

II-266 - BIOREMEDIAÇÃO DO ALDICARBE EM REATOR ANAERÓBIO HORIZONTAL DE LEITO FIXO (RAHLF) EM DIFERENTES ESTADOS DE OXIDAÇÃO

Leonardo Henrique Soares Damasceno⁽¹⁾

Engenheiro Agrícola pela Universidade Federal de Lavras (UFLA). Mestre em Engenharia Hidráulica e Saneamento pela Escola de Engenharia de São Carlos (EESC/USP). Doutor em Engenharia Hidráulica e Saneamento na EESC/USP. Professor/Pesquisador da Universidade Federal de Alfenas (UNIFAL-MG).

Marcelo Zaiat

Engenheiro Químico pela Universidade Federal de São Carlos (UFSCar). Mestre em Engenharia Química pela UFSCar. Doutor em Engenharia Hidráulica e Saneamento na EESC/USP. Professor/Pesquisador da EESC/USP.

Endereço⁽¹⁾: Rodovia José Aurélio Vilela, 11999 – Cidade Universitária – Poços de Caldas – MG – CEP: 37715-400 – Brasil – Tel: (35) 3697-4758- e-mail: damasceno@unifal-mg.edu.br.

RESUMO

O objetivo principal deste trabalho foi avaliar o desempenho do biorreator anaeróbio horizontal de leito fixo (RAHLF) na degradação de aldicarbe em condições anaeróbias. Foram avaliados três níveis de oxidação: metanogênico, sulfetogênico e desnitrificante. O efeito do aumento da concentração de aldicarbe no desempenho dos reatores foi avaliado pelo emprego das concentrações de 5, 10, 20, 30 e 40 mg.L⁻¹ de aldicarbe extraído do produto comercial. Os reatores foram submetidos ao tempo de detenção hidráulica de 24 horas. As melhores eficiências de remoção foram obtidas nas concentrações de 5 e 10 mg.L⁻¹: 93,2 e 88,9% (metanogênico), 90,5 e 83,2% (sulfetogênico) e 88,0 e 94,3% (desnitrificante), respectivamente. Acima de 20 mg.L⁻¹ houve redução da eficiência em em todos os estados de oxidação avaliados. O reator desnitrificante colapsou em 40 mg.L⁻¹. Os reatores metanogênico e sulfetogênico tiveram desempenho semelhante em todas as concentrações avaliadas, enquanto que o reator desnitrificante não foi adequado para concentrações superiores a 10 mg.L⁻¹. Os perfis cinéticos temporais permitiram observar cinética aparente de 1ª ordem para os reatores metanogênico e sulfetogênico e de ordem zero para o reator desnitrificante. O RAHLF mostrou potencial para degradação biológica de compostos pesticidas carbamatos.

PALAVRAS-CHAVE: Biorremediação, carbamato, HPLC, pesticida, RAHLF, reator biológico.

INTRODUÇÃO

O crescimento exponencial da população mundial foi acompanhado por uma crescente demanda por alimentos. A agricultura se desenvolveu pelo uso freqüente de agrotóxicos de forma a aumentar, indiretamente, a produtividade no campo. Embora tenha tido seu objetivo cumprido, o uso indiscriminado e incorreto destes compostos pode levar à degradação dos recursos naturais, muitas vezes de forma irreversível, levando a desequilíbrios biológicos e ecológicos, além da contaminação de diferentes matrizes ambientais.

Em que pese suas excelentes propriedades praguicidas, o aldicarbe é um dos compostos mais tóxicos já registrados. Sua elevada solubilidade em água e baixa hidrofobicidade faz com que, em condições específicas, haja o risco de contaminação de águas superficiais e subterrâneas. Nos Estados Unidos chegou a ser proibido em 2010 mas, em função de suas excelentes propriedades nematicidas, retornou ao mercado em 2016. Sua comercialização no Brasil foi proibida em 2012, assim como em outros países. Entretanto, pela falta de controle de suas fronteiras, há sempre o risco de entrada no país por vias ilegais.

Em condições aeróbias, o aldicarbe é biologicamente metabolizado a sulfóxido e sulfona de aldicarbe, sendo estes considerados seus metabólitos principais. Em condições anaeróbias, o metabolismo é desviado à formação de oximas e nitrilas. Sabendo que o sulfóxido e sulfona de aldicarbe exercem toxicidade semelhante ao composto principal, o emprego de condições anaeróbias reduz o potencial de toxicidade de uma matriz contaminada.

O reator anaeróbio horizontal de leito fixo (RAHLF) tem sido usado com sucesso para degradação de diferentes compostos tóxicos tornando-se uma tecnologia em potencial para a biorremediação e/ou estudos de processos de degradação.

Nesse contexto, o principal objetivo deste trabalho foi investigar o desempenho do biorreator anaeróbio horizontal de leito fixo (RAHLF) na degradação do aldicarbe como única fonte de carbono e em diferentes estados de oxidação (metanogênese, sulfetogênese e desnitrificação).

METODOLOGIA UTILIZADA

Reator anaeróbio horizontal de leito fixo (RAHLF)

Três reatores foram construídos em vidro de borossilicato, com volume total de 1995 mL, volume de escoamento de 800 mL, comprimento de 100 cm, diâmetro de 5 cm e relação L/D = 20. Cada reator foi dotado de 5 pontos intermediários para amostragem e sistema coletor de gás. A alimentação foi realizada através de bomba peristáltica (Minipuls 3[®], Gilson[®]). O sistema foi mantido em 30±1°C e tempo de detenção hidráulica de 24 horas.

Imobilização da biomassa

O meio suporte foi espuma de poliuretano na forma de cubos de 5 mm de aresta, com densidade aparente de 23 kg·m⁻³, porosidade próxima a 95%. Para cada reator foram adicionados 30 g de espuma seca. O inóculo foi proveniente de biomassa granular utilizada no experimento foi proveniente de reator anaeróbio de manta de lodo e escoamento ascendente (UASB), tratando água residuária de abatedouro de aves da empresa Avícola Dacar sediada em Tietê, SP.

Meio sintético

O meio sintético usado foi composto de aldicarbe (extraído do produto comercial Temik[®]), meio basal (ANGELIDAKI; PETERSEN; AHRING, 1990) para suprimento de sais e metais, vitaminas (WOLIN; WOLIN; WOLFE, 1963) e bicarbonato de sódio. Em função da condição de oxidação desejada, adicionou-se, também, nitrato ou sulfato. Para estimular condições desnitrificantes em um dos reatores, foi adicionado nitrato ao meio (na forma de nitrato de sódio). A concentração adicionada foi determinada por meio da Equação (1), utilizando-se a relação estequiométrica C/N considerando o metanol fonte de carbono e nitrato como fonte de nitrogênio, incluindo a síntese celular (ASCE/WEF, 1992):



Assim, para cada 1,08 mol de metanol, seria necessário 1 mol de nitrato. Em massa, seriam 62 g de nitrato para 34,6 g de metanol. Convertendo em demanda química de oxigênio (DQO), seriam necessários 62 g de nitrato para cada 51,9 g de DQO. A DQO do Temik[®], determinada experimentalmente, foi de 1,7 g de DQO para cada 1 g de aldicarbe. Assim, como exemplo, na condição de 10 mg·L⁻¹ de aldicarbe, seriam necessários 20,3 mg de nitrato. Portanto, a relação nitrato/aldicarbe utilizada foi de aproximadamente 2,03.

No reator sulfetogênico, foi adicionado sulfato (SO_4^{2-}) (na forma de sulfato de sódio) ao meio considerando-se a relação teórica DQO/(SO_4^{2-}) de 0,67, garantindo que haja sulfato suficiente para que toda a matéria orgânica seja consumida via sulfetogênese (LENS et al., 1988). Assim, para cada 1 g de aldicarbe, foram adicionados aproximadamente 2,5 g de sulfato.

Métodos analíticos

As análises de aldicarbe e metabólitos (sulfóxido e sulfona de aldicarbe) foram analisadas por cromatografia líquida (HPLC) de acordo com Damasceno et al. (2008). As demais análises (sulfato, nitrato e sólidos) foram de acordo com Eaton et al. (2005).

Procedimento experimental

Os três reatores foram operados simultaneamente nas mesmas condições de operação (concentração, tempo de detenção hidráulica e temperatura), diferindo apenas seu nível de oxidação (metanogênico, desnitrificante e sulfetogênico). Assim, as concentrações afluentes de aldicarbe testadas foram de 5, 10, 20, 30 e 40 mg·L⁻¹. O ensaio na concentração de 40 mg·L⁻¹ não foi realizado no reator desnitrificante, uma vez que o seu desempenho foi inadequado nas concentrações de 20 e 30 mg·L⁻¹.

A análise da remoção de aldicarbe levou em consideração a soma total dos metabólitos medidos (sulfóxido e sulfona de aldicarbe) com o composto principal como sendo aldicarbe total. Esse tipo de consideração é comum em estudos com aldicarbe já que as três substâncias apresentam toxicidade semelhante, devendo, portanto, ser removidas no processo de biorremediação.

Para cada concentração afluente de aldicarbe foram determinados os parâmetros cinéticos aparentes de degradação no RAHLF a partir dos respectivos perfis temporais ajustando-se a Equação (2) para os reatores metanogênico e sulfetogênico, ou a Equação (3) para o reator desnitrificante. Em todos sistemas, o regime de escoamento foi considerado como sendo tubular ideal, de acordo com os ensaios hidrodinâmicos realizados nos ensaios preliminares (dados não mostrados). O ajuste foi realizado no *software* Microcal Origin® 6.0 por meio do algoritmo de Levenberg-Marquardt.

$$S_b = S_{\min} + (S_0 - S_{\min}) \times e^{-k_{1ap} \times t} \quad \text{Equação (2)}$$

Em que:

- S_b : concentração de substrato no meio líquido (mg_{aldicarbe}·L⁻¹).
 S_0 : concentração de substrato no meio líquido no tempo igual a zero (mg_{aldicarbe}·L⁻¹).
 S_{\min} : concentração mínima de substrato no meio líquido (mg_{aldicarbe}·L⁻¹).
 k_{1ap} : constante cinética aparente de primeira ordem (h⁻¹).
 t : tempo de detenção hidráulica ao longo do RAHLF (h).

$$S_b = -k_{0ap} \times t \quad \text{Equação (3)}$$

Em que:

- k_{0ap} : constante cinética aparente de ordem zero (mg_{aldicarbe}·L⁻¹·h⁻¹).

RESULTADOS OBTIDOS

A Tabela 1 apresenta as eficiências médias de remoção de aldicarbe para os sistemas avaliados em diferentes concentrações de aldicarbe. Na Figura 1 é apresentada a variação da eficiência da remoção de aldicarbe com o aumento da sua concentração nos diferentes estados de oxidação avaliados. Na Figura 2, verifica-se o comportamento observado da carga removida de aldicarbe (CRA) com o aumento carga aplicada de aldicarbe (CAA).

Tabela 1: Eficiências médias de remoção de aldicarbe em condições metanogênicas, sulfetogênicas e desnitrificantes.

Ensaio	Eficiências médias (%)*					
	Metanogênico		Sulfetogênico		Desnitrificante	
	Aldicarbe	Aldicarbe total	Aldicarbe	Aldicarbe total	Aldicarbe	Aldicarbe total
5	93,2±2,2 ⁽⁷⁾	93,2±2,2 ⁽⁷⁾	90,5±5,1 ⁽⁶⁾	90,5±5,1 ⁽⁶⁾	88,0±5,9 ⁽⁷⁾	88,3±5,9 ⁽⁷⁾
10	88,9±8,8 ⁽⁷⁾	89,2±8,4 ⁽⁷⁾	83,2±4,4 ⁽⁷⁾	84,4±4,4 ⁽⁷⁾	94,3±2,6 ⁽⁷⁾	94,7±2,5 ⁽⁷⁾
20	76,0±3,8 ⁽⁶⁾	76,5±4,6 ⁽⁶⁾	80,7±5,6 ⁽³⁾	79,9±5,9 ⁽³⁾	32,3±9,6 ⁽⁶⁾	32,3±9,6 ⁽⁶⁾
30	71,0±2,7 ⁽⁷⁾	71,6±2,7 ⁽⁷⁾	70,5±6,1 ⁽¹⁰⁾	72,0±5,8 ⁽¹⁰⁾	40,2±15,0 ⁽⁹⁾	41,7±15,0 ⁽⁹⁾
40	64,4±3,6 ⁽⁶⁾	65,1±4,5 ⁽⁶⁾	65,3±2,7 ⁽⁶⁾	65,7±3,2 ⁽⁶⁾	-	-

* Os números entre parênteses indicam o número de amostras utilizadas para composição da média.

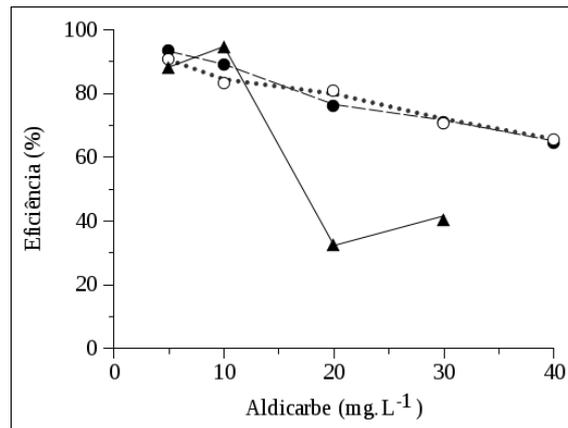


Figura 1: Efeito do aumento da concentração afluenta de Aldicarbe na sua remoção.
[Notação: ●, reator metanogênico; ○, reator sulfetogênico; ▲, reator desnitrificante.]

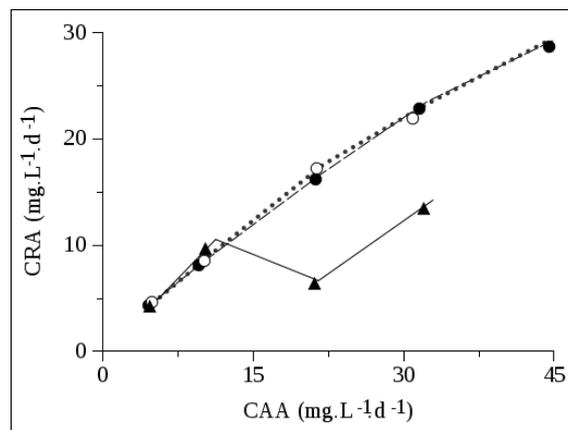


Figura 2: Carga removida de Aldicarbe (CRA) com o aumento da carga aplicada de Aldicarbe (CAA).
[Notação: ●, reator metanogênico; ○, reator sulfetogênico; ▲, reator desnitrificante.]

ANÁLISE E DISCUSSÃO DOS RESULTADOS

Em todas condições de oxidação avaliadas os reatores atingiram elevadas remoções de Aldicarbe em período curto, inferior a 45 dias. Entretanto, foram necessários 180 dias de operação para que todos parâmetros de monitoramento se apresentassem aparentemente estáveis, notadamente a concentração de metano no biogás. Em que pese o maior tempo de partida, em todos os níveis de oxidação a adaptação às mudanças de concentração foi rápida, demonstrando a robustez do RAHLF quando submetido a variações da concentração afluenta no processo de degradação do Aldicarbe.

Durante os ensaios foi detectada a presença de sulfóxido de Aldicarbe nas amostras do afluenta, possivelmente devido ao procedimento de extração visto que a agitação intensa, com posterior filtração, permitia a oxigenação do meio. Assim, uma fração do Aldicarbe era rapidamente convertida a sulfóxido.

A variação da eficiência da remoção de Aldicarbe com o aumento da concentração pode ser melhor visualizado na Figura 1. Verificou-se que, de forma geral, o aumento da concentração de Aldicarbe a valores iguais ou maiores que 20 mg.L⁻¹ causou redução gradual da eficiência de conversão, independentemente do nível de oxidação avaliado.

Os reatores metanogênico e sulfetogênico tiveram desempenhos semelhantes durante todos os ensaios, indicando que o estado de oxidação imposto aos mesmos não causou diferenças significativas. Embora tenham sido verificados resultados insatisfatórios para a concentração afluenta de 20 e 30 mg.L⁻¹, nas concentrações de 5 e 10 mg.L⁻¹ a eficiência de remoção de Aldicarbe no reator desnitrificante foi semelhante aos outros sistemas, chegando a ser ligeiramente superior aos demais na concentração de 10 mg.L⁻¹. Esses resultados diferem dos

encontrados por Kazumi e Capone (1995) que, em amostras de sedimentos, determinaram que a velocidade de transformação do aldicarbe na presença de nitrato foi muito superior àquela na sua ausência.

Verifica-se que a CRA foi proporcional à CAA para os reatores metanogênico e sulfetogênico, enquanto que, para o sistema desnitrificante, o aumento da CAA para valores superiores a $9,7 \text{ mg}_{\text{aldicarbe}} \cdot \text{L}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ ocasionou ligeira redução da CRA seguido de pequeno aumento, sugerindo a formação de um valor máximo de CRA dentro das condições avaliadas (Figura 2). Assim, o aumento da concentração afluyente de aldicarbe, apesar de ter ocasionado queda significativa na eficiência de conversão, não causou efeitos na carga total removida do sistema em condições metanogênicas e sulfetogênicas. Em condições desnitrificantes, o sistema foi mais sensível ao aumento da concentração afluyente, indicando que operou próximo à sua capacidade máxima de remoção.

A queda da eficiência de remoção com o aumento da concentração afluyente observada nos RAHLFs difere dos resultados obtidos por Kök et al. (1999) que, avaliando a degradação aeróbia de aldicarbe em reator empacotado com *Methylosinus* imobilizada em microesferas de carboximetilcelulose, determinaram que o aumento da concentração de aldicarbe ocasionou incremento na eficiência de remoção até a concentração afluyente de $400 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ (50 a $400 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$), mantendo-se constante em seguida (400 a $800 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$) para o TDH de 2,2 horas. Ademais, apesar dos autores especificarem na descrição do método analítico a avaliação de sulfóxido e sulfona de aldicarbe, não há nenhum resultado experimental ou observação de sua ocorrência ou remoção no decorrer do estudo.

Quando as eficiências de remoção de aldicarbe são comparadas a outros estudos realizados anteriormente, percebe-se que o RAHLF operando em condições anaeróbias obteve desempenho superior aos demais. Kök et al. (1999) obtiveram remoção máxima de aldicarbe de 17,5%, operando em TDH de 2,2 horas e concentração afluyente de $400 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$. Quando operado em batelada, em 24 horas de tempo de reação, aproximadamente 50% da concentração inicial foi convertida, atingindo 80% em 72 horas e 100% em 96 horas na concentração de $100 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$. Rose et al. (2006) operaram um sistema de alagados construídos e a remoção de aldicarbe variou de 15 a 39% para concentrações afluyentes inferiores a $90 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$.

Nas amostras do efluente dos reatores não foram detectados sulfóxido e sulfona de aldicarbe, confirmando que, em condições anaeróbias, os mesmos não são formados. Assim, na ausência de oxigênio, as vias de degradação são deslocadas para formação de oximas e nitrilas (Andrawes, 1971). Essa observação condiz com o que foi verificado por Kazumi e Capone (1995) e Vink e Van Der Zee (1997). Uma vez que as nitrilas e as oximas do aldicarbe e metabólitos exercem menor toxicidade, o potencial de toxicidade é reduzido. Entretanto, há de se levar em consideração o efeito conjunto desses compostos pelo emprego de testes ecotoxicológicos. Nesse contexto, Martins et al. (2008) verificaram a aplicabilidade de bioensaios com microcrustáceos (*Daphnia similis*) para avaliação da eficiência de remoção de aldicarbe no RAHLF. Foram avaliadas amostras do reator metanogênico com concentração afluyente de $50 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$, reator sulfetogênico com concentração afluyente de 20 e $50 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ e reator desnitrificante com concentração afluyente de $20 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$. Observou-se maior redução da toxicidade no reator sulfetogênico em relação aos demais, com o número de Unidades Tóxicas (UT) das amostras do afluyente reduzindo de 34 para 9,3 (73%) e de 71 para 8 (88%) após a degradação no reator nas concentrações afluyentes de 20 e $50 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$, respectivamente. Para o sistema metanogênico e desnitrificante a redução no número de UT foi de 55 para 41 (25%) e de 41 para 31 (24%), respectivamente.

Os perfis temporais de aldicarbe tiveram variação semelhante entre o reator metanogênico e o reator sulfetogênico, ambos com cinética de degradação de primeira ordem. No reator desnitrificante, entretanto, a cinética de ordem zero foi a que representou melhor o sistema. Na Figura 3 é apresentada a variação das constantes cinéticas aparentes em função da concentração afluyente de aldicarbe. Embora o desempenho na remoção de aldicarbe tenha sido semelhante, observou-se que o coeficiente cinético aparente foi diferente quando os reatores foram submetidos ao aumento da concentração de aldicarbe. Nas menores concentrações (5 e $10 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$), os valores de k_{1ap} foram próximos, enquanto que nas maiores concentrações houve redução no seu valor, sendo esta mais acentuada para o sistema sulfetogênico. O melhor ajuste dos dados experimentais do reator desnitrificante ao modelo cinético de ordem zero pode sugerir que o mesmo trabalhou em condições limítrofes de degradação, próximo às velocidades máximas. Um indicativo de que esta suposição seja verdadeira é a estabilidade da carga removida de aldicarbe com o aumento da concentração afluyente. Assim, para as condições estabelecidas, o sistema desnitrificante demonstrou maior sensibilidade nas concentrações avaliadas.

Considerando o modelo cinético de Monod (MONOD, 1942), em concentrações elevadas o sistema reacional tem comportamento típico de ordem zero. Entretanto para o modelo cinético proposto por Andrews para substrato limitante e inibidor (ANDREWS, 1968), o aumento da concentração de substrato reduzirá a velocidade de conversão do mesmo, reduzindo sua constante cinética. A variação do parâmetro cinético, quando a concentração aumenta de 5 para 10 mg.L⁻¹ reduzindo em seguida pode ser um indicativo do início do processo de inibição, em que atinge-se um valor máximo com redução posterior. Kök et al. (1999), embora tenham observado a manutenção da eficiência de remoção de aldicarbe com o aumento da sua concentração afluyente, verificaram redução nas velocidades de conversão o que, supostamente, reduziu os coeficientes cinéticos de degradação.

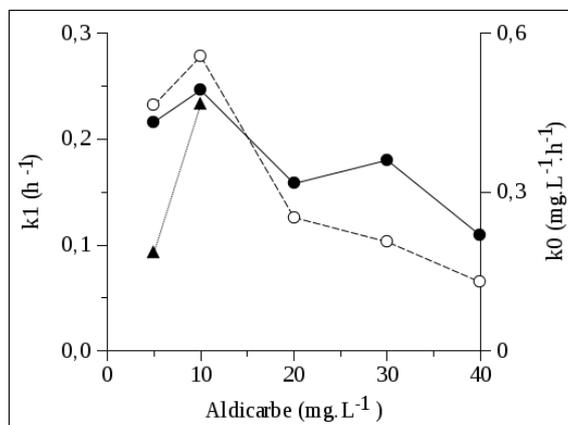


Figura 3. Variação do parâmetro cinético aparente de degradação de primeira ordem (k_{1ap}) e ordem zero (k_{0ap})

[Notação: ●, reator metanogênico; ○, reator sulfetogênico; ▲, reator desnitrificante.]

CONCLUSÕES

O reator anaeróbico horizontal de leito fixo (RAHLF) demonstrou potencial de emprego como tecnologia de remoção de aldicarbe como fonte única de carbono em diferentes níveis de oxidação (metanogênico, sulfetogênico e desnitrificante) em diferentes concentrações.

Nas concentrações de 5 e 10 mg.L⁻¹, em todos níveis de oxidação avaliados, foram obtidas elevadas eficiências de remoção (superiores a 83%). O aumento da concentração de aldicarbe causou redução na eficiência de conversão a partir de 10 mg.L⁻¹ em todos reatores avaliados. Na metanogênese e sulfetogênese, os resultados foram muito semelhantes, enquanto que em condições desnitrificantes o aumento da concentração causou colapso do sistema em estudo.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem à Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) pela concessão da bolsa de estudos (Processo N° 03/10506-7) e ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) (Processo N° 471764/2004-3) pelo apoio na realização do projeto.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. ANDREWS, N.R.; BAGLEY, W.P.; HERRETT, R.A. Fate and carryover properties of Temik aldcarb pesticide [2-methyl-2-(methylthio)propionaldehyde O-(methylcarbamoil)oxime] in soil. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, v.19(4), p.727-730, 1971.
2. ANDREWS, J.F. A mathematical model for the continuous culture of microorganisms utilizing inhibitory substrate. *Biotechnology and Bioengineering*, v.10, p.707-723, 1992.
3. ANGELIDAKI, I.; PETERSEN, S. P.; AHRING, B. K. Effects of lipids on thermophilic anaerobic digestion and reduction of lipid inhibition upon addition of bentonite. *Applied Microbiology Biotechnology*, v.33, p.469-472, 1990.

4. ASCE/WEF, American Society of Civil Engineers/Water Environment Federation. Design of municipal wastewater treatment plants. 2nd ed., New York: American Society of Civil Engineers/Water Environment Federation, 1992. 1592p.
5. DAMASCENO, L.H.S.; ADORNO, M.A.T.; HIRASAWA, J.S.; VARESCHE, M.B.A.; ZAIAT, M. Development and validation of a HPLC method for the determination of aldicarb, aldicarb sulfoxide and aldicarb sulfone in liquid samples from anaerobic reactors. *Journal of Brazilian Chemical Society*, v.19, p.1158-1164, 2008.
6. EATON, A.D.; CLESCERI, L.S.; RICE, E.W.; GREENBERG, A.E.; FRANSON, M.A.H. (Ed.). *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater*. 21. ed. Washington, D.C.: American Public Health Association, 2005.
7. KAZUMI, J.; CAPONE, D. G. Microbial aldicarb transformation in aquifer, lake and salt marsh sediments. *Applied and Environmental Microbiology*, v.61(8), p.2820-2829, 1995.
8. KÖK, F.N.; ARICA, M.Y.; HALİCİGİL, C.; ALAEDDINOĞLU, N.G.; HASİRCİ, V. Biodegradation of aldicarb in a packed-bed reactor by immobilized *Methylosinus*. *Enzyme and Microbial Technology*, v.24, p.291-296, 1999.
9. LENS, P. N. L.; VISSER, A.; JANSEN, A. J. H.; HULSHOFF POL, L. W.; LETTINGA, G. Biotechnological treatment of sulfate-rich wastewaters. *Critical Reviews in Environmental Science and Technology*, v.28(1), p.41-88, 1988.
10. MARTINS, M. E.; BOTTA, C. M. R. ; BARBOSA, D. S. ; ZAIAT, M. . Aplicação de bioensaios de toxicidade utilizando *Daphnia similis* para avaliação da eficiência do Reator Anaeróbio Horizontal de Leito Fixo (RAHLF) na degradação do aldicarbo. *HOLOS Environment (Online)*, v. 08, p. 02-Suplem. 01, 2008.
11. MONOD, J. *Recherches sur la Croissance des Cultures Bacteriennes*. Hermann & Cie, 1942, 210p.
12. ROSE, M.T.; SANCHEZ-BAYO, F.; CROSSAN, A.N.; KENNEDY, I.R. Pesticide removal from cotton farm tailwater by a pilot-scale ponded wetland. *Chemosphere*, v.63, p.1849-1858, 2006.
13. VINK, J.P.M.; VAN DER ZEE, S.E.A.T.M. Effect of oxygen status on pesticide transformation and sorption in undisturbed soil and lake sediment. *Environmental Toxicology and Chemistry*, v.16(4), p.608-616, 1997.
14. WOLIN, E.A.; WOLIN, M.J.; WOLFE, R.S. Formation of methane by bacterial extracts. *The Journal of Biological Chemistry*, v.238, p.2882-2886, 1963.