

POTENCIAL DE REMOÇÃO DE DISRUPTOR ENDÓCRINO ATRAZINA POR *ASPERGILLUS niger* AN 400 EM REATORES DE BANCADA

Bárbara Chaves Aguiar Barbosa (*), Rejane de Souza Paulino, Kelly de Araújo Rodrigues Pessoa, Glória Maria Marinho Silva, Marisete Dantas de Aquino

* Universidade Federal do Ceará (barbara.cefetce@gmail.com).

RESUMO

Com intuito de fornecer alternativas para efluentes contaminados com pesticidas, este estudo objetivou remover atrazina (pesticida considerado disruptor endócrino) de matriz aquosa através da biorremediação fúngica, sendo a espécie usada *Aspergillus niger* AN 400. Para realização do estudo, a primeira etapa foi o cultivo e produção da cepa fúngica. Na segunda etapa foram usados reatores em batelada com biomassa dispersa, a saber, reatores com fungo (AF), com fungo e glicose na concentração de 0,5 g/L (AFG) e os controles (AC), os quais não possuíam esporos fúngicos, apenas a água sintética. Os reatores foram feitos em duplicata e operados durante nove dias, com tempo de reação de 24 h. Em termos de resultados obtidos, observou-se que nos reatores controles não houve alteração significativa dos parâmetros analisados (demanda bioquímica de oxigênio, pH e atrazina). No que tange às frações nitrogenadas, percebeu-se remoção de amônia no meio, nos dois reatores em estudo. Nos AF's, as remoções médias foram da ordem de 47%, enquanto que nos AFG's a média de remoção foi de 42%. As maiores remoções ocorreram com TR de 72, 45% e 58%, respectivamente AFG e AF. O nitrato presente no meio permaneceu sem alterações significativas, o que indicar a preferência dos microrganismos pela amônia no meio, ocorreram apenas incrementos da ordem de 0,04 mg.L⁻¹ para o reator sem glicose, e 0,10 para o reator AF. Com relação ao pH, observou-se acidificação do meio nos reatores AFG, com pH final de 3,3, ao passo que nos reatores AF o pH tiveram menor decaimento, ficando ao final do experimento com pH 5,6. Para remoção de matéria orgânica, observou-se que ambos os reatores removeram DQO do meio, com cerca de 30%. A adição de cossubstrato conferiu melhores remoções de atrazina, 63% para o AFG e 56% para o AF, indicando que o tratamento desse poluente pode ser realizado por fungos.

PALAVRAS-CHAVE: Pesticidas, fungos, batelada, biomassa dispersa.

INTRODUÇÃO

A natureza está, a cada dia, com sua capacidade de resiliência modificada negativamente. A exploração dos recursos naturais não diminuiu com inúmeras iniciativas, como as conferências sobre a questão ambiental, e a degradação do ambiente continua a ser um enorme desafio para as tecnologias desenvolvidas.

Nesse sentido, a água, considerada atualmente como recurso finito e de dotado de valor econômico (BRASIL, 1988), é um dos recursos mais afetados pela busca desenfreada de lucro e poder (LONDRES, 2011). Os mananciais urbanos são diariamente contaminados com esgotos domésticos e industriais, os quais não tem tratamento adequado e são diretamente encaminhados para corpos receptores mais próximos.

Dentre os tipos de poluição, a gerada por efluentes industriais torna-se mais problemática, pois esses esgostos possuem alta carga de compostos xenobióticos, os quais, muitas vezes, são tóxicos para microbiota aquática (VON SPERLING, 2005). Exemplo de substâncias persistentes são os agrotóxicos, os quais possuem toxicidade comprovada tanto para o ambiente quanto para o homem (GORZA, 2012). O Brasil figura no cenário internacional como um dos maiores consumidores de defensivos agrícolas, passando da marca de 7,3 bilhões de reais de comercialização (SINDAG, 2011), assumindo a liderança no consumo de agrotóxicos em 2008. O consumo médio de agrotóxico no Brasil, em termos de área plantada passou de 10,5 (l/ha) em 2002, para 12,0 (l/ha) (SINDAG, 2009 e 2011; ANDA, 2011; IBGE/SIDRA, 2012; MAPA, 2010).

O uso demasiado desses produtos, segundo dados do Sistema Nacional de Informações Tóxico Farmacológicas - SINITOX, provocou 485 casos de contaminação e 40 mortes nas região nordeste, perfazendo um percentual de letalidade de 8,25%, enquanto que o percentual do Brasil foi de 2,48%, dados alarmantes sobre o potencial tóxico desses produtos, no ano de 2011.

Segundo ANVISA E UFPR (2012), os principais agrotóxicos produzidos são os herbicidas, com 45% de representatividade na comercialização desses produtos. A atrazina, herbicida muito utilizado no país, é preocupante devido a sua persistência no ambiente. Ela é classificada como classe III, medianamente tóxica, segundo ANVISA, seu uso está nas lavouras de abacaxi, cana-de-açúcar, milho, pinus, seringueira, sisal e sorgo. A atrazina possui baixa reatividade e solubilidade, sendo encontrada com facilidade em solos, rios e águas subterrâneas (VONBERG *et al.*, 2013). Oliveira *et al.*(2013), afirmam que a atrazina, pode ser considerada um desregulador endócrino, pois a exposição continuada com o composto leva à câncer e más formações congênitas, o que é um problema grave.

Muitos tratamentos vêm sendo desenvolvidos com intuito de remover pesticidas contidos nos efluentes gerados das fábricas produtoras, como fitoremediação, bioremediação. Destarte, faz-se necessário desenvolvimento de tecnologias que visem a remoção de poluentes persistentes a nível de aplicação industrial. Assim, percebe-se franco desenvolvimento de biorremediação. A referida técnica baseia-se na capacidade dos microrganismos conseguirem utilizar a matéria orgânica presente no esgoto como fonte de energia para o seu crescimento.

Esse tipo de tratamento tem sido usado largamente, especialmente por apresentar ganhos financeiros quando comparados aos tratamentos convencionais (coagulação, floculação, sedimentação, dentre outros). Os microrganismos mais utilizados são as bactérias, as quais possuem arcabouço metodológico consolidado desde o século XX. No entanto, inúmeros estudos também indicam a gama de possibilidades para a aplicação de fungos, pois esses são decompositores primários, suportam condições desfavoráveis de crescimento e possuem melhores respostas quando expostos a substâncias consideradas tóxicas para bactérias (TORTORA *et al.*, 2012). Nesse contexto, o presente estudo objetivou avaliar a capacidade da espécie fúngica *Aspergillus niger* AN 400 de mineralizar atrazina de água residuária sintética. O tratamento foi realizado em reatores em bateladas aeradas com biomassa dispersa.

METODOLOGIA

O presente estudo desenvolveu-se no Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Ceará - IFCE, campus Fortaleza no Laboratório de Tecnologia Ambiental – LATAM. Foi segmentado em duas etapas principais: cultivo da espécie fúngica e batelada com biomassa dispersa aerada.

Para cultivo do microrganismo, utilizou-se uma cepa concedida pelo LATAM, a qual foi plaqueada em meio de cultura Agar Saboraund Dextrose e posteriormente foi levada para estufa microbiológica Biopar®, durante o período de sete dias, à $\pm 28^{\circ}\text{C}$. Ao final do período, os esporos foram removidos com solução de Tween 80, formando uma suspensão de esporos, que foi retirada da superfície das placas com o uso de pipeta automática, previamente esterilizada, transferida para frascos esterilizados de 200 mL, onde ficou armazenada sob refrigeração de -4°C . Os esporos foram contados à partir de solução preparada, utilizando 50 μL de suspensão, previamente agitada, acrescida de 950 μL de solução de Tween 80, resultando em uma solução de 1:20. Em seguida, 20 μL da solução preparada foram transferidos para câmara de Neubauer, onde foi realizada a contagem dos esporos em um microscópio óptico Bioval®.

Na segunda etapa, a batelada foi realizada em reatores com volume útil de 3 litros (Figura 1), e fornecimento de ar por minicompressores com vazão de 20L/h. Os reatores foram divididos em 3 tipos, os reatores com fungo (AF), os reatores com fungo e glicose na concentração de 0,5 g/L (AFG) e os reatores controle (AC), os quais não possuíam esporos fúngicos, apenas a água sintética.

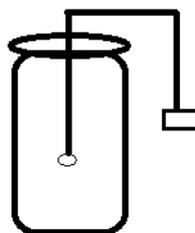


Figura 1 – Modelo do reator utilizado na batelada aerada.

Fonte: Autor, 2014.

A água sintética foi preparada com solução de micronutrientes, 2×10^6 esporos/mL de fungos, e atrazina (formulado comercial gesaprim, com 500 g/L do ingrediente ativo atrazina). Os reatores foram mantidos durante 9 dias, com tempos de retenção (TR) de 24, 48, 72, 96, 144, 168 e 192h, para cada tempo de reação existiam 3 reatores desmontados, um AF, um AFG e um AC, com total de 21 reatores.

As análises de monitoramento foram: pH, amônia, nitrato e Demanda química de oxigênio, conforme procedimentos descritos em APHA (2011) e atrazina foi determinada por cromatografia líquida de alta eficiência da Shimadzu (LC-10 AD) equipado com detector UV-Vis Diode Array (SPD-10AVP), forno de coluna (CTO-10AS), sistema de bomba de baixa pressão (SL-10AVP), operando com até quatro solventes. A separação dos disruptores foi realizada em coluna Supelco C18 (25cm x 4,6mm D.I; partículas de 5 μ m) nas seguintes condições cromatográficas: sistema de gradiente com fase móvel acetonitrila: água – 70%, tempo de corrida de oito minutos, detecção em comprimento de onda de 220nm e volume de injeção de 50 μ L.

RESULTADOS OBTIDOS

Não houve remoção do disruptor atrazina, nem de DQO nos reatores controles, amônia e nitrato foram constantes, assim como pH.

Para o reator com fungo, os valores de pH variaram de 4,4 com 24 h de operação, a 5,6 com 72 h, como pode ser visualizado na Figura 2. Os valores estiveram na faixa ideal para o crescimento fúngico, segundo Kyriacou *et al.* (2005), o que proporcionou bons percentuais de remoção de atrazina, como apresentado na Figura 2.

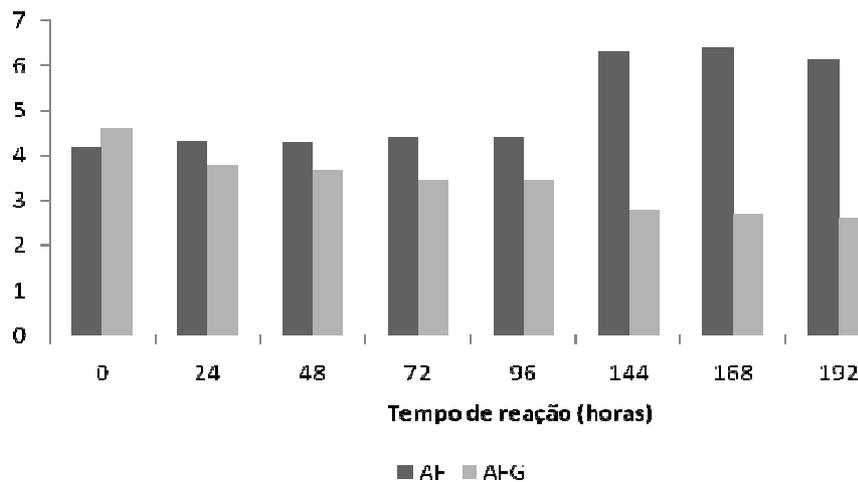


Figura 2 – Variação do pH nos reatores AF e AFG.

Nos reatores com adição de 0,5 g/L de glicose, o pH do efluente ficou mais ácido no final da operação dos reatores, tendo como média 3,7. O menor valor encontrado foi 3,3 com 96 h de tratamento, o que pode ser associado ao bom percentual de remoção de atrazina nesse TR, o qual foi de 61% (Figura 3). Quando os microrganismos utilizam os pesticidas como substrato, eles liberam ácidos no meio, em especial, os ARG's possuem glicose, substrato facilmente assimilado pelos fungos, e que conhecidamente tem produção de ácidos orgânicos como produto final (OLVIERA *et al.*, 2013).

As remoções de atrazina foram significativas, a média para o AF foi de 56% e para o AFG foi de 63%. A concentração inicial de atrazina nos reatores foi de 20 mg.L⁻¹, e ao final do experimento, as concentrações foram de 3,7 para os AF's e de 2,1 para os AFG's, valores considerados muito relevantes quando comparados com outros estudos, a saber, Oliveira *et al.* (2013), avaliando o potencial de lodos ativados para degradação de atrazina na concentração de 1 mg.L⁻¹, observaram que o agrotóxico não foi removido do meio, enquanto que a concentração desse estudo foi 20 vezes maior do que a dos autores citados.

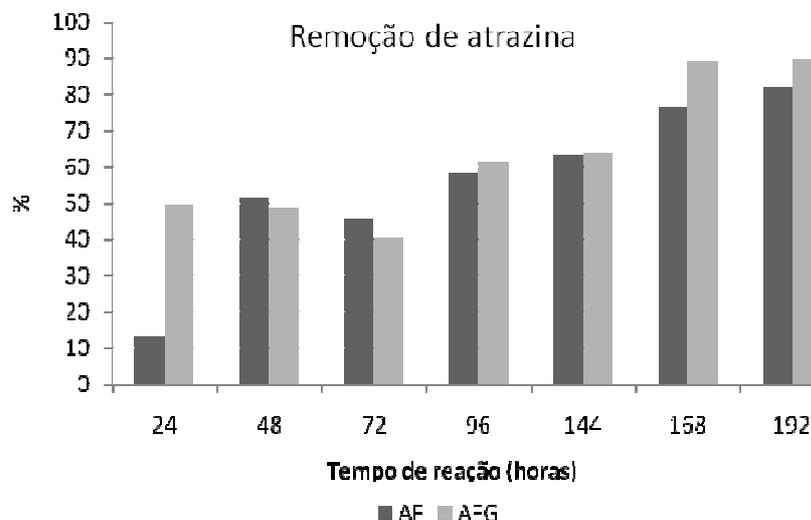


Figura 3 – Remoção de atrazina nos reatores AF e AFG.

No que tange às frações nitrogenadas, percebeu-se remoção de amônia no meio, nos dois reatores em estudo. Nos AF's, as remoções médias foram da ordem de 47%, enquanto que nos AFG's a média de remoção foi de 42%. As maiores remoções ocorreram com TR de 72, 45% e 58%, respectivamente AFG e AF. O nitrato presente no meio permaneceu sem alterações significativas, o que indicou a preferência dos microrganismos pela amônia no meio, ocorreram apenas incrementos da ordem de 0,04 mg.L⁻¹ para o reator sem glicose, e 0,10 para o reator AF.

No tocante à matéria orgânica, observou-se que a introdução de glicose no efluente não foi significativo para alcance de melhores percentuais de remoção. Na Figura 4 pode-se observar que os reatores chegaram, ao final do experimento, a patamares muito parecidos em termos de concentração, sendo os AR's com menor concentração de matéria orgânica que os reatores com 0,5 g/L de glicose. Esse fato pode ser explicado pela capacidade da espécie fúngica de metabolizar o pesticida.

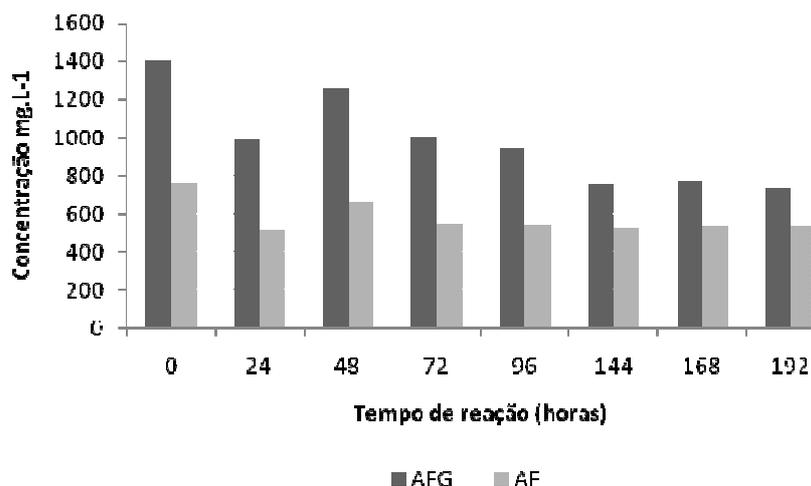


Figura 4 – Variação da concentração de matéria orgânica em termos de DQO nos reatores.

Os percentuais de remoção de DQO nos AF's foram de 12 a 32%, respectivamente, 24h e 48 h. Para os AFG's, 10 e 47%, com 24 e 144 h, respectivamente. É interessante inferir que mesmo que os reatores com glicose não tenham conseguido melhores resultados de remoção de DQO, eles conseguiram remover maior concentração de atrazina e com menos tempo, a glicose foi usada com substrato que impulsionou o crescimento fúngico nos primeiros tempos de reação.

Fontana e Silveira (2012) relataram que, em biorreatores, a presença de glicose favoreceu o crescimento celular e, em consequência, poderia subsidiar melhores remoções de poluentes, o que pode ser corroborado pelo presente estudo. No entanto, a presença de metanol na solução mãe de ATZ conferiu valores de DQO muito elevados, não sendo possível observar remoções consideráveis de matéria orgânica. Esta concentração elevada pode ter inibido a microbiota no que tange a remoção de matéria orgânica, visto que Barker *et al.* (1992) observaram que a presença do metanol causava inibição da biodegradação devido à remoção de oxigênio ocasionada pela biodegradação do metanol.

CONCLUSÕES

Diante dos resultados encontrados neste estudo, pode-se concluir que a espécie fúngica *Aspergillus niger* AN 400 foi capaz de degradar atrazina mesmo sem adição de fonte externa de carbono. No entanto, quando adicionada glicose na concentração de 0,5 g.L⁻¹, obtiveram-se as melhores remoções do pesticida, o que indica necessidade de fonte de mais fácil assimilação para degradação do poluente.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. AMERICANA DE SAÚDE PÚBLICA ASSOCIAÇÃO – APHA; American Water Works Association – AWWA; Água Ambiente Federação – WEF – Métodos padrão para a análise de água e esgoto 22^a ed. Washington DC, 2012.
2. ANVISA e UFPr. Seminário de mercado de agrotóxico e regulação. ANVISA, Brasília, 11 abril de 2012.
3. BARKER, J.F.; HUBBARD, C.E.; LEMON, L.A.; VOORO, K.A. The influence of Methanol in Gasoline Fuels on the Formation of Dissolved Plumes, and the Fate and Natural Remediation of Methanol and BTEX Dissolved in Groundwater. In: CALABRESE, E.J.; KOSTECKI, P.T. (Ed). *Hydrocarbon contaminated soils and groundwater*. New York: Lewis Publishers, 1992. p.558.
4. FONTANA, R.C.; SILVEIRA, M.M. Influence of pectin, glucose, and pH on the production of endo- and exo-polygalacturonase by *Aspergillus oryzae* in liquid medium. *Braz. J. Chem. Eng.* 29: 683-690, 2012.
5. GORZA, Nadja Lima. Remoção de agrotóxicos em uma instalação piloto de tratamento de águas de abastecimento do tipo convencional, associado à pré-oxidação e adsorção em carvão ativado granular, 2012 134 f.
6. IBAMA- Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis. REBELO, R. M, et al. Produtos agrotóxicos e afins comercializados em 2009 no Brasil: uma abordagem ambiental. Brasília, 2010
7. KADIAN, N.; GULTA, A.; SATYA, S.; Mehta, RK; MALIK, A. Biodegradação de herbicidas (atrazina) em solo contaminado utilizando vários materiais bioprocessados. *Bioresource Tecnologia*, v 99, n. 11, p. 4642-4647, 2008
8. KYRIACOU, A.; LASARIDI, K.E.; KOTSOU, M.; BALIS, C.; PILIDIS, G. (2005) Combined bioremediation and advanced oxidation of green table olive processing wastewater. *Process Biochemistry*, v. 40. p. 1401-1408
9. LONDRES, Flavia. Agrotóxicos no Brasil: um guia para ação em defesa da vida. – Rio de Janeiro: AS-PTA – Assessoria e Serviços a Projetos em Agricultura Alternativa, 2011.
10. OLIVEIRA, J. L. M. Comportamento do dicofol e da atrazina nos processos de tratamento de esgoto por lodo ativado e de pós-tratamento do lodo por biodigestores anaeróbios. Tese (Doutorado em Microbiologia) - Instituto de Microbiologia Prof. Paulo de Góes, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 138p. 2008.
11. OLIVEIRA, T.G. de; FAVARETO, A. P. A; ANTUNES, P. A. Agrotóxicos: levantamento dos mais utilizados no oeste paulista e seus efeitos como desreguladores endócrinos. IX Fórum Ambiental da Alta Paulista, v. 9, n. 11, 2013, pp. 375-390.
12. SINDAG. Sindicato Nacional das Indústrias de Defensivos Agrícolas. Vendas de defensivos agrícolas são recordes e vão a US\$ 8,5 bi em 2011. Disponível em: http://www.sindag.com.br/noticia.php?News_ID=2256, acessado em: 24/06/2014.
13. TORTORA, Gerard J., FUNKE, BERDELL R.; CASE, Christine L., Microbiologia. 10^a edição, ed. Artmed, Porto Alegre, 2012, p. 553-580.