

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

DOI: <http://dx.doi.org/10.55449/congea.16.25.IX-010>

Vítor Moisés Gonçalves Pereira (*), Brenda Coelho da Silva, Déborah Neide de Magalhães Praxedes, Karina Bicalho Ervilha do Nascimento Campos.

*Instituto Federal de Minas Gerais – Campus Governador Valadares (IFMG/GV); email: vitormois.es.gp@gmail.com

RESUMO

A degradação do ambiente está relacionada a fatores como o crescimento populacional desenfreado, o uso inadequado do solo e o aumento das atividades humanas na agricultura e indústria, sem uma perspectiva sustentável, o que consequentemente gera resíduos, que em sua maioria não são tratados corretamente. Por sua vez, os órgãos ambientais vêm exigindo normas mais rígidas, porém, as análises laboratoriais tradicionais (físicas, químicas e biológicas) não têm a aptidão de verificar se este subproduto contém substâncias tóxicas à biota aquática onde será despejado o esgoto tratado. Neste contexto, são utilizados os ensaios ecotoxicológicos, que tem como finalidade compreender e analisar, os efeitos prejudiciais de contaminantes sobre os ecossistemas, para assim ser possível monitorar os impactos ambientais gerados. Para esta pesquisa em questão, avaliou-se a ecotoxicidade do esgoto bruto e efluente tratado na Estação de Tratamento de Esgoto (ETE) do Instituto Federal de Minas Gerais – Campus Governador Valadares (IFMG/GV), constituída de um reator UASB seguido de Lodos Ativados, utilizando-se como organismo-teste a levedura *Saccharomyces cerevisiae*, segundo o protocolo de Bidoia et al. (2012) adaptado. Por meio da montagem de soluções de sulfato de cobre (CuSO_4), buscou-se a avaliação da sensibilidade da levedura a essa substância como referência, e com amostras de esgoto bruto e tratado na ETE do IFMG-GV, realizou-se ensaios de toxicidade utilizando esses efluentes, sem diluição. Como resultado, notou-se que a levedura foi sensível ao CuSO_4 , mas que ainda é preciso aprimorar as técnicas analíticas para a construção de curvas dose-resposta e cartas-controle de sensibilidade que permitam a comparação de resultados com esta substância de referência. Com relação às amostras de esgoto não houve um padrão em todas as campanhas: de cinco ensaios, em três a toxicidade não foi removida pelo tratamento. Contudo, é preciso continuar o monitoramento da toxicidade do esgoto, bem como aprimorar as técnicas analíticas e ampliar os ensaios a outros organismos-teste, para melhorar a compreensão dos efeitos do lançamento de esgotos nos cursos d'água.

PALAVRAS-CHAVE: Ecotoxicologia aquática, Leveduras, Esgoto Sanitário.

INTRODUÇÃO

A degradação do ambiente está vinculada a fatores como o crescimento populacional desenfreado, o uso inadequado do solo e o aumento das atividades humanas na agricultura e indústria sem uma perspectiva sustentável (Jordão; Pessoa, 2011), o que gera resíduos, que muitas vezes não são tratados corretamente.

Os órgãos responsáveis, em decorrência das consequências ambientais geradas, vêm exigindo por meio de normas ambientais mais rígidas, regulamentar o despejo de efluentes nas bacias hidrográficas, com o objetivo de diminuir o lançamento de substâncias orgânicas e inorgânicas presentes nas águas (Borba et al., 2010). Porém, as análises físicas, químicas e biológicas realizadas tradicionalmente, com o objetivo de monitorar a qualidade do efluente tratado e bruto, não tem a aptidão de verificar se neste subproduto contém substâncias tóxicas à biota aquática onde será despejado o esgoto tratado.

A ecotoxicologia é uma subárea da ecologia e da toxicologia, que tem como finalidade compreender e analisar, os efeitos prejudiciais de contaminantes sobre os ecossistemas, para assim ser possível monitorar os impactos ambientais gerados (Oliveira; Baldan, 2022). Este termo teve origem no ano de 1969 (Magalhães; Ferrão Filho, 2008) sendo uma ciência multidisciplinar que incorpora saberes da química, estatística, ecologia, toxicologia, dentre outros (Zagatto et al., 2014). Por essa razão permite avaliar com precisão o impacto gerado por agentes físicos e químicos em organismos vivos.

Esse campo de pesquisa possui relevância principalmente no que tange a gestão ambiental, pois fornece informações aos gestores em relação ao monitoramento do meio ambiente, dando um parecer a respeito da população de seres vivos e o impacto que agentes específicos geram em um certo grupo de seres-vivos (Zagatto et al., 2014).

Focando-se no campo da ecotoxicologia aquática, ou seja, a aplicação do conhecimento ecotoxicológico em ambientes onde o principal recurso envolvido é a água, entende-se que a principal função desse campo da ciência é dar suporte ao enfrentamento da contaminação de corpos d'água por substâncias tóxicas (Magalhães; Filho, 2008). Sendo uma ferramenta crucial para avaliar a qualidade da água e identificar os riscos à saúde de ecossistemas aquáticos causados por poluentes.

No contexto da pesquisa, a ecotoxicologia aquática teve sua função voltada para a área da engenharia sanitária, sendo um dispositivo para apurar a qualidade do esgoto bruto e efluente tratado, por esse motivo é necessário compreender a importância desse tipo de análise dentro do âmbito do saneamento. Para o saneamento, testes ecotoxicológicos são essenciais para a compreensão da totalidade dos impactos causados pelos empreendimentos com esgotamento sanitário, em particular aqueles que envolvem o tratamento e manejo do esgoto. Isso se dá porque os testes ecotoxicológicos podem ajudar a identificar se os efluentes lançados no ambiente afetam sistemas biológicos, diferente das análises de parâmetros físico-químicos que não possuem essa capacidade, portanto, são insuficientes para analisar totalmente a qualidade do efluente gerado pelo sistema de saneamento (Costa, et al., 2008).

Em razão dessa capacidade da ecotoxicologia de auxiliar a compreensão dos impactos gerados pelo esgoto e da sua capacidade de atuar de forma conjunta com análises físico-químicas na avaliação da qualidade do esgoto bruto e efluente tratado, ela detém um papel crucial em trabalhos que envolvam Estações de Tratamento de Esgoto (ETEs).

Logo, este estudo teve como objetivo analisar, por meio de bioensaios, a toxicidade do efluente bruto e tratado do IFMG *campus* Governador Valadares, constituída de um reator UASB seguido de Lodos Ativados. Para isso, foi utilizado como organismo-teste a levedura *Saccharomyces cerevisiae* com o intuito de investigar a ecotoxicidade deste efluente para biota aquática, a qual será destinado.

OBJETIVOS

Objetivo Geral

O objetivo geral deste estudo foi analisar, por meio de bioensaios, a toxicidade do esgoto bruto e efluente tratado do Instituto Federal de Minas Gerais *campus* Governador Valadares (IFMG/GV), utilizando-se como organismo-teste a levedura *Saccharomyces cerevisiae*.

Objetivos Específicos

Foram objetivos específicos:

- Conduzir ensaios de sensibilidade do organismo-teste *S. cerevisiae* na tentativa de produzir uma carta-controle de sensibilidade à substância de referência Sulfato de cobre (CuSO_4);
- Verificar a ecotoxicidade do esgoto bruto e efluente tratado na ETE do IFMG/GV, por meio de bioensaios toxicológicos;
- Comparar a toxicidade do esgoto bruto e efluente tratado da ETE do IFMG/GV ao de CuSO_4 .

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 bquer de 250 ml e transferido para tubos Falcon e centrifugados por 5 minutos a uma velocidade de 4000 rpm, na Centrífuga QUIMIS 9222T108. O sobrenadante foi descartado e o precipitado formado foi ressuspensão 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. Na realização de novos ensaios, cujo objetivo foi a obtenção de uma curva dose-resposta mais satisfatória, utilizou-se eritrosina, em razão da melhor visualização das células mortas que a coração avermelhada oferece, é possível visualizar isso na figura 1.

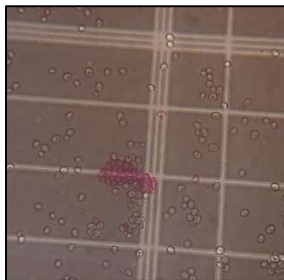


Figura 1: Células mortas coradas com eritrosina. Fonte: Acervo pessoal dos autores, 2025.

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. As distâncias entre as concentrações foram alteradas na realização dos últimos testes para que se obtivesse uma curva dose-resposta mais satisfatória. Optou-se pelo uso das concentrações de 3,75, 7,5, 15,0, 30,0 e 60,0 mg/L de CuSO_4 . Essa troca de solução-estoque e concentrações justifica-se pela necessidade do aumento de células mortas nas análises, para que a diferença da concentração de células fosse significativa estatisticamente e buscando que a curva dose-resposta obtivesse um formato sigmoide. Utilizando-se de pipetas volumétricas e automáticas de diversos volumes, as soluções-testes foram preparadas em tubos de ensaio previamente identificados em triplicata, sendo os grupos de amostras assim identificados: θ , A, B, C, D e E, sendo θ o grupo controle (água destilada e suspensão de leveduras) e E o grupo mais concentrado. As soluções-teste foram preparadas em tubos de ensaio de 10mL e receberam 1mL de suspensão de levedura com aproximadamente 10^9 células/mL.

Após a montagem das soluções-testes, elas foram dispostas de forma aleatória em béqueres de 250 ml, cobertos com papel filme (figura 2) e incubados em uma estufa MARQLABOR Modelo IB-SHAKER/R (figura 3), 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. Foram feitos três ensaios de sensibilidade. Nas novas concentrações a proporção de eritrosina foi de 0,9 mL para 0,1 mL de solução-teste.



Figura 2: Soluções-teste preparadas para a estufa. Fonte: Acervo pessoal dos autores, 2025.



Figura 3: Encubação do teste na Estufa MARQLABOR Modelo IB-SHAKER/R. Fonte: Acervo pessoal dos autores, 2025.

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. Foram feitas cinco campanhas com esgoto bruto e efluente tratado.

Para organizar os dados obtidos após as leituras utilizou-se o *software Microsoft Excel®* com a realização de testes estatísticos por meio do suplemento Real Statis do *Excel*. Para analisar uma possível diferença entre as médias de número de células das amostras de diferentes testes foi realizada análise de variância – *ANOVA*. Em caso positivo, foi realizado o teste de comparação de médias de *Tukey*, para avaliar em quais tratamentos houve diferenças significativas em relação aos outros. As análises estatísticas foram realizadas a um nível de 5% de significância.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Para facilitar a compreensão dos dados obtidos nas análises, eles foram dispostos em três tabelas, duas referentes aos ensaios feitos com CuSO_4 e uma destinada aos ensaios com esgoto bruto e efluente tratado. Nelas estão a média do número de células obtida em cada um dos grupos testes.

A Tabela 1 trata-se dos testes realizados com a concentração máxima de 5,0 mg/L e diluições de CuSO_4 .

Tabela 1: Média do número de células de *S. cerevisiae* por mL (n=3) nos testes realizados com CuSO_4

ID Solução-teste	Concentração de CuSO_4 (mg/L)	Número de células/mL	
		Ensaio 01/10/2024	Ensaio 25/10/2024
0	0,0	$2,94 \times 10^7$	$1,87 \times 10^7$
A	1,0	$2,44 \times 10^7$	$1,20 \times 10^7$
B	2,0	$2,04 \times 10^7$	$1,48 \times 10^7$
C	3,0	$1,91 \times 10^7$	$1,30 \times 10^7$
D	4,0	$1,85 \times 10^7$	$1,10 \times 10^7$
E	5,0	$1,82 \times 10^7$	$9,33 \times 10^6$

Fonte: Elaborada pelos autores, 2025.

Analisando-se a Tabela 1 é possível inferir que o teste do dia 01/out. apresentou um decrescimento do número de células de forma mais “harmoniosa” em comparação ao teste do dia 25/out., em que o grupo A teve um comportamento inesperado, com o número de células numericamente menor que os grupos B e C. Para compreender com mais profundidade a relação que a concentração de sulfato que cobre e o número de célula das amostras foi elaborado o gráfico da Figura 4:

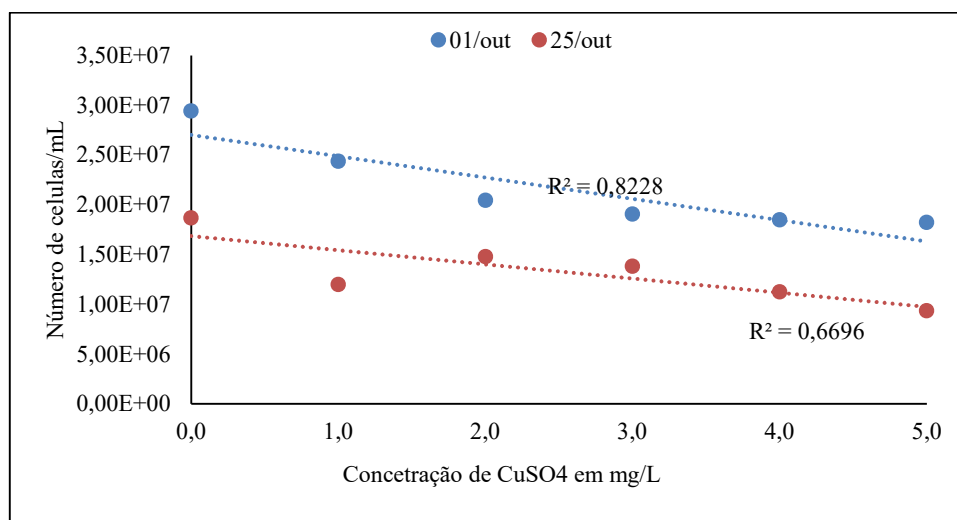


Figura 4: Número de células por mL em função da concentração de CuSO₄. Fonte: elaborado pelos autores, 2025.

Nota-se que o teste do dia 01/out apresentou uma boa correlação linear entre o número de células/mL e a concentração do CuSO₄, com $R^2 = 0,8228$; já os testes do dia 25/out. apresentam uma baixa correlação – $R^2 \approx 0,67$ –, isso corrobora para afirmação anterior, o decrescimento no segundo teste apresentou um comportamento não esperado para o decrescimento de células expostas ao sulfato de cobre. Uma hipótese para esse comportamento é algum erro experimental cometido no dia que não foi identificado, já que ele foi submetido as mesmas situações que o teste do dia 01/out.

Já no âmbito das análises estatísticas, ambos os testes apresentaram diferenças significante ($p < 0,05$) no teste *ANOVA* e foram submetidos ao teste de Tukey. Apurando os resultados obtidos na segunda análise foi elucidado que os únicos grupos com uma diferença estatística real (valor de $p < 0,05$), em ambos os testes, foram o grupo controle, ou θ , e o grupo E. Ou seja, entre as amostras sem nenhuma concentração de CuSO₄ e as com a maior concentração (5,0 mL) houve uma diferença significativa no número de células, mostrando o efeito tóxico da solução de sulfato de cobre à *S. cerevisiae*, conforme esperado.

Voltando-se agora ao teste realizado com diluições da concentração de 60 mg/L, organizou-se os dados obtidos nas leituras do teste do dia 19/set. na Tabela 2:

Tabela 2 – 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
		Teste 19/09/2025
θ	0,0	$1,84 \times 10^8$
A	3,75	$1,99 \times 10^8$
B	7,5	$1,62 \times 10^8$
C	15,0	$1,67 \times 10^8$
D	30,0	$1,32 \times 10^8$
E	60,0	$6,82 \times 10^7$

Fonte: elaborada pelos autores, 2025.

É possível notar que mesmo existindo momentos em que o decrescimento de células sofre um comportamento anormal, o crescimento do número de células entre a amostra θ e a amostra A; entre a amostra B e a amostra C, ainda há uma tendência esperada de decrescimento. Sendo esse aumento provavelmente advindo de erros analíticos. Para visualizar de melhor forma o comportamento do decrescimento do número de células foi elaborado o gráfico da Figura 5.

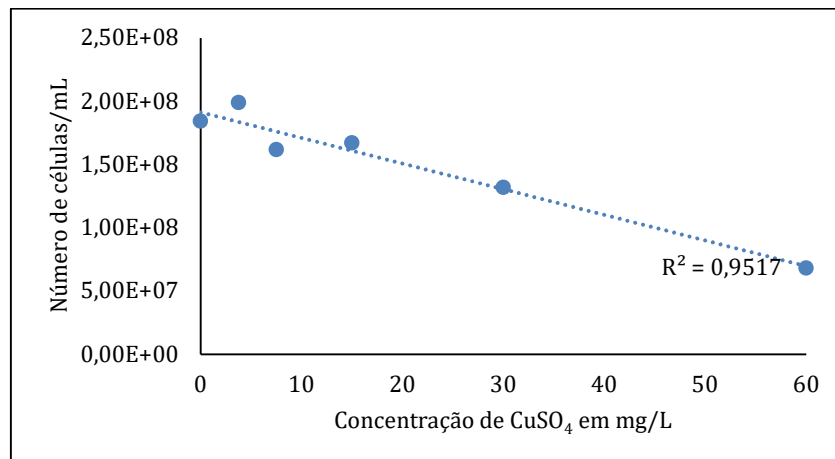


Figura 5: Número de células por mL em função da concentração de CuSO_4 . Fonte: elaborado pelos autores, 2025.

Analisando-se as informações da Figura 5, torna-se possível afirmar que existe uma boa correlação entre a concentração de CuSO_4 e o número de células por mL, coeficiente de correlação $R^2 = 0,9517$, no teste do dia 19/set. Isso corrobora com as afirmações feitas no parágrafo anterior, mesmo que haja um certo nível de “desarmonia” no decrescimento das células, ainda há um comportamento dentro do esperado, o decrescimento ocorre dentro dos padrões, ainda com certas anormalidades.

Os testes estatísticos feitos nesse ensaio mostraram bons resultados. A *ANOVA* o teste demonstrou haver uma diferença significativa entre algum dos grupos presentes neles ($p < 0,05$), e no teste de Tukey foi possível averiguar que essa diferença entre alguns grupos: entre o controle e o grupo E, assim como nos testes anteriores, e entre o grupo A, que nesse ensaio foi o de maior número de células, e o grupo E. Ademais, houve grupos que chegaram próximos de obterem uma diferença significativa entre o grupo B e E o valor de p foi de aproximadamente 0,07 e entre C e E foi de aproximadamente 0,054, ou seja, a diferença entre os números de células desses grupos são muito próximas de serem estaticamente significativa. Retendo-se as diferenças que tiveram o valor necessário para serem consideradas significativas, é cabível dizer que e o aumento da diferença da concentração de CuSO_4 entre as amostras foi adequado, pois há um maior número de diferenças significativas que os testes anteriores e existem grupos que com maiores testes também podem apresentar essa diferença.

Voltando-se agora para as análises realizadas com o esgoto, unificou-se os dados obtidos na Tabela 3.

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

Solução-teste	Número de células/mL				
	Ensaio 1 07/10/2024	Ensaio 2 17/10/2024	Ensaio 3 25/10/2024	Ensaio 4 01/11/2024	Ensaio 5 19/12/2024
Controle	$2,23 \times 10^7$	$1,74 \times 10^7$	$1,34 \times 10^7$	$1,43 \times 10^7$	$2,05 \times 10^7$
Esgoto bruto	$1,78 \times 10^7$	$1,60 \times 10^7$	$9,43 \times 10^6$	$1,17 \times 10^7$	$3,30 \times 10^6$
Efluente tratado	$2,19 \times 10^7$	$1,58 \times 10^7$	$8,60 \times 10^7$	$9,83 \times 10^6$	$1,39 \times 10^7$

Fonte: elaborada pelos autores, 2025

Os resultados com o esgoto e efluente se mostraram menos previsíveis do que os testes utilizando sulfato de cobre, devido às características das amostras. No entanto é possível notar alguns padrões: o número de células no controle é sempre maior do que nas amostras de esgoto bruto ou efluente tratado, mostrando assim uma toxicidade existente no esgoto. Entre os testes do dia 17/out., 25/out. e 01/nov. houve um maior número de células no esgoto bruto, do que no tratado, esse fato pode indicar que nesses testes o tratamento não removeu a toxicidade do esgoto bruto. Já nos testes dos dias 07/out. e 19/dez. o número de células no efluente tratado foi maior do que no bruto, demonstrando sua capacidade de remoção de toxicidade, o que é esperado que ocorra nos processos da ETE durante o tratamento.

Os dados obtidos foram convertidos no gráfico da Figura 6, para visualizar-se de maneira mais clara a diferença no número de células.

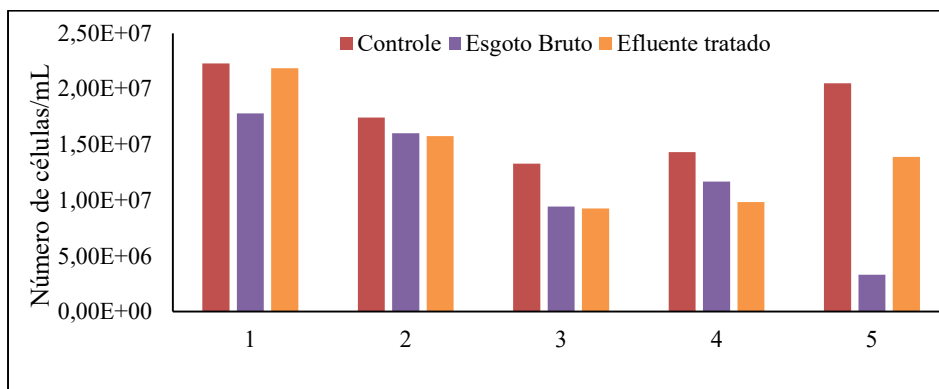


Figura 6: Número de células nos grupos controle, esgoto bruto e efluente tratado. Fonte: Elaborado pelos autores, 2025.

Os testes 1 e 5 apresentam clara diferença entre o número de células presentes no grupo esgoto bruto e o grupo efluente tratado, já aqueles – teste 2, 3 e 4 – em que o tratamento não foi eficiente em relação à remoção da toxicidade, o número de células entre esses grupos é bastante similar. É importante destacar que foi observado um baixo número de células mortas nos ensaios com esgoto bruto, podendo ter ocorrido a inibição do crescimento celular. Isso indica a possibilidade da toxicidade presente no esgoto gerado no IFMG/GV tratar-se de um esgoto de toxicidade crônica, ele não causa a morte direta das células, apenas inibe a sua divisão, diminuindo assim a presença das células nas amostras em relação ao controle.

Ao realizar os testes estatísticos nesses ensaios obtive-se a seguinte situação: os testes 2,3 e 4 não apresentaram diferença estatística (todos os valores de $p > 0,05$), sendo esses os mesmos em que o tratamento não foi eficaz. Podendo demonstrar que o tratamento do esgoto não removeu a toxicidade, mas não causou um aumento dela, pois o número de células manteve-se sem uma diferença estatística, apenas uma diferença matemática. Já os ensaios 1 e 5 tiveram diferenças significativas segundo as análises estatísticas. O teste 1 apresentou um valor de $p < 0,05$ entre os grupos controle e esgoto bruto e os grupos efluente tratado e esgoto bruto. Isso demonstra que nesse teste o tratamento conseguiu cumprir sua função de retirar a toxicidade presente no esgoto. Já no teste 5 todos os grupos tiveram uma diferença estatística significativa, demonstrando que, diferente do ensaio 1, o tratamento não conseguiu alcançar uma similaridade com o grupo controle, mas ainda assim conseguiu retirar a toxicidade presente no esgoto bruto.

CONCLUSÃO

Diante dos fatos expostos, a pesquisa denominada “Avaliação da toxicidade aquática à *Saccharomyces cerevisiae* do esgoto bruto e efluente tratado da ETE do IFMG campus Governador Valadares - Estudo de casos”, demonstrou inicialmente que a levedura *S. cerevisiae* apresentou sensibilidade à substância de referência Sulfato de cobre (CuSO_4), sendo necessário o aperfeiçoamento do ensaio para a geração de carta-controle de sensibilidade e posterior comparação de resultados.

Com relação aos ensaios ecotoxicológicos das amostras de esgoto, conclui-se que o tratamento realizado pela ETE não apresentou um padrão, não removeu a toxicidade na maioria dos ensaios, mas não causando um aumento dela, pois o número de células manteve-se sem uma diferença estatística, apenas uma diferença matemática. Em duas campanhas houve a remoção da toxicidade pelo tratamento, sendo mais expressiva no último ensaio. É preciso continuar o monitoramento da toxicidade do esgoto, bem como aprimorar as técnicas analíticas e ampliar os ensaios a outros organismos-teste, para melhorar a compreensão dos efeitos do lançamento de efluentes nos cursos d'água.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. BIDOIA, Ederio Dino et al. Ecotoxicologia: métodos e aplicações. Rio Claro: Clube de Autores, 2012.
2. BORBA, F. H.; MANENTI, D. R.; MÓDENES, A. N.; MORA, N. D.; ESPINOZA-QUINÕES, F. R.; PALÁCIO, S. M.; YASSUE, P. H.; NASCIMENTO, R. (2010). Avaliação da eficiência da técnica de eletro-floculação no tratamento de efluentes de indústrias de subprodutos avícolas. Estudos Tecnológicos em Engenharia, 6(1), 36-47. DOI: 10.4013/ete.2010.61.04
3. C. R.; OLIVI, P.; BOTTA, C. M. R.; ESPÍNDOLA, E. L. G. A toxicidade em ambientes aquáticos: discussão e métodos de avaliação. Química Nova, v. 31, n. 7, p. 1820–1830, 2008. DOI: 10.1590/S0100-40422008000700038.
4. JORDÃO, E. D.; PESSÔA, C. A. Tratamento de esgotos domésticos. 6. ed. Rio de Janeiro: ABES, 2011. 1050p.

5. MAGALHÃES, Danielly de Paiva; FERRÃO FILHO, Aloysio da Silva. A ecotoxicologia como ferramenta no biomonitoramento de ecossistemas aquáticos. *Oecol. Bras.*, v.12, n.3, p.355-381, 2008.
6. OLIVEIRA, F. G. de. BALDAN, L. T. Fundamentos de ecotoxicologia: princípios e aplicações. Palotina: UFPR, 2022. Disponível em: <<https://palotina.ufpr.br/wp-content/uploads/2022/10/Ecotoxicologia-Oliveira-e-Baldan.pdf>>. Acesso em: 01/09/2025.
7. PESSOA, Germana de Paiva, et al. II-193 - AVALIAÇÃO DA EFICIÊNCIA DE ESTAÇÕES DE TRATAMENTO DE ESGOTOS SANITÁRIOS POR MEIO DE ENSAIOS DE ECOTOXICIDADE AGUDA E CRÔNICA UTILIZANDO *Daphnia magna*. ABES – Associação Brasileira de Engenharia Sanitária e Ambiental, Rio de Janeiro, 2014, v. 27, n. 1, p. 256-265. Disponível em: https://abes-dn.org.br/anais eletronicos/22_Download/Trabalhos Completos PDF/II-193.pdf. Acesso em: 01 de dez. 2024.
8. QUEIROZ, B. M. 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, 13p., 2015.
9. ZAGATTO, Pedro A. et al. *Ecotoxicologia Aquática: Princípios e Aplicações*, São Carlos: RiMa, ed. 2ª, 2014.