

II-178 - REMOÇÃO DE NUTRIENTES DE EFLUENTE SINTÉTICO DOPADO COM PESTICIDAS EM REATOR EM BATELADA COM BIOMASSA IMOBILIZADA

Márcia Gabrielle Apolinario⁽¹⁾

Graduanda em Engenharia Ambiental e Sanitária pelo Instituto Federal de Educação Ciencia e Tecnologia do Ceará-Campus Maracanau.Tecnologa em Gestão Ambiental.

Iury Leitr⁽²⁾

Graduando em Engenharia Ambiental e Sanitária pelo Instituto Federal de Educação Ciencia e Tecnologia do Ceará-Campus Maracanau.

Camila Moraes Siebra⁽³⁾

Graduanda em Engenharia Ambiental e Sanitária pelo Instituto Federal de Educação Ciencia e Tecnologia do Ceará-Campus Maracanau.

Germana Maria Marinho⁽⁴⁾

Farmacêutica. Me em Tecnologia e Gestão Ambiental pelo IFCE. Profa. do IFCE/ Campus Maracanaú

Gloria Maria Marinho Silva Sampaio⁽⁵⁾

Farmacêutica. Doutora em Hidráulica e Saneamento pela EESC/USP. Profa. do Mestrado em Tecnologia e Gestão Ambiental do IFCE.

Endereço⁽¹⁾: Rua Passa Tempo, 176 - Carmo-Sion - Belo Horizonte - MG - CEP: 30310-760 - Brasil - Tel: (31) 225-9518 - e-mail: halfeld@sc.usp.br

RESUMO

O grande consumo de pesticidas nos setores agricola e pecuário de forma indiscriminada e abusiva acarretaram a contaminação de águas subterrâneas, superficiais e solo. Pesticidas são substâncias de difícil degradação e persistentes, sendo um risco a saúde humana e contaminante do meio ambiente. Os tratamentos tradicionais não são eficientes na remoção de tais substâncias. Assim, o desenvolvimento de novas formas de tratamento tem sido buscado para que se possa removelos das fontes de águapara abatecimento e dos efluentes. Os biotratamentos são uma boa alternativa, dentre eles, os que utilizam fungos, tornando-se uma alternativa viável e eficiente. A espécie *Aspergillus niger* AN400 foi a utilizada para a realização desse estudo e os pesticidas metil paration, paraquat e atrazina.Estudou-se a capacidade do fungo em usar o nitrogênio presente nas moléculas destes pesticidas como fonte nutricional.O reator foi operado em regime sequencial com tempo de retenção (TR) de 12 horas.As analises realizadas foram nitrato, cuja a eficiência mínima foi de 25% e a máxima de 91%. O nitrito foi convertido a amônia mostrando a eficácia do sistema enzimático do fungo. As remoções de amônia foram todas acima de 9%, com exceção do ultimo ciclo.

PALAVRAS-CHAVE: Biotratamento, pesticidas,Aspergillus niger AN400.

INTRODUÇÃO

Os pesticidas possuem uma representação significativa na atual produção do setor agrícola e pecuário provocado pelo crescimento acelerado da população e como consequênciia a produção de alimentos com o minimo de perdas. Sendo utilizado no mundo todo em grande quantidade e em sua maioria de forma indiscriminada e abusiva. Vários pesticidas são usados simultaneamente e/ou misturados para potencializar a sua ação, provocando um maior grau de contaminação (PINO e PEÑUELLA, 2011).

A contaminação do ambiente, por pesticidas pode ocorrer por sua infiltração no solo atingindo águas subterrâneas, superficiais e o solo. O manuseio impróprio antes ou depois das aplicações é igualmente identificado como um grande contribuinte da deterioração da qualidade das fontes naturais de água (PINTO et al,2012). Além da “deriva técnica” que é um termo técnico utilizado na agronomia, quando o agrotóxico não atinge o seu alvo (a lavoura a ser tratada) e contamina o entorno, mesmo com utilizando as medidas de segurança. (LONDRES, 2011)

A concentração de pesticidas encontrados na água vem crescendo de forma continua (PALMA et al, 2009), sendo herbicidas e inseticidas os comumente encontrados em águas superficiais devido a sua grande utilização na agricultura e em zonas habitacionais (LIU et al, 2009).

Estudos têm sido realizados para o desenvolvimento de tecnicas para a remoção de pesticidas das fontes de água e para o tratamento de efluentes. Dentre eles, temos os tratamentos fisico-químicos e bilógicos. Destacando-se este ultimo por oferecer custos menores.

Fungos e bactérias são os mais importantes transformadores e degradores de pesticidas da comunidade microbiológica (DIEZ, 2010). Muitos fungos têm sido testados por sua habilidade de degradar pesticidas, destacando os causadores da podridão-branca. São microrganismos capazes de tolerar uma alta concentração de poluentes melhor que as bactérias (PINTO et al, 2012).

Várias espécies de fungos têm sido utilizadas para a degradação de diversos poluentes. A espécie *Aspergillus niger* foi utilizado na degradação de piretroides (LIANG et al, 2005), endosulfan (BHALERAO E PURANIK,2007), carbaril (ZHANG et al, 2003) e dimetoadto (LIU et al, 2001) metil paration (SAMPAIO, 2005). A espécie *Aspergilus niger AN 400* foi a utilizada para a realização desta pesquisa, pela sua comprovada habilidade em degradar compostos recalcitrantes.

Metil paration é um inseticida organofosforato amplamente utilizado na agricultura devido a sua baixa persistencia ambiental (FIORANTI et al ,2010) e não seletivo, atingindo varias espécies não alvo. Este pesticida é rapidamente absorvida por via oral, dérmica e respiratoria, sendo repidamente distribuidos pelos tecidos do corpo. Figura 1 mostra a estrutura molecular do metil paration.

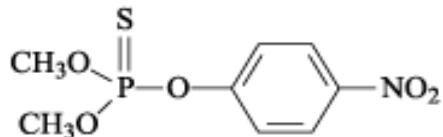


Figura 1-Estrutra molecular do pesticida metil paration.
Fonte: Dórea & Lopes (2004).

Paraquat é um herbicida, classe I, não seletivo utilizado em larga escala em mais de cem países em culturas de fumo, arroz, algodão, soja, uva entre outra. Possui alta persistência no ambiente e alta solubilidade na água facilitando a contaminação deste meio e altamente toxico. Na Figura 2 está mostrada a estrutura molecular do paraquat.

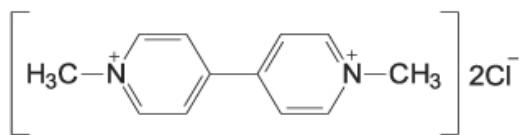


Figura 2-Estrutura molecular do pesticida paraquat.
Fonte: Sousa & Machado (2003).

Atrazina é o herbicida mais utilizado no mundo. O uso intensivo da atrazina no mundo e sua considerável mobilidade nos solos têm contribuído para que níveis acima do limite permitido sejam freqüentemente detectados em águas de superfície e subterrâneas (CEREJEIRA et al, 2003). A estrutura molecular está demonstrada na Figura 3.

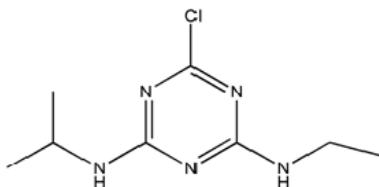


Figura 3-Estrutura molecular do pesticida atrazina.
Fonte: Esposito (2004).

Esta pesquisa esta embasada na contaminação ambiental causada por efluentes provenientes de indústrias de pesticidas , destinando-se a monitorar a remoção de nutrientes nitrogenados.

MATERIAIS E MÉTODOS

CULTIVO, PRODUÇÃO E CONTAGEM DOS ESPOROS DE *Aspergillus niger* AN400

Os esporos de *Aspergillus niger* AN 400 foram produzidos em placas de Petri estéreis contendo 15 mL de meio de cultura Sabouraud Dextrose, previamente esterilizado a 121°C, durante 15 minutos, e 1 mL de solução de Vishniac (EDTA 10,0 g/L, ZnSO₄ · 7H₂O 4,40 g/L, MnCl₂ · 4H₂O 1,00 g/L, CoCl₂ · 6H₂O 0,32 g/L, (NH₄)₆Mo₇O₂₄ · 4H₂O 0,22 g/L, CaCl₂ · 2H₂O 1,47 g/L, FeSO₄ · 7H₂O 1,00 g/L), como fonte de nutrientes para os fungos.

As placas permaneceram a 28°C, durante cinco dias, para o crescimento dos esporos por toda sua superfície, período após o qual os mesmos foram removidos para tubos de ensaio para posterior contagem. A remoção dos esporos das placas de Petri foi realizada com uso de alça de Drigalsky e solução de Tween 80.

Para a contagem dos esporos foi preparada uma solução de esporos utilizando 50 µL de suspensão, previamente agitada em agitador tipo Vortex, acrescido de 950 µL de solução Tween 80, resultando em diluição de 1:20. Em seguida, 20 µL da solução preparada foram transferidos para câmara de Newbauer, onde se procedeu à contagem dos esporos em microscópio óptico Bioval com aumento de 400 vezes.

IMOBILIZAÇÃO DA BIOMASSA

A biomassa foi imobilizada em cubos de poliuretano (meio suporte) com 1 cm de aresta, totalizando 15 g, acondicionados em três redes de polietileno dentro do reator. O meio suporte foi esterilizado em autoclave a 121°C durante 15 minutos.

O reator foi preenchido com 4 L do meio sintético ((NH₄)₂SO₄ 0,5 g/L, NaNO₃ 0,25 g/L, KH₂PO₄ 0,20 g/L, MgSO₄ 0,25 g/L, CaCl₂ · 2H₂O 0,01 g/L, CuSO₄ · 7 H₂O 0,08 g/L, H₂MoO₄ 0,05 g/L, MnSO₄ · 5H₂O 0,05 g/L, Fe₂(SO₄)₃ 0,05 g/L, ZnSO₄ 0,04 g/L) e glicose na concentração de 1,0 g/L. Logo depois do preparo do meio sintético, o meio foi transferido para o reator e inoculou-se a solução de esporos, na concentração de 2x10⁶ 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, para evitar contaminação do meio.

MONTAGEM E OPERAÇÃO DO REATOR EM BATELADA SEQUENCIAL COM BIOMASSA IMOBILIZADA

O reator consistia de um recipiente de vidro e 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 residiária sintética preparada.

O reator foi operado por 10 ciclos, com TR (tempo de retenção) de 12 horas. No início de cada ciclo, a água resíduária sintética era renovada.

O volume amostral retirado em cada ciclo para a realização das análises de amônia, nitrito e nitrato foi de apenas 10% do volume útil do reator por ciclo estudado. Os tempos reacionais foram 0 hora e 12 horas. As análises foram feitas utilizando os métodos descritos por APHA (2005).

ÁGUA RESIDUÁRIA SINTÉTICA

A água resíduária foi preparada com água de torneira, acrescida de 1 ml/L de Vischiniac (solução de nutrientes), 0,5 mg/L de glicose e os pesticidas: atrazina, metil paration, paraquat na concentração de 30 mg/L.

RESULTADOS OBTIDOS

Na Figura 4 estão apresentados a variação de pH em função do tempo.

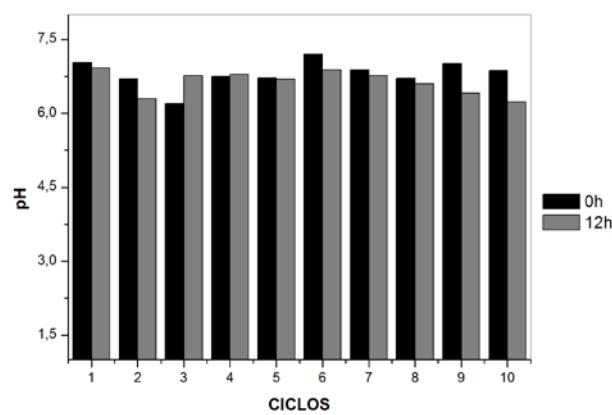


Figura 4-Variação do pH em função do tempo

Os valores de pH, que podem ser observados na Figura 4 sofreram pouca variação, mantendo entre a faixa levemente acida a neutra. A média inicial foi de 6,80 e a final foi de 6,73. De acordo com Griffin (1994), os se desenvolvem melhor em faixa de pH entre 4 e 6, entretanto, os fungos filamentosos podem tolerar uma faixa de pH entre 2 e 9.

Na Figura 5 está apresentada a variação de (a) nitrato, (b) nitrito e (c) amônia em função do tempo.

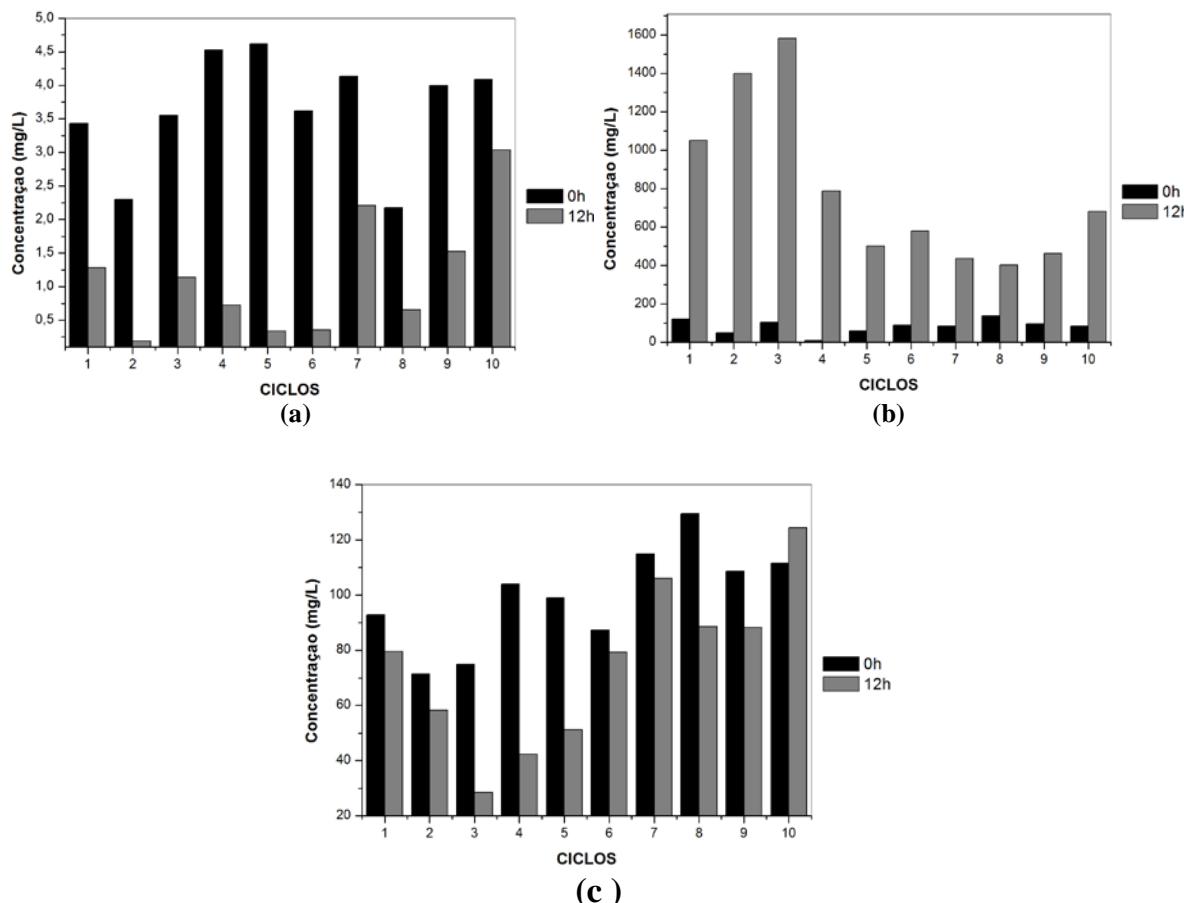


Figura 5-Variação de (a) nitrato, (b) nitrito e (c) amônia em função do tempo.

O fungo filamentoso *Aspergillus niger* produz enzimas do tipo nitrato redutase e nitrito redutase que convertem nitrato a nitrito e nitrito a amônia, mostrando-se dessa forma ser capaz de degradar compostos nitrogenados como os pesticidas metil paration, paraquat e atrazina, que contem em suas moléculas nitrogênio, como podemos observar nas Figuras 1, 2 e 3.

Observando a Figuras 5-a, 5-b e 5-c que correspondem às concentrações de nitrato, nitrito e amônia, respectivamente, pode-se observar que na medida em que as concentrações de nitrato decrescem as concentrações de nitrito aumenta do inicio ao fim do ciclo e há um decréscimo nas concentrações de amônia.

Os fungos filamentosos para obterem os nutrientes necessários para o seu crescimento são capazes de metabolizar uma série de compostos nitrogenados.

Apesar da visível conversão de nitrato a nitrito e à amônia, não há uma redução significativa nas concentrações de amônia. Os fungos assimilam mais facilmente o íon amônio, pois seu uso não necessita de nenhuma reação de oxi-redução (ESPOSITO e AZEVEDO, 2004). Para que isto ocorra, o pH ótimo deve estar entre 4 e 6 (GRIFFIN, 1994) e na Figura 1 é mostrado que o pH do meio está um pouco acima da faixa ótima.

As eficiências de remoção de nitrato foram em sua maioria acima de 50%, com remoções máxima de 92% para o ciclo 5. As remoções que ficaram abaixo de 50% obtiveram eficiências de 46,6% para o ciclo 7 e 25,7% para o ciclo 10.

A água residuária, inicialmente, apresentou baixa concentração de nitrito e o seu aumento deve ser provocado pela ação da enzima nitrato redutase. De acordo com a Figura 2-b não houve redução de nitrito, mas a sua produção comprova que o fungo está sendo eficiente na conversão de nitrato a nitrito.

A eficiência de amônia foi de 62% para o ciclo 4, sendo esta a maior remoção, e a menor ocorreu no ciclo 7. No ciclo 10 o incremento na concentração final de amônia, provavelmente, foi provocado pela liberação de H⁺ e amônia, sempre que há a necessidade de manter o equilíbrio do meio.

CONCLUSÕES

Com base no trabalho realizado, concluiu-se que:

As mudanças ocorridas nos valores de pH comprovam a degradação dos pesticidas. As conversões de nitrato a nitrito e a amônia foi efetiva, mostrando que o fungo foi capaz de utilizar os compostos nitrogenados presentes nas moléculas dos pesticidas. Embora, não tenha havido uma redução significativa da amônia, isso pode ser explicado pelo pH não estar na faixa adequada para que o fungo o utilizasse.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. APHA. Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater. New York, 2005.
2. BHALERAO ,T.S., PURANIK, P.R., Biodegradation of organochlorine pesticide, endosulfan, by a fungal soil isolate, *Aspergillus niger*. *Int Biodeterior Biodegrad* ,v.59,p.315–321,2007.
3. CEREJEIRA, M. J., VIANA, P., BATISTA, S., PEREIRA, T., SILVA, E., VALÉRIO, M. J., SILVA, A., FERREIRA, M., SILVA-FERNANDES, A. M. Pesticides in Portuguese surface and ground waters. *Water Research*, 37: 1055-1063,2003.
4. DIEZ, M.C. Biological aspects involved in the degradation of organic pollutants. *Journal Soil Science Plant Nutr*, v.10, p.244–267, 2010.
5. DÓREA, H. S., LOPES, W. G., Aplicação da técnica de dispersão da matriz em fase sólida (DMFS) na análise de pesticidas em quiabo por CG-EM. *Quím. Nova* vol.27 no. 6 São Paulo Nov./Dez. 2004.
6. ESPOSITO, E., AZEDO,J.L.Fungos : Uma Introdução à Biologia, Bioquímica e Biotecnologia . Caxias do Sul: Universidade de Caxias, 2004.
7. FIORAVANTE, I. A.; BARBOSA F. A. B.; AUGUSTI, R.; MAGALHÃES, S. M. S. Removal of methyl parathion by cyanobacteria *Microcystis novacekii* under culture conditions. *J. Environ. Monit.*, 12, 1302–1306. 2010
8. GRIFFIN,D.H.*Fungal Physiology*.Wiley –Liss,New York,1994.
9. LIANG,W.Q., WANG, Z.Y., LI, H., WU, P.C., HU, J.M., LUO, N., et al. Purification and characterization of a novel pyrethroid hydrolase from *Aspergillus niger* ZD11. *J Agric Food Chem*,v.53,p.7415–7420,2005.
10. LIU, Y.H., CHUNG, Y.C., XIONG, Y. Purification and characterization of dimethoate-degrading enzyme of *Aspergillus niger* ZHY256, isolated from sewage. *Appl Environ Microbiol*, v.67, p.3746–3749, 2002.
11. LIU, S-S., SONG, X-Q., LIU, H-L., ZHANG, Y-H., ZHANG, J. Combined photobacterium toxicity of herbicide mixtures containing one insecticide. *Environment International*, v.34,p.773–781,2009.
12. LONDRES, F.; Agrotóxicos no Brasil: uma guia para a ação da vida. Rio de Janeiro, 2011.
13. PALMA, P., PALMA, V.L., MATOS, C., FERNANDES, R.M., BOHN, A., SOARES, A.M.V.M. ,BARBOSA, I.R. Effects of atrazine and endosulfan sulphate on the ecdysteroid system of *Daphnia magna*. *Chemosphere*, n.74, p. 676–681.2009.
14. PINO, N., PEÑUELLA, G.Silmultaneos degradation of the pesticides methyl parathion and clorpyrifos by an isolated bacterial consortium from a contaminated site. *Int Biodeterior Biodegradation*,v.65,p.827-883,2011.
15. PINTO, A.P., SERRANO, C., PIRES, T.,MESTRINHO, E., DIAS,L., MARTINS TEIXEIRA,D., CALDEIRA.A.T. Degradation of terbutylazine, difenoconazole and pendimethalin pesticides byselected fungi cultures. *Science of the Total Environment*, v.435–436, p. 402–410, 2012.
16. 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.
17. SOUZA, D., MACHADO, 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.



18. ZHANG. Q., LIU. Y., LIU, Y.H., Purification and characterization of a novel carbaryl hydrolase from *Aspergillus niger* PY168. FEMS Microbiol Lett ,v.228,p.39–44,2003.