



AVALIAÇÃO DA TOXICIDADE AQUÁTICA À *SACCHAROMYCES CEREVISIAE* DO ESGOTO BRUTO E EFLUENTE TRATADO DA ETE DO IFMG CAMPUS GOVERNADOR VALADARES – ESTUDO DE CASO

Vítor Moisés Gonçalves Pereira¹; Brenda Coelho da Silva²; Deborah Neide de Magalhães Praxedes³;
Karina Bicalho Ervilha do Nascimento Campos⁴.

1 Bolsista PIBIC-Jr IFMG, Estudante do Curso Técnico em Meio Ambiente Integrado ao Ensino Médio, IFMG *Campus* Governador Valadares, Governador Valadares - MG; vitormoises12345678@gmail.com

2 Bolsista PIBIC IFMG, Graduanda em Engenharia Ambiental e Sanitária, IFMG *Campus* Governador Valadares, Governador Valadares – MG

3 Orientadora, Pesquisadora do IFMG, *Campus* Governador Valadares; deborah.magalhaes@ifmg.edu.br

4 Técnica de Laboratório, IFMG *Campus* Governador Valadares, Governador Valadares – MG; karina.campos@ifmg.edu.br

RESUMO

Este estudo avalia a ecotoxicidade do esgoto bruto e tratado da Estação de Tratamento de Esgoto (ETE) do Instituto Federal de Minas Gerais – Campus Governador Valadares (IFMG/GV), utilizando-se como organismo-teste a levedura *Saccharomyces cerevisiae*. A metodologia constou da montagem de soluções de sulfato de cobre (CuSO₄) para avaliação da sensibilidade da levedura e com amostras de esgoto bruto e tratado na ETE do IFMG-GV, segundo o protocolo de Bidoia et al. (2012) adaptado. Os resultados parciais mostraram que a levedura foi sensível ao CuSO₄ e que os esgotos bruto e tratado apresentaram toxicidade discreta à levedura, porém de forma diferente: ora o esgoto bruto foi mais tóxico, ora o tratado, sendo necessários testes estatísticos para averiguar a significância dos resultados. Por meio das leituras realizadas obteve-se resultados parciais em relação ao nível de ecotoxicidade do esgoto, notando-se que a concentração de células mortas no esgoto é extremamente baixa, havendo amostras sem a presença de células mortas, porém essa baixa concentração de células mortas se expande as células vivas, havendo um número reduzido dessas células nas amostras de esgoto, levando-se a hipótese de uma toxicidade crônica no esgoto que inibiria a reprodução das células e por consequência diminuiria sua concentração. Com este estudo espera-se ampliar o conhecimento a respeito da qualidade da água tratada da ETE e viabilizar estudos futuros que tangem a mesma área de pesquisa.

PALAVRAS-CHAVE: Levedura. Ecotoxicologia aquática. Esgoto sanitário.

INTRODUÇÃO:

XII Seminário de Iniciação Científica do IFMG – 02 a 04 de dezembro de 2024, Planeta IFMG 2024.



Nos últimos anos o Brasil vem passando por um processo intensificado de urbanização e aumento da densidade populacional em zonas urbanas, de forma concomitante a esse aumento a necessidade por saneamento básico nessas zonas vem tendo um crescimento exponencial (Júnior, 2009), que não é sanado, principalmente o tratamento de esgoto sendo ele uma das áreas mais precária do saneamento do país. Por essa razão a presença de uma ETE no IFMG/GV torna o *Campus* um importante polo de estudos na área do saneamento, estudando a qualidade do esgoto tratado, as maneiras de se tratar o esgoto e formas eficientes de ampliar o serviço de tratamento de esgoto na região. Este estudo pretende analisar a ecotoxicidade do esgoto bruto e tratado pela ETE da instituição utilizando células da levedura *Saccharomyces cerevisiae* como organismos-teste, analisando a sensibilidade dessas leveduras ao esgoto bruto e a possibilidade de remoção da toxicidade no processo de tratamento.

METODOLOGIA

A pesquisa feita através de uma análise quantitativa, foi realizada no laboratório de química do IFMG/GV. Foram feitos testes de toxicidade com a levedura *S. cerevisiae* segundo o protocolo de Bidoia et al., 2012, com adaptações.

A princípio para a preparação da suspensão de leveduras foram utilizados 25g de fermento biológico que foram diluídos em um béquer de 50 ml e transferido por meio de pipetas automática para tubos Falcon e centrifugados por 5 minutos a uma velocidade de 4000 rpm na Centrífuga QUIMIS 9222T108. O precipitado formado foi ressuspenso em água destilada e novamente centrifugado, processo repetido até que as impurezas na suspensão, nutrientes e entre outras substâncias, fossem eliminadas. Para obter o número de células foi realizada a contagem com auxílio de uma câmara de Neubauer, um contador manual e do microscópio óptico NOVA OPTICAL SYSTEMS com aumento de 400 vezes.

A contagem apenas considerava células vivas, portanto para diferenciar as células mortas das vivas utilizou-se solução de azul de metileno (0,02% de azul de metileno e 2% de citrato de sódio) para corar as células mortas.

Para testar a sensibilidade das leveduras, foram utilizadas soluções seriadas de Sulfato de Cobre (CuSO_4) – substância com toxicidade conhecida, nas concentrações de 1,0, 2,0, 3,0, 4,0 e 5,0 mg/L, preparadas a partir de uma solução-estoque de 10 mg/L. Utilizando-se de pipetas

volumétricas e automáticas de diversos volumes, as soluções-testes foram preparadas em tubos de ensaio previamente identificados em triplicata, contendo 9,0 mL da solução de CuSO_4 e 1,0 mL da suspensão de leveduras, e tubo controle com 9,0 mL de água destilada e 1,0 mL da suspensão. O teste foi realizado em triplicata para cada concentração e a preparação se deu como no Quadro 1, a seguir:

Quadro 1 - Preparo da solução para o teste de sensibilidade com leveduras *S. cerevisiae*

Concentração da solução-teste (mg/L)	Volume de solução-estoque CuSO_4 10mg/L (mL)	Volume de água destilada (mL)	Vol. suspensão de <i>S. cerevisiae</i>	Vol. Total	Concentração final mg/L
Controle	0	9,0	1,0	10,0	0,0
1,0	1,0	8,0	1,0	10,0	1,0
2,0	2,0	7,0	1,0	10,0	2,0
3,0	3,0	6,0	1,0	10,0	3,0
4,0	4,0	5,0	1,0	10,0	4,0
5,0	5,0	4,0	1,0	10,0	5,0

Fonte: Elaborado pelo autor.

Após a montagem das soluções-testes elas foram dispostas de forma aleatória em dois béqueres de 250 ml, cobertos com papel filme e incubados em uma estufa MARQLABOR Modelo IB-SHAKER/R, a uma temperatura constante de 28°C com agitação de 175 rpm, por um período de 3 dias. Ao final desse período, a leitura do número de células vivas foi realizada em cada tubo, utilizando-se câmara de Neubauer, contador manual e microscópio óptico NOVA OPTICAL SYSTEMS com aumento de 400 vezes. Para realizar a contagem foi preparada uma mistura com 0,5 ml da solução de azul de metileno e 0,5 ml de solução-teste, mistura padrão para a contagem das células de todas as soluções. Até o momento da submissão deste trabalho, foram feitos dois ensaios de sensibilidade.

Para os ensaios com esgoto bruto e tratado, ou entrada e saída da ETE, foi seguido o mesmo protocolo, porém, sem diluição das amostras, ou seja, 9,0 mL de esgoto bruto ou tratado e 1,0 mL de suspensão de *S. cerevisiae*, em triplicada, mais o controle com água destilada.

Até o momento da submissão deste trabalho, foram feitas três campanhas de testes com esgoto bruto e tratado.

RESULTADOS PARCIAIS

Os resultados parciais dos testes de sensibilidade e com esgoto bruto e tratado na ETE do IFMG-GV são mostrados nas tabelas 1 e 2.

Tabela 1 – Média do número de células de *S. cerevisiae* por mL (n=3) nos testes realizados com CuSO₄

Solução-teste	Concentração de CuSO ₄ mg/L	Número de células/mL	
		Teste 01/10/24	Teste 25/10/24
Controle	0,0	2,94x10 ⁷	1,87x10 ⁷
A	1,0	2,44x10 ⁷	1,20x10 ⁷
B	2,0	2,04x10 ⁷	1,48x10 ⁷
C	3,0	1,91x10 ⁷	1,38x10 ⁷
D	4,0	1,85x10 ⁷	1,12x10 ⁷
E	5,0	1,82x10 ⁷	9,33x10 ⁶

Fonte: Elaborado pelo autor.

Os resultados dos testes de sensibilidade de *S. cerevisiae* ao CuSO₄ mostraram que a levedura respondeu às diferentes diluições, com uma queda gradativa no número de células/ml em cada concentração. Esta resposta se apresentou de forma discreta, e como próximos passos, deveremos aumentar a diferença entre as diluições para desenhar uma curva dose-resposta ao CuSO₄.

Tabela 2 – Média do número de células de *S. cerevisiae* por mL (n=3) nos testes realizados com esgoto bruto e tratado na ETE do IFMG-GV

Solução-teste	Número de células/mL		
	Teste 04/10/2024	Teste 14/10/24	Teste 25/10/24
Controle	2,23x10 ⁷	1,74x10 ⁷	1,34x10 ⁷
Esgoto Bruto	1,78x10 ⁷	1,60x10 ⁷	9,43x10 ⁶
Esgoto Tratado	2,19x10 ⁷	1,58x10 ⁷	8,60x10 ⁶

Fonte: Elaborado pelo autor.

Com relação à toxicidade do esgoto, os resultados não apresentaram um padrão, ou seja, ora a contagem de células vivas no esgoto bruto foi maior, indicando menor toxicidade, ora foi menor, indicando maior toxicidade em relação ao esgoto tratado. É preciso, ainda, rodar testes estatísticos para verificar se essa diferença é significativa entre as amostras e com relação ao controle.



Com as leituras de concentração celular foi possível observar que as soluções-finais com esgoto apresentaram menor número de células mortas que nas soluções-testes com CuSO_4 e dos grupos controle, porém o número de células vivas era menor em comparação ao controle, podendo haver uma toxicidade crônica no esgoto que impede a reprodução adequada das células. No entanto essa toxicidade não mataria as células, por essa razão houve poucas células nas soluções-finais com esgoto, mas não havia presença de células mortas.

CONCLUSÕES

Os resultados preliminares mostram resposta da levedura ao CuSO_4 , necessitando aumentar a distância entre as concentrações para obtermos uma curva dose-resposta satisfatória. Os esgotos bruto e tratado apresentaram discreta diferença no número de células, em relação ao controle, e não apresentaram padrão de resposta, em que espera que o esgoto bruto seja mais tóxico que o tratado.

Portanto é necessário mais estudos e um maior número de dados para que seja possível aferir conclusões mais concretas a respeito da toxicidade do esgoto bruto e tratado do Campus. Espera-se que com um maior número de leituras e realização de outros testes o motivo para a diminuição da concentração celular no esgoto se torne mais claro, no entanto, com os dados atuais já é possível notar uma diferença em relação ao nível de toxicidade do CuSO_4 e do esgoto bruto e tratado.

REFERÊNCIAS

BIDOIA, Ederio Dino et al. **Ecotoxicologia: métodos e aplicações**. Rio Claro: Clube de Autores, 2012.

JUNIOR, A. **Desafios para a universalização dos serviços de água e esgoto no Brasil**. Rev Panam Salud Publica, Fortaleza, v. 6, n. 25, p. 548-556, 2009.

QUEIROZ, B. Implementação de testes ecotoxicológicos no Laboratório de Química do Instituto Federal de Minas Gerais - Campus Governador Valadares. Monografia (Graduação em Tecnologia em Gestão Ambiental) - Instituto Federal de Minas Gerais - Campus Governador Valadares, p. 13. 2015.