



BIORREMEDIAÇÃO AMBIENTAL: USO DE LEVEDURA PARA REMOÇÃO DE METAIS PESADOS DE EFLUENTES

Júlia Batista Severo¹

Ruan Carlos Rocha Alves²

Guillermo Arturo Flores Paredes³

Matheus Legnani Wilken⁴

Emanuelle Reis de Souza⁵

Fabiana da Conceição Pereira Tiago⁶

Ecologia Ambiental

Resumo

Com a má gestão de resíduos industriais é evidenciado um cenário de grande impacto ambiental causado pela contaminação por metais tóxicos, que podem gerar danos, muitas vezes, irreversíveis ao meio ambiente. Por esse motivo, há uma crescente demanda pelo desenvolvimento de formas eficazes de remediação, que visam solucionar o problema gerado pelos resíduos que contêm metais tóxicos e muitas vezes recebem destinação inadequada. Tendo isso em vista, o presente projeto teve como objetivo simular uma amostra de efluente contaminado por sulfato de cobre, e avaliar a eficiência da biorremediação por meio da levedura *Saccharomyces cerevisiae*. Para isso, foi realizado o procedimento de cultivo da linhagem selvagem da levedura no meio YPG, e a simulação de uma amostra de efluente contaminada com sulfato de cobre. A amostra, já em contato com a levedura, foi posta em um agitador, e foi feita a retirada de alíquotas em três momentos diferentes para a determinação da concentração de cobre através da espectrometria de massa. Observou-se que, além da concentração de cobre diminuir ao longo do tempo, houve também a precipitação do metal, evidenciando a eficácia do uso da levedura *S. cerevisiae* na biorremediação de efluentes contaminados por metais tóxicos.

Palavras-chave: Biorremediação; Levedura; Metais pesados; Cobre.

¹ Discente em Engenharia Ambiental e Sanitária – CEFET-MG, Centro Federal de Educação Tecnológica de Minas Gerais, juliabsevero@gmail.com

² Discente em Engenharia Ambiental e Sanitária – CEFET-MG, Centro Federal de Educação Tecnológica de Minas Gerais, ruancralves@gmail.com

³ Discente em Engenharia Ambiental e Sanitária – CEFET-MG, Centro Federal de Educação Tecnológica de Minas Gerais, guillermo911.gaf@gmail.com

⁴ Discente em Engenharia Ambiental e Sanitária – CEFET-MG, Centro Federal de Educação Tecnológica de Minas Gerais, matheuslegw@gmail.com

⁵ Discente em Engenharia Ambiental e Sanitária – CEFET-MG, Centro Federal de Educação Tecnológica de Minas Gerais, manureisdesouza@gmail.com

⁶ Docente – CEFET-MG, Centro Federal de Educação Tecnológica de Minas Gerais, fabianatiago@cefetmg.br



INTRODUÇÃO

Na contemporaneidade, a má gestão de resíduos de uma empresa pode acarretar em uma grande contaminação de uma matriz ambiental como água ou solo. No Brasil, a preocupação com a geração de resíduos torna-se mais evidente em regiões que apresentam grandes concentrações industriais. A elevada geração de resíduos considerados perigosos tem demandado cada vez mais investimento em métodos eficazes para a solução de questões referentes ao tratamento e destinação final desses poluentes (OLIVER et. al., 2008).

Dentre esses resíduos perigosos, destacam-se os metais pesados, que possuem caráter bioacumulativo, aumentando as concentrações de forma gradativa ao longo da cadeia trófica, causando grandes desequilíbrios ecológicos, além de danos aos seres vivos (BAIRD et. al., 2011). Um dos metais pesados que podem ser descartados nestes processos de poluição é o cobre. A exposição a níveis excessivos deste metal pode resultar em vários efeitos adversos à saúde, como danos ao fígado e aos rins, anemia, imunotoxicidade e desenvolvimento de toxicidade. Os sintomas mais comuns associados à exposição a altas concentrações de cobre incluem disfunção intestinal, seguida de náuseas, vômitos e dor abdominal. Em casos de superexposição ao cobre e outros elementos, foi observado o risco de desenvolvimento de câncer de pulmão e estômago (DORSEY, 2004).

A resolução CONSEMA n° 355/2017 evidencia os parâmetros (poluentes, dentre eles metais tóxicos) com seus respectivos limites de emissão (padrão de emissão), deixando explícito que a quantidade máxima permitida é de 0,5 mg/L para o cobre.

Para solucionar o problema gerado pela intensidade de resíduos que contém metais tóxicos que são despejados indevidamente na natureza, a biorremediação é uma opção eficaz. Utilizando a capacidade metabólica de certos microrganismos em absorver metais pesados por meio do processo de bioabsorção, é possível mitigar os danos causados por esse tipo de descarte inadequado (JENA et al., 2022; SOARES et al., 2002; SUN et al., 2015).

Segundo Gaylarde et al. (2005), a biorremediação é um processo no qual

Realização



organismos vivos, como plantas ou microrganismos (bactérias e leveduras), são utilizados para remover ou reduzir poluentes no ambiente. Essa abordagem biotecnológica de remediação tem sido extensivamente estudada e recomendada pela comunidade científica atual como uma alternativa viável para tratar ambientes contaminados.

Wang et al. (2006) destaca que o uso da levedura *Saccharomyces cerevisiae* como biorremediador é eficiente para a remoção de diversos metais tóxicos, como o cobre, além de ser considerado um processo de baixo custo, já que a levedura é um subproduto de fermentações industriais, e pode ser obtida em grandes quantidades. Em um estudo realizado por Nascimento et al. (2019), verificou-se que a levedura *S. cerevisiae* demonstrou uma eficiência de remoção do Cu(II) de 76%, ressaltando sua eficácia como um biorremediador.

Dessa forma, esse trabalho teve como objetivo simular uma amostra de efluente contaminado por um metal tóxico, usando como referência o sulfato de cobre, e avaliar a eficiência do processo de biorremediação, usando a levedura *S. cerevisiae*.

METODOLOGIA

Este estudo foi conduzido no laboratório do Centro de Desenvolvimento da Tecnologia Nuclear (CDTN/CNEN), localizado em Belo Horizonte, Minas Gerais, e teve como base os experimentos realizados por RIBEIRO (2013).

Com o objetivo de avaliar a eficiência da biorremediação do cobre, foi utilizada uma linhagem selvagem da levedura *Saccharomyces cerevisiae* (BY4741). O experimento consistiu em duas etapas: o cultivo da levedura e a adição subsequente de uma solução de sulfato de cobre para avaliação da capacidade de biorremediação.

Preparo do meio de cultura YPG (Yeast-Peptone-Glucose), para cultivo da levedura

Para o preparo do YPG, foram pesados 2,0 g de extrato de levedura, 4,0 g de peptona e 4,0 g de glicose. Após a pesagem, os compostos do meio foram diluídos para

Realização





200 mL, em um frasco Erlenmeyer de 1,0 L. Em seguida, o meio de cultura foi esterilizado, empregando o calor úmido (autoclavado a 121°C por 20 minutos).

Cultivo da levedura

Foi adicionado 1 ml da levedura *Saccharomyces cerevisiae* ao meio YPG esterilizado, e submetido a agitação a 150 rpm, por 24 horas, para o crescimento da levedura. Após o crescimento da levedura, foram realizadas análises microscópicas para verificar a pureza da cultura. Em seguida, a cultura de levedura foi centrifugada para separar o sobrenadante e o precipitado. O precipitado foi transferido para um erlenmeyer contendo 200 mL do meio YNB (Base de nitrogênio para levedura) (figura 1), enquanto o sobrenadante foi descartado.

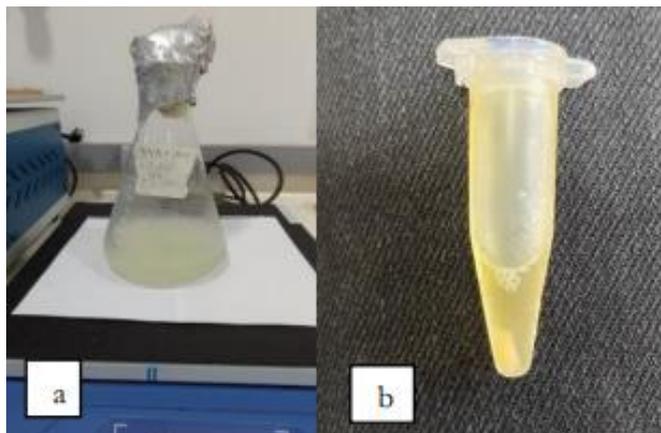


Figura 1. (a) Meio YNB junto com as células e o CuSO_4 (b) Células de *Saccharomyces cerevisiae*

Preparo da solução de sulfato de cobre

Conforme mencionado por SHI (2020), foi preparada uma solução de 1,0 mM de Sulfato de Cobre para os testes, visando manter a viabilidade celular da levedura. Para preparar essa solução, foi pesado 49,94 mg de $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ que foi diluído em 200 mL de água, simulando assim uma amostra de efluente contaminado.



Testes de Biorremediação

Depois de 24 horas de crescimento da levedura *Saccharomyces cerevisiae*, foi adicionada uma solução previamente preparada de 1,0 mMolar de sulfato de cobre e submetido a agitação de 150 rpm. Alíquotas de 1 mL da mistura foram coletadas logo após o começo da agitação, depois de 3 horas e 48 horas, para avaliação da eficiência de absorção do metal pela levedura.

Análise da concentração de cobre nas amostras

As amostras coletadas em 0, 3 e 48 horas foram centrifugadas e os sobrenadantes foram coletados para a determinação da concentração de cobre. Todas as amostras foram analisadas em triplicata, no espectrômetro de massa com fonte de plasma, ICP-MS, Agilent 7700, do Departamento de Química da UFMG.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados obtidos das análises das concentrações de cobre nas amostras estão apresentados na tabela 1

Tabela 1. Concentração de Cu^{+2} nas amostras, obtidos pela técnica ICP-MS.

| Tempo de agitação (h) | Concentração de Cu^{+2} (mg/L) |
|-----------------------|---|
| 0 | 31,0±4,3 |
| 3 | 25,2±4,9 |
| 48 | 21,5±3,0 |

A partir dos dados obtidos verifica-se que a concentração de cobre na amostra diminui ao longo do tempo quando comparado com o tempo de agitação de 0 horas, evidenciando a efetividade da levedura no processo de biorremediação (figura 2).

Realização

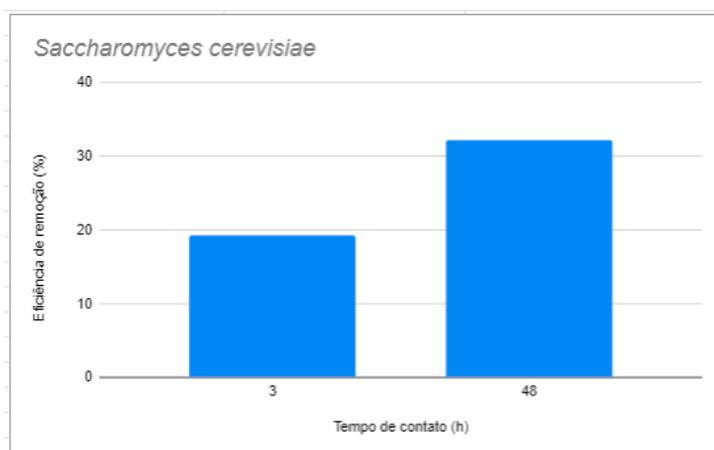


Figura 2. Eficiência da remoção de Cu^{+2} em relação ao tempo de agitação da amostra.

A diminuição da concentração de cobre por meio da cepa *Saccharomyces cerevisiae* BY4741 é resultado do processo de bioacumulação. A bioacumulação é o processo pelo qual substâncias químicas, como poluentes ou metais pesados, se acumulam nos tecidos de organismos vivos ao longo do tempo. Essa acumulação ocorre quando a taxa de absorção dessas substâncias é maior do que a taxa de eliminação. Esse processo envolve duas etapas principais. Inicialmente, o metal é adsorvido pela superfície celular, um processo conhecido como bioadsorção passiva. Em seguida, os íons metálicos são transportados para o interior da célula através da bioadsorção ativa. Posteriormente, esses íons podem ser transformados em outras espécies ou formar um precipitado metálico (figura 3) (BAHAFID et al., 2017).



Figura 3. Esquema das interações dos íons metálicos com as células da levedura

Fonte do autor

Realização



Em seu estudo, Nascimento et al. (2019) demonstrou que diversos fatores podem influenciar na eficiência da levedura *Saccharomyces cerevisiae* no processo de biorremediação do cobre. Alguns desses fatores são o valor de pH, a concentração do metal na amostra e o tempo de contato. Assim, apesar dos estudos preliminares mostrarem a eficiência da levedura como um biorremediador, o processo poderia ter obtido mais eficiência, visto que outros fatores não foram levados em consideração.

CONCLUSÕES

Dessa forma, os resultados preliminares da biorremediação do cobre pela levedura *Saccharomyces cerevisiae* BY474, mostraram que a utilização da mesma como agente de descontaminação de efluentes líquidos foi eficaz, uma vez que a adição dela em um meio contaminado provocou a diminuição da concentração do poluente.

Uma das limitações do projeto foi a falta de avaliação de outros parâmetros, como o pH, e a variação da concentração do metal na amostra. A realização do experimento levando em consideração a variação desses outros parâmetros permite uma maior segurança em relação a eficiência da *Saccharomyces cerevisiae* em cada caso.

A aplicabilidade da levedura evidencia não somente a diminuição da concentração do metal pesado no efluente líquido, mas também sua precipitação, o que permite a recuperação do metal para outras aplicações (BAHAFID et al., 2017).

AGRADECIMENTOS

Ao Centro Federal de Tecnologia de Minas Gerais, CEFET-MG, pela oportunidade de produzir conhecimento. Ao CDTN pela utilização do espaço de pesquisa. À pesquisadora Maria José Neves pelo auxílio e pelo conhecimento. À pesquisadora Juliana Batista da Silva por apresentar o CDTN, onde o trabalho foi realizado. À professora Fabiana da Conceição Pereira Tiago pelo conhecimento transmitido e pela oportunidade de realizar um projeto como esse.

Realização





REFERÊNCIAS

BAHAFID, Wifak *et al.* Yeast Biomass: an alternative for bioremediation of heavy metals. **Yeast - Industrial Applications**, [S.L.], v. 559, p. 269-289, 2017. InTech.
<http://dx.doi.org/10.5772/intechopen.70559>.

BAIRD, Colin; CANN, Michael. **Química Ambiental**. 4. ed. Porto Alegre: Bookman, 2011.

CONSEMA. CONSELHO ESTADUAL DO MEIO AMBIENTE. Resolução nº 355 de 19 de julho de 2017. Critérios e padrões de emissão de efluentes líquidos para as fontes geradoras que lancem seus efluentes em águas superficiais no Estado do Rio Grande do Sul.

DORSEY, Alfred; INGERMAN, Lisa. Toxicological profile for copper. 2004. Disponível em: <https://stacks.cdc.gov/view/cdc/7006>. Acesso em: 5 jul. 2023.

FARIAS, Yaci Pira Tatá Maria Marcondes. Aplicação de microorganismos na remediação de áreas contaminadas por metais pesados. 2008. IN: XVI JORNADA DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA, CENTRO DE TECNOLOGIA MINERAL – CETEM/MCT.

GAYLARDE, Christine Claire; BELLINASSO, Maria de Lourdes; MANFIO, Gilson Paulo. Biorremediação: aspectos biológicos e técnicos da biorremediação de xenobióticos. **Biotecnologia: Ciência & desenvolvimento**, Brasília, v. 34, n. 8, p. 36-43, 2005.

JENA, Preetam Sagar; PRADHAN, Abanti; NANDA, Swayam Prakash; DASH, Aditya Kishore; NAIK, Brundabana. Biosorption of heavy metals from wastewater using *Saccharomyces cerevisiae* as a biosorbent: a mini review. **Materials Today: Proceedings**, [S.L.], v. 67, p. 1140-1146, 2022. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.matpr.2022.07.306>.

NASCIMENTO, Jéssica M. do *et al.* Biosorption Cu (II) by the yeast *Saccharomyces cerevisiae*. **Biotechnology Reports**, [S.L.], v. 21, n. 4, mar. 2019. Elsevier BV.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.btre.2019.e00315>

OLIVIER, Samantha; DA SILVA, Valdinete Lins; DA MOTTA SOBRINHO, Mauricio Alves. Resíduos Industriais ricos em metais pesados e implicações ambientais associadas. **Brazilian Journal of Environmental Sciences (RBCIAMB)**, n. 09, p. 4-8, 2008. Disponível em: https://www.rbciamb.com.br/Publicacoes_RBCIAMB/article/view/418. Acesso em: 5 jul. 2023.

RIBEIRO, Frederico Haddad. Avaliação da remoção de cádmio e resposta ao estresse oxidativo em linhagens de *Saccharomyces cerevisiae* exposta ao metal. 2013. 174 f. Tese (Doutorado) - Curso de Ciências Biológicas (Microbiologia), Universidade Federal de Minas Gerais, [S.L.], 2013. Disponível em: https://sucupira.capes.gov.br/sucupira/public/consultas/coleta/trabalhoConclusao/viewTrabalhoConclusao.jsf?popup=true&id_trabalho=1121967. Acesso em: 19 jul. 2023.

SHI, Hua; JIANG, Yunhui; YANG, Yang; PENG, Yougong; LI, Chenghua. Copper metabolism in *Saccharomyces cerevisiae*: an update. **Biometals**, [S.L.], v. 34, n. 1, p. 3-14, 30 out. 2020. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1007/s10534-020-00264-y>.

Realização



SOARES, Eduardo V. *et al.* Use of *Saccharomyces cerevisiae* for Cu²⁺ removal from solution: the advantages of using a flocculent strain. **Biotechnology Letters**, [S.L.], v. 24, n. 8, p. 663-666, 2002. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1023/a:1015062925570>.

SUN, Xiang-Yu; ZHAO, Yu; LIU, Ling-Ling; JIA, Bo; ZHAO, Fang; HUANG, Wei-Dong; ZHAN, Ji-Cheng. Copper Tolerance and Biosorption of *Saccharomyces cerevisiae* during Alcoholic Fermentation. **Plos One**, [S.L.], v. 10, n. 6, 1 jun. 2015. Public Library of Science (PLoS). <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0128611>.

WANG, Jianlong; CHEN, Can. Biosorption of heavy metals by *Saccharomyces cerevisiae*: a review. **Biotechnology Advances**, [S.L.], v. 24, n. 5, p. 427-451, set. 2006. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.biotechadv.2006.03.001>.

Realização