

## 25º. Encontro Técnico AESABESP

### Remoção de matéria orgânica de água dopada com pesticida organoclorado por *Aspergillus niger* AN 400 em regime de batelada.

#### **PRISCILA COLARES DE SOUSA<sup>1</sup>**

Graduanda em Tecnologia em Gestão Ambiental pelo Instituto Federal de Educação ciência e Tecnologia do Ceará. – IFCE.

#### **GLAUCEMBERG RODRIGUES DE SOUZA<sup>2</sup>**

Graduando em Tecnologia em Gestão Ambiental pelo Instituto Federal de Educação ciência e Tecnologia do Ceará. – IFCE.

#### **YASMIN PINHEIRO VIDAL<sup>3</sup>**

Graduanda em Engenharia Ambiental pelo Instituto Federal de Educação ciência e Tecnologia do Ceará. – IFCE.

#### **BÁRBARA CHAVES AGUIAR BARBOSA<sup>4</sup>**

Doutoranda em Saneamento Ambiental pela Universidade Federal do Ceará – UFC.

#### **GLÓRIA MARIA MARINHO SILVA<sup>5</sup>**

Doutora em Hidráulica e Saneamento pela Escola de Engenharia de São Carlos/USP. Coordenadora do Programa de Pós-Graduação em Tecnologia e Gestão Ambiental do IFCE.

**E-mail:** priscilacolares.s@gmail.com

**RESUMO:** A larga utilização de agrotóxicos no Brasil o tornou em um dos principais consumidores deste produto. Desta forma, a preocupação com os impactos acarretados pelo uso inadequado de agrotóxicos levou a essa pesquisa para procurar formas de tratamento para seus efluentes visando à minimização desses impactos nos corpos hídricos. O principal objetivo desse trabalho foi avaliar a remoção da matéria orgânica de água dopada com o pesticida Endrin usando o fungo *Aspergillus niger* AN 400 como agente degradador. Os parâmetros avaliados neste estudo foram os de DQO e pH. Os valores de pH variaram entre 2,6 e 5,5. Em relação à DQO houve índices de remoção em torno de 29,2%, 38,2% e até 52,5% sendo este último o valor de remoção mais alto observado nesse estudo.

**PALAVRAS-CHAVE:** *Aspergillus niger*, Degradação, Endrin.

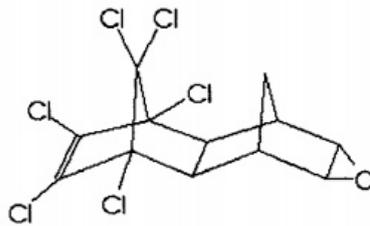
#### **INTRODUÇÃO:**

##### **Pesticidas**

Usados muito comumente no combate contra pragas e ervas daninhas em plantações, os pesticidas são substâncias químicas com alto valor de toxicidade na maioria de suas composições. Podem ser empregados vários tipos de denominação para esse grupo de substâncias, por exemplo: agrotóxico, pesticida, veneno, defensivo agrícola, praguicida. (DAMS, 2006).

Dentre estes pesticidas, o Endrin é bastante utilizado em culturas de milho, algodão, arroz e cana-de-açúcar no combate contra insetos, pássaros e roedores. O Endrin é classificado de acordo com sua origem como um organoclorado. Este agrotóxico teve seu uso banido em vários países e integra a lista de poluentes orgânicos persistentes (POPs) (CETESB, 2012).

**Figura 1: Fórmula estrutural do Endrin**



Fonte: Ghiselli (2001)

A Convenção de Estocolmo, que ocorreu em 2001, teve como foco o tratado sobre os Poluentes Orgânicos Persistentes (POPs) para que os países assinantes do tratado tomassem medidas sobre o ciclo de vida - produção, importação, exportação, disposição e uso - dessas substâncias.

Estudos feitos com trabalhadores envolvidos na produção de Endrin, Dieldrin e Aldrin não apresentaram níveis de Endrin no sangue, salvo os casos de superexposição acidental aguda. A principal forma de exposição da substância a população é de forma residual em alimentos. A ingestão média ainda está abaixo da ingestão diária tolerável de 0,0002 mg/kg peso corporal recomendada pela FAO/OMS. (SUASSUNA, 2001)

Se usados de maneira correta, os pesticidas causam poucos danos ao meio ambiente, porém, seus resíduos presentes na água, solo, ar e vegetação apresentam riscos altíssimos à saúde humana. Pensando nessas consequências, estimula-se o desenvolvimento de pesquisas que possam criar novas tecnologias procurando a atenuação desses efeitos nocivos ou amenizar os impactos dessas substâncias. Dentre as tecnologias mais utilizadas, destaca-se a utilização de micro-organismos, plantas e mesmo enzimas em seus processos. Dentre essas tecnologias podem ser citadas a biorremediação, a recuperação de áreas contaminadas, o tratamento de compostos orgânicos voláteis tóxicos e de efluentes contendo resíduos tóxicos que devam ser eliminados antes de seu lançamento no ambiente (Dams, 2006).

Apesar de algumas substâncias serem degradadas de forma lenta por organismos aquáticos e terrestres, outras podem ser degradadas de forma consideravelmente rápida. Existem relatos sobre o potencial de organismos presentes no solo em degradar um tipo de herbicida como a atrazina. (Arthur *et al.*, 2000).

Devido a isso, a degradação dos herbicidas por micro-organismos do solo vem sendo estudado por inúmeros pesquisadores. Estudos mostram a grande capacidade de micro-organismos degradarem certos compostos poluentes como os pesticidas. Normalmente os organismos mais identificados com essa habilidade são bactérias (*Pseudomonas phaseolicola*, *P. cepaphia* e *Rhodococcus sp.*) e fungos (*Aspergillus niger*, *A. terreus*, *Fusarium solani* e *Gilocladium roseum*) (GARBELLINI E ULIANA, 2007).

*Aspergillus niger* é um fungo que frequentemente é utilizado para uso em biorremediação de locais que contêm hidrocarbonetos aromáticos policíclicos, metais pesados, pesticidas e efluentes de corantes têxteis (KAUFMAN e BLAKE, 1970).

Desta forma, o objetivo do presente trabalho foi avaliar a capacidade da espécie fúngica referida de remover/degradar o agrotóxico Endrin, em matriz aquosa.

## MATERIAIS E MÉTODOS:

O desenvolvimento da pesquisa ocorreu em escala laboratorial utilizando reator em batelada sequencial com biomassa imobilizada de *Aspergillus niger* AN 400 para tratar água residuária sintética dopada com endrin, que também é da classe dos organoclorados, como o aldrin. A utilização do endrin em vez do aldrin deveu-se ao fato da dificuldade de recurso para sua obtenção.

- **Cultivo, produção e contagem dos esporos de *Aspergillus niger* AN 400**

Foram utilizadas placas de Petri estéreis contendo 15mL de meio de cultura Saboraud Dextrose, esterilizado a 121°C, durante 15 minutos para a produção de esporos de *Aspergillus niger* AN400. As placas inoculadas permaneceram durante 5 dias na estufa a 28°C, para o crescimento de esporos por toda a superfície da placa. Após esse período os mesmos foram retirados das placas utilizando a alça de Drigalsky e solução Tween 80.

Para a realização da contagem de esporos foi preparada uma solução de esporos utilizando 50 µL de suspensão, previamente agitada em agitador tipo Vórtex, acrescido de 950 µL de solução Tween 80, resultando em diluição de 1:20. Logo após, 20 µL da solução preparada foram transferidos para câmara de Neubauer, onde se ocorreu a contagem dos esporos em microscópio óptico Bioval com aumento de 400 vezes.

- **ÁGUA RESIDUÁRIA SINTÉTICA**

O reator foi alimentado com água residuária sintética, que foi preparada com água de torneira esterilizada, solução de endrin com concentração 7,5 g.L<sup>-1</sup>, e também foram acrescentados os nutrientes que estão apresentados na Tabela 01.:

**Tabela 1 – Composição do meio sintético que alimentou os reatores em batelada com biomassa dispersa de *Aspergillus niger* AN 400**

Composição	Concentração (g/L)
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	0,20
MgSO <sub>4</sub>	0,25
CaCl <sub>2</sub> . 2H <sub>2</sub> O	0,01
NaNO <sub>3</sub>	1,00
(NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	2,00
CuSO <sub>4</sub> . 7 H <sub>2</sub> O	0,08
H <sub>2</sub> MoO <sub>4</sub>	0,05
MnSO <sub>4</sub> . 5H <sub>2</sub> O	0,05
Fe <sub>2</sub> (SO <sub>4</sub> ) <sub>3</sub>	0,05
ZnSO <sub>4</sub>	0,04
Glicose	1,00

Fonte: Adaptado de Rodrigues (2006).

- **MONTAGEM DO REATOR**

Nesta pesquisa, foi montado um reator esterilizado com volume total de 4,5 L e volume útil de 4 L. A montagem do reator foi dividido em 2 momentos: primeiramente ocorreu o período de imobilização do fungo *Aspergillus niger* AN 400, a concentração de esporos no reator foi de 2,0 x 10<sup>6</sup> esp./mL. Após o período de imobilização, a composição do meio sintético de alimentação do reator foi de 1 m.L<sup>-1</sup> de Vishniac e uma solução de Endrin, com variação da concentração. As diferentes concentrações foram divididas em três ciclos, um ciclo com 5 mg.L<sup>-1</sup> de solução de Endrin, o segundo e o terceiro com 7,5 mg.L<sup>-1</sup>, porém o terceiro ciclo não houve adição de 0,5 g.L<sup>-1</sup> de glicose, quantidade de co-substrato que estava presente nos 2 primeiros ciclos.

**Figura 2 – Reator em batelada sequencial com biomassa imobilizada de *Aspergillus niger* AN 400**



**Fonte: Autor (2013)**

A pesquisa foi realizada durante 30 dias, ocorrendo uma retirada de alíquotas que não comprometiam mais do que 10% volume útil do reator. Os tempos reacionais (TR) foram 24, 48, 72, 96 e 144 horas para determinação das variáveis: pH e DQO executadas de acordo com APHA (2005).

## **RESULTADOS**

A análise de pH é feita para observar a atividade metabólica do fungo. O pH de uma cultura varia em razão do micro-organismo e de seu comportamento metabólico, dessa forma a natureza do substrato pode também influenciar bastante na sua variação. (RODRIGUES e MARINHO, 2012).

Os valores médios de pH obtidos nessa pesquisa foram de 3,62 para o ciclo 1, 3,58 para o ciclo 2 e 4,2 para o terceiro ciclo. Os valores máximos e mínimos de cada ciclo foram respectivamente: 5,58(caracterização) e 2,67(TR 144 hrs) no ciclo 1; 3,88(caracterização) e 3,33 (TR 96hrs) no ciclo 2 e 4,89 (caracterização) e 4(TR 96hrs) no ciclo 3.

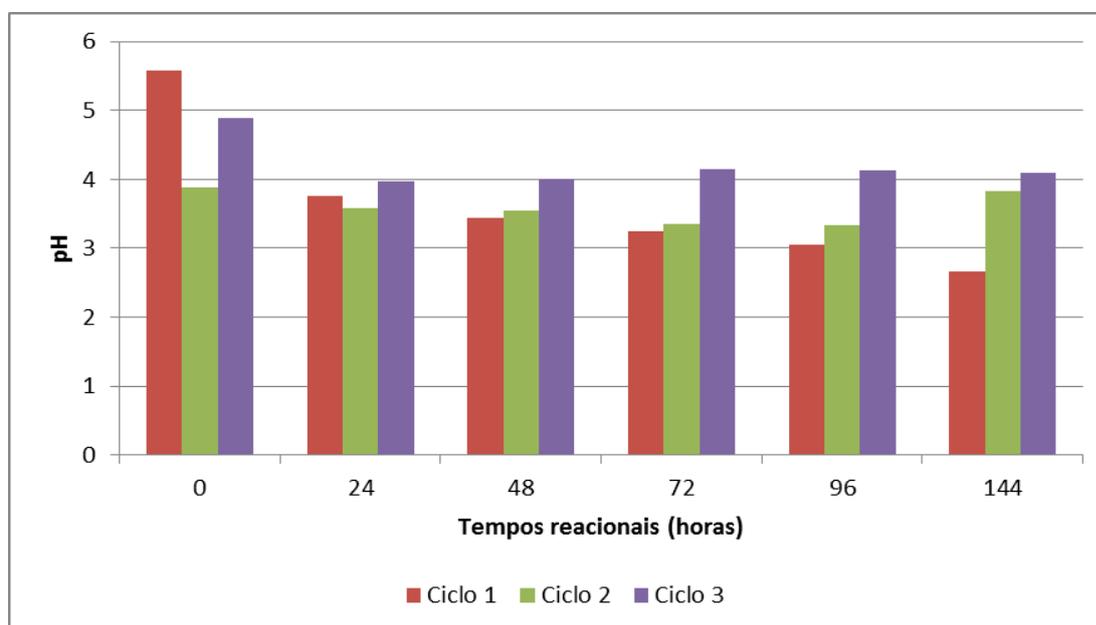
De acordo com Trabulsi (2004), os fungos são tolerantes a uma faixa de pH que varia entre 2 e 9, e os valores encontrados nesta pesquisa estavam dentro dessa faixa de tolerância, indicando condições de pH para a espécie fúngica se desenvolver.

Em consequência do metabolismo dos fungos, o pH do meio é suscetível a alterações que estão relacionadas ao grau de crescimento do fungo, a natureza da fonte de carbono e nitrogênio. (GRIFFIN,1994). No caso desse estudo ocorreram pequenas variações de pH ao longo dos tempos reacionais no três ciclos, podendo ser relacionado essa alteração ao grau de crescimento do fungo.

Os menores valores de pH foram observados no ciclo 1 onde o fungo dispunha inicialmente de glicose produzindo maior quantidade de ácidos orgânicos a partir do consumo do substrato primário, indicando assim maior atividade metabólica. Isso também ocorreu no estudo de biodegradação de benzeno em reatores com biomassa fúngica imobilizada de Pinheiro *et.al* (2012) onde os menores valores de pH também foram apresentados em reatores com a presença desse co-substrato.

A Figura 3 (abaixo) mostra a variação de pH no reator em 3 ciclos.

**Figura 3 – Variação de Potencial Hidrogeniônico (pH) no reator em batelada sequencial com biomassa imobilizada de *Aspergillus niger* AN 400.**



**Fonte: Autor (2014)**

Com relação à matéria orgânica, observam-se na Figura 4 os valores de variação da concentração de DQO no reator durante o período de análise. Segundo os resultados obtidos, o maior índice de remoção de DQO foi obtido no período de 144 horas do ciclo 1, no qual a eficiência foi de 52,5% apresentando concentração final de matéria orgânica de 2.380 mg.L<sup>-1</sup> quando no começo do ciclo apresentava uma concentração de 5.003 mg.L<sup>-1</sup>. Nesse período final do ciclo 1, o pH apresentava-se ácido, confirmando a hipótese de consumo de matéria orgânica e produção de ácidos orgânicos, apresentando um ótimo nível de remoção de DQO.

Valores semelhantes de remoção de DQO foram encontrados também por Silva *et.al* (2012). em seu estudo de remoção de fenol por *Aspergillus ornatus* em reatores biológicos onde o índice de remoção de matéria orgânica chegou a 52% em reatores sem adição de sacarose e a 48% em reatores com a adição de sacarose.

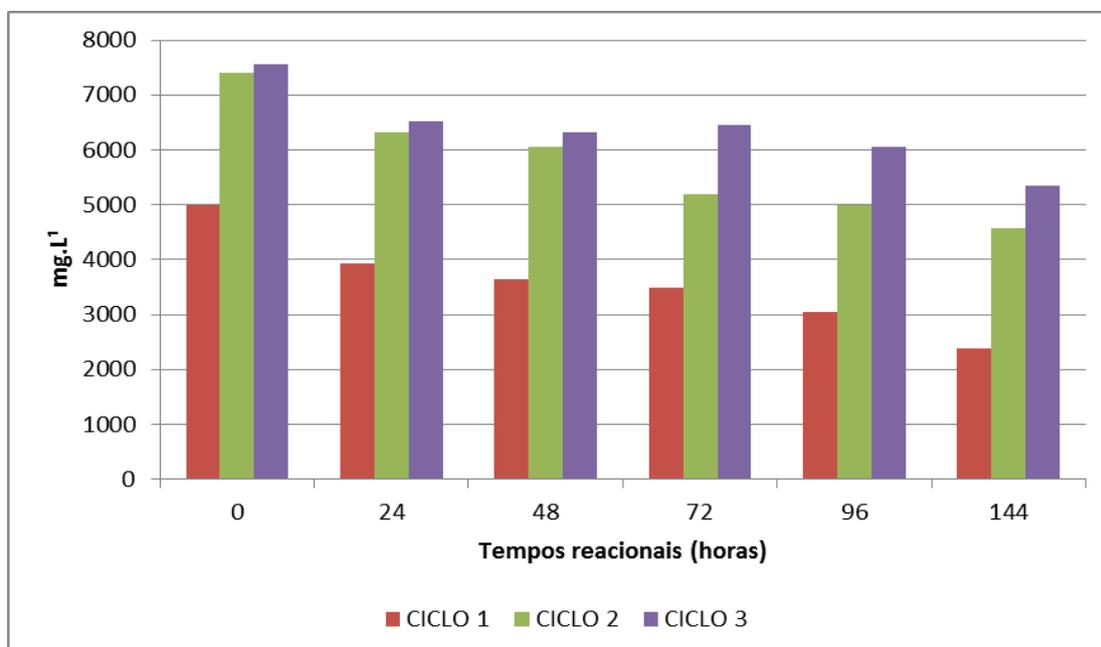
Tal nível de remoção pode-se ser explicado, pois a utilização de reatores em batelada sequencial com inóculo fúngico pode ter sido favorecido pela utilização de biomassa imobilizada, pois ao imobilizar micro-organismos, é elevada a produtividade de síntese dos metabólitos devido à fatores com grandes concentrações de células e um maior tempo de retenção celular (FREEMAN e LILLY, 1998).

Após esse ciclo, o índice de remoção nos ciclos 2 e 3 foram 38,2% e 29,2%, respectivamente, mostrando assim uma pequena perda da eficiência de remoção de matéria orgânica que pode ser associada a produção em excesso da biomassa e pela contribuição de seu desprendimento do suporte onde foi inoculado para o meio sintético. Esse desprendimento pode ter ocorrido da utilização de dois aeradores no reator.

Esse fenômeno também foi observado em mais dois estudos. De acordo com Lima (2012), o desprendimento da biomassa ocorria devido à homogeneização manual do reator feita antes da análise quando eles pretendiam avaliar a degradação de água residuária dopada de atrazina, deltametrina, metil-paration e paraquat em reatores inoculados com *A.niger* e, segundo Pinheiro *et.al* (2010), a eficiência de remoção de DQO diminuiu de mais de 80%(valor encontrado no início do estudo de remoção biológica de fenol) para 70%, fato

que foi atribuído a possível colmatação do leito devido a provável produção excessiva de biomassa.

**Figura 4 - Variação de DQO no reator em batelada sequencial com biomassa imobilizada de *Aspergillus niger* AN 400.**



Fonte: Autor (2014)

## CONCLUSÃO

O pH apresentou os menores valores no ciclo com a presença de glicose, o que indica uma maior produção de ácidos orgânicos durante a degradação da matéria orgânica, o que reflete uma maior atividade metabólica do fungo na presença desse co-substrato.

A espécie fúngica *Aspergillus niger* AN 400 se mostrou eficiente na remoção da matéria orgânica de meio sintético dopado com pesticida organoclorado alcançando até mais de 50% de eficiência no primeiro ciclo da batelada e mostrando também melhor eficiência quando a biomassa encontra-se agregada ao suporte.

Assim, conclui-se que a pesquisa se tornou viável no estudo de degradação de água residuária com a presença desse poluente.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. APHA. **Standard methods for the examination of water and wastewater**, 21.ed..Washington: American Public Health Association, 2005.
2. CETESB. **FIT: Ficha de informação toxicológica** - Divisão de Toxicologia, Genotoxicidade e Microbiologia Ambiental, São Paulo – janeiro 2012.
3. DAMASCENO E.P.; PINHEIRO Z.B.; SAMPAIO G.M.M.S; RODRIGUES K.A; ARAÚJO R.S **Tratamento biológico de efluentes de indústria petroquímica em reatores em batelada com biomassa dispersa e imobilizada com *Aspergillus niger* AN 400** – II Congresso de Pesquisa e Inovação da Rede Norte e Nordeste de Educação Tecnológica. João Pessoa – PB, 2007.
4. DAMS, R. I. **Pesticidas: Usos e perigos à saúde e ao meio ambiente**. Santa Catarina: Universidade do Vale do Itajaí, 2006.

5. FREEMAN, A.; LILLY, M. D. **Effect of processing parameters on the feasibility and operational stability of immobilized viable microbial cells.** *Enzyme and Microbial Technology*, New York, v. 23, n. 5, p. 335-345, 1998.
6. GARBELLINI, G.S.; ULIANA, C.V. **Toxidez, degradação no meio ambiente e métodos eletroanalíticos de detecção do pesticida carbaril.** *Pesticidas: revista de ecotoxicologia e meio ambiente*, Curitiba, v. 17, p. 29-36, jan./dez. 2007
7. GHISELLI, G. **Remediação de solos contaminados com pesticidas organoclorados utilizando reagente de Fenton.** Dissertação mestrado- Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP). Campinas, SP, 2001.
8. GRIFFIN, D.H. **Fungal physiology.** 2 ed. New York: Wiley-Liss, 1994. 458 p.
9. LEVENSPIEL, O. **Engenharia das reações químicas.** São Paulo: Editora Edgard Blücher, Ed. da Universidade de São Paulo, 1974. v. 2.
10. KAUFMAN, D.D.; BLAKE J. **Degradation of atrazine by soil fungi.** *Soil Bid. Biochem.* Vol. 2, pp. 73-80. Pergamon Press 1970.
11. LIMA, L.L.; CUNHA, R.M.; NETO A.S.; FREITAS, L.M.C.; PESSOA, K.A.R.; SILVA, G.M.M. **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.** VII CONNEPI – Congresso norte e nordeste de pesquisa e inovação. Palmas – Tocantis, 2012.
12. PINHEIRO, Z.B.; RODRIGUES, K.; WANDERLEY, C.R.P; ARAÚJO, R.S.; MARINHO, G. **Remoção biológica de fenol por uso de reator contínuo com inóculo de *Aspergillus niger*.** Artigo técnico - Engenharia Sanitária Ambiental | v.15 n.1 | jan/mar 2010 | 47-52.
13. PINHEIRO, Z.; DAMASCENO, E.; SILVA, G.; ARAÚJO, R. RODRIGUES K.; MARINHO G. **Biodegradação de benzeno em reatores em batelada com biomassa fúngica imobilizada.** - Fungos e águas residuárias industriais: nova tecnologia/Kelly Rodrigues e Glória Marinho; coordenação Laboratório de Tecnologia Ambiental do IFCE – pág.87 Recife: Imprima, 2012.
14. RODRIGUES, K.A. **Uso de reatores biológicos com fungos para remoção de fenol de água residuária sintética.** 2006. 145f. Tese (Doutorado em Saneamento) – Escola de Engenharia de São Carlos da Universidade de São Paulo, São Carlos, 2006.
15. RODRIGUES, K.A.; MARINHO, G.M. **Fungos e águas residuárias industriais: nova tecnologia.** Coordenação Laboratório de Tecnologia Ambiental do IFCE – Recife: Imprima, 2012.
16. SAMPAIO, G.M.M.S **Remoção de metil paration e atrazina em reatores com fungos.** 2005. 115f. Tese (Doutorado em Saneamento) – Escola de engenharia de São Carlos da Universidade de São Paulo, São Carlos, 2005.
17. SILVA, C.G.F; PINHEIRO, Z.B., ANDRADE M.V.F; LIMA, P.C.C.; SILVA, G.M.M.; RODRIGUES, K.A. **Estudo da remoção de fenol por *Aspergillus ornatos* em reatores biológicos** - Fungos e águas residuárias industriais: nova tecnologia. Coordenação Laboratório de Tecnologia Ambiental do IFCE – pág.45 Recife: Imprima, 2012.
18. SUASSUNA, K. **Contaminação em paulínia por aldrin, dieldrin, endrin e outros compostos tóxicos produzidos e descartados pela Shell do Brasil s.a.** Campanha de Substâncias e Tecnologias Tóxicas Greenpeace Brasil - São Paulo, 24 de abril de 2001. Disponível em: <http://www.conjur.com.br/dl/relatorio-shell-greenpeace.pdf>
19. TRABULSI, L.R.; ALTERTHUM, F.; **Microbiologia.** 4. Ed. Rio de Janeiro: Atheneu, 2004.