

ELEVADA TOLERÂNCIA DE *GRAESIELLA EMERSONII* AO TRIMETOPRIM DESTACA SEU POTENCIAL PARA BIORREMEDIAÇÃO DE EFLUENTES

Vinicius Perez da Silva¹, Kevin Souza do Espírito Santo¹, Marcelo Chuei Matsudo¹

¹Universidade Federal do ABC, Santo André, Brasil (viniperezs@gmail.com)

Resumo: Este estudo avaliou o efeito do antibiótico trimetoprim (TMP) sobre o crescimento da microalga *Graesiella emersonii*. Cultivos foram expostos a concentrações de 0,5 a 100 mg/L por 7 dias. Não foram observadas diferenças estatisticamente significativas no crescimento (ANOVA, $p > 0,05$), indicando elevada tolerância da espécie ao contaminante. Os resultados evidenciam seu potencial para aplicação em processos de biorremediação de antibiótico em associação ao tratamento terciário de efluentes.

Palavras-chave: Microalgas; Trimetoprim; Biorremediação; Contaminantes emergentes; *Graesiella emersonii*

INTRODUÇÃO

A presença de contaminantes emergentes em corpos hídricos tem se tornado uma preocupação crescente nas últimas décadas, especialmente devido à detecção frequente de antibióticos em efluentes de estações de tratamento de esgoto (ETEs) e indústrias farmacêuticas. As ETEs atuam como importantes rotas de entrada desses compostos no ambiente aquático, uma vez que recebem antibióticos excretados por humanos e animais e não são totalmente eficientes na sua remoção. Mesmo após processos físico-químicos, biológicos e terciários, diversos antibióticos permanecem detectáveis nos efluentes tratados, em concentrações que variam de ng/L a µg/L, frequentemente próximas ou superiores às concentrações previstas sem efeito (PNEC). Essa liberação contínua pode favorecer a seleção de bactérias resistentes e causar efeitos tóxicos em organismos não-alvo, evidenciando limitações dos sistemas convencionais de tratamento (Kortsmäki et al., 2020; Tran et al., 2017; Wang et al., 2021).

Estudos de monitoramento em diferentes regiões do mundo confirmam essa persistência, com a detecção de múltiplos antibióticos em efluentes finais de ETEs. Em países europeus, por exemplo, foram identificados 17 antibióticos distintos, incluindo ciprofloxacina, azitromicina, sulfametoxazol e trimetoprim (TMP), evidenciando a ampla ocorrência desses compostos no ambiente aquático (Rodriguez-Mozaz et al., 2020). Além disso, a concentração e frequência desses contaminantes variam conforme fatores como consumo, densidade populacional e eficiência dos sistemas de tratamento, reforçando a influência de

aspectos socioeconômicos e tecnológicos na dinâmica desses poluentes.

Diante desse cenário, tecnologias alternativas têm sido investigadas para aprimorar a remoção de contaminantes, destacando-se o uso de microalgas. Microalgas clorofíceas apresentam elevada capacidade de crescimento e adaptação, sendo capazes de assimilar carbono orgânico e inorgânico, além de nutrientes como nitrogênio e fósforo. Esse metabolismo permite reduzir esses compostos e a demanda química de oxigênio (DQO), contribuindo para a melhoria da qualidade do efluente tratado, com potencial de menor consumo energético em comparação aos processos convencionais. Assim, sua aplicação em sistemas de tratamento de esgoto desponta como alternativa sustentável para remoção de nutrientes e poluentes emergentes (Mohsenpour et al., 2021).

Entretanto, a presença de antibióticos pode afetar negativamente o crescimento e a atividade metabólica de microalgas, incluindo clorofíceas como *Chlorella* e *Scenedesmus*. O TMP, amplamente detectado em ambientes aquáticos, atua na via do ácido fólico e pode comprometer processos celulares essenciais. Estudos indicam que antibióticos podem inibir o crescimento de microalgas em concentrações na faixa de µg/L a mg.L⁻¹, com valores de EC50 frequentemente inferiores a 1 mg.L⁻¹. Para *Raphidocelis subcapitata*, por exemplo, foram reportados EC50 de aproximadamente 0,49 mg.L⁻¹ para sulfametoxazol e 0,044 mg.L⁻¹ para eritromicina, evidenciando alta sensibilidade desses organismos (Frascaroli et al., 2024; Zhang et al., 2021). No entanto, a resposta varia



significativamente entre espécies, e ainda há escassez de estudos para microalgas menos exploradas, como *Graesiella emersonii*.

Diante disso, o presente estudo tem como objetivo avaliar o efeito do TMP sobre o crescimento da microalga *G. emersonii*, visando compreender sua tolerância ao contaminante e seu potencial para aplicação em processos de biorremediação.

MATERIAL E MÉTODOS

Cultivo de *Graesiella emersonii* e delineamento experimental

A microalga *G. emersonii* foi previamente cultivada em meio BOLD sob agitação contínua (130 rpm), em frascos Erlenmeyer de 500 mL, contendo 200 mL do meio, com pH inicial igual a 7,0, sob intensidade luminosa de $49.5 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-2}$, a 25°C . Células em crescimento exponencial foram utilizadas para inocular frascos de Erlenmeyer de 250 mL, contendo 100 mL do mesmo meio, obtendo-se uma concentração de biomassa inicial de $138,2 \pm 00 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$.

As concentrações de TMP testadas foram: 0,5; 1,0; 5,0; 10; 50 e 100 mg/L. O antibiótico foi previamente dissolvido em dimetilsulfóxido (DMSO) e adicionado aos cultivos de forma a atingir as concentrações desejadas. Para garantir uniformidade experimental, o volume de DMSO foi padronizado em todos os frascos, completando-se com solvente até o volume correspondente ao maior volume adicionado de solução de TMP. Dessa forma, o efeito do solvente foi controlado experimentalmente.

Dois controles foram incluídos: (i) controle negativo contendo apenas meio BOLD sem adição de DMSO ou antibiótico; e (ii) controle contendo DMSO, sem adição de TMP, permitindo avaliar possíveis efeitos do solvente sobre o crescimento da microalga.

O experimento foi conduzido por 7 dias sob agitação constante (130 rpm), intensidade luminosa de $49.5 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-2}$, a 25°C . Os ensaios foram conduzidos em triplicatas.

Monitoramento do crescimento e pH

O crescimento microalgal foi monitorado por espectrofotometria a 550 nm, sendo realizadas três leituras independentes por amostra e calculada a média. Os valores de absorbância foram convertidos em concentração de biomassa através de uma curva de calibração previamente estabelecida, correlacionando

valores de absorbância (550nm) com concentração de biomassa ($\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$, massa seca).

A relação linear obtida foi descrita pela equação 1

$$y = 471,11x - 16,739 \quad (R^2 = 0,9981) \quad (1)$$

onde y representa a concentração de biomassa ($\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$) e x a absorbância medida a 550nm.

O pH dos cultivos também foi medido ao longo do experimento.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

O crescimento da microalga *G. emersonii* foi acompanhado ao longo de 7 dias de cultivo, sendo avaliado por meio da concentração de biomassa ($\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$), estimada a partir da absorbância a 550 nm utilizando a curva de calibração previamente estabelecida. A evolução da biomassa nos diferentes tratamentos está apresentada na Figura 1.

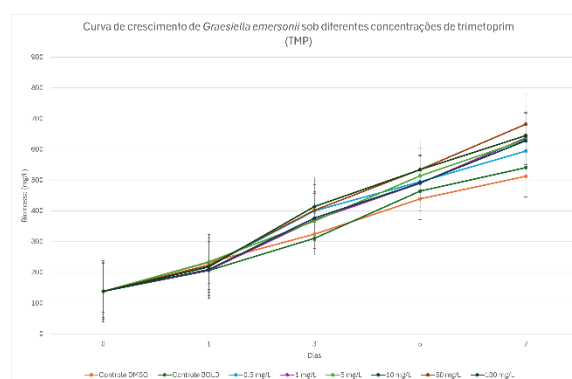


Figura 1. Curvas de crescimento de *Graesiella emersonii* ao longo de 7 dias de cultivo, expressa em concentração de biomassa ($\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$), sob diferentes concentrações de TMP e controles (BOLD e DMSO).

De modo geral, observou-se aumento progressivo da concentração de biomassa em todos os tratamentos ao longo do período experimental. As curvas de crescimento apresentaram comportamento semelhante entre os diferentes níveis de concentração de TMP e os controles, sem evidência visual de inibição do crescimento mesmo nas maiores concentrações testadas.

Tabela 1. Concentração média de biomassa ($\pm$ desvio padrão) de *Graesiella emersonii* ao final do período experimental (7 dias) sob diferentes concentrações de TMP.



Tratamento	Biomassa (mg.L ⁻¹)
Controle (BOLD)	540,7 (166,65)
Controle (DMSO)	512,3 (89,72)
0,5 mg.L ⁻¹	594,6 (108,53)
1 mg.L ⁻¹	637,2 (81,80)
5 mg.L ⁻¹	631,6 (81,80)
10 mg.L ⁻¹	627,9 (77,14)
50 mg.L ⁻¹	682,1 (101,94)
100 mg.L ⁻¹	645,0 (4,58)

Ao final dos 7 dias de cultivo, os valores de biomassa variaram entre aproximadamente 512 e 682 mg.L⁻¹ entre os tratamentos. O controle em meio BOLD apresentou biomassa final de 540,7 mg.L⁻¹, enquanto o controle com DMSO apresentou 512,3 mg.L⁻¹. Nos tratamentos com TMP, os valores variaram de 594,6 mg.L⁻¹ (0,5 mg.L⁻¹) a 682,1 mg.L⁻¹ (50 mg.L⁻¹), não sendo observada tendência de redução do crescimento com o aumento da concentração do antibiótico.

A análise estatística dos dados, realizada por ANOVA (one-way), não indicou diferenças significativas entre os tratamentos ($p > 0,05$). A taxa específica de crescimento (μ) de *G. emersonii* variou entre aproximadamente 0,12 e 0,25 dia⁻¹, apresentando comportamento semelhante entre os cultivos contendo TMP e os controles, sem tendência de redução com o aumento da concentração do antibiótico.

Apesar da ausência de diferenças estatisticamente significativas, os resultados evidenciam elevada tolerância da microalga ao TMP. Estudos prévios com *Raphidocelis subcapitata* reportam valores de EC50 na faixa de 0,044 a 0,49 mg.L⁻¹ após 96 h de exposição, indicando efeitos inibitórios em concentrações relativamente baixas (Frascaroli et al., 2024). Além disso, ensaios com misturas de antibióticos, incluindo TMP, geralmente avaliam concentrações na ordem de µg.L⁻¹ (até 0,1 mg.L⁻¹), nas quais já são observadas respostas fisiológicas nas microalgas (Zhang et al., 2021). Em contraste, no presente estudo, não foi observada inibição significativa do crescimento mesmo em concentrações de até 100 mg.L⁻¹, valor substancialmente superior aos reportados na literatura para outras espécies de microalgas verdes.

Esse comportamento reforça a robustez fisiológica da espécie frente à presença de contaminantes emergentes e destaca seu potencial para aplicação em biorremediação de antibióticos acoplada a sistemas de tratamento terciário de efluentes, contribuindo também para a remoção simultânea de nutrientes, mitigando processos de eutrofização, reduzindo

impactos ambientais associados à presença de antibióticos em corpos hídricos.

CONCLUSÃO

O presente estudo demonstrou que *Graesiella emersonii* apresenta elevada tolerância ao antibiótico trimetoprim, mantendo crescimento mesmo em concentrações de até 100 mg.L⁻¹. Esses resultados evidenciam o potencial da espécie para aplicação em sistemas de tratamento de efluentes contendo contaminantes emergentes, reforçando sua relevância em estratégias sustentáveis de biorremediação.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem ao Programa de Educação Tutorial em Ciência, Tecnologia e Inovação (PET-CTI/UFABC) pela concessão da bolsa a Vinicius Perez da Silva, ao Matheus Barbosa Herbst de Oliveira pelo suporte e contribuições durante a execução experimental e à FAPESP (Processo nº 2023/04170-0) pelo apoio ao projeto.

REFERÊNCIAS

- Frascaroli, G.; Roberts, J.; Hunter, C.; Escudero, A. Removal efficiencies of seven frequently detected antibiotics and related physiological responses in three microalgae species. *Environmental Science and Pollution Research*, 2024.
- Kortesmäki, E.; Östman, J. R.; Meijerjohann, A.; Brozinski, J.-M.; Eklund, P.; Kronberg, L. Occurrence of antibiotics in influent and effluent from 3 major wastewater-treatment plants in Finland. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 2020.
- Mohsenpour, S. F.; Hennige, S.; Willoughby, N.; Adeloye, A.; Gutierrez, T. Integrating micro-algae into wastewater treatment: A review. *Science of the Total Environment*, 2021.
- Rodriguez-Mozaz, S.; Vaz-Moreira, I.; Della Giustina, S. V.; Llorca, M.; Barceló, D.; Schubert, S.; Berendonk, T. U.; Michel-Kordatoff, I.; Fatta-Kassinos, D.; Martinez, J. L.; Elpers, C.; Henriques, I.; Jaeger, T.; Schwartz, T.; Paulshus, E.; O'Sullivan, K.; Pärnänen, K. M. M.; Virta, M.; Do, T. T.; Walsh, F.; Manaia, C. M. Antibiotic residues in final effluents of European wastewater treatment plants and their impact on the aquatic environment. *Environment International*, 2020.
- Tran, N. H.; Reinhard, M.; Gin, K. Y.-H. Occurrence and fate of emerging contaminants in municipal wastewater treatment plants from different geographical regions: a review. *Water Research*, 2017.



Wang, K.; Zhuang, T.; Su, Z.; Chi, M.; Wang, H. Antibiotic residues in wastewaters from sewage treatment plants and pharmaceutical industries: Occurrence, removal and environmental impacts. *Science of the Total Environment*, 2021.

Zhang, Y.; He, D.; Chang, F.; Dang, C.; Fu, J. Combined effects of sulfamethoxazole and erythromycin on a freshwater microalga, *Raphidocelis subcapitata*: Toxicity and oxidative stress. *Antibiotics*, 2021.