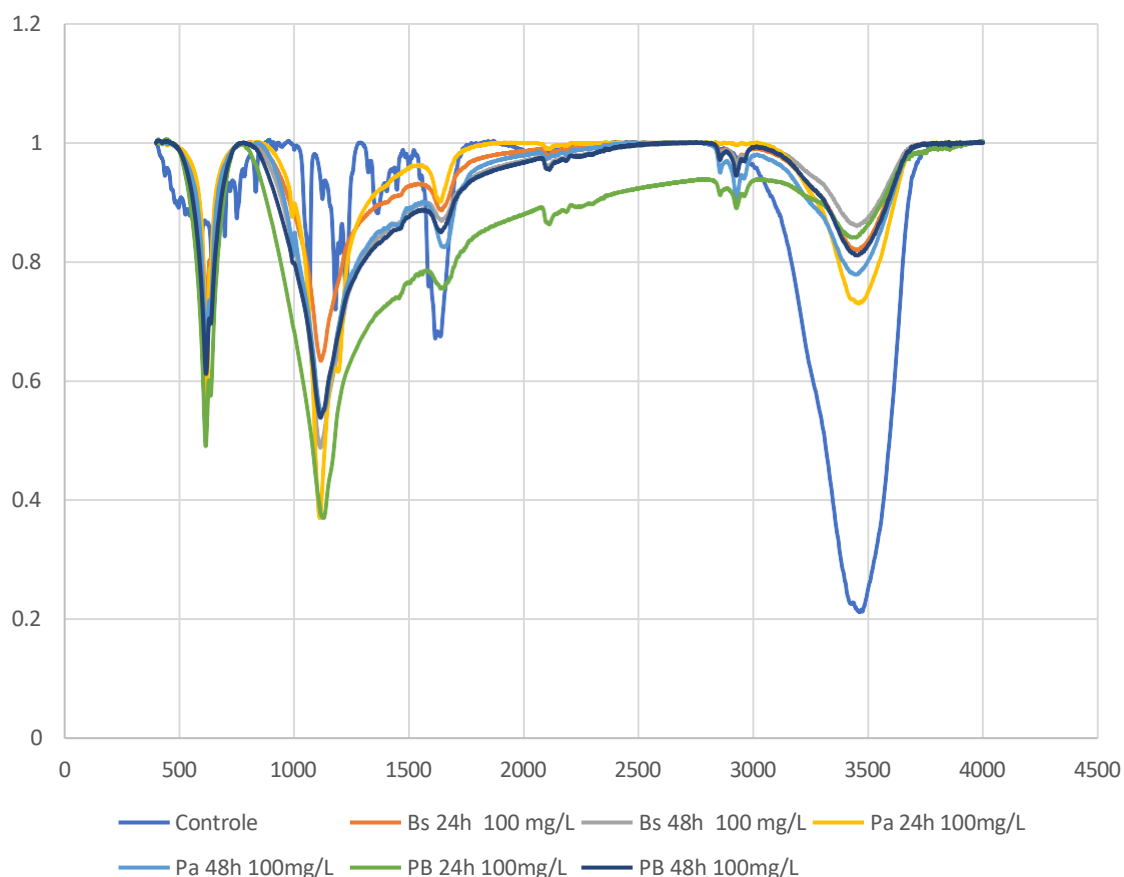


Figura 17. Espectros de FTIR das amostras de Vermelho Congo em 24h e 48h de tratamento (100 mg/L) com *Bacillus subtilis* (BS), *Pseudomonas aeruginosa* (PA), consórcio (PB) e controle.

Fonte: Autoria própria, dados coletados em equipamento Tensor II da marca Bruker, elaborado em Microsoft Excel 365.

Na concentração de 200,0 mg/L de Vermelho Congo, o consórcio PB apresentou o perfil mais degradativo, principalmente após 48 h de tratamento (Figura 18). A expressiva atenuação da banda em $\sim 1200\text{ cm}^{-1}$ indica uma modificação significativa nos grupos sulfonato, funcionalidade importante na solubilidade e estabilidade do corante (KHALIK *et al.*, 2020). Paralelamente, a drástica redução das bandas entre $1500\text{ e }1600\text{ cm}^{-1}$ reforça a hipótese de que houve ruptura efetiva das ligações azo ($-\text{N}=\text{N}-$), núcleo estrutural do Vermelho Congo, o que confirma a ocorrência de biodegradação e não apenas de bioadsorção. A redução expressiva da banda em $\sim 3500\text{ cm}^{-1}$ no espectro FTIR do corante após 48 h com PB indica que os grupos $-\text{OH}/-\text{NH}$ presentes originalmente foram substancialmente modificados ou removidos, evidenciando a

conversão do corante em compostos secundários (DAS *et al.*, 2024). Esse comportamento segue padrões observados na literatura: em estudo com *P. aeruginosa*, houve mudança significativa na intensidade da faixa de 3500 cm^{-1} durante a degradação do corante. Em menor grau, *B. subtilis* também demonstrou atividade relevante, especialmente após 48 horas, com redução progressiva das bandas-chave. Já *P. aeruginosa* isolada apresentou alterações mínimas ao longo do tempo, com espectros semelhantes ao controle, sugerindo um mecanismo predominantemente baseado em bioadsorção, com baixa ação degradativa sob as condições avaliadas.

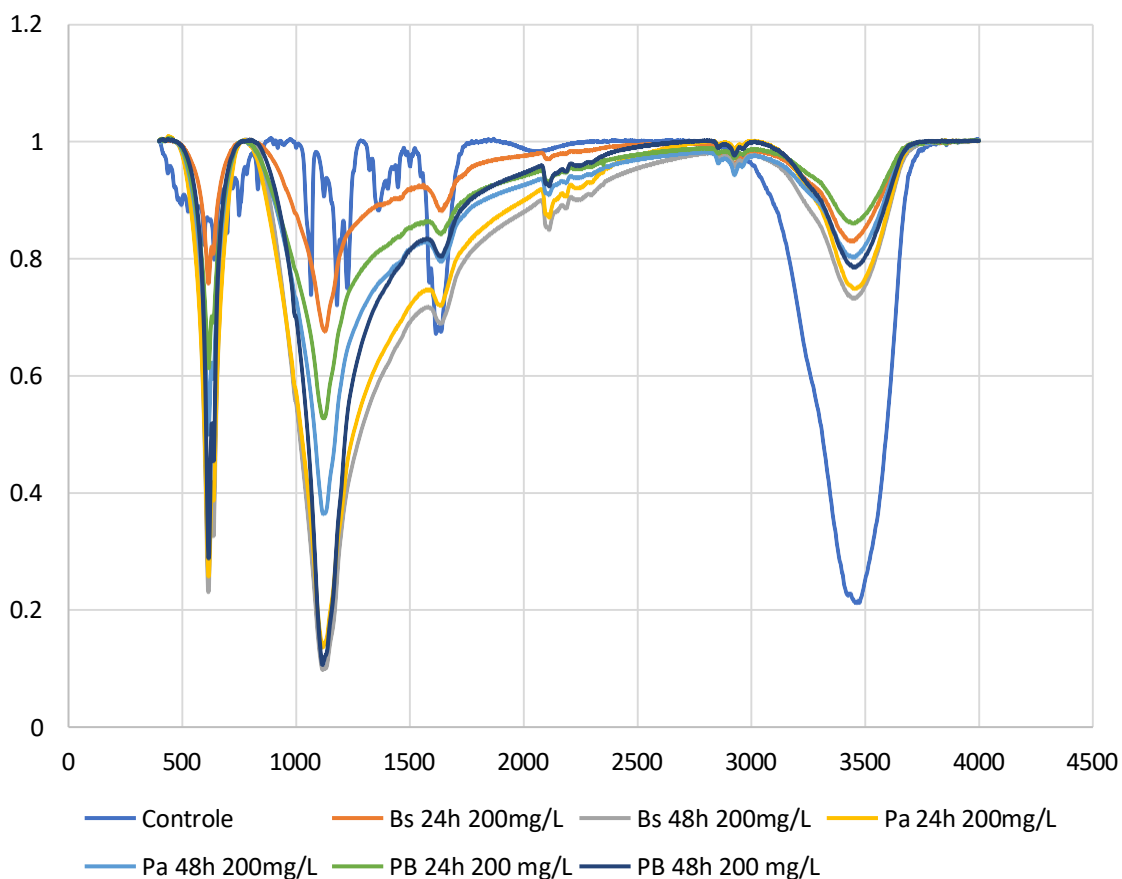


Figura 18.: Espectros de FTIR das amostras de Vermelho Congo em 24h e 48h de tratamento (200 mg/L) com *Bacillus subtilis* (BS), *Pseudomonas aeruginosa* (PA), consórcio (PB) e controle.

Fonte: Autoria própria, dados coletados em equipamento Tensor II da marca Bruker, elaborado em Microsoft Excel 365.

Por fim, na concentração de 300,0 mg/L (figura 19), a faixa de $\sim 1200\text{ cm}^{-1}$,

atribuída aos grupos sulfonato ($-\text{SO}_3^-$), foi observada uma redução acentuada da intensidade da banda especialmente nos tratamentos com o consórcio PB e *B. subtilis* após 48 horas. Essa atenuação sugere a atuação enzimática ou metabólica sobre os grupos solúveis do corante, frequentemente associados à sua resistência química e estabilidade em solução aquosa. As alterações mais expressivas, no entanto, foram registradas na faixa de $1500\text{-}1600\text{ cm}^{-1}$, correspondente às ligações azo ($-\text{N}=\text{N}-$) e ao sistema conjugado aromático do corante. A supressão parcial ou quase completa dessa banda, particularmente nos tratamentos com o consórcio PB após 48h, indica ruptura efetiva da ligação azo, marco da degradação estrutural do Vermelho Congo. A mesma tendência, embora em menor grau, foi observada para *B. subtilis*, demonstrando sua capacidade degradativa mesmo em condições de maior concentração. Já *P. aeruginosa* isolada apresentou espectros semelhantes ao controle em ambos os tempos, o que reforça sua atuação limitada a mecanismos de bioadsorção.

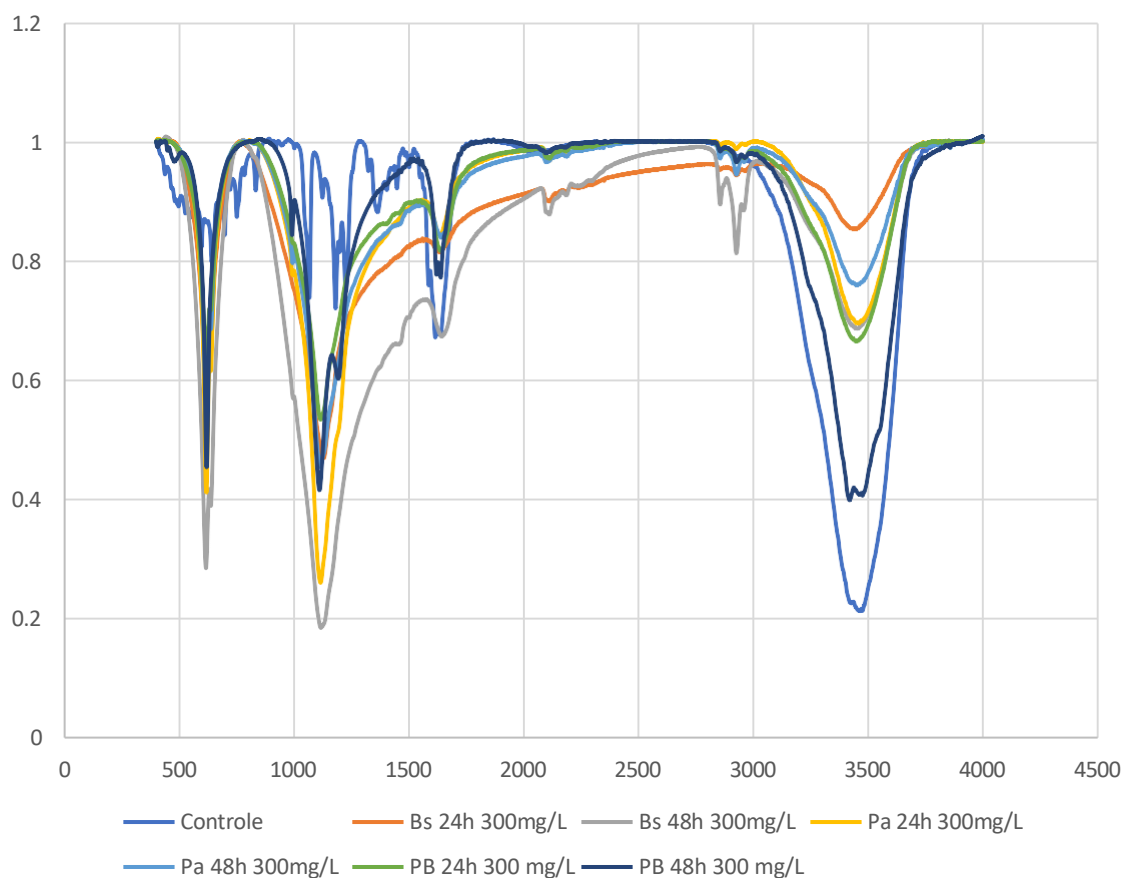


Figura 19. Espectros de FTIR das amostras de Vermelho Congo em 24h e 48h de tratamento (300 mg/L) com *Bacillus subtilis* (BS), *Pseudomonas aeruginosa* (PA), consórcio (PB) e controle.

Fonte: Autoria própria, dados coletados em equipamento Tensor II da marca Bruker, elaborado em Microsoft Excel 365.

As interpretações foram concentradas em três faixas espectrais por apresentarem notáveis mudanças, ocorridas em 1200 cm^{-1} (grupos sulfonato $-\text{SO}_3^-$), $1500\text{-}1600\text{ cm}^{-1}$ (ligações azo $-\text{N}=\text{N}-$ e $\text{C}=\text{C}$ aromático) e 3500 cm^{-1} (grupos hidroxila $-\text{OH}$ e amina $-\text{NH}$). Os espectros evidenciaram que o consórcio PB apresentou os efeitos mais expressivos ao longo das três concentrações testadas (100, 200 e 300 mg/L), especialmente após 48 horas de incubação. Observou-se uma redução acentuada na banda de $\sim 1200\text{ cm}^{-1}$, indicando possível modificação ou remoção dos grupos sulfonato. Dessa forma, a análise FTIR demonstrou que o consórcio PB foi o agente mais eficiente na transformação química do Vermelho Congo, promovendo alterações em múltiplos grupos funcionais. Esses resultados reforçam o potencial do uso de consórcios bacterianos como alternativa interessante para a biorremediação de efluentes têxteis contaminados com corantes azóicos.

6. CONCLUSÃO

Este trabalho demonstrou o potencial de *P. aeruginosa*, *B. subtilis* e do consórcio formado entre elas na biorremediação do corante Vermelho Congo. Os resultados indicaram que o consórcio se destacou na formação de biofilme, fixação em espuma de poliuretano (PUF) e eficiência de decoloração em meio nutritivo (TSB) e em efluente simulado (EF), configurando-se como estratégia promissora para ambientes contaminados. Entre os resultados, destacam-se: (i) a elevada densidade de biofilme do consórcio em 200 mg L^{-1} , com absorvância de 3,86, indicando sinergismo na produção de matriz extracelular; (ii) a redução da absorvância do corante para apenas 0,30 em 300 mg L^{-1} no TSB, demonstrando remoção superior às cepas individuais; (iii) a supressão quase total das bandas azo e sulfonato nos espectros de FTIR após 48 h de tratamento, confirmando degradação estrutural além de simples bioadsorção. Assim, a combinação de imobilização, consórcio bacteriano e biofilme observada nos ensaios em escala de bancada representam uma possível abordagem

escalonável eficiente, sustentável e viável para aplicação em sistemas de tratamento de efluentes industriais contendo corantes azo.

7. REFERÊNCIAS

ALESSANDRELLO, Mauricio J.; JUÁREZ TOMÁS, María S.; RAIMONDO, Enzo E.; VULLO, Diana L.; FERRERO, Marcela A. Petroleum oil removal by immobilized bacterial cells on polyurethane foam under different temperature conditions. **Marine Pollution Bulletin**, v. 122, n. 1-2, p. 156-160, set. 2017.

AFKHAMI, Abbas; MOOSAVI, Razieh. Adsorptive removal of Congo red, a carcinogenic textile dye, from aqueous solutions by maghemite nanoparticles. **Journal of Hazardous Materials**, v. 174, n. 1-3, p. 398-403, fev. 2010.

ARIM, A. L. Análise da secagem de sementes de mamão formosa (*Carica papaya* L.) utilizadas na adsorção do corante vermelho do congo. 96 p. 2014. Dissertação (Mestrado Acadêmico em Engenharia) – Universidade Federal do Pampa, Campus Bagé, Bagé, 2014.

BALA, Saroj; GARG, Diksha; THIRUMALESH, Banjagere Veerabhadrapa; SHARMA, Minaxi; SRIDHAR, Kandi; INBARAJ, Baskaran Stephen; TRIPATHI, Manikant. Recent Strategies for Bioremediation of Emerging Pollutants: A Review for a Green and Sustainable Environment. **Toxics**, v. 10, n. 8, 19 ago. 2022.

BARATHI, Selvaraj; ARULJOTHI, K. N.; KARTHIK, Chinnannan; PADIKASAN, Indra Arulselvi; ASHOKKUMAR, Veeramuthu. Biofilm mediated decolorization and degradation of reactive red 170 dye by the bacterial consortium isolated from the dyeing industry wastewater sediments. **Chemosphere**, v. 286, p. 131914, jan. 2022.

BENKHAYA, Said; M'RABET, Souad; EL HARFI, Ahmed. Classifications, properties, recent synthesis and applications of azo dyes. **Heliyon**, v. 6, n. 1, p. e03271, jan. 2020.

BEKHIT, Fatma; FARAG, Soha; ATTIA, Ahmed M. Characterization of Immobilized Magnetic Fe₃O₄ Nanoparticles on *Raoultella Ornithinolytica* sp. and Its Application for Azo Dye Removal. **Applied Biochemistry and Biotechnology**, v. 194, n. 12, p. 6068-6090, 26 dez. 2022.

BHATIA, Deepika; SHARMA, Neeta Raj; SINGH, Joginder; KANWAR, Rameshwar S. Biological methods for textile dye removal from wastewater: A review. **Critical Reviews in Environmental Science and Technology**, v. 47, n. 19, p. 1836-1876, 2 out. 2017.

BIJU, Leena Merlin; POOSHANA, V.; SENTHIL KUMAR, P.; VEENA GAYATHRI, K.; ANSAR, Sabah; GOVINDARAJU, Saravanan. Treatment of textile wastewater containing mixed toxic azo dye and chromium (VI) by haloalkaliphilic bacterial consortium. **Chemosphere**, v. 287, p. 132280, jan. 2022.

BLAGA, Alexandra Cristina; TANASĂ, Alexandra Maria; CIMPOESU, Ramona; TATARU-FARMUS, Ramona-Elena; SUTEU, Daniela. Biosorbents Based on Biopolymers from Natural Sources and Food Waste to Retain the Methylene Blue Dye from the Aqueous Medium. **Polymers**, v. 14, n. 13, p. 2728, 3 jul. 2022.

BOURAS, Hadj Daoud; YEDDOU, Ahmed Réda; BOURAS, Nouredine; HELLEL, Djamila; HOLTZ, Michael D.; SABAOU, Nasseridine; CHERGUI, Abdelmalek; NADJEMI, Boubekour. Biosorption of Congo red dye by *Aspergillus carbonarius* M333 and *Penicillium glabrum* Pg1: Kinetics, equilibrium and thermodynamic studies. **Journal of the Taiwan Institute of Chemical Engineers**, v. 80, p. 915-923, nov. 2017.

BRÜSCHWEILER, Beat J.; MERLOT, Cédric. Azo dyes in clothing textiles can be cleaved into a series of mutagenic aromatic amines which are not regulated yet. **Regulatory Toxicology and Pharmacology**, v. 88, p. 214-226, ago. 2017.

CARMEN, Zaharia; DANIEL, Suteu. Textile Organic Dyes — Characteristics, Polluting Effects and Separation/Elimination Procedures from Industrial Effluents

— A Critical Overview. *In: Organic Pollutants Ten Years After the Stockholm Convention - Environmental and Analytical Update. [S.l.]: InTech, 2012.*

CHEN, Yi-An; CHIU, Wen-Chin; WANG, Tzu-Yun; WONG, Hin-Chung; TANG, Chung-Tao. Isolation and characterization of an antimicrobial *Bacillus subtilis* strain O-741 against *Vibrio parahaemolyticus*. **PLoS One**, v. 19, n. 4, p. e0299015, 2024.

CLARK, M. Fundamental principles of dyeing. **Woodhead Publishing Limited, 2011.**

DAS, Pranati; MEHRA, Anshita; SACHAN, Shashwati Ghosh; CHATTOPADHYAY, Soham. Screening different solid supports for *Pseudomonas aeruginosa* biofilm formation and determining its efficiency for decolorization and degradation of Congo red. **Archives of Microbiology**, v. 206, n. 10, p. 402, 11 set. 2024.

DHANKHAR, Poonam; DALAL, Vikram; MAHTO, Jai Krishna; GURJAR, Bhola Ram; TOMAR, Shailly; SHARMA, Ashwani Kumar; KUMAR, Pravindra. Characterization of dye-decolorizing peroxidase from *Bacillus subtilis*. **Archives of Biochemistry and Biophysics**, v. 693, p. 108590, out. 2020.

DIGGLE, Stephen P.; WHITELEY, Marvin. Microbe Profile: *Pseudomonas aeruginosa*: opportunistic pathogen and lab rat. **Microbiology (Reading, England)**, v. 166, n. 1, p. 30-33, jan. 2020.

DOS SANTOS, André B.; CERVANTES, Francisco J.; VAN LIER, Jules B. Review paper on current technologies for decolourisation of textile wastewaters: Perspectives for anaerobic biotechnology. **Bioresource Technology**, v. 98, n. 12, p. 2369–2385, set. 2007.

ESPINA, Giannina; CÁCERES-MORENO, Paulina; MEJÍAS-NAVARRETE, Guillermo; JI, Minghua; SUN, Junsong; BLAMEY, Jenny M. A novel and highly

active recombinant spore-coat bacterial laccase, able to rapidly biodecolorize azo, triarylmethane and anthraquinonic dyestuffs. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 170, p. 298–306, fev. 2021.

ESKANDARI, Fahimeh; SHAHNAVAZ, Bahar; MASHREGHI, Mansour. Optimization of complete RB-5 azo dye decolorization using novel cold-adapted and mesophilic bacterial consortia. **Journal of Environmental Management**, v. 241, p. 91-98, jul. 2019.

FUJITA, R.; JORENTE, M. A Indústria Têxtil no Brasil: uma perspectiva histórica e cultural. **Moda Palavra e periódico**, Florianópolis, SC, v. 8. p. 155, 2015

FAREED, Anum; ZAFFAR, Habiba; BILAL, Muhammad; HUSSAIN, Jamshaid; JACKSON, Colin; NAQVI, Tatheer Alam. Decolorization of azo dyes by a novel aerobic bacterial strain *Bacillus cereus* strain ROC. **PLOS ONE**, v. 17, n. 6, p. e0269559, 15 jun. 2022.

GALLEGOS-MONTERROSA, Ramses; KANKEL, Stefanie; GÖTZE, Sebastian; BARNETT, Robert; STALLFORTH, Pierre; KOVÁCS, Ákos T. *Lysinibacillus fusiformis* M5 induces increased complexity in *Bacillus subtilis* 168 colony biofilms via hypoxanthine. **Journal of Bacteriology**, v. 199, n. 22, 15 nov. 2017.

GHANAIM, Amira M.; MAHDY, Omima M. El; MOHAMED, Heba I. Biodegradation of azo dyes by *Aspergillus flavus* and its bioremediation potential using seed germination efficiency. **BMC microbiology**, v. 25, n. 1, p. 7, 9 jan. 2025.

GOMAA, Ola M.; IBRAHIM, Shaimaa Abd El Mohsen; MANSOUR, Nahla M. *Bacillus spizizenii* DN and microbial consortia biostimulation followed by gamma irradiation for efficient textile wastewater treatment. **Environmental science and pollution research international**, v. 30, n. 12, p. 33907-33916, mar. 2023.

GUARATINI, Cláudia C. I.; ZANONI, Maria Valnice B. Corantes têxteis. **Química Nova**, v. 23, n. 1, p. 71-78, fev. 2000.

HAQUE, Md. Manjurul; HAQUE, Md. Amdadul; MOSHARAF, Md. Khaled; MARCUS, Polash Kisku. Novel bacterial biofilm consortia that degrade and detoxify the carcinogenic diazo dye Congo red. **Archives of Microbiology**, v. 203, n. 2, p. 643-654, 6 mar. 2021.

IKRAM, Muhammad; NAEEM, Mohammad; ZAHOOR, Muhammad; RAHIM, Abdur; HANAFIAH, Marlia Mohd; OYEKANMI, Adeleke Abdulrahman; SHAH, Abdul Bari; MAHNASHI, Mater H.; AL ALI, Amer; JALAL, Naif A.; BANTUN, Farkad; SADIQ, Abdul. Biodegradation of Azo Dye Methyl Red by *Pseudomonas aeruginosa*: Optimization of Process Conditions. **International Journal of Environmental Research and Public Health**, v. 19, n. 16, p. 9962, 12 ago. 2022.

JAVAID, Rahat; QAZI, Umair Yaqub. Catalytic Oxidation Process for the Degradation of Synthetic Dyes: An Overview. **International Journal of Environmental Research and Public Health**, v. 16, n. 11, p. 2066, 11 jun. 2019.

JEBRIL, Nadia Mahmoud Tawfiq. Evaluation of two fixation techniques for direct observation of biofilm formation of *Bacillus subtilis* in situ, on Congo red agar, using scanning electron microscopy. **Veterinary world**, v. 13, n. 6, p. 1133-1137, jun. 2020.

KAPOOR, Riti Thapar; DANISH, Mohammed; SINGH, Ram Sharan; RAFATULLAH, Mohd; KHALIL, Abdul H. P. S. Exploiting microbial biomass in treating azo dyes contaminated wastewater: Mechanism of degradation and factors affecting microbial efficiency. **Journal of Water Process Engineering**, v. 43, p. 102255, out. 2021.

KHALIK, Wan Fadhilah; HO, Li-Ngee; ONG, Soon-An; WONG, Yee-Shian; YUSOFF, Nik Athirah; LEE, Sin-Li. Revealing the influences of functional groups in azo dyes on the degradation efficiency and power output in solar photocatalytic fuel cell. **Journal of Environmental Health Science & Engineering**, v. 18, n. 2, p. 769-777, dez. 2020.

KISHOR, Roop; PURCHASE, Diane; SARATALE, Ganesh Dattatraya; FERREIRA, Luiz Fernando Romanholo; HUSSAIN, Chaudhery Mustansar; MULLA, Sikandar I.; BHARAGAVA, Ram Naresh. Degradation mechanism and toxicity reduction of methyl orange dye by a newly isolated bacterium *Pseudomonas aeruginosa* MZ520730. **Journal of Water Process Engineering**, v. 43, p. 102300, out. 2021.

KURADE, Mayur B.; WAGHMODE, Tatoba R.; PATIL, Swapnil M.; JEON, Byong-Hun; GOVINDWAR, Sanjay P. Monitoring the gradual biodegradation of dyes in a simulated textile effluent and development of a novel triple layered fixed bed reactor using a bacterium-yeast consortium. **Chemical Engineering Journal**, v. 307, p. 1026-1036, jan. 2017.

LABAUVE, Annette E.; WARGO, Matthew J. Growth and Laboratory Maintenance of *Pseudomonas aeruginosa*. **Current Protocols in Microbiology**, v. 25, n. 1, maio 2012.

LADE, Harshad; GOVINDWAR, Sanjay; PAUL, Diby. Mineralization and Detoxification of the Carcinogenic Azo Dye Congo Red and Real Textile Effluent by a Polyurethane Foam Immobilized Microbial Consortium in an Upflow Column Bioreactor. **International journal of environmental research and public health**, v. 12, n. 6, p. 6894-918, 16 jun. 2015.

LELLIS, Bruno; FÁVARO-POLONIO, Cíntia Zani; PAMPHILE, João Alencar; POLONIO, Julio Cesar. Effects of textile dyes on health and the environment and bioremediation potential of living organisms. **Biotechnology Research and Innovation**, v. 3, n. 2, p. 275-290, jul. 2019.

LI, Nannan; WANG, Qirou; ZHOU, Jingna; LI, Shuqin; LIU, Junyu; CHEN, Haixia. Insight into the progress on natural dyes: Sources, structural features, health effects, challenges, and potential. **Molecules**, v. 27, n. 10, p. 3291, 20 maio 2022.

LYNG, Mark; KOVÁCS, Ákos T. Frenemies of the soil: *Bacillus* and *Pseudomonas* interspecies interactions. **Trends in Microbiology**, v. 31, n. 8, p. 845-857, ago. 2023.

MAURYA, Kanhaiya Lal; SWAIN, Ganesh; SONWANI, Ravi Kumar; VERMA, Ankur; SINGH, Ram Sharan. Bioremediation of Congo red in an anaerobic moving bed bioreactor: Process optimization and kinetic modeling. **Bioresource Technology Reports**, v. 16, p. 100843, dez. 2021.

MISHRA, Saurabh; MAITI, Abhijit. The efficacy of bacterial species to decolourise reactive azo, anthroquinone and triphenylmethane dyes from wastewater: a review. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 25, n. 9, p. 8286-8314, 30 mar. 2018.

MISHRA, Arti; TAKKAR, Simran; JOSHI, Naveen Chandra; SHUKLA, Smriti; SHUKLA, Kartikeya; SINGH, Anamika; MANIKONDA, Anusha; VARMA, Ajit. An integrative approach to study bacterial enzymatic degradation of toxic dyes. **Frontiers in Microbiology**, v. 12, 28 jan. 2022.

MOHSIN, Muhammad Zubair; OMER, Rabia; HUANG, Jiaofang; MOHSIN, Ali; GUO, Meijin; QIAN, Jiangchao; ZHUAN, Yingping. Advances in engineered *Bacillus subtilis* biofilms and spores, and their applications in bioremediation, biocatalysis, and biomaterials. **Synthetic and Systems Biotechnology**, v. 6, n. 3, p. 180-191, set. 2021.

MOYO, Senelisile; MAKHANYA, Bukisile P.; ZWANE, Pinkie E. Use of bacterial isolates in the treatment of textile dye wastewater: A review. **Heliyon**, v. 8, n. 6, p. e09632, jun. 2022.

MUKHERJEE, Ashis K.; BORDOLOI, Naba K. Biodegradation of benzene, toluene, and xylene (BTX) in liquid culture and in soil by *Bacillus subtilis* and *Pseudomonas aeruginosa* strains and a formulated bacterial consortium. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 19, n. 8, p. 3380-3388, 15 set. 2012.

NEIHSIAL, Roselin; SINGHA, Ningombam Anjana; SINGH, Arvind Kumar. Taxonomic diversity and predictive metabolic functions of a heavy metal tolerant multiple azo dye degrading bacterial consortium from textile effluents. **International Biodeterioration & Biodegradation**, v. 171, p. 105421, jul. 2022.

NGO, Anna Christina R.; QI, Jingxian; JURIC, Cindy; BENTO, Isabel; TISCHLER, Dirk. Identification of molecular basis that underlie enzymatic specificity of AzoRo from *Rhodococcus opacus* 1CP: A potential NADH:quinone oxidoreductase. **Archives of Biochemistry and Biophysics**, v. 717, p. 109123, mar. 2022.

NGO, Anna Christina R.; TISCHLER, Dirk. Microbial Degradation of Azo Dyes: Approaches and Prospects for a Hazard-Free Conversion by Microorganisms. **International Journal of Environmental Research and Public Health**, v. 19, n. 8, p. 4740, 14 abr. 2022.

OLADOYE, Peter Olusakin; BAMIGBOYE, Mutiat Oyedolapo; OGUNBIYI, Olutobi Daniel; AKANO, Mary Taiwo. Toxicity and decontamination strategies of Congo red dye. **Groundwater for Sustainable Development**, v. 19, p. 100844, nov. 2022.

PANDEY, Akanksha; PATHAK, Vinay Mohan; NAVNEET; RAJPU, Minakshi. A feasible approach for azo-dye (methyl orange) degradation by textile effluent isolate *Serratia marcescens* ED1 strain for water sustainability: AST identification, degradation optimization and pathway hypothesis. **Heliyon**, v. 10, n. 11, p. e32339, jun. 2024.

PATEL, Anil Kumar; SINGHANIA, Reeta Rani; ALBARICO, Frank Paolo Jay B.; PANDEY, Ashok; CHEN, Chiu-Wen; DONG, Cheng-Di. Organic wastes bioremediation and its changing prospects. **Science of the Total Environment**, v. 824, 10 jun. 2022.

PEIXOTO, Fabia Pinho; MARINHO, Gloria; RODRIGUES, Kelly. CORANTES TÊXTEIS: UMA REVISÃO. **HOLOS**, [S. l.], v. 5, p. 98-106, 2013. DOI: 10.15628/holos.2013.1239. Disponível em:

<https://www2.ifrn.edu.br/ojs/index.php/HOLOS/article/view/1239>. Acesso em: 14 fev. 2025

PERIYASAMY, Aravin Prince. A review of bioremediation of textile dye containing wastewater. **Cleaner Water**, v. 4, p. 100092, dez. 2025.

PETER, J. K.; VANDANA, P. Congo red dye decolourization by partially purified laccases from *Pseudomonas aeruginosa*. **International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences**, v. 3, n. 9, p. 105–115, 2014. Disponível em: <https://www.ijcmas.com/vol39/Jyotsna%20Kiran%20Peter%20and%20Priyam%20Vandana.pdf>. Acesso em: 30 jul. 2025.

POPESCU, Irina; LOGANATHAN, A. Kiripuvaney; GRAHAM, Hailey R.; AVIS, Tyler J. Antifungal activity of *Bacillus velezensis* and *Pseudomonas azotoformans* isolated from compost tea against anthracnose (*Colletotrichum* spp.) on strawberry fruit. **Plant Pathology**, v. 73, n. 9, p. 2419-2428, 6 dez. 2024.

QUEK, E.; TING, Y.; TAN, H. sp. F92 immobilized on polyurethane foam shows ability to degrade various petroleum products. **Bioresource Technology**, v. 97, n. 1, p. 32-38, jan. 2006.

RATH, M.; MITCHELL, T. R.; GOLD, S. E. Volatiles produced by *Bacillus mojavensis* RRC101 act as plant growth modulators and are strongly culture-dependent. **Microbiological Research**, v. 208, p. 76-84, mar. 2018.

REDDY, A. V.; RAO, P. S.; SINGH, A. K.; SARKAR, A. Investigations on natural surfactant obtained from soap-nuts through spectrophotometric interactions with Congo red and comparison with commercial surfactants. **Asian Journal of Chemistry**, v. 31, n. 4, p. 909-915, 2019. Disponível em: <https://oaji.net/articles/2020/7501-1596966860.pdf>. Acesso em: 22 fev. 2025.

RENDÓN-CASTRILLÓN, Leidy; RAMÍREZ-CARMONA, Margarita; OCAMPO-LÓPEZ, Carlos; GONZÁLEZ-LÓPEZ, Federico; CUARTAS-URIBE, Beatriz; MENDOZA-ROCA, José Antonio. Efficient bioremediation of indigo-dye

contaminated textile wastewater using native microorganisms and combined bioaugmentation-biostimulation techniques. **Chemosphere**, v. 353, p. 141538, abr. 2024

RUNGSIHIRANRUT, Adisan; MUANGCHINDA, Chanokporn; NALOKA, Kallayanee; DECHSAKULWATANA, Chutiwan; PINYAKONG, Onruthai. Simultaneous immobilization enhances synergistic interactions and crude oil removal of bacterial consortium. **Chemosphere**, v. 340, p. 139934, nov. 2023.

SAEED, Muhammad Usama; HUSSAIN, Nazim; SUMRIN, Aleena; SHAHBAZ, Areej; NOOR, Saman; BILAL, Muhammad; ALEYA, Lotfi; IQBAL, Hafiz M. N. Microbial bioremediation strategies with wastewater treatment potentialities – A review. **Science of The Total Environment**, v. 818, p. 151754, abr. 2022.

SARATALE, R. G.; SARATALE, G. D.; CHANG, J. S.; GOVINDWAR, S. P. Bacterial decolorization and degradation of azo dyes: A review. **Journal of the Taiwan institute of Chemical Engineers**, v. 42, p. 138-157, 2011.

SARIM, Khan Mohd; KUKREJA, K.; SHAH, I.; CHOUDHARY, C. K. Biosorption of direct textile dye Congo red by *Bacillus subtilis* HAU-KK01. **Bioremediation Journal**, v. 23, n. 3, p. 185-195, 3 jul. 2019.

SHANKARLING, Ganapati S.; DESHMUKH, Pratik P.; JOGLEKAR, Amruta R. Process intensification in azo dyes. **Journal of Environmental Chemical Engineering**, v. 5, n. 4, p. 3302-3308, ago. 2017.

SHABBIR, Md.; SINGH, Mukesh; MAITI, Swati; KUMAR, Sunil; SAHA, Samar K. Removal enactment of organo-phosphorous pesticide using bacteria isolated from domestic sewage. **Bioresource Technology**, v. 263, p. 280-288, set. 2018.

SINGH, Asha Lata; CHAUDHARY, Sneha; KUMAR, Sunil; KUMAR, Aniruddha; SINGH, Achuit; YADAV, Akhilesh. Biodegradation of Reactive Yellow-145 azo dye using bacterial consortium: A deterministic analysis based on degradable

metabolite, phytotoxicity and genotoxicity study. **Chemosphere**, v. 300, p. 134504, ago. 2022.

SU, Yuan; LIU, Chuan; FANG, Huan; ZHANG, Dawei. *Bacillus subtilis*: a universal cell factory for industry, agriculture, biomaterials and medicine. **Microbial Cell Factories**, v. 19, n. 1, p. 173, 3 dez. 2020.

ŞEN, Seda; KORKMAZ, Filiz; KILIÇ, Nur Koçberber. Biosorption of reactive dyes by novel bacterium *Leclercia adecarboxylata*: complete removal of Reactive Black 5 and molecular insights into the adsorption mechanism. **Water Environment Research**, v. 97, n. 6, 9 jun. 2025.

TELKE, Amar A.; JOSHI, Swati M.; JADHAV, Sheetal U.; TAMBOLI, Dhawal P.; GOVINDWAR, Sanjay P. Decolorization and detoxification of Congo red and textile industry effluent by an isolated bacterium *Pseudomonas* sp. SU-EBT. **Biodegradation**, v. 21, n. 2, p. 283-296, 23 abr. 2010.

TOMAR, Tanu; KAHANDAWALA, Nethmini; KAUR, Jasminepreet; THOUNAOJAM, Liona; CHOUDHARY, Ishika; BERA, Surojit. Bioremediation of synthetic dyes from wastewater by using microbial nanocomposites: An emerging field for water pollution management. **Biocatalysis and Agricultural Biotechnology**, v. 51, p. 102767, ago. 2023.

TYAGI, Meenu; DA FONSECA, M. Manuela R.; DE CARVALHO, Carla C. C. R. Bioaugmentation and biostimulation strategies to improve the effectiveness of bioremediation processes. **Biodegradation**, v. 22, n. 2, p. 231-241, 3 abr. 2011.

VALLI NACHIYAR, C.; RAKSHI, A. D.; SANDHYA, S.; JEBASTA, N. Britlin Deva; NELLORE, Jayshree. Developments in treatment technologies of dye-containing effluent: A review. **Case Studies in Chemical and Environmental Engineering**, v. 7, p. 100339, jun. 2023.

WANG, Rui; LI, Huanan; LIU, Yanfang; CHEN, Jianhui; PENG, Fang; JIANG, Zhengbing; LIU, Jiashu; SONG, Huiting. Efficient removal of azo dyes by

Enterococcus faecalis R1107 and its application in simulated textile effluent treatment. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 238, p. 113577, jun. 2022.

WU, Bo; XIU, Jianlong; YU, Li; HUANG, Lixin; YI, Lina; MA, Yuandong. Degradation of crude oil in a co-culture system of *Bacillus subtilis* and *Pseudomonas aeruginosa*. **Frontiers in Microbiology**, v. 14, 12 maio 2023.

YANEVA, Z. L.; GEORGIEVA, N. V. Insights into Congo red adsorption on agro-industrial materials – spectral, equilibrium, kinetic, thermodynamic, dynamic and desorption studies: a review. **International Review of Chemical Engineering**, v. 4, p. 127-146, 2012.

ZHANG, Ting; ZHANG, Houjin. Microbial Consortia Are Needed to Degrade Soil Pollutants. **Microorganisms**, v. 10, n. 2, p. 261, 24 jan. 2022.

ZHAO, Qian; CAO, Jianmin; CAI, Xianjie; WANG, Jie; KONG, Fanyu; WANG, Dongkun; WANG, Jing. Antagonistic activity of volatile organic compounds produced by acid-tolerant *Pseudomonas protegens* CLP-6 as biological fumigants to control tobacco bacterial wilt caused by *Ralstonia solanacearum*. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 89, n. 2, 28 fev. 2023.