



AVALIAÇÃO DA DEGRADAÇÃO DE ÁGUA RESIDUÁRIA SINTÉTICA DOPADA DE ATRAZINA, DELTAMETRINA, METIL-PARATION E PARAQUAT EM REATORES EM BATELADA SEQUENCIAL COM BIOMASSA IMOBILIZADA DE *ASPERGILLUS NIGER* AN400.

Luanna Loyola Lima^{1, 2}, Raquel Marinho Cunha², Aristides de Souza Neto³, Luciane Mara Cardoso Freitas⁴, Kelly de Araújo Rodrigues Pessoa⁵, Glória Maria Marinho Silva⁶.

¹Aluna do curso de Tecnologia em Processos Químicos pelo Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Ceará - IFCE. E-mail: luannaloyola.ifce@gmail.com;

²Aluna do curso de Engenharia Ambiental e Sanitária pelo Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Ceará – IFCE. Email: Raquel.cefetece@yahoo.com.br;

³Mestrando em Gestão Ambiental pelo Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Ceará – IFCE. E-mail: aristidesdesouzaneto@gmail.com;

⁴Aluna do curso de Gestão Ambiental pelo Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Ceará – IFCE. Email: email: luciane.maracf@gmail.com;

⁵Doutora em Hidráulica e Saneamento pela Escola de Engenharia de São Carlos (EESC/USP). Professora do IFCE da Área de Química e Meio Ambiente email: kelly@ifce.edu.br;

⁶ Doutora em Hidráulica e Saneamento pela Escola de Engenharia de São Carlos (EESC/USP). Professora do IFCE da Área de Química e Meio Ambiente email: gloriamarinho@ifce.edu.br;

Resumo: A ampla utilização de agrotóxicos no Brasil o tornou um dos líderes mundiais em consumo destes; e a preocupação com os impactos sofrido pelo meio ambiente despertou a pesquisa em formas de tratamento para seus efluentes e/ou possíveis contaminações que nossos corpos hídricos poderiam sofrer. Este trabalho teve como principal objetivo, avaliar a degradação da água residuária sintética que tem em sua constituição os pesticidas Atrazina, Deltametrina, MetilParation e Paraquat e que utilizou como agente degradador, uma biomassa imobilizada da espécie fúngica *Aspergillus niger* AN400. Os parâmetros utilizados para tal avaliação foram: Amônia, Demanda Química de Oxigênio (DQO), Potencial de Hidrogênio (pH) e Nitrato.

Palavras-chave: *Aspergillus niger*, batelada sequencial, degradação, pesticidas, reatores

1. INTRODUÇÃO

1.1- Histórico

O uso de substâncias químicas orgânicas ou inorgânicas na agricultura nos leva à antiguidade clássica. Escritos de Romanos e Gregos mencionavam o uso de determinados produtos como o arsênico e o enxofre para controlar a quantidade de insetos nos primórdios da agricultura (LUNA et al., 2006).

Com o processo de automação da produção agrícola, durante as décadas de 1960-1970, os agrotóxicos iniciaram a ser amplamente utilizados no Brasil. As propriedades físico-químicas desses produtos, bem como a frequência de seu uso, modo de aplicação, características bióticas e abióticas do ambiente e condições climáticas podem determinar o seu destino no ambiente (RIBAS & MATSUMURA, 2009).

1.2- Definição

Segundo o Decreto nº 98.816, de 11 de janeiro de 1990, “Agrotóxicos são produtos químicos destinados ao uso em setores de produção, no armazenamento e beneficiamento de produtos agrícolas, nas pastagens, na proteção de florestas nativas ou implantadas e de outros ecossistemas, e também de ambientes urbanos, hídricos e industriais, cuja finalidade seja alterar a composição da flora ou da fauna, a fim de preservá-las da ação danosa de seres vivos considerados nocivos, bem como as

substâncias e produtos empregados como desfolhantes, dessecantes, estimuladores e inibidores do crescimento”.

De acordo com Ribas & Matsumura (2009), os agrotóxicos podem ser aplicados em florestas (nativas e plantadas), nos ambientes hídricos, urbanos e industriais e, em larga escala, na agricultura e pastagens para a pecuária. Podem ser classificadas como inseticidas (controle de insetos), fungicidas (controle de fungos), herbicidas (controle de plantas invasoras), desfolhantes (controle de folhas indesejadas), fumigantes (controle de bactérias do solo), rodenticidas ou raticidas (controle de roedores/ratos), nematicidas (controle de nematóides) e acaricidas (controle de ácaros).

1.3- Apresentação dos pesticidas

1.3.1- Atrazina

Dentre os pesticidas utilizados no Brasil, a atrazina (2-cloro-4-etilamino-6-isopropilamino-1,3,5-triazina) é bastante comercializada, liberada pelo Ministério da Agricultura e é utilizada principalmente no controle de ervas daninhas nas culturas de milho, cana-de-açúcar, abacaxi, sorgo e banana (VAN MAANEN et al, 2001). A sua estrutura molecular da Atrazina pode ser observada a seguir na Figura 1:

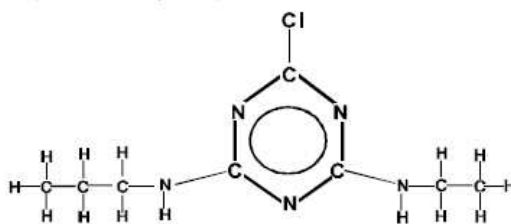


Figura1: Estrutura Molecular do pesticida Atrazina

Fonte: Traghetta *et al*, 1996

1.3.2 - Deltametrina

Os piretróides são, atualmente, os inseticidas mais utilizados, pois apresentam baixa toxicidade em mamíferos, baixo impacto ambiental, são efetivos contra um largo espectro de insetos e são necessárias baixas quantidades para exercerem sua ação. No entanto, em alguns casos, a utilização de piretróides tem aumentado os riscos à pássaros e/ou mamíferos (NARAHASHI, 1996; QUEIROZ *et al*, 2001; SUCEN, 2007).

De acordo com a FERSOL, deltametrina (C₂₂H₁₉Br₂NO₃) age por contato e ingestão, atuando nos canais de sódio da membrana de axônios, diminuindo e retardando a condutância de sódio para o interior da célula e suprimindo o efluxo de potássio. Também pode inibir a adenosina trifosfatase (ATPase), o que afeta a condução de cátions na membrana axonal. O resultado final é uma diminuição do potencial de ação e a geração de impulsos nervosos repetitivos. A estrutura molecular da Deltametrina pode ser observada na Figura 2:

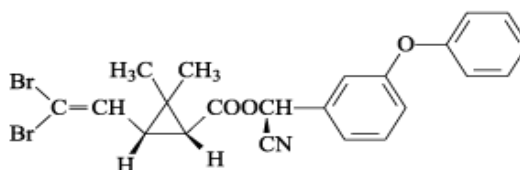


Figura 2: Estrutura molecular do pesticida Deltametrina

Fonte: Dórea & Lopes, 2004

1.3.3 - Metil-Paration

Paration metílico organofosforado (dimetil tiofosfato para-nitrofenil - $C_8H_{10}NO_5P$), que contém 600 g / L do seu componente ativo, é inflamável e não corrosivo. Embora a sua atividade no ambiente seja de curta duração e pouco dispersiva, o metil-paration pode ser altamente tóxico para os seres humanos (Sampaio *et al*, 2005). A estrutura Molecular do Metil- Paration pode ser visto na Figura 3:

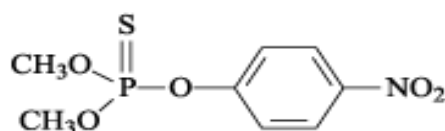


Figura 3: Estrutura Molecular do pesticida Metil- Paration

Fonte: Dórea & Lopes, 2004.

A toxicidade por organofosforados é resultado da inibição da enzima acetilcolinesterase, que faz com que a acetilcolina passe a ser acumulado no organismo, afetando o sistema nervoso central e, por vezes levando à insuficiência respiratória fatal (HERNANDEZ et al., 1998). Apesar destes riscos, este pesticida é amplamente utilizado na agricultura.

1.3.4 - Paraquat

O 1,1'-dimetil-4,4'-bipiridina-dicloreto ($C_{12}H_{14}Cl_2N_2$) foi introduzido durante a década de 30, porém somente passou a ser utilizado como indicador redox na década de 50. Este pesticida é comumente chamado de metil-viologeno por formar um composto de cor azul ou violeta, na forma reduzida. Suas propriedades como pesticida foram avaliadas em 1958 e alguns anos depois foi introduzido comercialmente com o nome de paraquat (Klaassen, 1989). Na forma de um sal de cloreto, ele é um herbicida não seletivo largamente utilizado e é conhecido comercialmente como Gramoxone®, Weedol® ou Panthclear® (Sousa & Machado, 2003). A estrutura molecular do Paraquat pode ser vista a seguir na Figura 4:

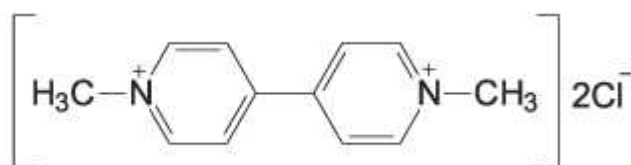


Figura 4: Estrutura Molecular do pesticida Paraquat.

Fonte: Sousa & Machado, 2003.

O objetivo geral desta pesquisa foi estudar a capacidade do fungo *Aspergillus niger* AN400 para o tratamento de águas residuária sintética dopada de pesticidas em reator em batelada sequencial.



2. MATERIAL E MÉTODOS

A pesquisa foi elaborada a partir de um reator biológico em batelada sequencial que foi montado e operado em escala laboratorial sendo inoculado com *Aspergillus niger* AN 400, para a promoção da remoção dos pesticidas em meio aquoso sintético. O trabalho foi dividido em 3 etapas: cultivo e contagem de esporos dos fungos; imobilização da biomassa em meio suporte e montagem e operação do reator.

2.1- Cultivo e contagem de esporos

A espécie fúngica *Aspergillus niger* AN 400 foi cultivada em meio de cultura Ágar Sabouraud e ainda adicionou-se solução de Vishiniac com a seguinte composição (g/L): EDTA (10), $ZnSO_4 \cdot 7H_2O$ (4), $MnCl_2 \cdot 4H_2O$ (1), $CoCl_2 \cdot 6H_2O$ (0,32), $(NH_4)_6Mo_7O_{24} \cdot 4H_2O$ (0,22), $CaCl_2 \cdot 2H_2O$ (1,47) e $FeSO_4 \cdot 7H_2O$ (1). A cultura foi mantida sob 28°C em estufa microbiológica, durante sete dias. Após esse tempo os esporos foram removidos com solução isotônica a base de Tween 80 e foram armazenados em frasco estéril e mantidos à temperatura de -10°C. Como inóculo para os reatores foi usada a concentração de 2×10^6 esporos/mL.

2.2- Imobilização da Biomassa em meio suporte

A biomassa foi imobilizada em cubos de poliuretano (meio suporte) cortada em cubos de 1 cm de aresta, tendo 15 g na totalidade, acondicionados em três redes de polietileno dentro do reator e sendo esterilizada posteriormente. Preparou-se um meio sintético adaptado de Rodrigues (2006), o meio foi transferido para o reator e inoculou-se a solução de esporos, na concentração de 2×10^6 esporos/mL.

A imobilização teve duração de 7 dias, e a cada três dias o meio sintético era trocado para melhor crescimento o fungo. O reator foi mantido em uma câmara de fluxo laminar, a fim de evitar uma possível contaminação do meio.

2.3- Montagem e operação do reator

O reator, confeccionado em vidro, possuía volume total de 5 L e volume útil de 4 L, vedado com tampa plástica específica. O ar era fornecido por mini-compressores e a alimentação foi a partir da água residuária sintética constituída por água de torneira, 1mL/L de Vishiniac e os pesticidas, Atrazina(500 g/L), Deltametrina (25 g/L), Metil Paration (600 g/L) e Paraquat (200 g/L), e também acrescida de 0,5 g/L de glicose.

O reator foi operado por 4 ciclos, cada ciclo com duração de 7 dias. No início de cada ciclo, a água residuária sintética era renovada.

O volume amostral retirado em cada ciclo para a realização das análises: Demanda Química de Oxigênio (DQO), Potencial Hidrogeniônico (pH), amônia e nitrato, foi de apenas 10% do volume útil do reator por ciclo estudado. Os tempos reacionais foram 0 hora, 1, 2, 3, 4, 5 e 7 dias.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Quando se trata da variação do pH, que é possível ser observada na Figura 5, durante todo os ciclos, seus valores permaneceram superiores a 6,2, sem a eventualidade de grandes oscilações. Enquanto que os menores valores foram revelados no ciclo IV, quando conjuntamente ocorreram as remoções de matéria orgânica mais acentuada (Figura 6). Esta diminuição nos valores de pH, possivelmente pode estar relacionada à produção de ácidos orgânicos pelos fungos, assim como pelo consumo preferencial de nitrogênio amoniacal, quando amônia e nitrato encontram-se presentes no meio (ESPOSITO e AZEVEDO, 2004); As concentrações de Nitrato e Amônia podem ser observadas nas Figuras 7 e 8, respectivamente.

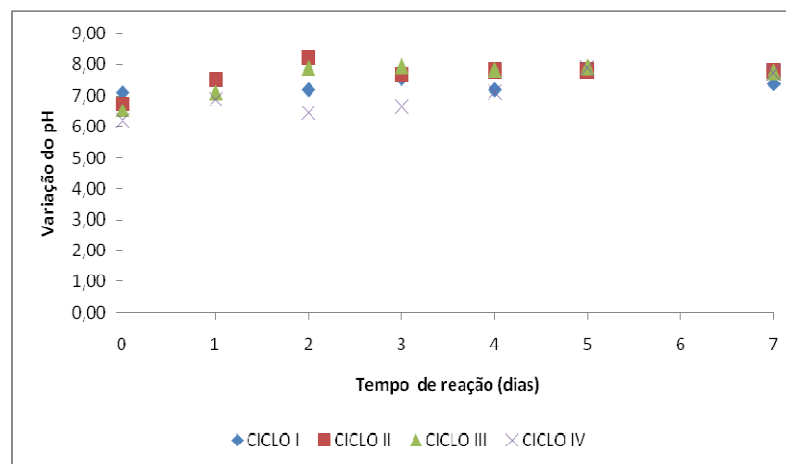


Figura 5 : Gráfico da variação do Potencial Hidrogeniônico(pH) durante os dias reacionais de cada um dos quatro ciclos.

Fonte: Autor, 2012

Na Figura 6 pode-se observar a variação da concentração da Matéria Orgânica, determinada pela Demanda Química de Oxigênio (DQO).

Verificou-se, no ciclo I, que a melhor remoção de matéria orgânica aconteceu no 5º dia, atingindo o percentual de 75%, enquanto que o menor percentual de remoção atingido foi de 52%, ocorrido no 1º dia. A rápida remoção de matéria orgânica sucedida no primeiro tempo reacional, fato também ocorrido em todos os ciclos estudados, pode estar associada, possivelmente, ao processo de adesão dos pesticidas às paredes do micélio, que geralmente é um processo reversível. O processo de bioadsorção se dá de forma branda, abrangendo os mecanismos de transporte passivo e ativo, sendo iniciado com a difusão do componente à superfície da célula microbiana, sendo este um processo irreversível (WANG et al., 2008). Já nos ciclos II e III, os máximos percentuais de remoções de matéria orgânica registrados foram, respectivamente, de 90% (no 4º dia) e 74% (no 4º e no 7º dia).

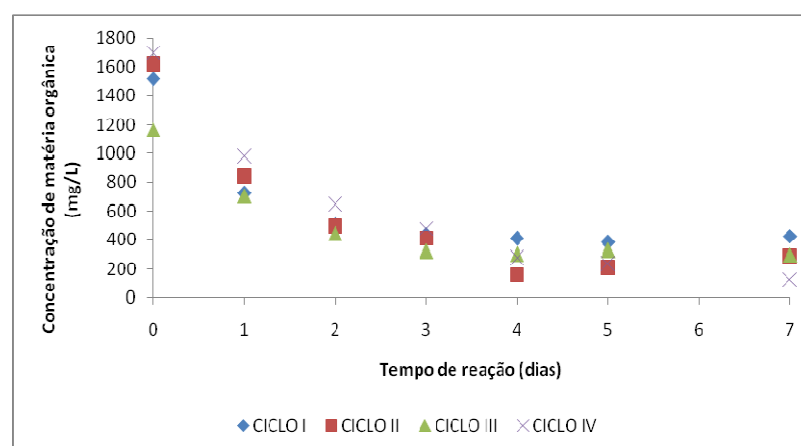


Figura 6: Gráfico da variação da Demanda Química de Oxigênio (DQO) durante os dias reacionais de cada um dos quatro ciclos.

Fonte: Autor, 2012

Ao final destes ciclos, verificou-se uma redução de remoção de matéria orgânica, atingindo, respectivamente, a 72% e a 83%; a perda de eficiência pode ocorrer pela produção excessiva da biomassa e pela contribuição de seu desprendimento do meio suporte para o meio sintético. Esse

desprendimento da biomassa pode ser em função da homogeneização manual que era realizada no reator antes do início das análises. Esse fenômeno foi observado em Pinheiro *et al.*, (2010), onde o crescimento excessivo da biomassa pode comprometer o transporte de nutrientes no biofilme, o que acarreta prejuízos à produção de enzimas catabólicas. A diminuição da atividade enzimática dos micro-organismos pode contribuir para a diminuição dos percentuais de remoção de matéria orgânica.

No último ciclo analisado, ciclo IV, a remoção de matéria orgânica foi crescente ao longo de todo o ciclo, obtendo valores de 42%, 62%, 72%, 84%, 86% e 92% nos tempos reacionais de 1, 2, 3, 4, 5 e 7 dias, respectivamente.

Analisou-se também, o percentual de remoção de Nitrato e Amônia, representados nas Figuras 7 e 8 respectivamente.

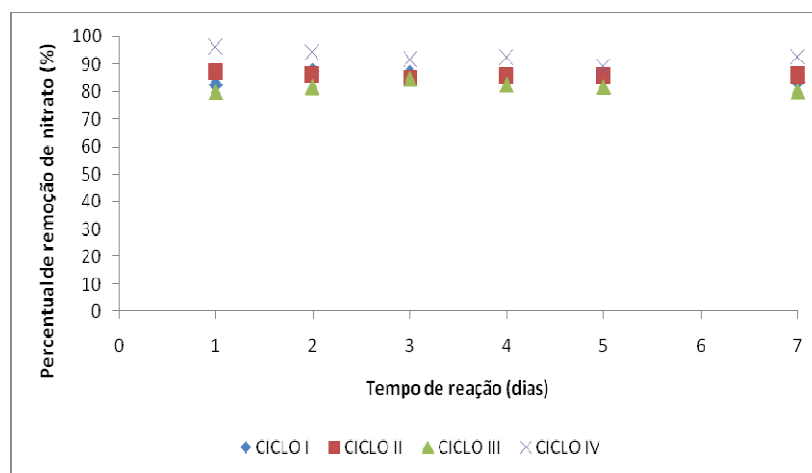


Figura 7: Gráfico do percentual de remoção de Nitrato, (%), durante os dias reacionais de cada um dos quatro ciclos.

Fonte: Autor, 2012

O maior percentual de remoção de nitrato, no ciclo I, foi de 87% no 2º dia e 3º dia e verificou-se que ao final deste ciclo, houve um decréscimo do percentual (84%), registrando acúmulo de nitrato, o que foi atribuído à possível utilização de outras formas nitrogenadas orgânicas encontradas no meio sintético, como amônia ou nitrogênio presente nas moléculas dos pesticidas.

De acordo com Griffin (1994) quando há disponibilidade de outra fonte de nitrogênio orgânico no meio, este é biotransformado a NH_4^+ , o que exprimiu neste ciclo I, em um acréscimo na concentração de amônia, o que significa dizer que o fungo foi provido pela forma de nitrogênio encontrado nos pesticidas, não utilizando a forma disponível de amônia no meio.

Nos ciclos 2 e 3 a remoção ocorreu, simultaneamente, de nitrato e amônia. Os percentuais médios de remoção de nitrato foram de 86% e 82%, nos ciclos II e III, respectivamente. Já os percentuais de amônia, foram de 55% e 73%, respectivamente para os ciclos II e III.

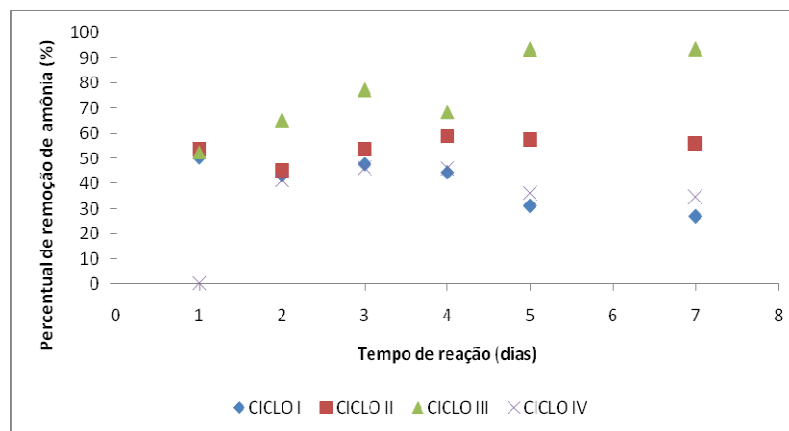


Figura 8: Gráfico do percentual de remoção de Amônia, (%), durante os dias reacionais de cada um dos quatro ciclos.

Fonte: Autor, 2012

Segundo Sangtjean & Schmidt (2002), fungos utilizam amônia e nitrato em velocidades diferentes, sendo que espécies como *Aspergillus niger* são capazes de utilizar, simultaneamente, nitrato e amônia, ainda que a velocidade de consumo de nitrogênio amoniacal seja superior à de nitrato, principalmente em meios alcalinos.

Já em contrapartida, nos ciclos I e IV, à medida que ocorria remoção de nitrato, os percentuais de amônia diminuía, significando acréscimo da concentração de amônia no meio. Segundo Griffin (1994), a assimilação de nitrato é mediada pela ação das enzimas nitrato redutase e nitrito redutase, responsáveis, respectivamente, pela conversão de nitrato a nitrito e de nitrito a amônia. A remoção média de nitrato e amônia foi de 86% e 49%, respectivamente.

6. CONCLUSÕES

A remoção de matéria orgânica (71%, 78%, 72% e 78% para os ciclos 1, 2, 3 e 4, respectivamente), de nitrato (em média de 86%) e a média de remoção de amônia (49%), demonstraram que a pesquisa se tornou viável no estudo da degradação de água residuária sintética dopada com os pesticidas Atrazina, Deltametrina, Metil-Paration e Paraquat, em reatores em batelada sequencial inoculada com *Aspergillus niger* AN400.

REFERÊNCIAS

- ✓ Dórea, Haroldo Silveira; Lopes, Waneide Gomes; Aplicação da técnica de dispersão da matriz em fase sólida (DMFS) na análise de pesticidas em quiabo por CG-EM. Quím. Nova vol.27 n°. 6, São Paulo Nov./Dez. 2004
- ✓ ESPOSITO, E. E AZEVEDO, J. L. DE. **Fungos: uma introdução à biologia, bioquímica e biotecnologia**. Caxias do Sul: EDUCS, 510p, 2004.
- ✓ FERSOL. Disponível em: http://www.fersolna.com.br/fersol/produtos_deltametrina_25.asp [Acesso em: 04 de julho de 2012].
- ✓ GRIFFIN, D. H. Fungal physiology. 2nd ed. New York: Wiley-Liss, 458 p, 1994.
- ✓ HERNANDEZ, J.; ROBLETO, NR; VELASCO, L.; QUINTERO, R.; PICKARD D HALT, R. Chloroperoxidase-mediated oxidation of organophosphorus pesticides. Pesticides Biochemistry and Fhisiology. v. 61, pp. 87-94, 1998.



- ✓ Klaassen, C. D.; Toxicology-the basic science of poisons (Casartt & Doull's), 5th ed., International Ed.: New York, 1989.
- ✓ Luna, Adeilson José de; Sales, Leonardo Teixeira de; Silva, Ronaldo Faustino da. AGROTÓXICOS: “Responsabilidade de Todos” (Uma abordagem da questão dentro do paradigma do desenvolvimento sustentável), 2006.
- ✓ NARAHASHI, T. Neuronal ion channel as the target sites of insecticides. Pharmacol. Toxicol. v.79, n.1, p.1-14, 1996.
- ✓ PINHEIRO, Z. B., RODRIGUES, K., PESSOA-WANDERLEY, C. R., ARAÚJO, R. S., MARINHO, G. Remoção biológica de fenol por uso de reator contínuo com inoculo de *Aspergillus niger*. Engenharia Sanitária e Ambiental, 15, 47-52, 2010.
- ✓ QUEIROZ, S. C. N.; COLLINS, C. H.; JARDIM, I. C. S. F. Métodos de extração e/ou concentração de compostos encontrados em fluidos biológicos para posterior determinação cromatográfica. Quim. Nova, v.24, n.1, p.68-76, 2001
- ✓ Ribas, Priscila Pauly; Matsumura, Aida Terezinha Santos. A química dos agrotóxicos: impacto sobre a saúde e meio ambiente. Revista Liberato, Novo Hamburgo, v. 10, n. 14, p. 149-158, jul./dez. 2009.
- ✓ RODRIGUES, K. de A. Uso de reatores biológicos com fungo para remoção de fenol de água residuária sintética. São Carlos. Tese de doutorado – Escola de Engenharia de São Carlos – Universidade de São Carlos, 2006.
- ✓ SAMPAIO, G. M. M. S. Remoção de metil paration e atrazina em reatores com fungos. Tese de Doutorado em Engenharia Civil, área de concentração em Hidráulica e Saneamento – Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2005.
- ✓ Sampaio, G. M. M. S.; Araújo Rodrigues, K. de; Leitão, R. C.; Zaiat, M.; Santaella, S. T.; **Efeito da glicose na remoção de metil paration presente em água por *Aspergillus niger* (AN400).**- In: Associação Brasileira de Engenharia Sanitaria e Ambiental. Saneamento ambiental Brasileiro: Utopia ou realidade? Rio de Janeiro- ABES 2005. p.1-10, Ilus, tab.
- ✓ SANGTIEAN, T., SCHMIDT, S. **Growth of subtropical EMC fungi with different nitrogen sources using a new flotation culture technique.** Mycol. Res., v. 106, n. 1, p. 75 – 85, 2002.
- ✓ Souza, Djénaine de; Machado, Sergio A. S.; - ESTUDO ELETROANALÍTICO DO HERBICIDA PARAQUAT EM SOLUÇÕES AQUOSAS POR VOLTAMETRIA DE ONDA QUADRADA UTILIZANDO ULTRAMICROELETRODOS. Quim. Nova, Vol. 26, No. 5, 644-647, 2003.
- ✓ SUCEN - SUPERINTENDÊNCIA DE CONTROLE DE ENDEMIAS. Disponível em: <http://www.sucen.sp.gov.br/docstec/seguranca/cap12cla.pdf>. [Acesso em: 04 fev. 2007].
- ✓ Traghetta, D. G; Vaz, C. M. P.; Machado, S. A. S.; Crestana, S.; Vieira, E. M.; Martins-Neto, L.; Mecanismos de sorção da atrazina em solos: estudos espectroscópicos e polarográficos.- Comunicado Técnico da Embrapa, Dezembro de 1996.
- ✓ Van Maanen, J. M.; De Vaan, M. A.; Veldstra, A. W.; Hendry, W. P.; Environ. Monit. Assess. 2001, 72, 95, 2003.
- ✓ WANG, B. E., HU, Y. Y. Bioaccumulation versus adsorption of reactive dye by immobilized growing *Aspergillus fumigatus* beads. Journal of Hazardous Materials, v. 157,n. 1, p. 1-7, 2008.