I-157 – AVALIAÇÃO DA DEGRADAÇÃO DE ATRAZINA USANDO REATORES EM BATELADA COM AGITAÇÃO ROTACIONAL DE 200 rpm E INOCULAÇÃO FÚNGICA DE Aspergillus niger AN400

Gleyciane Nobre Rocha[(1)]
Graduanda em Engenharia Ambiental pelo Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia – IFCE.
Raquel Marinho Cunha Martins
Graduanda em Engenharia Ambiental pelo Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia – IFCE.
Zuleika Bezerra Pinheiro
Graduanda em Tecnologia em Gestão Ambiental pelo Instituição Federal de Educação, Ciência e Tecnologia – IFCE.
Kelly de Araújo Rodrigues
Doutora em Hidráulica e Saneamento pela Escola de Engenharia de São Carlos - USP
Glória Maria Marinho Silva Sampaio
Doutora em Hidráulica e Saneamento pela Escola de Engenharia de São Carlos – USP

Endereço[(1)]**:** Rua Furtado, 27 - Mondubim - Fortaleza - CE - CEP: 60.762-210 - Brasil - Tel: (85) 32540056 - e-mail: gleyciane.nobre@yahoo.com.br

RESUMO

Os corpos d'água são afetados diretamente pela poluição causada por pesticidas, bem como os solos e o ar. A atrazina é um pesticida utilizado na agricultura para controle de ervas daninhas e apresenta-se como poluidor de águas. Apesar de ser considerada antiga a atrazina ainda é muito utilizada devido ao seu baixo custo e por poder ser utilizado em sinergia com outros herbicidas. Este estudo teve como objetivo avaliar a degradação de atrazina utilizando reatores em batelada agitada com inoculo de *Aspergillus niger* AN400. O pesticida usado foi o Gesaprim com ingrediente ativo de 500mg/L de atrazina. Neste estudo os reatores foram divididos em três lotes: Reatores de Controle (RC), Reatores com Fungo (RF) e Reatores com Fungo e Glicose (RFG). A concentração de atrazina utilizada foi de 15 mg/L, usando a glicose como co-substrato na concentração de 0,5 g/L e observar sua influência no decorrer da pesquisa. Foram estudados cinco tempos reacionais: 0,5 dia, 1 dia, 5 dias, 12 dias e 26 dias. As variáveis analisadas foram: sólidos suspensos voláteis, concentração de atrazina, nitrito, nitrato, amônia e potencial hidrogeniônico. O reator com fungo e o reator com fungo e glicose do 3º tempo reacional (5 dias) apresentaram remoção de 46,5% e 43,3% de atrazina, respectivamente, mostrando a viabilidade na degradação de atrazina.

PALAVRAS-CHAVE: Atrazina, tratamento biológico, *Aspergillus niger*, reatores em batelada

INTRODUÇÃO

Ao longo dos anos, a agricultura mundial cresceu em produtividade e área cultivada, acompanhada pelo uso intenso de agrotóxicos, que também sofreram grandes evoluções. Muitas moléculas novas surgiram, com características físico-químicas que propiciam funcionalidades diferenciadas e comportamentos ambientais distintos, com grandes alterações nos perfis toxicológicos e ecotoxicológicos, fruto dos avanços tecnológicos e pressões ambientalistas (ARMAS, E. D. et al, 2005).

O uso abusivo de insumos agrícolas trouxe como conseqüência, principalmente nos países em desenvolvimento, impactos sobre o meio ambiente e à saúde humana. As comunidades rurais foram expostas a conjunto de riscos ainda desconhecidos, originado pelo uso de extensivo de um grande número de substâncias químicas perigosas e agravado por uma série de determinantes de ordem social (MOREIRA, J. C. et al, 2002).

Sampaio (2005) afirma que apenas 5% dos agrotóxicos utilizados na agricultura conseguem combater as pragas, todo o restante, equivalente a 95%, tende a ficar depositado nos solos, nos recursos hídricos e no ar, trazendo sérias conseqüências para o meio ambiente.

A atrazina é um herbicida da família das s-triazinas classificado como de uso restrito, devido ao seu grande potencial de contaminação de águas subterrâneas. Possui toxicidade Classe III, sendo muito empregado no

controle de ervas daninhas na cultura de milho, sorgo, cana-de-açúcar, entre outros. O processo utilizado por esse herbicida é a inibição fotossintética. (HISTÓRIA DOS AGROTÓXICOS, 2008)
Este herbicida é classificado como um agente tóxico, um desregulador hormonal e um agente carcinogénico da classe C, na qual estão incluídos compostos potencialmente cancerígenos para o homem (Biradar et al., 1995). A atrazina é um composto de síntese química registrado em 1958 pela empresa CIBA-GEIGY. O seu uso intensivo e mobilidade nos solos têm contribuído para que este seja um dos pesticidas mais freqüentemente detectados em águas de superfície e subterrâneas, quer na Europa, quer nos Estados Unidos. Este insumo agrícola é um composto regulamentado desde os anos 90, tendo sido estabelecidos limites máximos para a sua detecção em águas de consumo (GRUPO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS DO INSTITUTO SUPERIOR TÉCNICO, 2000).

No Brasil, a atrazina é registrada para diversas culturas anuais e perenes, tais como: milho, cana-de-açúcar, sorgo, café, cacau, banana e abacaxi (RODRIGUES & ALMEIDA, 1995). A biodegradação da atrazina é um dos processos mais efetivos para sua detoxificação no ambiente (SORENSON et al, 1993; STOLP & SHEA, 1995; VANDERHEYDEN et al, 1997).

Rodrigues et al. (2006) afirmaram que os fungos atuam como decompositores primários na natureza, possuindo grande potencial na degradação dos mais diferentes tipos de poluentes.

Os fungos têm capacidade de suportar possíveis choques na contração de carga orgânica e hidráulica às quais são submetidos, e são tolerantes a variações de escassez de umidade, oxigênio e nutrientes – vantagens do emprego de fungos como inoculo de reatores biológicos (GRIFFIN, 1994). Por sobreviver e crescer em meios com concentrações elevadas de compostos recalcitrantes, os fungos vêm mostrando que são capazes de degradar efluentes tóxicos, estando entre os microrganismos mais utilizados no tratamento biológico (SANTOS & LINARDI,2004). Segundo Griffin (1994) existem meios de melhorar o nível de remoção de compostos tóxicos pelos fungos, como por exemplo a adição de glicose como um substrato de fácil assimilação.

MATERIAIS E MÉTODOS

A pesquisa foi realizada por processos biológicos em reatores em batelada com agitação rotacional de 200 rpm no Laboratório de Tecnologia Ambiental (LATAM) do Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Ceará – IFCE, situado em Fortaleza-CE. O pesticida utilizado foi o Gesaprim com ingrediente ativo de 500 mg/L de atrazina, adquirido comercialmente. Os reatores foram divididos em três lotes: Reatores de Controle, Reatores com Fungo e Reatores com Fungo e Glicose. A espécie de fungo escolhida foi o *Aspergillus niger* AN400. De acordo com Sampaio (2005) essa espécie é considerada assexuada e saprófita, necessitando de um potencial hidrogeniônico baixo, variando entre 4 e 5, para o seu melhor desenvolvimento.

ÁGUA SINTÉTICA

No início da pesquisa foi preparada uma solução de água sintética composta por 0,05 g de cloranfenicol, que é um antibiótico de amplo espectro, sendo eficaz contra bactérias Gram-negativas, Gram-positivas e riquétsias (TORTORA et al., 2005), concentração de 15 mg/L de atrazina, 1 mL/L da solução de Vishniac e água de torneira. A partir desta preparação foram montados os três lotes de reatores.

MONTAGEM DOS REATORES

Os reatores foram divididos em três lotes: Reatores de Controle (RC), Reatores com Fungo (RF) e Reatores com Fungo e Glicose (RFG). Os Reatores de Controle foram compostos apenas pela água sintética; nos Reatores com Fungo além da água sintética foi acrescido 2 x 10^6esporos/mL de *Aspergillus niger* AN 400 e os Reatores com Fungo e Glicose foram compostos pela água sintética, o fungo e 0,5 g de glicose/L.

Para a montagem dos reatores foram utilizados 15 erlenmeyers previamente descontaminados com ácido clorídrico (3M), com volume reacional de 150 mL cada, sendo divididos igualmente entre os três lotes, cinco para os Reatores de Controle, cinco para os Reatores com Fungo e cinco para os Reatores com Fungo e Glicose.

VARIÁVEIS ANALISADAS

As variáveis analisadas foram: concentração de atrazina, pH (potencial hidrogeniônico), nitrito, nitrato, amônia e SSV (sólidos suspensos voláteis), de acordo com APHA (1998), exceto atrazina, cuja determinação foi realizada por cromatografia líquida (HPLC Gilson mod. 321, equipado com detector UV-VIS), coluna Varian Microsorb – MV 100-5 C18 250 x 4.6mm, sistema isocrático com fase móvel metanol/água (60:40 v/v), λ = 260 nm, Q = 0.075 mL/min e volume de injeção de 50 μL.

RESULTADOS E DISCUSSÕES

ATRAZINA

Observou-se semelhante remoção do herbicida nos reatores com fungo e nos reatores com fungo e glicose, possivelmente a presença do substrato primário não teve influência considerável na eficiência da degradação de atrazina.

Ocorreu algo semelhante na pesquisa de Sampaio (2005), onde na fase experimental com atrazina e esporos de *Aspergillus niger* AN400, a presença do substrato primário (glicose) não teve influência na remoção de atrazina, sendo que os percentuais de remoção foram muito próximos aos percentuais encontrados nos reatores sem glicose.

Os resultados da eficiência na remoção de atrazina da água sintética no reator em batelada com agitação rotacional podem ser observados na Figura 1.

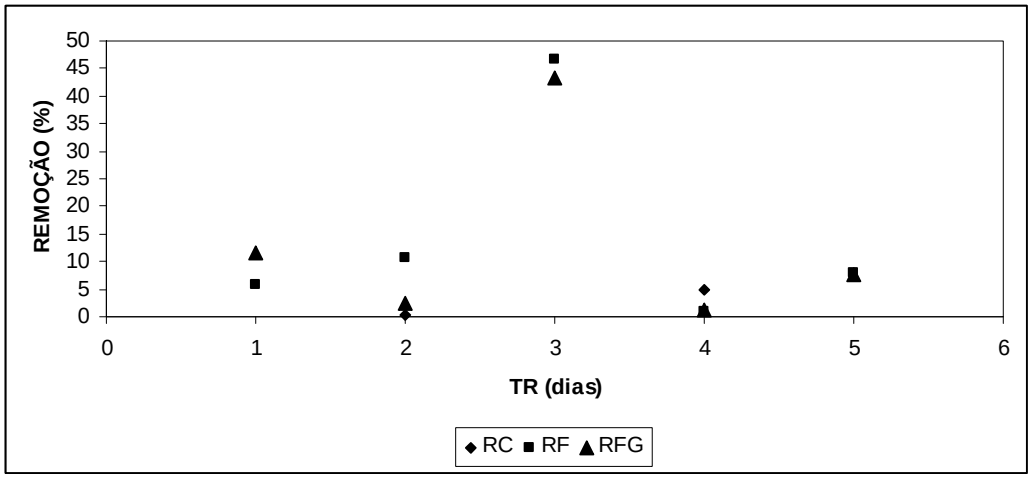

Figura 1 – Variação da remoção de atrazina nos reatores em batelada rotacional em função dos tempos de reação

Os resultados mostraram que a maior remoção da atrazina ocorreu no tempo reacional 3, equivalente ao 5º dia, aproximando-se de 46,5%, no reator com fungo (RF) e 43,3% no reator com fungo e glicose (RFG), confirmando a possível não influência do substrato primário.

No dia de maior remoção da atrazina o pH encontrava-se ácido, o que propiciou melhor desenvolvimento do fungo e maior degradação do composto.

POTENCIAL HIDROGENIÔNICO (pH)

No início desta pesquisa os reatores passaram por processo de acidificação com ácido clorídrico (3M), objetivando melhor desenvolvimento do fungo, ficando entre 3 e 4. O pH apresentou variação entre 3,6 e 7,9 mostrando um bom desenvolvimento dos fungos; confirmando o que diz Sampaio (2005), em sua pesquisa, o pH considerado ideal para melhor desenvolvimento do fungo estava entre 3 e 5. Como pôde ser observado na Figura 2.

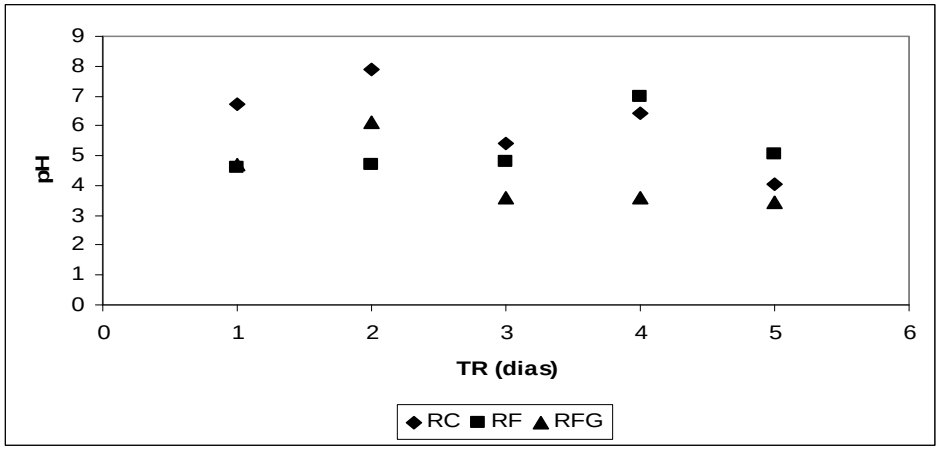

Figura 2 – Variação do potencial hidrogenônico nos reatores em batelada rotacional em função dos tempos de reação

A análise do pH possibilitou o acompanhamento do metabolismo com fungo, pois com o pH ácido observou-se maior remoção do herbicida, podendo-se deduzir que houve maior atividade metabólica.

Os fungos toleram grande variação na concentração de íons hidrogênio e, de modo geral, o pH de 5,6 é ótimo para seu desenvolvimento, pois os fungos filamentosos podem crescer em faixa de pH variando de 1,5 a 11 (TRABUSI, 1999). Segundo Papagianni (2004) meios que possuem nitrato, tendem a se tornar alcalinos, devido à conversão do nitrato em amônia.

NITRATO E AMÔNIA

O nitrato apresentou maior remoção nos reatores com fungo (RF) e reatores com fungo e glicose (RFG), nos reatores controles (RC) não houve valores consideráveis de remoção de nitrato, o que pode ser justificado pela ausência do *Aspergillus niger* no meio.

A presença do *Aspergillus niger* influenciou na remoção do nitrato, pois o pH manteve-se ácido devido a atividade metabólica do fungo. A maior remoção foi observada nos reatores com pH mais ácido. Quando houve maior pH observou-se maior formação amônia, devido à conversão de nitrato em amônia. Como observado na Figura 3.

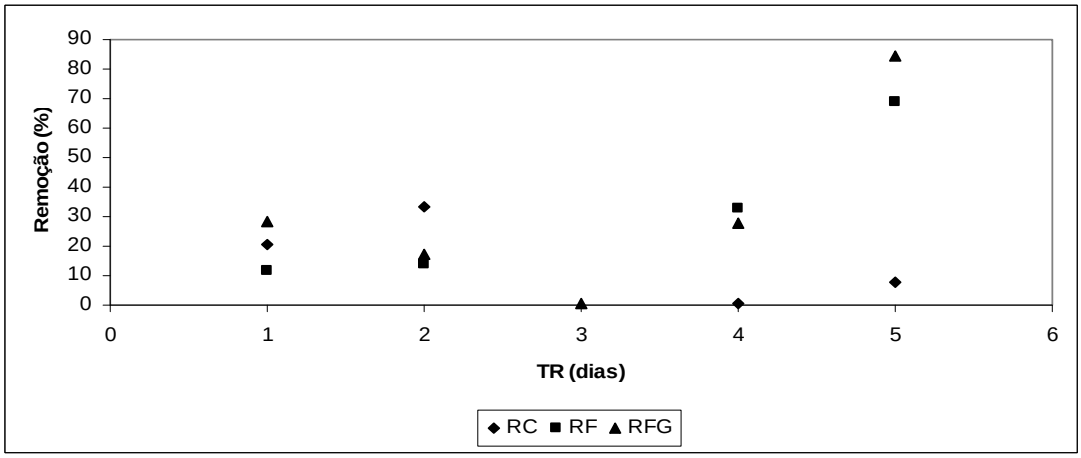

Figura 3 – Variação do nitrato nos reatores em batelada rotacional em função dos tempos de reação

Observou-se maior remoção do nitrato nos reatores com fungo (RF), atingindo o máximo de 68,84% no tempo reacional 5, equivalente ao 26º dia, e reatores com fungo e glicose (RFG), com máximo de 84,72% no mesmo tempo reacional.

Observou-se síntese da amônia nos reatores que continham fungo (RF e RFG), caracterizando uma variação nos valores. Houve maior formação de amônia quando houve maior pH.

SÓLIDOS SUSPENSOS VOLÁTEIS (SSV)

Os reatores com fungo (RF) apresentaram menor concentração de biomassa em relação aos reatores com fungo e glicose (RFG), o que pode ter acontecido devido, a presença de glicose nos reatores (RFG), onde o co-substrato apresentou-se importante para o desenvolvimento inicial do fungo. Os resultados da concentração dos sólidos suspensos voláteis nos reatores em batelada com agitação rotacional podem ser observados na Figura 4.

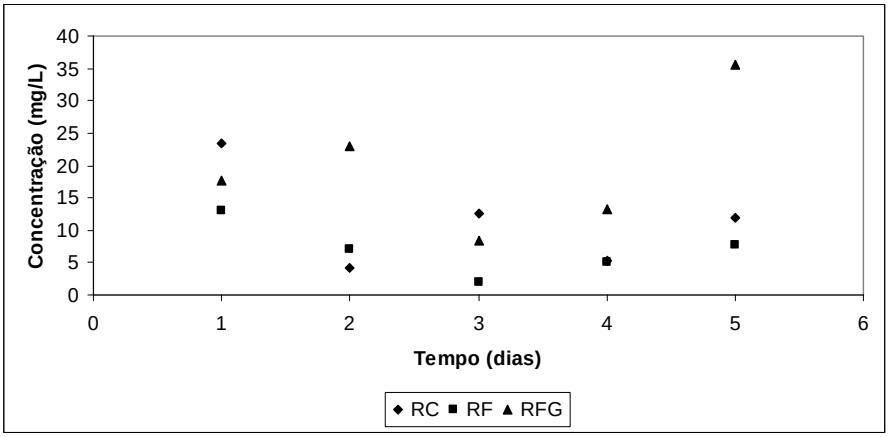

Figura 4 – Concentração de SSV nos reatores em batelada rotacional em função dos tempos de reação

Os reatores com fungo e glicose apresentaram aumento considerável da massa fúngica a partir de 12 horas, já os reatores com fungo demoraram a apresentar crescimento, podendo ser visualizado apenas 36 horas após o início do experimento, entretanto o substrato primário não se apresentou como fator determinante.

CONCLUSÕES

O estudo realizado apresentou viabilidade no uso da tecnologia empregada para a degradação de atrazina usando reatores em batelada com agitação rotacional de 200 rpm e inoculação fúngica de *Aspergillus niger* AN 400, mostrando um percentual de remoção de 46,5% no reator com fungo (RF) no tempo reacional 3 e 43,3% no reator com fungo e glicose (RFG) no mesmo tempo reacional, sendo o tempo reacional 3, equivalente ao 5º dia, o mais adequado para degradação de atrazina.

O co-substrato influenciou positivamente no crescimento inicial de Sólidos Suspensos Voláteis (SSV) nos reatores com fungo e glicose.

No decorrer da pesquisa observou-se que os percentuais de remoção da atrazina nos reatores com inoculação fúngica (RF e RFG) independeram da presença ou não de glicose, como constatado no reator com fungo do tempo reacional de cinco dias, quando a remoção do composto foi maior sem a presença de glicose no meio.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. APHA – AWWA – WEF Standart methods for the examination of water and wastewater 19 th, Washington DC, USA, 1999.
2. ARMAS, E. D., MONTEIRO, R. T. R., AMÂNCIO, A. V., CORREA, R. M. L., GUERCIO, M. A. Uso de agrotóxico em cana-de-açúcar na bacia do Rio Curumbataí e o risco de poluição hídrica. Quimi. Nova, vol.28, n.6, 2005.
3. Biradar, D.P. e Rayburn, A.L., *Chromosomal damage induced by herbicide contamination at concentrations observed in public water supplies*, J. Environ. Qual. 24, 1995.
4. GRIFFIN, D. H. Fungal Biodegradation. 2. ed. New York, 1994.

5. MOREIRA, Josino C. et al, Avaliação integrada do impacto do uso de agrotóxicos sobre a saúde humana em uma comunidade agrícola de Nova Friburgo, RJ. Ciênc. saúde coletiva [online]. vol.7, n.2, 2002.
6. PAPAGIANNI, M.; MATTEY, M. Physiological aspects of free and immobilized Aspergillus niger cultures producing citric acid under various glucose concentrations. Process Biochemistry, v. 39, 2004
7. RODRIGUES, B. N.; ALMEIDA, F. S. Guia da de herbicidas. 3. ed. Londrina, 1995.
8. RODRIGUES, K. A. Uso de reator biológico com fungos para remoção de fenol de água residuária sintética, 2006.
9. SAMPAIO, G. M. M. S. Remoção de metil paration e atrazina em reatores com fungos, 2005.
10. SANTOS, V. L., LINARDI, V. R. Biodegradation of phenol by a filamentous fungi isolated from industrial effluents - identification and degradation potencial. Process Biochemistry, 2004.
11. SORENSON, B. A., WYSE, D. L.; KOSKINEN, W. C.; BUHLDER, D. D.; LUESCHEN, W. E; JORGENSON, M. D. Formation and movement of 14C-atrazine degradation products in sandy loam soil under field conditions. Weed Science, v.41, 1993.
12. STOLP, N.B.; SHEA, P.J. Alachlor and atrazine degradation in Nebraska soil and underlying sediments. Soil Science, v.160, n.5, 1995.
13. TORTORA, G. J.; FUNKE B.R.; CASE B.R. Microbiologia. 8ª edição, 2005.
14. TRABUSI, L. R.; ALTERTHUM, F.; GOMTERTZ, O . SCANDEIAS, J. A. N. Microbiologia. São Paulo. Editora Ateneu, 3ed. 1999.
15. VANDERHEYDEN, V.; DEBONGNIE, P.; PUSSEMIER, L. Accelerated degradation and mineralization of atrazine in surface and subsurface soil materials. Pesticide Science, v.49, 1997.
16. Grupo de Ciências Biológicas do Instituto Superior Técnico. Biorremediação de solos poluídos: o caso da contaminação pelo herbicida atrazina. Publicado em 18/11/2005. Disponível em: < http://www.e-escola.pt/site >. Acesso em: 15 de março de 2009.
17. História dos agrotóxicos. Disponível em: < http://www.planetaorganico.com.br/agrothist2.htm >. Acesso em: 13 de março de 2009.