

IV-022 - DEGRAÇÃO DE FORMULAÇÃO COMERCIAL À BASE DE GLIFOSATO POR PROCESSO DESNITRIFICANTE UTILIZANDO REATOR SEQUENCIAL EM BATELADA COM BIOMASSA IMOBILIZADA

Renata Medici Frayne Cuba⁽¹⁾

Química pelo Instituto de Química de São Carlos (IQSC) da Universidade de São Paulo (USP), Doutora em Hidráulica e Saneamento pela Escola de Engenharia de São Carlos (EESC/USP). Docente na Universidade Federal de Goiás no Curso de Graduação em Engenharia Ambiental e Sanitária e no Programa de Pós-graduação de Engenharia Ambiental e Sanitária (PPGEAS)

Marcela Hirose Miyabara⁽²⁾

Engenheira Ambiental e Sanitarista pela Universidade Federal de Goiás (UFG) e Técnica em Controle Ambiental pelo Instituto Federal de Goiás (IFG)

Francisco Javier Cuba Terán⁽³⁾

Engenheiro Civil pela Escola Politécnica da Universidade de São Paulo (USP), Doutor em Hidráulica e Saneamento pela Escola de Engenharia de São Carlos (EESC/USP). Docente na Universidade Federal de Goiás no Curso de Graduação em Engenharia Ambiental e Sanitária e no Programa de Pós-graduação de Engenharia Ambiental e Sanitária (PPGEAS)

Endereço⁽¹⁾: Av. Universitária, nº. 1488. Setor Universitário. CEP 74605-220 -Tel: (62) 32096541 - e-mail: renatafrayne@hotmail.com

RESUMO

O perfil econômico do Brasil, voltado para as atividades agropecuárias, reflete no elevado uso de agroquímicos que alcançam os recursos hídricos por meio de lixiviação ou escoamento superficial. Entre os compostos de ampla utilização destaca-se o glifosato cuja degradação biológica de compostos comerciais ainda carece de informações. Desta forma, o presente trabalho teve por objetivo geral de avaliar a degradação do glifosato (formulação comercial) em um reator desnitrificante de leito fixo operado em batelada sequencial, com adição de material suporte e etanol como co-substrato. Foram estudadas três condições com relação C/N (glifosato/nitrato) de 0,15; 0,33 e 0,66. Os resultados demonstram que as maiores relações obtiveram eficiência de remoção do glifosato da ordem de 65% e 240 minutos de tempo de ciclo. O modelo cinético que melhor se ajustou aos resultados de decaimento da concentração de glifosato foi o de pseudo-primeira ordem com residual.

PALAVRAS-CHAVE: Formulação Comercial de Glifosato, Desnitrificação, Co-Substrato.

INTRODUÇÃO

No Brasil, apesar da crescente industrialização, a agricultura continua sendo uma atividade econômica importante, uma vez que a produção é impulsionada principalmente pelas atividades de exportação de carnes e grãos. De acordo com o IBGE (2017) a produção de cereais, leguminosas e oleaginosas em 2017 alcançou em média 240,6 milhões de toneladas, impulsionada, principalmente pela plantação de cana-de-açúcar seguida pela de soja.

Essa elevada produção agrícola no Brasil reflete diretamente no uso de insumos e agroquímicos. No ano de 2009, foram utilizados mais de um milhão de toneladas de agroquímicos, o que equivale a uma média de 5,2 Kg de agroquímicos por habitante, segundo o Instituto Nacional do Câncer (INCA) (INCA, 2015).

É certo que apesar dos benefícios econômicos e na produtividade, a utilização inadequada desses produtos pode gerar, invariavelmente, impactos adversos ao meio ambiente, comprometendo a sustentabilidade dos ecossistemas naturais e agrícolas a médio e longo prazos (ANA, 2013). De acordo com Belluck, Benjamin e Dawson (1991), menos de 0,1% desses compostos atingem o alvo específico enquanto 99,9% restantes da aplicação tem potencial de transferência para outros compartimentos ambientais, tais como o solo, águas superficiais e subterrâneas.

Entre os ingredientes ativos de maior comercialização no Brasil o herbicida glifosato destacou-se na 1ª colocação, no ano de 2016 com 185,6 ton, de ingrediente ativo o que corresponde a um valor aproximado de 240,2% a mais do que o segundo colocado (IBAMA, 2017).

Levando-se em consideração o elevado consumo de compostos à base de glifosato, assim como seu potencial tóxico exposto na literatura (INCA, 2015), as diretrizes europeias alertam que embora caras, as técnicas de tratamento utilizadas para reduzir a concentração de glifosato em meio aquoso são necessárias para minimizar os riscos dos resíduos de suas formulações em água para consumo humano (BAI; OGBOURNE, 2016).

Para o tratamento desse composto, o emprego de técnicas baseadas em processos biológicos pode ser promissor, visto a possibilidade em adaptar os microrganismos existentes no meio para que degradem tais compostos, mediante aplicações frequentes do produto (SMELT et al., 1996).

Com relação a capacidade de bactérias desnitrificantes degradarem o glifosato, tal hipótese baseia-se em resultados de trabalhos desenvolvidos por diferentes pesquisadores que têm demonstrado que os organismos responsáveis pelo processo de desnitrificação são bastantes resistentes e se adaptam bem à presença de compostos considerados tóxicos, como por exemplo, produtos farmacêuticos e de higiene pessoal (SUAREZ; LEMA; OMIL, 2010), benzotriazol (HERZOG et al., 2014), entre outros.

Desta forma, o glifosato poderia ser utilizado como fonte de carbono (DICK; QUINN, 1995). No entanto, como a remoção de xenobióticos ocorre em taxas lentas, no caso do glifosato sua meia vida no ambiente é de 12 dias a 10 semanas (PIP, 1994), devido às baixas populações de microrganismos que têm seu crescimento perturbado pela presença desses compostos, o processo de biodegradação do glifosato pode ser favorecido pela adição de um composto orgânico de fácil degradação, co-substrato, para obtenção de energia (RIVERO; PÉREZ, 2008).

Porém, pela dificuldade de avaliar os efeitos positivos de um composto sobre o consumo de outro, torna-se necessário estudos experimentais sobre a introdução equilibrada de co-substratos para uma maior eficiência de remoção de poluentes considerados recalcitrantes.

Desta forma, o objetivo do presente estudo foi o de avaliar a degradação de uma formulação comercial de glifosato em um reator anóxico de leito fixo operado em batelada, por bactérias desnitrificantes, visando uma possível biorremediação *in situ* em casos de contaminação. Também foram verificadas as melhores condições com relação a relação C/N (glifosato/nitrato) e a cinética de remoção.

MATERIAIS E MÉTODOS

SISTEMA OPERACIONAL

Foi utilizado um reator sequencial em batelada (RSB) operado sob condições desnitrificantes e biomassa imobilizada. Na Figura 1A, 1B e 1C são apresentados esquema do reator, foto do sistema e material suporte respectivamente.

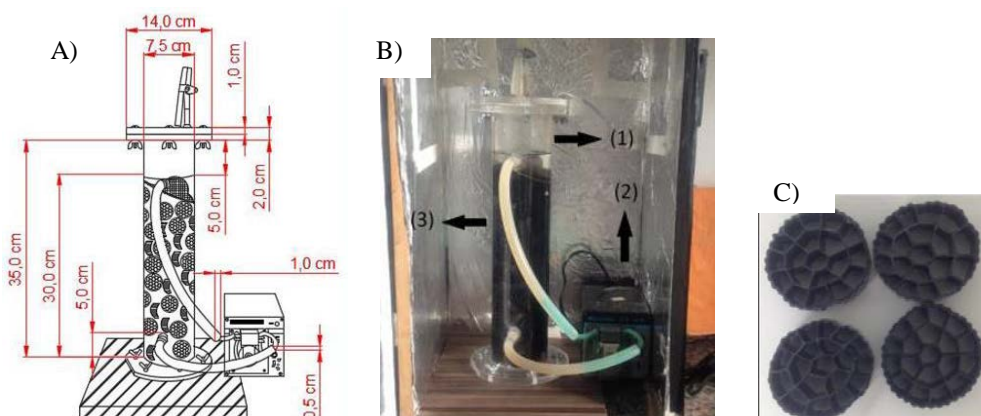


Figura 1: Representação esquemática (A) e foto (B) do sistema operacional sendo reator biológico (1), bomba peristáltica (2) e material suporte (3), (C) material suporte fabricado com polietileno de alta densidade (PEAD)

O reator utilizado possui capacidade volumétrica de 1,4 L. O enchimento e esvaziamento do reator foi feito manualmente pela parte superior que era mantida fechada durante o ciclo de operação para evitar oxigenação do meio. A bomba peristáltica foi utilizada para a circulação do substrato (vazão de 0,7 mLmin⁻¹) no reator com o objetivo de promover maior contato com o meio suporte constituído por 122,6228 g de peças randômicas com formato esférico constituídos de material de polietileno de alta densidade (PEAD), dispostos aleatoriamente no reator biológico.

O sistema foi operado em regime de batelada com tempo de ciclo de 30 horas em uma primeira etapa e nas demais etapas com 12 horas. A temperatura permaneceu em 26 °C ± 2 °C.

INÓCULO

Como inóculo do reator foi utilizado lodo aeróbio obtido em um decantador secundário de sistema de lodos ativados e previamente adaptado às condições anóxicas utilizando substrato constituído por nitrato de sódio (121,43 g) e etanol como fonte de carbono (0,5 mL⁻¹).

CONDIÇÕES NUTRICIONAIS

Para avaliar a capacidade de remoção de formulação comercial à base de glifosato em meio anóxico o sistema operou com 3 etapas distintas (sem considerar o período de adaptação às condições anóxicas) sob diferentes condições nutricionais que se encontram descritas na Tabela 1.

Tabela 1: Composição nutricional do substrato utilizado durante as 4 etapas de operação do sistema.

Composto	Concentração (mg L ⁻¹)		
	Etapa 1 (51 d*)	Etapa 2 (19 d)	Etapa 3 (32d)
Glifosato	1,5	10,00	10,00
Nitrato de Sódio (NaNO ₃) - N-NO ₃ ⁻	10	15	30
Relação Glifosato/Nitrato (C/N)	0,15	0,66	0,33

* d- dias de operação

As três etapas testadas tiveram o intuito de otimizar a remoção de glifosato e nitrato. Em todas as etapas também foi adicionado ao substrato 0,20 mL⁻¹ de etanol como co-substrato para aumentar a eficiência na biodegradação, devido este composto ser considerado altamente energético (MACEDO et al., 2015). A fonte de glifosato foi o produto comercial à base de sal de di-amônio de glifosato 445,00 gL⁻¹ (370,00 gL⁻¹ equivalente de ácido). Para manter o tamponamento do sistema foi utilizado bicarbonato de sódio de forma a fornecer 50mgL⁻¹ de alcalinidade no sistema. Para evitar a adição de micronutrientes no sistema foi utilizada água ambiental do rio Meia Ponte (trecho Goiânia/GO) ao invés de água destilada.

ACOMPANHAMENTO DO TRATAMENTO

Para avaliar o desempenho do sistema foram realizados perfis temporais das concentrações de nitrato e glifosato após o sistema se apresentar em equilíbrio dinâmico aparente detectado por meio de análises semanais (dados não apresentados). Com os dados obtidos foi possível avaliar a eficiência de tratamento assim como a cinética do processo. Os ajustes cinéticos para degradação do glifosato foram feitos utilizando-se o software Origin® versão 9.0, ao modelo de decaimento exponencial de primeira ordem com concentração residual utilizada por Mendonça (2002) e apresentado na equação 1

$$C_t = C_r + (C_0 - C_r)e^{-kt} \quad \text{equação (1)}$$

Onde C_r: concentração residual de glifosato (mgL⁻¹); C₀: concentração inicial de glifosato (mgL⁻¹); k: constante cinética aparente de primeira ordem (min⁻¹); t: tempo (min).

ANÁLISES FÍSICO-QUÍMICAS

A análise realizada para determinação da concentração de glifosato foi a metodologia proposta por Tzaskos et al. (2012), que consiste na reação do glifosato com ninidrina e molibdato de sódio, que formam um produto violeta, após 12 (doze) minutos em banho-maria à temperatura de 90°C. A leitura foi realizada em 570nm, que apresenta o máximo de absorção. As análises de nitrato e pH foram realizadas de acordo com métodos propostos por APHA (2012). A temperatura foi medida por meio de termômetro de mercúrio comum em

laboratório. Não foi possível medir oxigênio dissolvido no meio, porém, o reator foi operado completamente fechado de forma a evitar oxigenação no sistema.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na Etapa 1 do experimento o sistema foi operado com baixa concentração de glifosato ($1,5 \text{ mgL}^{-1}$) e tempo de ciclo de 30 horas com o intuito de adaptar os microrganismos à presença de glifosato. A relação C/N foi de 0,15. O elevado tempo de ciclo foi determinado em função de estudos prévios de degradação deste composto que apresentaram tempos de degradação da ordem de dias. (CASTRO JR; PERALBA; AYUB, 2007; WANG et al, 2016). Na Figura 2 encontram-se apresentados os dados do perfil temporal obtido para as concentrações de nitrato e glifosato durante a Etapa 1.

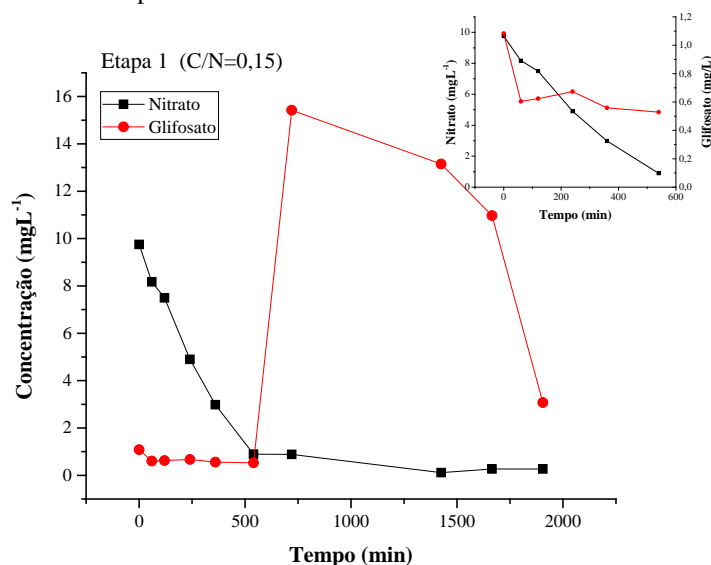


Figura 2: Perfil temporal da remoção de glifosato e nitrato obtido durante a Etapa 1. No destaque o decaimento da concentração de glifosato e nitrato nos primeiros 500 minutos.

Ao analisar os resultados obtidos no perfil da Etapa 1 apresentados na Figura 2, verifica-se que a contração de nitrato teve uma diminuição de aproximadamente 44% nos primeiros 60 minutos completando-se para 90,8% em 500 minutos de operação do sistema, enquanto que a concentração de glifosato diminuiu 44 % na primeira hora e 51% nos 500 minutos (ver destaque da Figura 2).

A maior eficiência de remoção obtida na primeira hora pode estar associada à maior disponibilidade de fonte de carbono para o crescimento microbiano. Por outro lado, a depleção do nitrato após a estabilização da concentração de glifosato, a partir dos 60 minutos, pode estar associada à utilização de fonte de carbono oriunda dos demais componentes constituintes da formulação comercial, como por exemplo, surfactantes. Paulo et al (2017) estudaram o uso de surfactante como fonte de carbono e energia para o enriquecimento de culturas desnitrificantes com concentração entre 50 mgL^{-1} e 1000 mgL^{-1} e verificaram a capacidade de diferentes espécies em crescer no meio, porém, com respostas diferenciadas à concentração dos surfactantes. Nesse período de tempo, não se considerou a possibilidade de a depleção do nitrato ser de fontes endógenas de carbono, visto que a desnitrificação endógena apresenta baixa eficiência (ABUFAYED; SCHROEDER, 1986), fato este que não foi detectado no comportamento cinético.

A súbita elevação na concentração de glifosato detectada a partir dos 540 minutos pode estar relacionada com a formação de subprodutos resultante das condições anaeróbias que começaram a reger o sistema de tratamento devido a baixa concentração de nitrato no meio. Durante o metabolismo anaeróbio são produzidos, por meio de processos fermentativos, entre outros subprodutos, como aminoácidos e ácidos graxos (KUNZ; OLIVEIRA, 2006) cuja determinação pode ser realizada por meio da reação com ninidrina (FRIEDMAN, 2004) que no presente estudo foi utilizada para análise de glifosato. Ainda, tais subprodutos também podem ter servido de fonte de carbono para os organismos presentes no meio, inclusive os desnitrificantes (ELEFSINIOTIS, WAREHAM, SMITH, 2004).

Com relação ao pH este se manteve em média igual a $\text{pH} = 7,9 \pm 0,4$, porém tal manutenção pode estar associada à alcalinidade adicionada ao substrato.

A partir dos resultados obtidos no perfil temporal da Etapa 1, optou-se por diminuir o tempo de ciclo para 12 h (720 minutos) e elevar a concentração de glifosato para 10 mgL^{-1} e de nitrato para 15 mgL^{-1} ($\text{C/N} = 0,66$) de forma a garantir disponibilidade de fonte de carbono e nitrogênio necessários para a manutenção do metabolismo microbiano (YANG; WANG; ZHOU, 2012). Na Figura 3 são apresentados os resultados do perfil temporal obtidos para as concentrações de nitrato e glifosato durante essa etapa.

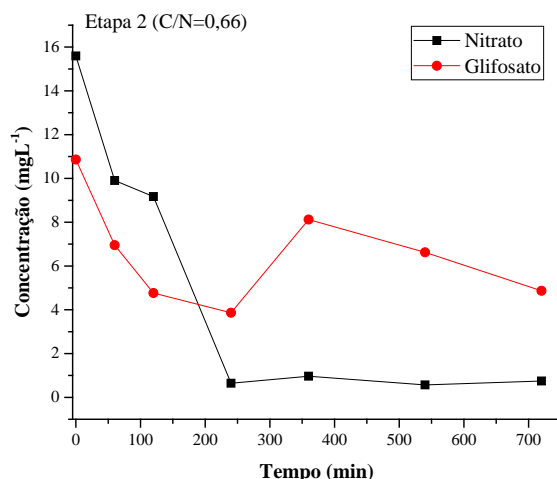


Figura 3: Perfil temporal da remoção de glifosato e nitrato obtido durante a Etapa 2.

Nessa etapa a remoção de glifosato e nitrato foram de 64,4% e 95,85%, respectivamente, com tempo de degradação de 240 minutos para ambos os compostos. O aumento na eficiência de remoção assim como na velocidade de remoção do nitrato pode estar relacionado não somente com a relação C/N assim como com o aumento nas concentrações iniciais de glifosato e nitrato que permitiram maior disponibilidade de fonte de carbono e aceptor de elétrons, respectivamente para o processo metabólico desnitrificante. O pH se manteve em $8,09 \pm 0,27$. Esse valor mais elevado é característico do processo desnitrificantes no qual alcalinidade é gerada,

A relação C/N , está diretamente relacionada com a eficiência do processo de desnitrificação (KUMMER et al, 2011; HUILIÑIR et al, 2012; YANG; WANG; ZHOU, 2012; MIELCAREK et al, 2015), porém não há um consenso sobre a relação ideal, visto que esta depende, entre outros fatores do tipo de fonte de carbono utilizada no processo (YANG; WANG; ZHOU, 2012). Nesta etapa o nitrato pode ter sido limitante do processo de desnitrificação devido sua concentração, após 240 minutos de tratamento, ter permanecido inferior a 1 mgL^{-1} . Novamente a condição de anaerobiose pode ter influenciado na análise de glifosato que detectou um “aumento na sua concentração” em baixas concentrações de nitrato. Desta forma acredita-se que a remoção de glifosato via processo desnitrificante tenha ocorrido somente nos primeiros 240 minutos.

Para verificar se o nitrato foi o limitante no processo durante a Etapa 2, sua concentração foi aumentada para 35 mgL^{-1} sem alterar a concentração de glifosato que se manteve em 10 mgL^{-1} , desta forma a relação C/N passou a ser de 0,33. Na Figura 4 são apresentados os perfis temporais da concentração de nitrato e glifosato para a Etapa 3.

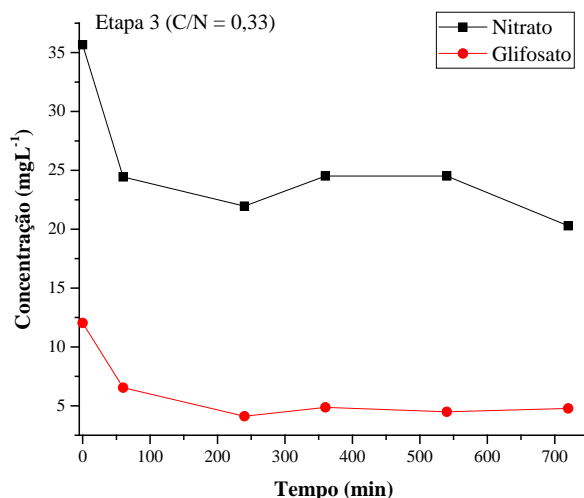


Figura 4: Resultados dos perfis temporais da concentração de nitrato e glifosato para a Etapa 3.

Os resultados obtidos na Etapa 3 demonstram que a concentração final de glifosato foi de aproximadamente 4 mgL⁻¹ que corresponde à uma eficiência de remoção de 65,8% enquanto que a remoção de nitrato foi de 43,11%, com os mesmos 240 minutos de tratamento. Nesta etapa percebe-se que a remoção de nitrogênio ficou condicionada à disponibilidade de carbono que, após os 240 minutos pode ter se tornado insuficiente para o crescimento dos organismos heterotróficos desnitrificantes, visto que o processo de desnitrificação também pode ser afetado pela disponibilidade de material orgânico (MATHIOUDAKIS; AIVASIDIS, 2009; KUMAR et al, 2012).

Com relação à diminuição de, aproximadamente, 17% na concentração de nitrato entre 540 e 720 minutos pode-se inferir que outros compostos presentes na formulação do glifosato, assim como na Etapa 1, tenham sido utilizados como fonte de carbono para os organismos heterotróficos quando o glifosato alcançou valores baixos para a manutenção do metabolismo de tais organismos.

Nessa etapa, como a concentração de nitrato permaneceu com valores da ordem de 20 mgL⁻¹ não se detectou incoerências com os resultados obtidos na análise de glifosato, o que corrobora a hipótese de anaerobiose nas etapas anteriores. O valor de pH foi de 8,51 ± 0,36.

Na Figura 5 são apresentados os resultados da eficiência de remoção de nitrato e glifosato em função das relações C/N adotadas nas Etapas 2 e 3, respectivamente. Não foi feita a análise do resultado da Etapa 1 visto a hipótese de que a remoção do nitrato com o uso de glifosato como fonte de carbono tenha ocorrido somente na primeira hora do ciclo conforme explicado anteriormente.

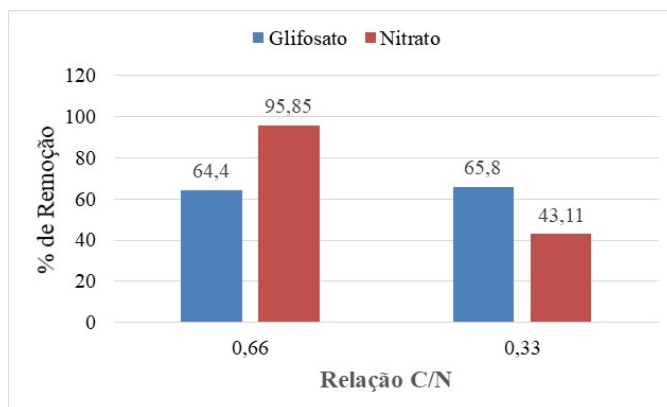


Figura 5: Eficiência de remoção de nitrato e glifosato em função da relação C/N adotadas 2 (C/N=0,66) e 3 (C/N=0,33).

Pode-se verificar que a variação na relação C/N afetou mais significativamente a remoção do nitrato do que a do glifosato. Esses resultados são condizentes com os obtidos por Kumar et al (2012) cujo sistema operado alcançou as máximas eficiências de remoção de nitrato quando operado em altas relações C/N.

A remoção de nitrato diminuiu de 95,85% para 43,11% quando a relação C/N diminuiu pela metade. Esse fato revela que a fonte de carbono no meio foi limitante para o processo de desnitrificação, por outro lado, a eficiência de remoção de glifosato se manteve da ordem de 60% em um período de 240 minutos, para ambas as relações. Estes resultados obtidos permitem verificar, que o tempo de degradação foi menor que a média de 5 dias para degradar 41% de glifosato obtidos por Castro Jr, Peralba e Ayub (2007) em biorreatores aeróbios com concentração inicial de glifosato de 50mgL^{-1} e Wang et al (2016) com tempos de degradação de 40 dias para mineralizar cerca de 50% de $^{13}\text{C}_3$ -glifosato com concentração inicial de 3mgL^{-1} (equivalente a 50mgL^{-1} de glifosato).

Embora a concentração de nitrato não tenha afetado significativamente a eficiência de remoção, o mesmo não foi observado para a cinética do processo, conforme ajustes cinéticos apresentados na Figura 6 e seus respectivos parâmetros apresentados na Tabela 2.

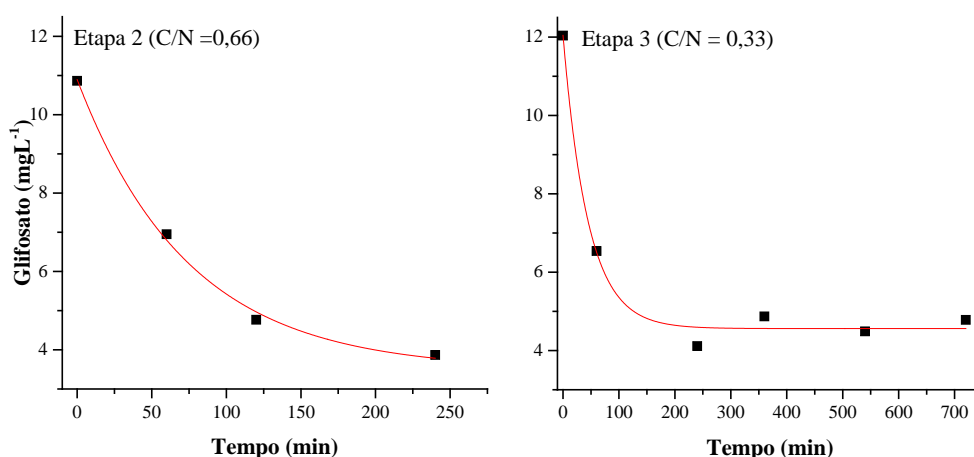


Figura 6: Ajuste cinético utilizando modelo de pseudo-primeira ordem considerando concentração residual de glifosato para as Etapas 2 (C/N=0,66) e 3 (C/N=0,33).

Tabela 2: Parâmetros cinéticos obtidos para os resultados obtidos na etapas 2 (C/N=0,66) e 3 (C/N=0,33).

Etapa	C/N	R ²	K (min ⁻¹)	Cr _{calc.}	Cr _{obt.}
2	0,66	0,99267	0,01343	3,48996	3,86626
3	0,33	0,98598	0,02243	4,56076	4,78263

Cr_{calc.} – concentração residual calculada pelo modelo; Cr_{obt.} - concentração residual obtida experimentalmente

Os resultados obtidos experimentalmente durante os perfis temporais obtidos nas Etapas 2 e 3 apresentaram adequado ajuste ao modelo de pseudo-primeira ordem considerando concentração residual de glifosato. Pode-se verificar que os valores do coeficiente de correlação foram superiores a 0,95 assim como os valores da concentração residual de glifosato calculado quanto as obtidas experimentalmente se apresentam relativamente próximas.

Com relação à diferença de velocidade obtidas em ambas as etapas se verifica que a na primeira hora de ciclo houve uma redução de 36,02% e 45,66% na concentração de glifosato, nas Etapas 2 e 3, respectivamente. O motivo pelo qual a etapa com maior concentração de nitrato tenha apresentado maior taxa de remoção na primeira hora pode ser exatamente a alta disponibilidade de aceptor de elétrons que favorece o metabolismo microbiano.

CONCLUSÕES

A remoção de glifosato por meio de processo desnitrificantes foi alcançada com eficiência de remoção máxima da ordem de 65% e 240 minutos de tempo de ciclo com relações C/N de 0,33 e 0,66. A remoção de nitrato foi afetada pela disponibilidade de material orgânico como aceptor de elétrons para o processo metabólico. Da mesma forma, a velocidade e remoção do glifosato foi afetado pela concentração inicial de nitrato no meio, porém a eficiência final de remoção não sofreu alterações significativas alcançando valores da ordem de 64,4% e 65,8% nas etapas 2 e 3 respectivamente.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. ABUFAYED, A.A., SCHROEDER E.D. *Kinetics and stoichiometry of SBR/denitrification with primary sludge carbon source*. J. Water Pollut. Control Fed., 58, p. 398-405, 1986
2. ANA: Agência Nacional de Águas. **Conjuntura dos Recursos Hídricos no Brasil 2013**. Brasília-DF, 2013, 368 p. Home page: <http://arquivos.ana.gov.br/institucional/spr/conjuntura/PDFs%20agregados/ANA_Conjuntura_Recursos_Hidricos_Brasil_capitulos_.pdf>. Acesso em: 15 abr. 2018.
3. BAI, S., OGBOURNE, S. *Glyphosate: environmental contamination, toxicity and potential risks to human health via food contamination*. Environ. Sci. Pollut. Res. 23, 18988–19001. 2016. <https://doi.org/10.1007/s11356-016-7425-3>
4. BELLUCK, D. A.; BENJAMIN, S. L.; DAWSON, T. *Groundwater Contamination by Atrazine and its Metabolites: Risk Assessment, Policy and Legal Implications*. In: SOMASUNDARAM, L.; COATS, J. R. (Eds.). [s.n.]. **Proceedings: Pesticide Transformation Products: Fate and Significance in the Environment**. Washington, DC: American Chemical Society, 1991, v. 18, p. 256-273
5. APHA: American Public Health Association; AWWA: American Water Works Association; WEF: Water Environment Federation. *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater*. 22. ed. Washington: [s.n.], 2012. 1496 p
6. CASTRO JR, J. V., PERALBA, M.C.R., AYUB, M. A.Z. *Biodegradation of the herbicide glyphosate by filamentous fungi in platform shaker and batch bioreactor*. Journal of Environmental Science and Health Part B, v. 42, p. 883-886, 2007
7. DICK, R. E.; QUINN, J. P. *Glyphosate-Degrading Isolates from Environmental Samples: Occurrence and Pathways of Degradation*. Applied Microbiology Biotechnology, Berlin, v. 43, [s.n.], p. 545-550, 1995. Home page: <<https://link.springer.com/article/10.1007/BF00218464>>. Acesso em: 29 jun. 2017.
8. ELEFSINIOTIS, P., WAREHAM, D.G., SMITH, M.O. *Use of volatile fatty acids from an acid-phase digester for denitrification*. J. Biotechnol., 114, p. 289-297, 2004.
9. FRIEDMAN, M. *Applications of the ninhydrin reaction for analysis of amino acids, peptides, and proteins to agricultural and biomedical sciences*. Journal of agricultural and food chemistry, v.52, n.3, p.385-406, 2004
10. HUILIÑIR, C. ; HERNÁNDEZ, S.; ASPÉ, E.; ROECKEL, M. *Simultaneous nitrate and organic matter removal from salmon industry wastewater: The effect of C/N ratio, nitrate concentration and organic load rate on batch and continuous process*. Journal of Environmental Management, v.101, p.82-91, 2012
11. HERZOG, B.; LEMMER, H.; HUBER, B.; HORN, H.; MÜLLER, E. *Xenobiotic Benzotriazoles – Biodegradation Under Meso – and Oligotrophic Conditions as well as Denitrifying, Sulfate-Reducing, and Anaerobic Conditions*. Environmental Science and Pollution Research, Germany, v. 21, 2014
12. INCA: Instituto Nacional de Câncer José Gomes da Silva. **Posicionamento Institucional do Instituto Nacional do Câncer José Alencar Gomes da Silva Acerca dos Agrotóxicos**. [s.l.], 2015, 5 p. Home page: <http://www1.inca.gov.br/inca/Arquivos/comunicacao/posicionamento_do_inca_sobre_os_agrotoxicos_06_abr_15.pdf>. Acesso em: 15 abr. 2018.
13. INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA (IBGE) Indicadores IBGE – Estatística da Produção Agrícola, 2017, Disponível em: https://biblioteca.ibge.gov.br/visualizacao/periodicos/2415/epag_2017_dez.pdf. Acesso em: 30/04/2018
14. INSTITUTO BRASILEIRO DE MEIO AMBIENTE E DOS RECURSOS NATURAIS (IBAMA) Relatórios de comercialização de agrotóxicos. Os 10 ingredientes ativos mais vendidos. 2017. Disponível em <http://ibama.gov.br/agrotoxicos/relatorios-de-comercializacao-de-agrotoxicos#boletinsanuais>. Acesso em: 30/04/2018

15. KUMAR, M.; LEE, P.; FUKUSIHMA, T.; WHANG, L.; LIN, J. *Effect of supplementary carbon addition in the treatment of low C/N high-technology industrial wastewater by MBR Bioresource Technology*, Vol.113, p.148-153, 2012.
16. KUMMER, A. C. B., DE ANDRADE, L., GOMES, S. D., FAZOLO, A., HASAN, S. D. M., MACHADO, F. *Tratamento de efluente de abatedouro de tilápia com adição de manipueira na fase anóxica*. Eng. Agríc., Jaboticabal, v.31, n.1, p.150-157. 2011
17. KUNZ, A.; OLIVEIRA, P A V. *Aproveitamento de dejetos animais para geração de biogás*. Revista de Política Agrícola, Brasília, v.15, n.3, p.28-35, 2006.
18. MACEDO, T. Z.; OKADA, D.Y.; DELFORNO, T. P.; BRAGA, J. K.; SILVA, E. L.; VARESCHE, M. B. A. *The Comparative Advantages of Ethanol and Sucrose as Co-Substrates in the Degradation of an Anionic Surfactant: Microbial Community Selection*. Bioprocess Biosyst Eng, 2015
19. MENDONÇA, L.C. Microbiologia e cinética de sistemas de lodos ativados como pós-tratamento de efluente de reator anaeróbio de leito expandido. Tese Doutorado. Escola de Engenharia de São Carlos. São Carlos, SP. Universidade de São Paulo. 2002. 219p.
20. MIELCAREK, A.; RODZIEWICZ, J.; JANCZUKOWICZ, W.; THORNTON, A. J.; JÓZWIAK, T.; SZYMCHYK, P. *Effect of the C:N:P ratio on the denitrifying dephosphatation in a sequencing batch biofilm reactor (SBBR)*. Journal of Environmental Sciences, v.38, p.119-125, 2015.
21. PAULO, ANA ; AYDIN, ROZELIN ; DIMITROV, MAURICIO ; VREELING, HARM ; CAVALEIRO, ANA ; GARCÍA-ENCINA, PEDRO ; STAMS, ALFONS ; PLUGGE, CAROLINE *Sodium lauryl ether sulfate (SLES) degradation by nitrate-reducing bacteria* Applied Microbiology and Biotechnology, Vol.101(12), pp.5163-5173, 2017,
22. PIP: Pesticide Information Project. Glyphosate. Cooperative Extension Offices of Cornell University, Michigan State University, Oregon State University, and University of California at Davis. [s.l.], 1994. Home page: <<http://pmep.cce.cornell.edu/profiles/extoxnet/dienochlor-glyphosate/glyphosate-ext.html>>. Acesso em: 26 abr. 2017.
23. RIVERO, M. G.; PÉREZ, M. R. P. *Cometabolismo en la Biodegradación de Hidrocarburos*. Revista Mexicana de Ingeniería Química, México, v. 7, n. 1, p. 1-12, 2008. Home page: <<http://www.scielo.org.mx/pdf/rmiq/v7n1/v7n1a1.pdf>>. Acesso em: 21 jun. 2017.
24. SMELT, J. H.; VAN DE PEPPEL-GROEN, A. E.; VAN DER PAS, L. J. T.; DIJKSTERHUIS, A. *Development and Duration of Accelerated Degradation of Nematicides in Different Soils*. Soil Biology & Biochemistry, v. 28, n. 12, p. 1757-1765, 1996
25. SUAREZ, S.; LEMA, J.M.; OMIL, F. *Removal of Pharmaceutical and Personal Care Products (PPCPs) Under Nitrifying and Denitrifying Conditions*. Water Research, [s.l.], v. 44, n. 10, 2010.
26. TZASKOS, D. F.; MARCOVICZ, C.; DIAS, N. M. P.; ROSSO, N. D. *Development of Sampling for Quantification of Glyphosate in Natural Waters*. Ciência e Agrotecnologia, Ponta Grossa-PR, v. 36, n. 4, 2012. Home page: < http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1413-70542012000400003>. Acesso em: 10 abr. 2017.
27. WANG, S.; SEIWERT, B.; KÄSTNER, M. ; MILTNER, A. ; SCHÄFFER, A. ; REEMTSMA, T. ; YANG, Q. ; NOWAK, K. M. *(Bio)degradation of glyphosate in water-sediment microcosms – A stable isotope co-labeling approach* Water Research, v.99, p.91-1001, 2016
28. YANG, X; WANG, S.; ZHOU, L. *Effect of carbon source, C/N ratio, nitrate and dissolved oxygen concentration on nitrite and ammonium production from denitrification process by Pseudomonasstutzeri D6*. Bioresource Technology, v.104, p.65-72, January 2012