



INSTITUTO FEDERAL DE EDUCAÇÃO, CIÊNCIA E TECNOLOGIA DO CEARÁ
PÓS-GRADUAÇÃO EM TECNOLOGIA E GESTÃO AMBIENTAL

VICTÓRIA MAURA SILVA BERMÚDEZ

ESTUDO COMPARATIVO DE ESPÉCIES FÚNGICAS PARA DEGRADAR
PARAQUAT EM REATORES EM BATELADAS

FORTALEZA - CE

2018

VICTÓRIA MAURA SILVA BERMÚDEZ

**ESTUDO DA DEGRADAÇÃO BIOLÓGICA DE PARAQUAT EM REATORES EM
BATELADAS INOCULADOS COM BIOMASSA FÚNGICA**

Dissertação submetida à Coordenação do Curso de Pós-Graduação em Tecnologia e Gestão Ambiental do Instituto Federal do Ceará como requisito para obtenção do título de Mestre em Tecnologia e Gestão Ambiental.

Orientadora: Profa. Titular Glória Maria Marinho Silva
Coorientadora: Profa. Dra. Kelly de A. Rodrigues Pessoa

FORTALEZA- CE

2018

B516e Bermúdez, Victória Maura Silva.
ESTUDO DA DEGRADAÇÃO BIOLÓGICA DE PARAQUAT EM REATORES EM BATELADAS
INOCULADOS COM BIOMASSA FÚNGICA / Victória Maura Silva Bermúdez. - 2018.
120 f. : il. color.

Dissertação (Mestrado) - Instituto Federal do Ceará, Mestrado em Tecnologia e Gestão Ambiental,
Campus Fortaleza, 2018.
Orientação: Profa. Dra. Glória Maria Marinho Silva.
Coorientação: Profa. Dra. Kelly de Araújo Rodrigues Pessoa.

1. Biodegradação. 2. pesticida. 3. *Aspergillus niger* AN 400. 4. *Phanerochaete chrysosporium*. I. Título.
CDD 628

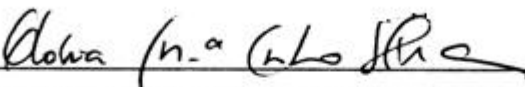
VICTÓRIA MAURA SILVA BERMÚDEZ

**ESTUDO DA DEGRADAÇÃO BIOLÓGICA DE PARAQUAT EM REATORES EM
BATELADAS INOCULADOS COM BIOMASSA FÚNGICA**

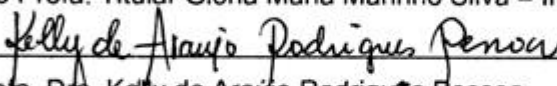
Dissertação submetida à Coordenação do Curso de Pós-Graduação em Tecnologia e Gestão Ambiental do Instituto Federal do Ceará como requisito para obtenção do título de Mestre em Tecnologia e Gestão Ambiental.

Aprovada em 16/02/2018

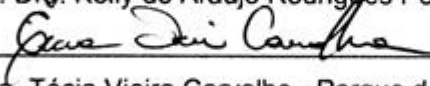
BANCA EXAMINADORA



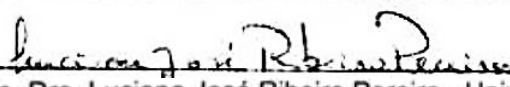
Presidente Profa. Titular Glória Maria Marinho Silva – IFCE Campus Fortaleza



Membro Profa. Dra. Kelly de Araújo Rodrigues Pessoa – IFCE Campus Fortaleza



Membro Profa. Dra. Técia Vieira Carvalho - Parque de Desenv. Tecnológico - PADETEC



Membro Profa. Dra. Luciana José Ribeiro Pereira - Universidade do Minho - Portugal

AGRADECIMENTOS

Agradeço

Deus, por me possibilitar entrar com contanto com tantas pessoas que me ajudaram ao longo desses dois anos de mestrado, ajudando meu crescimento profissional e pessoal.

À minha família, que sempre me deu muito apoio em tudo, principalmente a minha mãe Margareth e minha tia Kátia, por estarem no convívio diário comigo, incentivando meus estudos desde sempre.

Ao meu namorado Natan, que soube estar comigo durante esse período, sempre me demonstrando paciência e amor, mesmo em algumas vezes enfrentando minhas mudanças de humor, minhas horas frente a um notebook escrevendo e minhas sonolências!

À minha orientadora, Profa. Glória, que apesar da distância, sempre me ajudou e agradeço pela confiança depositada em mim.

À Profa. Kelly, por ter me acolhido tão bem ao LATAM e sempre estar disponível para ajudar.

À Profa. Tecia, por sempre perguntar sobre o andamento da pesquisa e sempre estar disposta a ajudar.

À minha amiga e Profa. Dra. Vera Lúcia do IFPI, por sempre me ajudar e passar seus ensinamentos acadêmicos.

Às minhas amigas, Ariza, Jéssyca, Paula, Juliana, Sandy e Bi, por sempre compreenderem que minhas saídas ficam reduzidas durante esses anos.

À Nívia por ter me acolhido tão bem quando comecei os experimentos no LATAM.

À Rejane por sempre me socorrer nas minhas dúvidas de pesquisa.

Às minhas pupilas, Letícia e Priscila por termos formado um time tão competente, sempre ajudando umas às outras. Este trabalho também é de vocês, obrigada por tudo.

Aos meus colegas de mestrado por termos compartilhados momentos incríveis, em especial para a “turma da bagunça”: Nathália M., Regina, Neilson e Thiago.

Aos bolsistas do LATAM, que se tornaram uma família para mim.

À Cledina, secretária do programa, por seus auxílios e atenção.

Ao CNPq, pelo suporte financeiro concedido.

Finalmente, agradeço a todos, que de alguma forma, contribuíram direta ou indiretamente com a realização deste trabalho. Obrigada!

“Pesquisar é ver o que todos os outros vêm e
pensar o que ninguém pensou”

(Albert Szent-Gyorgyi)

RESUMO

Uma grande quantidade de pesticida é aplicada anualmente ao redor do mundo para proteção de plantações, contaminando assim o meio ambiente. Nesta pesquisa foi estudada a remoção do herbicida paraquat na concentração de 30 mg.L⁻¹, de água sintética, em reatores em bateladas com dois tipos de biomassa fúngica dispersa (*Aspergillus niger* AN 400 e *Phanerochaete chrysosporium*). O pesquisa foi dividida em 4 etapas: (I) Cultivo do inóculo, produção e contagem de esporos do *Aspergillus niger* AN 400 e *Phanerochaete chrysosporium*; (II) Teste de toxicidade em placas (30, 20, 10, 5, 4, 3, 2, 1, 0,5 mg.L⁻¹ de paraquat); (III) bateladas agitadas com a biomassa dispersa em 120 h, contagem de colônias e teste ecotoxicológico; e (IV) bateladas sequenciais com biomassa imobilizada, teste de saturação da biomassa e do material suporte. Os reatores foram monitorados por meio das análises de concentração de paraquat, de glicose e sacarose, demanda química de oxigênio, pH, temperatura e sólidos suspensos voláteis. A partir dos valores obtidos pela remoção do pesticida e da DQO foram realizados estudos cinéticos utilizando a equação de primeira ordem. Na Etapa II, ambos os fungos estudados cresceram em todas as concentrações testadas no teste de toxicidade em placas. A partir de 10 mg.L⁻¹ o crescimento ocorreu de forma mais lenta. Na Etapa III, os reatores que apresentaram a maior média de remoção do paraquat foram os RNG – 4,0, com média de 20,2 ± 0,05% de remoção do poluente, 40% de consumo de glicose e constante cinética de 0,06 ± 0,002 h⁻¹ e o RPS-3,0 com 48,9 ± 0,01% de remoção de paraquat, 11% de consumo de sacarose e uma constante cinética de 0,026 ± 0,02h⁻¹, consequentemente o melhor reator, em termos de eficiência, em relação ao regime de bateladas agitadas. O teste biológico apresentou a predominância dos fungos ao final do tratamento e a concentração de 30 mg.L⁻¹ de paraquat foi um fator inibitório no crescimento das raízes no teste de toxicidade com cebolas. Na Etapa IV o RBS-AN obteve uma média de 65,7 ± 4,9% de remoção do pesticida e 84,7 ± 3,01% de remoção de DQO com constante cinética média de 0,03 ± 0,003 h⁻¹. Os resultados do RBS-PHC apresentaram uma média de 64,4 ± 4,6% de remoção de paraquat e 90,9 ± 1,65% de remoção de DQO com constante cinética de 0,027 ± 0,011 h⁻¹. O teste de saturação mostrou que o principal mecanismo de remoção do paraquat decorreu da ação dos micro-organismos presentes nos reatores com biomassa imobilizada. Desta forma, o regime em batelada sequencial com biomassa imobilizada apresentou as melhores eficiências de remoção do paraquat, sem adição de um cossubstrato, com ambos fungos, o *Phanerochaete chrysosporium* e o *Aspergillus niger* AN 400 e no regime em batelada agitada com biomassa dispersa o *Phanerochaete chrysosporium* apresentou melhores condições de remoção do poluente. Ambos fungos podem ser uma alternativa viável para o tratamento de efluente com paraquat.

Palavras-chave: *Aspergillus niger* AN 400. *Phanerochaete chrysosporium*. Pesticida. Biodegradação.

ABSTRACT

A large amount of pesticide is applied annually around the world to protect crops, thus contaminating the environment. In the present study the removal of the herbicide paraquat in the concentration of 30 mg.L⁻¹ of synthetic water was studied in agitated batch reactors with two types of dispersed fungal biomass (*Aspergillus niger* AN 400 and *Phanerochaete chrysosporium*) and with different concentrations of glucose and sucrose, whose concentrations varied from: 0.5 g.L⁻¹, 1 g.L⁻¹, 3 g.L⁻¹ and 4 g.L⁻¹ with 120 h reaction time. It was also used in sequential batch reactors with immobilized biomass (*Aspergillus niger* AN 400 and *Phanerochaete chrysosporium*) with a concentration of 30 mg.L⁻¹, 5 mg.L⁻¹ and 1 mg.L⁻¹ paraquat with 168 h, each cycle, to the total 8 cycles performed. The study was divided into 5 steps: (I) Inoculum cultivation, production and spore count of *Aspergillus niger* AN 400 and *Phanerochaete chrysosporium*, (II) Plaque toxicity test (30, 20, 10, 5, 4, 3, 2, 1, 0.5 mg.L⁻¹ paraquat), (III) agitated batch with biomass dispersed in 120 h, colonies count and sequential batch ecotoxicological (IV) test with immobilized biomass, biomass saturation test and of the carrier material. The reactors were monitored by analysis of paraquat concentration, glucose and sucrose, chemical oxygen demand, pH, temperature and volatile suspended solids. From the values obtained by the removal of the pesticide and the COD, kinetic studies were performed using the first order equation. In Step II, both fungi studied were grown at all concentrations tested in the plaque toxicity test. From 10 mg.L⁻¹ the growth occurred more slowly. In Phase III, the reactors that presented the highest mean of removal of paraquat were the RNG - 4.0, with a mean of 20.2 ± 0.05% of pollutant removal, 40% of glucose consumption and kinetic constant of 0.06 ± 0.002 h⁻¹ and RPS-3.0 with 48.9 ± 0.01% paraquat removal, 11% sucrose consumption and a kinetic constant of 0.026 ± 0.02 h⁻¹, hence the best reactor in terms of efficiency, compared to the batch regime. The biological test showed the predominance of fungi at the end of the treatment and the concentration of 30 mg.L⁻¹ of paraquat was an inhibitory factor in the root growth in the toxicity test with onions. In Step IV RBS-AN obtained an average of 65.7 ± 4.9% of pesticide removal and 84.7 ± 3.01% of COD removal with mean kinetic constant of 0.03 ± 0.003 h⁻¹. The results of the RBS-PHC showed an average of 64.4 ± 4.6% of removal of paraquat and 90.9 ± 1.65% of removal of COD with a kinetic constant of 0.027 ± 0.011 h⁻¹. The saturation test showed that the main mechanism of removal of paraquat was due to the action of the microorganisms present in the reactors with immobilized biomass. Thus, the sequential batch system with immobilized biomass presented the best removal efficiencies of paraquat, without addition of a cosubstrate, with both fungi, *Phanerochaete chrysosporium* and *Aspergillus niger* AN 400 and in the batch regime agitated with biomass dispersed *Phanerochaete chrysosporium* presented better conditions of removal of the pollutant. Both fungi may be a viable alternative for the treatment of effluent with paraquat.

Keywords: *Aspergillus niger* AN 400. *Phanerochaete chrysosporium*. Pesticide. Biodegradation.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 - Fórmula estrutural do DDT.....	19
Figura 2 - Estrutura molecular do paraquat	24
Figura 3 – Consumo de pesticidas no período de 2000 a 2014) (Tonelada de ingrediente ativo)	26
Figura 4 - Efeitos previsíveis do agrotóxico.....	28
Figura 5- Cepa de <i>Aspergillus niger</i> AN 400.	31
Figura 6 – Cepa de <i>Phanerochaete chrysosporium</i>	35
Figura 7 - Fórmula estrutural da glicose.....	38
Figura 8 - Fórmula estrutural da sacarose.....	38
Figura 9 - Esquema de desenvolvimento da pesquisa.	46
Figura 10 - Esquema das reações envolvidas no método DNS	48
Figura 11 - Metodologia açúcar redutor.	49
Figura 12- Procedimento da hidrólise parcial da sacarose.	50
Figura 13 - Diluições para a curva de determinação do PQT.....	51
Figura 14 - Dessecador, suporte, membrana de vidro e mufla	51
Figura 15 - Microscópio óptico Bioval.....	53
Figura 16 - Medição do crescimento micelial do fungo com auxílio de um paquímetro	54
Figura 17 - Incubadora de bancada CT -712 com agitadores rotatórios.....	55
Figura 18 - Armazenamento das cebolas.....	57
Figura 19 - Estufa microbiológica e contador de colônia.....	58
Figura 20 - Modelo de um reator sequencial (RBS) com o meio suporte e aeração.	59
Figura 21 - Eficiência de remoção do PQT e consumo de glicose nos reatores em batelada agitada com biomassa dispersa. 66	
Figura 22 - Eficiência de remoção do PQT e consumo de glicose nos reatores em batelada agitada com biomassa dispersa: 67	
Figura 23 - Curvas de decaimento do paraquat nos reatores em batelada agitada com biomassa dispersa com 120 h de reação. 70	
Figura 24 – Variação do pH nos reatores em batelada agitada com biomassa dispersa com 120 h de reação: 72	
Figura 25 – pH e consumo de glicose em 120 h de tempo reacional nos reatores RNG 0,5 (adição de 0,5 g.L ⁻¹ de glicose), RNG 1,0 (adição de 1,0 g.L ⁻¹ de	

glicose), RNG 3,0 (adição de 3,0 g.L ⁻¹ de glicose), RNG 4,0 (adição de 4,0 g.L ⁻¹ de glicose;.....	73
Figura 26- Formação de “pellets” nos reatores em batelada agitada inoculados com <i>Aspergillus niger</i>	74
Figura 27– SSV (g.L ⁻¹), eficiência da remoção de PQT (%) e consumo do cossustratos (%) no tempo reacional final (120h) nos reatores: RNG 0,5 (adição de 0,5 g.L ⁻¹ de glicose), RNG 1,0 (adição de 1,0 g.L ⁻¹ de glicose), RNG 3,0 (adição de 3,0 g.L ⁻¹ de glicose), RNG 4,0 (adição de 4,0 g.L ⁻¹ de glicose).	75
Figura 28– SSV (g.L ⁻¹), eficiência da remoção de PQT (%) e consumo do cossustratos (%) no tempo reacional final (120h) nos reatores: RNS 0,5 (adição de 0,5 g.L ⁻¹ de sacarose), RNS 1,0 (adição de 1,0 g.L ⁻¹ de sacarose), RNS 3,0 (adição de 3,0 g.L ⁻¹ de sacarose), RNS 4,0 (adição de 4,0 g.L ⁻¹ de sacarose).....	76
Figura 29 - SSV (g.L ⁻¹), eficiência da remoção de PQT (%) e consumo do cossustratos (%) no tempo reacional final (120h) nos reatores: RPG 0.5 (adição de 0.5 g.L ⁻¹ de glicose), RPG 1.0 (adição de 1.0 g.L ⁻¹ de glicose), RPG 3.0 (adição de 3.0 g.L ⁻¹ de glicose), RPG 4.0 (adição de 4.0 g.L ⁻¹ de glicose)	77
Figura 30– SSV (g.L ⁻¹), eficiência da remoção de PQT (%) e consumo do cossustratos (%) no tempo reacional final (120h) nos reatores: RPS 0,5 (adição de 0,5 g.L ⁻¹ de sacarose), RPS 1.0 (adição de 1,0 g.L ⁻¹ de sacarose), RPS 2,0 (adição de 2,0 g.L ⁻¹ de sacarose), RPS 3,0 (adição de 3,0 g.L ⁻¹ de sacarose), RPS 4,0 (adição de 4,0 g.L ⁻¹ de sacarose).....	77
Figura 31 – Crescimento das raízes no teste controle.....	79
Figura 32- Teste de ecotoxicidade com cebolas com o afluente e efluente dos reatores RNG 0,5 (adição de 0,5 g.L ⁻¹ de glicose), RNG 1,0 (adição de 1,0 g.L ⁻¹ de glicose), RNG 3,0 (adição de 3,0 g.L ⁻¹ de glicose), RNG 4,0 (adição de 4,0 g.L ⁻¹ de glicose.	80
Figura 33- Teste de ecotoxicidade com cebolas com o afluente e efluente dos reatores RNS 0,5 (adição de 0,5 g.L ⁻¹ de sacarose), RNS 1,0 (adição de 1,0 g.L ⁻¹ de sacarose), RNS 3,0 (adição de 3,0 g.L ⁻¹ de sacarose), RNS 4,0 (adição de 4,0 g.L ⁻¹ de sacarose).....	81

Figura 34- Teste de ecotoxicidade com cebolas com o afluente e efluente dos reatores RPG 0,5 (adição de 0,5 g.L ⁻¹ de glicose), RPG 1,0 (adição de 1,0 g.L ⁻¹ de glicose), RPG 3,0 (adição de 3,0 g.L ⁻¹ de glicose), RPG 4,0 (adição de 4,0 g.L ⁻¹ de glicose).....	81
Figura 35- Teste de ecotoxicidade com cebolas com o afluente e efluente dos reatores: RPS 0,5 (adição de 0,5 g.L ⁻¹ de sacarose), RPS 1,0 (adição de 1,0 g.L ⁻¹ de sacarose), RPS 2,0 (adição de 2,0 g.L ⁻¹ de sacarose), RPS 3,0 (adição de 3,0 g.L ⁻¹ de sacarose), RPS 4,0 (adição de 4,0 g.L ⁻¹ de sacarose).	82
Figura 36- Eficiência na remoção do paraquat nos 8 ciclos com 168 horas de tempo reacional no RBS-AN.	84
Figura 37 - Eficiência na remoção do paraquat nos 8 ciclos com 168 horas de tempo reacional no RBS-PHC.	84
Figura 38– Variações das concentrações de DQO filtrada (mg.L ⁻¹), eficiência de remoção durante os 8 ciclos com tempo reacional de 168h no RBS-AN..	86
Figura 39 - Variações das concentrações de DQO filtrada (mg.L ⁻¹), eficiência de remoção durante os 8 ciclos com tempo reacional de 168h no RBS-PHC.	87
Figura 40 - Curvas de decaimento da DQO filtrada no reator RBS-AN em 168 h	88
Figura 41 - Curvas de decaimento da DQO filtrada no reator RBS-PHC em 168 h	89

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Tipos de pesticidas.....	21
Tabela 2 - Classificação toxicológica dos pesticidas.....	22
Tabela 3- Classificação do potencial de periculosidade ambiental	22
Tabela 4 - Propriedades físico-químicas do paraquat.....	24
Tabela 5 - Síndrome no envenenamento pelo paraquat através da ingestão.	25
Tabela 6 – Trabalhos com <i>Aspergillus niger</i>	32
Tabela 7 - Trabalhos com <i>Phanerochaete chrysosporium</i>	36
Tabela 8 – Elementos requeridos para célula fúngica	39
Tabela 9 - Leis estaduais do nordeste brasileiro sobre pesticidas.....	40
Tabela 10 - Diretrizes estaduais do Ceará	42
Tabela 11-Parâmetros de lançamentos de efluente segundo Resolução COEMA 02/2017.	43
Tabela 12 - Composição química da solução de Vishniac.	47
Tabela 13 - Variáveis analisadas e métodos utilizados.....	47
Tabela 14- Diluições das amostras dos reatores em batelada agitada	49
Tabela 15– Reatores RF e composições da água sintética	55
Tabela 16- Composição do meio Martin.	58
Tabela 17– Composição do meio de imobilização e de crescimento para os reatores em batelada sequencial	60
Tabela 18 - Média do crescimento micelial (cm) <i>Phanerochaete chrysosporium</i> e desvio padrão.....	62
Tabela 19– Eficiência média de remoção do paraquat, concentração inicial e final, desvio padrão e análise de variância (ANOVA) com teste de Tukey dos reatores inoculados com <i>Aspergillus niger</i> AN 400 e <i>Phanerochaete</i> <i>Chrysosporium</i> com adição de glicose e sacarose após 120 h.....	64
Tabela 20 - Parâmetros cinéticos dos reatores RFN e RFP	69
Tabela 21– Plaqueamentos nos reatores RNG e RNS ao final do tempo reacional de 120h.	78
Tabela 22- Plaqueamentos nos reatores RPG e RPS ao final do tempo reacional de 120h	78
Tabela 23– Média de crescimento das raízes do teste de toxicidade nos reatores em batelada agitada e desvio padrão.	80

Tabela 24- Variações finais de pH, temperatura e desvio padrão durante os 8 ciclos no RBS-AN e RBS-PHC	85
Tabela 25 - Parâmetros cinéticos do decaimento da DQO filtrada do RBS-AN e RBS-PHC em função do TDH de 168 h obtidos a partir do ajuste ao modelo de primeira ordem.....	88
Tabela 26– Teste de saturação do meio suporte	90

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	16
2	OBJETIVOS	17
2.1	Geral.....	17
2.2	Específico	17
3	REVISÃO DA LITERATURA.....	18
3.1	Pesticidas	18
3.1.1	<i>Definição e histórico.....</i>	18
3.1.2	<i>Classificação dos pesticidas.....</i>	20
3.1.3	<i>Herbicida paraquat.....</i>	22
3.1.4	<i>Problemática ambiental.....</i>	26
3.2	Reatores biológicos em batelada.....	29
3.3	Utilização de fungos no tratamento biológico de água residual por biorremediação.	29
3.3.1	<i>Fungos.....</i>	30
3.3.2	<i>Fontes de carbono.....</i>	37
3.3.3	<i>Componentes para a atividade metabólica do fungo.....</i>	38
3.4	Legislação ambiental	39
3.5	Cinética química	43
4	MATERIAS E MÉTODOS.....	46
4.1	Procedimentos comuns nas Etapas III e IV	47
4.2	ETAPA I - Cultivo do inóculo, produção e contagem de esporos	52
4.3	ETAPA II – Teste de toxicidade em placas	53
4.4	ETAPA III – Batelada agitada com biomassa dispersa	54
4.4.1	<i>Montagem dos reatores.....</i>	54
4.4.2	<i>Teste de ecotoxicidade com cebolas (Allium cepa).....</i>	56
4.4.3	<i>Contagem de colônias.....</i>	57
4.5	ETAPA IV – Reatores em bateladas sequenciais com biomassa imobilizada.....	58
4.5.1	<i>Montagem dos reatores.....</i>	58
4.5.2	<i>Teste de saturação do material suporte.....</i>	60
4.5.3	<i>Teste de saturação da biomassa</i>	61
5	RESULTADOS E DISCUSSÕES.....	62

5.1	Etapa II – Teste de toxicidade em placas.....	62
5.2	Etapa III – Batelada agitada com biomassa dispersa.....	64
5.2.1	<i>Contagem de colônias.....</i>	78
5.2.2	<i>Teste de ecotoxicidade do paraquat com as cebolas.....</i>	79
5.3	ETAPA III – Reatores em bateladas sequenciais	82
5.3.1	<i>Operação nos reatores em batelada sequencial (RBS).....</i>	82
5.3.2	<i>Teste de saturação do meio suporte</i>	90
5.3.3	<i>Teste de saturação na biomassa</i>	91
6	CONCLUSÕES.....	91
7	SUGESTÕES PARA FUTUROS TRABALHOS	92
	REFERÊNCIAS	93
	APÊNDICES.....	109

1 INTRODUÇÃO

Devido ao crescimento demográfico e ao desenvolvimento industrial e agrícola, a demanda de água aumentou consideravelmente nas últimas décadas, de modo que vem comprometendo sua qualidade, além de estar sendo modificada por causas naturais e por fatores externos, causando contaminação (VIDAL, 2004).

Um exemplo desses fatores externos é a utilização de produtos químicos, conhecidos como pesticidas, que abrangem os inseticidas, os herbicidas e fungicidas (BAIRD, 2011), e que segundo os defensores desses produtos, servem para combater as pragas agrícolas, para melhorar a qualidade dos alimentos e por sua vez aumentar a produção da colheita. De acordo com Carneiro *et al.*, (2015), os principais pesticidas produzidos no Brasil são os herbicidas, com 45% de representação no comércio. O paraquat (dicloreto de 1,1'- dimetil – 4,4'-bipiridínio) é um exemplo de herbicida de contato direto amplamente usado no mundo por ter um baixo preço e uma boa eficácia (ROBERTS *et al.*, 2002; HONORE *et al.*, 1994).

O lançamento de efluentes nas indústrias fabricantes de pesticida possui um alto risco, pois além dos despejos normalmente gerados, existem ainda as descargas dos processos industriais que acidentalmente são lançados e problemas operacionais na estação de tratamento (PAWLOWSKY *et al.*, 1997).

Os pesticidas ao entrar em contato com o meio ambiente podem acarretar alterações dos ecossistemas, uma vez que ao afetar os organismos vivos, alteram a composição das comunidades aquáticas, interferindo nas relações tróficas e nos ciclos biogeoquímicos, portanto, modificando a estrutura e o funcionamento dos ecossistemas aquáticos (DAVIES *et al.*, 2003; ARTS *et al.*, 2008).

Tratar qualquer efluente industrial é fundamental para diminuir os impactos ambientais causados pelo homem, sendo a poluição hídrica um dos problemas mais críticos. A biorremediação surge então como uma técnica que utiliza micro-organismos naturais e grupos naturais, como bactérias, fungos, leveduras e enzimas que se baseia na degradação bioquímica de contaminantes orgânicos e inorgânicos presentes nos solos, águas e diversos outros ambientes (BERNOTH *et al.*, 2000).

Os fungos têm se destacando como agentes biorremediadores, uma vez que estes micro-organismos possuem a capacidade de conseguir utilizar a matéria orgânica como fonte de energia para o seu crescimento e pela capacidade de degradação de uma ampla variedade de compostos (ESPOSITO E AZEVEDO, 2010; VON SPERLING, 2005). As espécies

Aspergillus niger AN 400 e *Phanerochaete chrysosporium* se destacam entre os fungos com grande potencial para remoção de pesticidas (SONDHIA *et al.*, 2016; REYNA *et al.*, 2017).

Diante de tal realidade, faz-se necessário o desenvolvimento de tecnologias que visem a remoção de pesticidas em termos de aplicação industrial. Diante do exposto, a presente pesquisa teve como objetivo estudar a degradação do pesticida paraquat em reatores em bateladas agitadas com a biomassa fúngica dispersa, e em reatores sequenciais com a biomassa fúngica imobilizada, por duas espécies de fungo, *Aspergillus niger* AN 400 e *Phanerochaete chrysosporium*, e dois cossustratos, glicose e sacarose.

2 OBJETIVOS

2.1 Geral

Avaliar a capacidade dos fungos *Aspergillus niger* AN 400 e *Phanerochaete chrysosporium* em degradar o herbicida paraquat em reatores em bateladas agitadas com biomassa dispersa assim como determinar a melhor fonte primária de carbono, glicose ou sacarose, e realizar o tratamento em reatores sequenciais com a biomassa fúngica imobilizada.

2.2 Específico

- ✓ Testar a toxicidade do paraquat em meio aquoso na concentração de 30 mg L⁻¹ (afluente) e após o tratamento nos reatores em bateladas agitadas (efluente);
- ✓ Verificar a influência da concentração de glicose e sacarose na degradação do paraquat, nos reatores inoculado com *Aspergillus niger* AN 400 (RFN) e com *Phanerochaete chrysosporium* (RFP), no regime de batelada agitada;
- ✓ Estimar parâmetros cinéticos aparentes de degradação do paraquat e de consumo do cossustrato;
- ✓ Avaliar se as espécies *Aspergillus niger* AN 400 e *Phanerochaete chrysosporium* foram predominantes nos reatores por meio do teste de microscopia.
- ✓ Testar a toxicidade em placas do paraquat nas concentrações de 30 mg L⁻¹, 20 mg L⁻¹, 10 mg L⁻¹, 5 mg L⁻¹, 4 mg L⁻¹, 3 mg L⁻¹, 2 mg L⁻¹, 1 mg L⁻¹, 0,5 mg L⁻¹ e 0,1 mg L⁻¹ aos fungos *Aspergillus niger* AN 400 e *Phanerochaete chrysosporium*;

- ✓ Determinar a Demanda Química de Oxigênio (DQO) nos reatores em bateladas sequenciais RBS-PHC e RBS-AN400, bem como as constantes cinéticas;
- ✓ Verificar se as concentrações finais de paraquat e DQO estão de acordo com os valores máximos permitidos pela Legislação Ambiental.

3 REVISÃO DA LITERATURA

Para entender a problemática e propor estratégias de remoção de pesticidas, é importante entender os processos e características que envolvem o presente trabalho.

3.1 Pesticidas

3.1.1 Definição e histórico

Uma das principais fontes de alimentos para os seres vivos são as plantas, que podem ser afetadas por numerosas pragas e pela competição de ervas daninhas. Para combater essas pragas foram introduzidos produtos químicos chamados de pesticidas (AMARO, 2003). Logo, tornou-se necessária a criação de medidas protetoras para as culturas e lavouras para que se tornassem livres de infestações e pragas, extremamente prejudiciais a produção do alimento (BRAIBANTE e ZAPPE, 2012).

Para Baird (2011), os pesticidas são substâncias que matam ou controlam um organismo indesejável. A definição internacionalmente conhecida é dada pela Organização das Nações Unidas para a Alimentação e Agricultura/Organização Mundial de Saúde (FAO/OMS):

Um pesticida é qualquer substância ou mistura de substâncias utilizada na prevenção, controle ou destruição de pragas (incluindo vectores de doenças), infestantes ou animais indesejáveis que interfiram com a produção, armazenamento, transporte, distribuição e transformação de gêneros alimentícios, produtos agrícolas, madeira ou alimentos para animais. Sob esta definição, agrupam-se as substâncias administradas aos animais para o controle de ectoparasitas, substâncias usadas como reguladores de crescimento, desfolhantes e dessecantes. A definição exclui fertilizantes, aditivos ou drogas veterinárias (FAO, 1994).

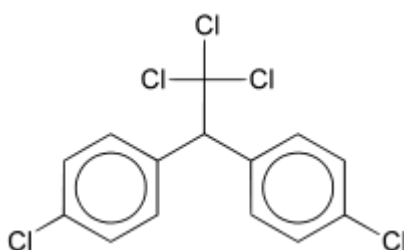
Todos os pesticidas químicos apresentam em comum propriedade de bloquear processos metabólicos vitais nos organismos para os quais são tóxicos (LARA W.H.e BATISTA, 1992).

O uso destes produtos, segundo a literatura é bastante antiga, tendo seu emprego semeado pelos povos da China, Grécia, Roma e Suméria, antes de Cristo. Para isso, eles utilizavam plantas e outros produtos, como pó de enxofre para controlar insetos e sal (NaCl) para matar ervas daninhas (MARASCHIN, 2003).

A aplicação de pesticidas conduz, de uma maneira geral, a um aumento da produtividade das colheitas, e também à melhoria das características qualitativas dos alimentos (FENIK *et al.*, 2011). Bastos (1997), estimou que 30 a 40% dos alimentos que poderiam ser potencialmente produzidos são perdidos anualmente por ataques de pragas e doenças.

A entrada definitiva dos pesticidas no cotidiano do homem e conseqüentemente no meio ambiente foi a partir das décadas de 30 e 40. Com o fim da segunda guerra mundial, o mercado de armas químicas não estava em alta, logo encontraram na agricultura um novo comércio, uma vez que as plantações eram alvos fáceis para as pragas. Guilherme *et al.* (2000) mencionam que nesse período ocorreu a inclusão de um inseticida conhecido como DDT ou para – diclorodifeniltricloroetano, que passou a ser usado em grandes escalas em todo o mundo. Na Figura 1 está apresentada a fórmula estrutural do DDT.

Figura 1 - Fórmula estrutural do DDT.



Fonte: SAUR *et al.* (2009)

Mas, de acordo com Dorea e Lanc (1999) foi na década de 50 que houve a grande expansão no Brasil na produção e no uso de pesticidas, em razão dos incentivos para a produção agrícola e a política de exportação. Nesse período o país introduzia a plantação de café e algodão na sua economia (SILVA *et al.*, 2005). Para Mentem (2008) foi com a revolução verde que se objetivou aumentar a produção de alimentos pela inserção de novas tecnologias, as quais se configuraram principalmente no uso extensivo de agentes químicos e na mecanização. De acordo com Lima e Azevedo (2013) essa revolução acarretou novas políticas agrícolas em busca da modernização da agricultura.

Em 1960 ocorreu no Brasil a criação do Programa Nacional de Defensivos Agrícolas (PNDA), no qual estimulou a produção em larga escala dos pesticidas e o envolvimento de setores econômicos nesta produção. Os produtores rurais se viram obrigados a compra de pesticida por causa da nova política que interligada a concessão de crédito rural à compra dos mesmos (SILVA e BOTELHO, 2014). A partir de 1979 foram observados resíduos de pesticidas em recursos hídricos, em baixas concentrações, nos países como Reino Unido ($0,02 - 0,043 \mu\text{g L}^{-1}$ de Atrazina e $0,02 - 0,06 \mu\text{g L}^{-1}$ de Simazina), Suíça ($0,047 - 0,052 \mu\text{g L}^{-1}$ de Atrazina), Estados Unidos ($3,0 \mu\text{g L}^{-1}$ Atrazina, $0,8 \mu\text{g L}^{-1}$ de Metribuzim e $4,5 \mu\text{g L}^{-1}$ de Metacloro, em água subterrâneas), Espanha ($0,025-0,059 \mu\text{g L}^{-1}$ de Atrazina e $0,025 - 0,084 \mu\text{g L}^{-1}$ de Simazina), Portugal ($0,01-2,74 \mu\text{g L}^{-1}$ de Atrazina e $0,05-0,70 \mu\text{g L}^{-1}$ de Simazina) e Brasil ($0,069-0,882 \mu\text{g L}^{-1}$ de Metribuzim e $0,047 - 0,156 \mu\text{g L}^{-1}$ de Atrazina) (DORES, 2004; RIBERO *et al.*, 2007).

As tecnologias de combate às pragas contribuíram para o crescimento da agricultura brasileira (MOREIRA, 2002). A agricultura proporciona um crescimento anualmente na economia do Brasil, já que são exercidas inúmeras atividades agrícolas em vários estados do país, logo, o agronegócio é responsável por aproximadamente 21% do PIB (Produto Interno Bruto) (BRAGA, 2012; KUSSUMI, 2007). Considerando este crescimento, a FAO e a Organization for Economic Cooperation and Development (OCDE) estimam que o Brasil será, na próxima década, o maior produtor agrícola e o maior consumidor de agrotóxicos do mundo (OCDE, 2014; FAO, 2014).

As indústrias fabricantes de pesticidas defendem o termo “defensivo agrícola”, pois protegem a utilização desses produtos porque a diminuição da venda do mesmo poderia acarretar prejuízos econômicos (CHENG, 1990; FAY, 2004).

3.1.2 Classificação dos pesticidas

Atualmente, de acordo com a literatura existem mais de 600 tipos de pesticidas que são utilizados mundialmente na agricultura (PATUSSI e BÜNDCHEN, 2014). Para Benevides e Marinho (2015) as propriedades físico-químicas dos pesticidas, os métodos de aplicação, a quantidade e a frequência de uso determinarão qual será o destino destes pesticidas e sua interação com os ecossistemas.

A classificação pode ser feita de acordo com o tipo de organismo a combater, sendo, portanto, divididos em inseticidas, fungicidas, herbicidas, rodenticidas, acaricidas,

nematicidas, moluscocidas, fumigantes (CARTER, 2000; HARBHAJAN, 2006; ZENEBON, 2008). Na Tabela 1 está sendo apresentado os tipos de pesticidas.

Tabela 1 - Tipos de pesticidas

PESTICIDA	COMBATEM
Inseticidas	Insetos
Fungicidas	Fungos
Herbicidas	Ervas daninhas
Rodenticidas	Roedores
Acaricidas	Diversos tipos de ácaros
Nematicidas	Nematoides
Moluscocidas	Moluscos
Fumigantes	Formigas

Fonte: (CARTER, 2000)

De acordo com LeDoux (2011) os inseticidas e os herbicidas são usados especialmente nas etapas de pré-colheita, os rodenticidas são empregados nas etapas de armazenamento de pós-colheita e os fungicidas são aplicados em qualquer etapa do processo, dependendo da cultura.

Para Dorea e Lanc (1999), Fenik *et al.* (2001), Eto (1997) e EMBRAPA (2004) outra forma de classificação é quanto à sua origem, sendo, os pesticidas divididos em inorgânicos e orgânicos. Segundo Krüger (2009) os pesticidas inorgânicos foram muito utilizados no passado, porém, atualmente não representam mais do que 10% do total de pesticidas em uso.

Os pesticidas orgânicos compreendem em de origem vegetal e os organo-sintéticos. De acordo com Fornari (2002), os de origem vegetal são de baixa toxicidade e de curta permanência no ambiente. E os organosintéticos são classificados em:

- a) Organoclorados
- b) Cloro-fosforados
- c) Organofosforados
- d) Carbamatos

Segundo Procópio *et al.* (2011), os agrotóxicos possuem propriedades agressivas a saúde humana de acordo com a dose letal e por determinação legal, todos os produtos devem

apresentar nos rótulos uma faixa colorida indicando a sua classe toxicológica, demonstrado na Tabela 2.

Tabela 2 - Classificação toxicológica dos pesticidas

CLASSES	GRUPOS	DL 50 (MG/KG)	COR DA FAIXA NA EMBALAGEM
I	Extremamente tóxico	≤ 5	Vermelha
II	Altamente tóxicos	5 - 50	Amarela
III	Medianamente tóxicos	50 - 500	Azul
IV	Pouco tóxico	50 - 5000	Verde

Fonte: Adaptado Brasil (1998).

Quanto a classificação do potencial de periculosidade ambiental – PPA dos pesticidas, é feita a partir de dados físico-químicos e sua toxicidade a diversos níveis tróficos. É um termo quantitativo que informa o potencial nocivo do pesticida para o meio ambiente (IBAMA, 1996), apresentado na Tabela 3.

Tabela 3- Classificação do potencial de periculosidade ambiental

CLASSE	GRAU
I	Altamente perigoso
II	Muito perigoso
III	Perigoso
IV	Pouco perigoso

Fonte: IBAMA (1996).

3.1.3 *Herbicida paraquat*

Os herbicidas podem ser classificados de acordo com o modo de ação e o tempo de aplicação em relação ao avanço da erva. Segundo Solomon (1984) a classificação pode ser:

- Residuais: mantêm-se no solo o tempo bastante para eliminar as ervas daninha no momento da germinação.
- De contato: eliminam as plantas nas quais entram em contato
- Sistêmicos: adentram na planta, distribuindo-se por todo o organismo.

- d) Pré-plantação: são aplicados logo após a preparação do solo (antes da plantação).
- e) Pré-emergente: são aplicados antes da germinação das sementes das ervas classificadas como daninhas.
- f) Pós-emergentes: são aplicados após o nascimento das ervas daninhas.
- g) Não seletivo ou total: eliminam toda a vegetação sobre qual se aplica, podendo ser seletivo se aplicado em doses menores.
- h) Seletivos: eliminam as ervas daninhas e não o cultivo, em condições normais.

Especificamente, com relação ao paraquat, este é um exterminador químico de ervas daninhas usados para o controle da mesma, agindo com um herbicida de contato não seletivo e é utilizado em aplicações pós-emergência nas culturas de arroz, batata, algodão, beterraba, pera, maçã, pêssego, etc (LARINI, 1999). As ervas daninhas sombreiam as lavouras, tiram sua água e nutrientes, e dificultam as colheitas, por isso são plantas indesejáveis.

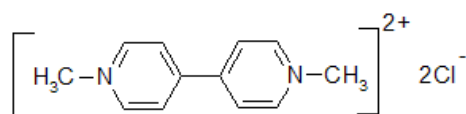
De acordo com Martins (2013) este herbicida age na presença de luz desidratando as partes verdes das plantas com as quais entra em contato, logo após a aplicação a penetração ocorre quase imediatamente.

Em geral, este pesticida é conhecido e comercializado como Gramoxone®, Gramocil®, Agroquat®, Gramuron®, Paraquat® e Paraquol®. O Gramoxone® foi a primeira forma comercial do paraquat homologada, sendo que seu princípio ativo deve-se a Weidel & Russo que publicaram seus trabalhos em 1882 (SERRA; DOMINGOS; PRATA, 2003).

O Gramoxone® é uma solução aquosa turva, que possui dicloreto de paraquat na concentração de 200 ± 10 com uma formulação de 20% (p/v). Possui um baixo preço, grande eficácia e ausência de efeito poluente para os solos é largamente utilizado (HONORÉ *et al.*, 1994).

De acordo com Larini (1999) o paraquat (1,1-dimetil-4,4-bipiridina-dicloreto) possui uma estrutura de dois anéis piridílicos unidos de maneira que os átomos de nitrogênio estão opostos (posição para), por isso o nome paraquat: para (posição) + quat – ernário. O paraquat pode formar diversos compostos, como o ácido hidroxil-4-picolínico, a N-formilglicina, oxalato e succinato, através da decomposição fotoquímica e microbiológica que promovem reações de extensa fragmentação molecular. Na Figura 2 está apresentada a estrutura molecular do paraquat.

Figura 2 - Estrutura molecular do paraquat



Fonte: (YAO *et al.* 2013).

De acordo com ANVISA (2007), paraquat é um herbicida que pertence ao grupo químico bupiridílio, que são moléculas com atividades que promovem a formação de radicais de superóxidos ($\text{O}_2^{\cdot-}$), cuja detoxificação por uma enzima, resulta na formação de peróxido de hidrogênio (H_2O_2), que peroxida lipídios e danifica membranas das células e dos cloroplastos (VIDAL, 1997).

De acordo com Almeida (2007) este herbicida são sólidos cristalinos, incolores, higroscópicos e em seu estado comercial, é líquido e coloração marrom, não são explosivos e nem inflamáveis, são estáveis em meio levemente ácido ou neutro. Na tabela 4 são apresentadas as propriedades físico-químicas do paraquat.

Tabela 4 - Propriedades físico-químicas do paraquat.

PROPRIEDADES FÍSICO-QUÍMICAS DO PARAQUAT	
Fórmula molecular	$\text{C}_{12}\text{H}_{14}\text{N}_2\text{Cl}_2$
Massa molar	257,16 g/mol
Toxicologia	DL50 em humanos é aproximadamente 35mg/Kg
pH	6,5 - 7,5
Densidade	1,25 g/cm ³
Ponto de fusão	175 - 180 °C (Decompõe-se a 300 °C)
Ponto de ebulição	300 °C
Solubilidade em água	700 mg.L ⁻¹ à 20 °C

Fonte: Fichas Internacionales de Seguridad Química (2001).

O paraquat tem sido extensivamente usado como um herbicida e seu residual no ambiente tem sido um perigo potencial para a saúde (LEE, 2012).

Roede e Miller (2014) relataram que o paraquat é um composto extremamente tóxico, podendo causar sérias intoxicações em animais e humanos, sendo os pulmões os primeiros a serem atingidos pela toxicidade. A absorção do mesmo não ocorre com a pele em si por causa da alta polaridade destes compostos, porém em alta quantidade pode provocar irritações e ulcerações, ocorrendo assim a absorção por essa via (ALMEIDA, 2007). Não oferece grandes

risco por via respiratória, dificilmente são inalados pois são compostos praticamente não-voláteis, porém a inalação pode ocorrer quando gotículas são produzidas através de aparelhos de vaporização (PEDROSA, 1984). Quando ingeridos acidentalmente ou intencional, causa lesões em todo o trato intestinal (GELLER, 2007).

Segundo Larini (1999), a gravidade do envenenamento pelo paraquat, quando da sua ingestão, pode ser avaliada pela síndrome dose-dependente apresentada na Tabela 5.

Tabela 5 - Síndrome no envenenamento pelo paraquat através da ingestão.

PARAQUAT (mg/Kg)	SÍNDROME OBSERVADA
Até 5	Nenhum efeito.
6 a 10	Vômitos em alguns casos. Nenhuma sequela.
11 a 20	Vômitos e diarreia. Nenhuma sequela.
21 a 50	Sensação de queimadura na região orofaríngea, vômitos, dor abdominal e diarreia. Pode ocorrer fibrose pulmonar.
Acima de 50	Morte provável durante o período de 72 horas após a ingestão do herbicida.

Fonte: (LARINI, 1999).

Aborto, deficiência cognitiva, cefaleia, problemas de esterilidade e tremores são alguns malefícios relatados na literatura (LACASANÃ *et al.*, 2010; COSTA e ROHLFS, 2011). Saur *et al.* (2009), acrescenta que o paraquat é um agente neurotóxico com ação contribuinte ao Mal de Parkinson. Porém, a utilização do paraquat obedecendo as medidas de segurança para manipulação não acarreta perigo para a saúde (PERES, F.; MOREIRA, 2003).

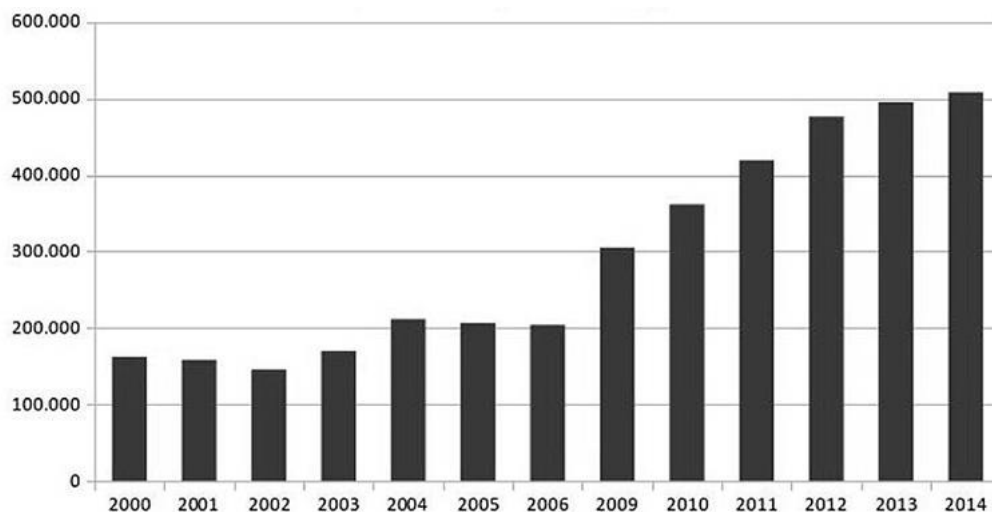
Purisai *et al.* (2007) realizaram testes científicos em ratos para averiguar se o consumo único de paraquat ou várias subsequentes, provocariam a morte de neurônios. Observou-se que a administração única desse pesticida não provocou a morte dos neurônios, mas preestabelece à degeneração de células dopaminérgicas (desempenham papéis importantes no cérebro e no corpo) e uma nova administração levou a morte dessas células em 7 dias. Isso ocorre por causa da propriedade deste herbicida em catalisar a redução de um elétron ao oxigênio molecular formando superóxido causando estresse oxidativo e citotoxicidade.

Sua classificação quanto ao potencial de periculosidade ambiental é de muito perigoso – tipo II e sua classe toxicológica é altamente tóxico – tipo I.

Em 2007, a organização não governamental *Pesticide Action Network Europe* (PAN), realizou um levantamento verificando em quais países o paraquat era o mais consumido. A Figura 3 mostra os saltos sucessivos no uso de pesticida a partir de 2006 e que entre 2002 e

2014, o consumo desses poluentes, medido por peso de ingrediente ativo, aumentou aproximadamente 340%.

Figura 3 – Consumo de pesticidas no período de 2000 a 2014 (Tonelada de ingrediente ativo)



Fonte: IBAMA (2016)

De acordo com o Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento - MAPA (2017), a agência Nacional de Vigilância Sanitária - ANVISA autorizou por mais 3 (três) anos o uso do paraquat no mercado brasileiro, justificando que a decisão teve uma visão acertada e alinhada com as melhores políticas públicas mundial, indicados pelas agências de segurança da Europa (EFSA – Autoridade Europeia para a Segurança Alimentar). Esses 3 anos foram estipulados para que sejam aprovados novos estudos que demonstrem e possam reverter a descontinuidade da manutenção do produto por mais tempo.

3.1.4 *Problemática ambiental*

Os pesticidas possibilitaram o aumento da produtividade agrícola e tem auxiliado no controle de vetores de diversas doenças, porém, o uso incorreto e excessivo desses produtos vem provocando vários impactos sobre o meio ambiente (Tomita e Beyruth, 2002).

Dentre os efeitos nocivos ao ambiente, Edwards (1973) citou a presença de resíduos no solo, na água, no ar, nas plantas e nos animais, podendo chegar ao homem através da cadeia alimentar. Em regiões de desenvolvimento agrícola, o paraquat é a principal fonte de poluição dos recursos hídricos e do solo (SOROLLA *et al.*, 2012). Os pesticidas em geral quando

entram em contato com a água causam danos aos peixes, causando um desequilíbrio desse ecossistema. (AGBOHESSI *et al.*, 2015).

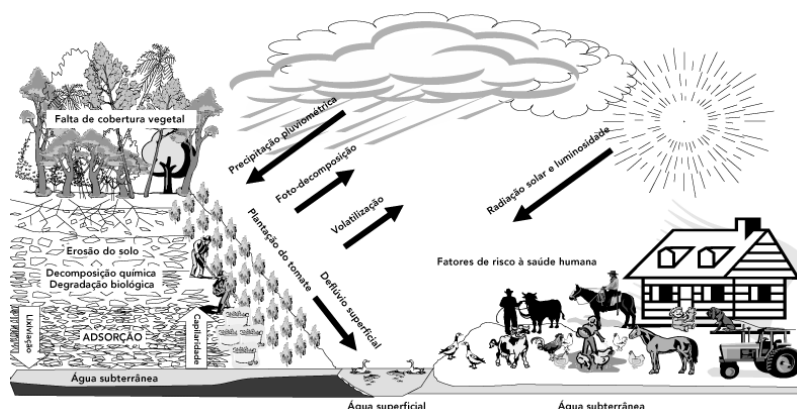
Após uma aplicação desses produtos químicos, vários processos físicos, químicos, físico-químicos e biológicos determinam seu comportamento. O destino dos mesmos no meio ambiente é conduzido por processos de retenção (sorção), transformação (fotólise, hidrólise, oxidação-redução e degradação biológica), transporte (deriva, volatilização, lixiviação, carreamento superficial) Schnoor (1992), Havens *et al.* (1995) e Radosevich *et al.* (1997) (EMBRAPA, 2010).

De acordo com Barbosa (2013), o processo de dissipação do pesticida no meio ambiente se dar inicialmente por meio da aplicação e pela ação do vento, onde o produto químico é deslocado para o local da cultura (processo de deriva). Do local da aplicação até o pesticida chegar ao solo há uma absorção por partes das plantas, volatilização e degradação por meio da temperatura e da incidência de raios ultra-violeta (fatores abióticos), até que ele chegue ao solo, onde inicia-se o processo de degradação pelos micro-organismos presentes no solo. EMBRAPA (2010) resume a dissipação de um pesticida no ambiente como o resultado do conjunto de processos de transporte e transformação.

Tomita e Beyruth, (2002) ressaltaram que os pesticidas podem alcançar os ambientes aquáticos através da aplicação intencional, deriva e escoamento superficial a partir de áreas onde ocorreram as aplicações. Uma vez em que entra em contato com a água, dependendo das características físico-químicas o resíduo do agrotóxico pode se ligar ao material particulado em suspensão, como se depositar no fundo ou ser absorvido por organismos aquáticos. Alguns também podem retornar a atmosfera através da volatilização (NIMMO, 1985) (PAWLOWSKY *et al.*, 1997).

Veiga *et al.* (2006) deram um exemplo de cultura do tomate no Município de Paty do Alferes, localizada no interior do Rio de Janeiro – Brasil. A cultura é plantada estaqueada e utilizando encostas bastantes inclinadas. Na Figura 4 está apresentado o exemplo de cultura de tomate. As características geomorfológicas da região associada a um solo pobre e intemperado favorecem a contaminação dos sistemas hídricos. A elevação da declividade favorece o processo de deflúvio superficial, a erosão do solo e a falta de cobertura vegetal favorece o processo de lixiviação dos agrotóxicos. Outro fator que os autores levam em consideração é a proximidade de pequenas propriedades rurais que possuem culturas agrícolas, com residências e animais domésticos que correm o risco de serem contaminadas pelo pesticida através da água consumida ou por ação do vento.

Figura 4 - Efeitos previsíveis do agrotóxico.



Fonte: Veiga *et al.* (2006).

Nordborg *et al.* (2017) relataram que os impactos negativos da utilização de pesticidas são pouco considerados em avaliações de produtos alimentícios, deste modo, avaliaram e compararam os potenciais impactos de ecotoxicidade de água doce devido ao uso desses poluentes na produção primária de produtos alimentícios na Suécia e como resultado, os produtos de origem animal tem potenciais impactos consideravelmente maiores que os de origem vegetal, utilizando a soja como base.

O impacto da horticultura em um curso de água foi estudado na Argentina por Mac Loughlin *et al.* (2017). Os autores observaram que as práticas agrícolas têm um impacto nos cursos de água próximos a cultura e que podem colocar em risco a fauna bentônica do corpo de água, já que as mesmas utilizam pesticidas, sendo o inseticida o que apresentou maior toxicidade.

Em termos industriais, o tratamento dos efluentes oriundos das indústrias de pesticida é complexo, pois os processos que ocorrem na fabricação dos produtos variam de acordo com o princípio ativo do produto químico e a instalação da indústria (PAWLOWSKY *et al.*, 1997). Para Latifi *et al.* (2012), os tratamentos que são utilizados para esse tipo de efluente ainda são onerosos e possuem a dificuldade de ainda ter a presença de princípios ativos, solventes e subprodutos secundários tornando o efluente mais tóxico ainda.

Atualmente é possível a não utilização de pesticidas para controlar pragas agrícolas, com destaque para a Holanda, onde 90% dos legumes resultam de um controle biológico (BIO4LIFE, 2018). Segundo Matias e Martins (2012) e Silva (2012), existem quatro tipos de métodos que constituem alternativas ao uso de pesticidas:

1. Alteração de práticas de cultivo;
2. Controle biológico:
 - 2.1 Introdução de predadores naturais
 - 2.2 Esterilização de insetos
3. Engenharia genética;
4. Utilização de hormonas
 - 4.1 Utilização de hormonas com base no ciclo de vida da praga
 - 4.2 Uso de feromonas

Esses controles baseiam-se na manutenção do equilíbrio ecológico, o que permite uma excelente produção de culturas e evita o aparecimento de novas doenças, além de ser economicamente rentável e de fácil aplicação.

3.2 Reatores biológicos em batelada

Em uma definição ampla, os reatores são recipientes onde ocorrem reações químicas, transferência de massa e calor. Levenspiel (1972) complementa que os reatores são vasos projetados para conter reações químicas de interesse e escala mundial.

Quando os processos que ocorrem no reator são de origem biológica, este reator é chamado de biorreator (FOGLER, 1932). Os sistemas biológicos envolvidos incluem enzimas, micro-organismos, células animais, células vegetais e tecidos (ZHONG, 2011).

Os reatores biológicos em bateladas, reatores intermitentes ou reatores sequenciais tornaram-se mais difundidos e utilizados nos anos 80 devido ao tratamento de uma maior variedade de efluentes (SILVEIRA, 2014).

Um reator em batelada é usado para operação em pequena escala, para testar novos processos que não tenham sido desenvolvidos completamente, para a fabricação de produtos caros ou para processos que sejam de difíceis de converter em operações contínuas (FOGLER, 1932).

3.3 Utilização de fungos no tratamento biológico de água residual por biorremediação.

A biorremediação ou remediação biológica é uma técnica que utiliza micro-organismos naturais, como bactérias, fungos, levedura e enzimas (presentes ou adicionados ao local) que se baseia na degradação bioquímica dos contaminantes orgânicos e inorgânicos

presentes nos solos, águas e diversos outros ambientes (BERNOTH *et al.*, 2000). Cada dia é mais crescente o estudo de processos biológicos para a degradação de pesticida, para assim minimizar os impactos causados pelo lançamento inadequado dos mesmos (RODRIGUES, 2006). Dentre os micro-organismos mais utilizados para a biorremediação destacam-se os fungos.

3.3.1 Fungos

Os fungos podem ser classificados em 4 (quatro) grupos principais: Ascomycota, basidiomycota, Zygomycota e Chytridiomycota (TORQUEMADA *et al.*, 2011). São eucariontes, ou seja, possuem um núcleo verdadeiro com uma membrana envolvendo o material genético, apresentam mais genes que as bactérias os tornando mais versátil em tolerar compostos inibitórios (VAN LEEUWEN *et al.*, 2012). Possuem células alongadas em forma de tubos cilíndricos (hifas) e o conjunto dessas hifas é chamado de micélio. Essa espécie pode se reproduzir em forma de “pellets”, quando as hifas formam esferas pequenas; ou de maneira filamentosa, quando as hifas estão dispersas no meio (PAPAGIANNI, 2004).

De acordo com Pamboukian (1997), o tipo de crescimento dos fungos irá depender de diversos fatores como: a espécie, composição do meio, a ausência ou presença de agitação, quantidade de inóculo (quantidade de esporos utilizada). Com relação às condições ambientais, os fungos crescem em uma ampla faixa de temperatura (0 a 62°C), porém a sua faixa ótima para seu crescimento é de 22 a 30°C (PELCZAR *et al.*, 1996) podem crescer em faixa de pH variando de 1,5 a 11, sendo sua faixa ótima para desenvolvimento, de modo geral, é de pH 5,6 (TRABULSI *et al.*, 1999). Os fungos juntamente com as bactérias heterotróficas são os agentes mais importantes de degradação que se conhece (ESPOSITO. e AZEVEDO, 2010).

Segundo Benevides e Sampaio (2015), esses eucariotos são popularmente conhecidos como bolores, frieiras, cogumelos (comestíveis ou alucinógenos), mas a sua importância é tão ampla que supera esse conhecimento leigo e vem sendo realizadas pesquisas científicas tendo como protagonistas os fungos no tratamento de efluente com corante azo vermelho do congo (RODRIGUES *et al.*, 2010), com corante Índigo carmim (DINIZ, 2015), entre outros. De acordo com Dias (2000), conhecer a capacidade degradativa da matéria orgânica ou sintética desses micro-organismos é o principal desafio para aperfeiçoar esse processo.

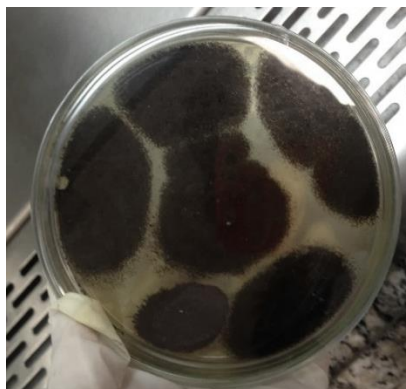
Para More *et al.* (2010) as espécies fúngicas filamentosas são muito utilizadas em tratamentos de efluentes devido a sua característica de promover a biofloculação simultânea

de suas hifas, o que faz com que compostos considerados tóxicos possam ser degradados do meio.

3.3.1.1 A espécie *Aspergillus niger*

O *Aspergillus niger* é um ascomiceto filamentoso que pode ser encontrado na superfície, ar e água, tanto em organismos vegetais como em animais, toleram uma variedade de condições de temperatura, de umidade e pH (HAMED, 2013). Comumente denominado como “mofo negro” como sugere seu nome, é um filamentoso negro (WAINWRIGHT, 1989). Na Figura 5 está apresentada a cepa de *Aspergillus niger* AN 400.

Figura 5- Cepa de *Aspergillus niger* AN 400.



Fonte: Autora (2017).

Este fungo possui a capacidade de degradar diferentes e complexas moléculas da natureza, por isso vem sendo utilizado amplamente conforme apresentado na Tabela 6.

Tabela 6 – Trabalhos com *Aspergillus niger*

AUTORES	TECNOLOGIA UTILIZADA	APLICAÇÃO
MIRANDA <i>et al.</i> , 1996	Reatores descontínuo em culturas abaladas e em um processo contínuo em um reator de bolhas	Eliminação de cor de águas residuais da fermentação alcoólica do melaço.
GARCÍA <i>et al.</i> , 2000	Fermentação	Remoção de compostos de fenol das águas residuais da mola de oliveira
JERNEJC e LEGIŠA, 2004	Isolamento de membrana bruta	Produção de ácido cítrico
WANDERLEY, 2007	Reatores em batelada	Remoção do corante vermelho do congo de água residuária sintética
PINHEIRO <i>et al.</i> , 2007	Reatores em batelada	Degradação de fenol
VIDAL <i>et al.</i> , 2008	Reator contínuo	Remoção do corante Vermelho do Congo
PIMENTEL, 2008	Reator em batelada	Tratamento do efluente da indústria de beneficiamento da castanha de caju
RODRIGUES <i>et al.</i> , 2010	Reator de escoamento contínuo	Remoção do corante vermelho do congo de água residuária sintética
VALE, 2010	Biossorção	Remoção de cromo e zinco
SILVA, 2010	Reatores em batelada e reator do tipo fluxo contínuo e ascendente	Tratamento aeróbio de efluente sintético de laticínio
PEIXOTO, 2014	Reator em batelada agitada	Tratamento de água residuária têxtil in natura com o uso de etanol como cossustrato
COSTA E SILVA <i>et al.</i> 2013	Reatores em batelada	Tratamento de efluente sintético de laticínio

PAULINO <i>et al.</i>, 2014	Reatores em batelada agitada	Iodegradação de água residuária sintética contaminada com metil paration
SILVEIRA, 2014	Reatores bateladas	Degradação do 2,4 – Dinitrofenol (2,4-DNF)
SILVA, 2015	reatores bateladas sequenciais	Degradação do paraquat de água residuária sintética
MARINHO, 2015	Reator de escoamento contínuo.	Remoção de corante de efluente têxtil sintético
SILVA, 2015	Reator batelada sequencial	Degradação biológica de corante vermelho do congo
DINIZ, 2015	Biossorção	Remoção do corante reativo Amarelo Novacron S.3R
RASOULNIA e MOUSAVI, 2016	Bioreactor de coluna de bolha	Produção de ácidos orgânicos
BARBOSA, 2016	Reatores bateladas sequenciais	Degradação do metil paration e atrazina de água residuária sintética
SONDHIA <i>et al.</i>, 2016	Biorremediação no solo	Degradação do penoxsulam
BAHALOO-HOREH <i>et al.</i>, 2017	Bioleaching médio	Recuperação aprimorada de metais valiosos a partir de baterias de íons de lítio usadas através da otimização de ácidos orgânicos
MARINHO <i>et al.</i>, 2017	Reatores em batelada	Degradação de atrazina de água residuária sintética
FREITAS <i>et al.</i>, 2017	Reatores em batelada	Remoção do metil paration de água residuária sintética

Com o objetivo de remover matéria orgânica dos efluentes da indústria de laticínios, Costa e Silva *et al.* (2013), utilizaram o *Aspergillus niger* AN 400 em reatores em bateladas repetidas no tratamento de um efluente sintético simulando o da indústria de laticínios. Concluíram que o fungo utilizado foi eficiente na remoção de matéria orgânica, independentemente da presença ou não do substrato primário, a sacarose, alcançando o percentual de remoção máximo de 71,7% para DQO, o que aumenta a viabilidade do tratamento na remoção dessa variável.

Pimentel (2008) avaliou a eficiência do tratamento realizado em uma indústria de beneficiamento da castanha de caju (efluentes bruto e tratado) e a viabilidade de tratamento em um reator aeróbio de leito fixo e escoamento contínuo ascendente, inoculado com o fungo *Aspergillus niger*. Constatou que o reator fúngico de leito fixo e escoamento ascendente operado com um tempo de detenção hidráulica de 12 horas apresentou alta eficiência na redução de toxicidade, fenóis totais e DQO do efluente estudado.

Penoxsulam (triazolopirimidina-sulfonamida) é um novo herbicida registrado para o controle de ervas daninhas na cultura do arroz. Sondhia *et al.* (2016) estudou a cinética de degradação com *Aspergillus niger* deste pesticida. A cinética de degradação demonstrou que a degradação do penoxsulam no solo foi seguida por uma formação de vários produtos/metabólitos de degradação pelo fungo.

Vidal *et al.* (2008), também estudaram o *Aspergillus niger* AN 400, inoculado em reatores contínuos a fim de verificar a degradação do corante Vermelho do Congo, na concentração 0,25 g.L⁻¹, matéria orgânica e nutrientes. Avaliou-se a influência da sacarose (0,5 g.L⁻¹), como co-substrato, com TDH de 8 horas. Foi obtido percentual médio de remoção de DQO dissolvida de 70,5%, na fase com adição de sacarose, e na ausência da mesma, esse percentual subiu para 81,4%. Os autores concluíram, então, que esse resultado indicou que a fonte primária de carbono não exerceu resultados muito significativos. A eficiência (%) de remoção do corante também foi melhor quando a sacarose foi retirada do meio sintético, com percentual de 95%.

Freitas *et al.* (2017), em seu estudo utilizaram o *Aspergillus niger* AN 400 no tratamento de uma matriz aquosa contendo o pesticida metil paration (MP) por meio de reatores em batelada. A maior remoção de MP ocorreu no reator com biomassa imobilizada (95%) em detrimento do que foi alcançado na operação com biomassa dispersa (73%), além da diminuição do tempo reacional de 30 para 7 dias proporcionada pelo RBI.

3.3.1.2 A espécie *Phanerochaete chrysosporium*

O *Phanerochaete chrysosporium* faz parte do grupo dos Basidiomycetes. Essa espécie é a representante mais estudados dos fungos causadores de “podridão branca” (BOGAN e LAMAR, 1996).

Segundo Filho (2005), os fungos de podridão branca são caracterizados por sua habilidade de degradar uma variedade de compostos xenobióticos e orgânicos. Somente em meados dos anos 80 foram apresentadas evidências de que o *Phanerochaete chrysosporium* tinha a capacidade de mineralizar pesticidas (SALVI, 2011). Na Figura 6 está apresentada maa cepa do *Phanerochaete chrysosporium*.

Figura 6 – Cepa de *Phanerochaete chrysosporium*.



Fonte: Autora (2018)

Este fungo tem sido extensivamente estudado como agente na degradação de vários poluentes recalcitrantes, corantes sintéticos, entre outros conforme apresentado na Tabela 7.

Tabela 7 - Trabalhos com *Phanerochaete chrysosporium*.

FONTES	PROCESSOS	APLICAÇÕES
REDDY <i>et al.</i>, 1998	Biossorção	Remoção de 2,4,6-triclorofenol
FRATILA-APACHITEI <i>et al.</i>, 1999	Natural (Lascas de madeira)	Remoção do pesticida diuron
REDDY e GOLD, 2000	Biossorção	Remoção do pentaclorofeno
CASTILLO <i>et al.</i>, 2000	sistemas de fermentação de substrato sólido	Remoção do pesticida bentazon
CASTILLO <i>et al.</i>, 2001	Teste in vitro	Remoção do pesticida isoproturón
SHIM e KAWAMOTO, 2002	Reator em batelada com vários suportes	Remoção do pentaclorofeno
FERNANDÉZ <i>et al.</i>, 2009	Reator tipo coluna de bolhas	Remoção de corante negro reativo 5
SANTOS, 2011	Biossorção	Remoção de corante direct blue 71
ZHENG <i>et al.</i>, 2012	Microemulsão	Remoção de DDT
ANDRADE, 2015	Reator em bateladas sequenciais	corante azo vermelho do congo
SILVA, 2015	Reator em batelada sequencial	Remoção de paraquat
REYNA <i>et al.</i>, 2017	Biossorção	Remoção de paraquat
HUANG <i>et al.</i>, 2017	sinergia de nanopartículas de prata	degradação de 2,4-diclorofenol

Fonte: Autora (2018).

Castillo *et al.* (2000;2001) estudaram a degradação do herbicida bentazon e isoproturon com as enzimas produzida pelo *Phanerochaete chrysosporium*. A melhor degradação do bentazon ocorreu nos tratamentos com baixos níveis de nitrogênio, portanto, indicando a participação do sistema ligninolítico do fungo. A degradação do isoproturon foi testada em culturas sólidas usando um material suporte, as culturas foram capazes de degradar 91% do herbicida em 14 dias de incubação.

Reyna *et al.* (2017) estudaram a produção de enzimas ligninolíticas durante a degradação do paraquat por outras 6 cepas de fungos de podridão branca. Os resultados obtidos indicaram que a degradação do poluente está associada a presença de enzimas extracelulares desses fungos. De 6 cepas estudadas, 3 delas apresentaram níveis de degradação do herbicida de 32% (cepa *Polyporus tricholoma*), 26% (cepa *Cilindrobasidium laeve*) e 47 % (cepa *Cilindrobasidium laeve*), em 12 dias de incubação com a presença do poluente.

A remoção do composto 2,4,6-triclorofenol foi estudada por Reddy *et al.* (1998), os pesquisadores caracterizaram os metabólicos fúngicos e os produtos de oxidação gerados pela lignina e manganês peroxidase liberados pelo fungo *Phanerochaete chrysosporium* ao mineralizar o poluente.

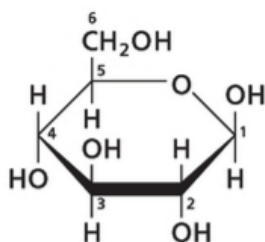
3.3.2 Fontes de carbono

As fontes primárias de carbono ou cossustratos têm duas finalidades: fornecer carbono de fácil assimilação e energia para o crescimento e sobrevivência dos micro-organismos, além de servir como doadores de elétrons, que são necessários para a ruptura das ligações heterogêneas dos poluentes (YEMENDZHIEV *et al.*, 2009)

Os fungos adaptam seu metabolismo de forma rápida a diversos tipos de fonte de carbono e energia, pois são fatores necessários para a sua sobrevivência, tornando-os assim agentes eficientes na biorremediação (ESPOSITO, E.; AZEVEDO, 2010)

Segundo Prenafeta-Boldu (2002) e Griffin (1994) os fungos preferem carboidratos simples como a glicose para o seu desenvolvimento porque promove um rápido crescimento. A glicose, glucose ou dextrose é um monossacarídeo (carboidrato simples) de formulação $C_6H_{12}O_6$ que contém 6 (seis) átomos de carbono e um grupo aldeído. Na Figura 7 está apresentada a fórmula estrutural da glicose.

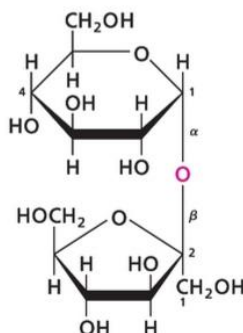
Figura 7 - Fórmula estrutural da glicose.



Fonte: Moran *et al.*, (2013)

Entretanto, outras fontes podem ser utilizadas, como é o caso da sacarose. A sacarose, ou açúcar de mesa, é o dissacarídeo mais abundante na natureza e é sintetizado apenas por vegetais (MORAN *et al.*, 2013). A molécula de sacarose é formada por uma de glicose e uma de frutose unidas pelos átomos redutores, de modo que não lhe resta nenhum átomo redutor por meio do qual possa reagir, assim é menos reativa que a glicose e a frutose (BRINQUES, 2015). Na Figura 8 está apresentada a fórmula estrutural da sacarose.

Figura 8 - Fórmula estrutural da sacarose.



Fonte: Moran *et al.* (2013)

3.3.3 Componentes para a atividade metabólica do fungo

As atividades metabólicas dos organismos são respostas às condições físico-químicas do ambiente que os rodeiam. Em caso de um meio impróprio para o crescimento, os fungos, como todos os organismos vivos, podem modificar seu ambiente tornando-o habitável e propício para o seu crescimento normal sendo necessária, para tanto, a disposição dos elementos essenciais (CARDOSO *et al.*, 2009).

Na Tabela 8 estão apresentados os principais componentes requeridos pelas células fúngicas para o desempenho de suas atividades metabólicas.

Tabela 8 – Elementos requeridos para célula fúngica

ELEMENTO	FUNÇÕES CELULARES
Carbono	Elemento estrutural da célula fúngica e fonte de energia
Nitrogênio	Participação na estrutura e formação de proteínas, aminoácidos e enzimas
Oxigênio	Substrato para a respiração
Hidrogênio	Próton transmembranar vital para o transporte de nutrientes na célula
Fósforo	Formação de ácidos nucleicos e membranas celulares
Potássio	Atividade enzimática e balanço iônico
Magnésio	Atividade enzimática e estrutura celular
Enxofre	Formação de aminoácidos e vitaminas
Cálcio	Segundo sinal nos processos de transdução
Cobre	Pigmento redox
Ferro	Hemoproteínas e citocromos
Manganês	Atividade enzimática
Zinco	Atividade enzimática
Molibdênio	Metabolismo do nitrato e vitamina B2

Fonte: Adaptado Andrade (2015)

3.4 Legislação ambiental

Cada país apresenta autonomia para criar leis, decretos ou normas que norteiam a produção, uso e descartes de agrotóxicos (BENEVIDES e SAMPAIO, 2015).

Segundo Wesseling *et al.* (2001) alguns países baniram o uso de paraquat em seu território. Na Suécia, Finlândia e Áustria proibiram o uso devido à toxicidade aguda e à falta de antídoto, porém, ainda é utilizado em aproximadamente 90 países, como a China, Tailândia e Brasil (ANVISA, 2015; Paraquat Information center, 2015; Yao *et al.*, 2013).

As normas que regem na Europa através da agência *European and Mediterranean Plant Protection Organisation*, permite o máximo de concentração para pesticida, incluindo o paraquat, em água de abastecimento é de $0.1 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ e $1\text{--}3 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ para águas superficiais (Mojović *et al.*, 2009). Nos Estados Unidos é a *Federal Insecticide, Fungicide, and Rodenticide Act*, (FIFRA) que controla todos os assuntos relacionados a utilização, comercialização, venda de pesticidas, sendo o limite para pesticidas em águas de abastecimento é de $3 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$, de acordo com *United States Environmental Protection Agency* – US EPA (US EPA, 2011).

No Brasil, a Lei Federal 7802/88 (BRASIL, 1988) é a que rege os registros de um produto agrotóxicos, seu descarte e uso de forma geral. É o referencial legal mais importante regulamentado pelo Decreto 4074 de 4 de janeiro de 2002 (BRASIL, 2002).

Outros marcos regulatórios foram registrados a partir do código das águas e amparam a constituição federal são eles o Decreto 24.643/1934, da Política Nacional de Meio Ambiente, lei 6938/1981, e a criação do Conselho Nacional do Meio Ambiente – CONAMA em 1981.

O CONAMA é um órgão consultivo e deliberativo do Sistema Nacional do Meio Ambiente – SISNAMA e seu principal e mais conhecido instrumento são as resoluções. Por meio desses dispositivos são estabelecidas normas, critérios e padrões relativos ao controle e à manutenção da qualidade do meio, com vistas ao uso racional dos recursos naturais (MMA, 2017).

A Resolução CONAMA nº 357 de 2005 estabeleceu padrões de lançamento de efluentes em águas, alterada pelas resoluções 410/2009 e 430/2011, porém não menciona o limite de concentração de paraquat.

O registro e a fiscalização de pesticidas competem ao órgão IBAMA – Instituto Brasileiro do Meio ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis, além do MAPA – Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento auxiliando no monitoramento dos produtos, e a ANVISA – Agência Nacional de Vigilância Sanitária auxiliando na avaliação de toxicidade dos agrotóxicos na saúde humana (COSTA e ROHLFS, 2011; BARBOSA 2016).

Segundo as normas estabelecidas pelos Ministérios da Saúde e da Agricultura, do Abastecimento e da Reforma Agrária, no Brasil o uso do paraquat requer um intervalo de segurança de 7 dias após a sua aplicação, com tolerância máxima de resíduo de 0,2 mg.L⁻¹ (Andrei, 1993).

Em seu estudo, Barbosa (2016) fez o levantamento das legislações estaduais de cada estado do Nordeste e observou que todos já possuem uma legislação aplicada demonstrando assim a preocupação do governo com a utilização/venda de pesticida. Na Tabela 9 estão apresentadas as leis estaduais do nordeste brasileiro sobre os pesticidas levantados por Barbosa (2016).

Tabela 9 - Leis estaduais do nordeste brasileiro sobre pesticidas

Estado	Nº da lei	Conteúdo
AL	5.852/1986	Dispõe sobre a utilização, a produção, o comércio, o armazenamento, transporte interno e a fiscalização do uso de agrotóxicos, seus componentes e afins, e dá outras providências.
SE	3.195/1992	Dispõe sobre o controle de agrotóxicos e outros biocidas, a nível estadual, e dá providências correlatadas

CE	12.228/1993	Dispões sobre o uso, a produção, o consumo, o comércio e o armazenamento, bem como a fiscalização do uso, do consumo, do comércio, do armazenamento e do transporte interno dos agrotóxicos, seus componentes e afins, no território do Estado do Ceará, serão regidos por esta Lei.
BA	6.455/1993	Dispõe sobre o controle da produção, da comercialização, do uso, do consumo, do transporte e armazenamento de agrotóxicos, seus componentes e afins no território do Estado da Bahia e dá outras providências.
PE	12.753/2005	Dispõe sobre o comércio, o transporte, o armazenamento, o uso e aplicação, o destino final dos resíduos e embalagens vazias, o controle, a inspeção e a fiscalização de agrotóxicos, seus componentes e afins, bem como o monitoramento de seus resíduos em produtos vegetais, e dá outras providências.
RN	8.672/2005	dispõe sobre o controle da produção, comércio, uso, armazenamento, transporte interno e o destino final de embalagens e resíduos de agrotóxicos, seus componentes e afins, no Estado do Rio Grande do Norte, e dá outras providências.
MA	8.521/2006	Dispõe sobre a produção, o transporte, o armazenamento, a comercialização, a utilização, o destino final dos resíduos e embalagens vazias, o controle, a inspeção e a fiscalização de agrotóxicos, seus componentes e afins, no Estado do Maranhão, e dá outras providências.
PI	5.626/2006	Dispões sobre a pesquisa, a experimentação, a produção, o comércio, o transporte, o armazenamento, o uso, a aplicação, a fiscalização, a inspeção, o controle e o destino final das embalagens vazias de agrotóxicos, sobras e resíduos, seus componentes e afins, bem como o monitoramento de seus resíduos em produtos vegetais no território do Estado do Piauí,
PB	9.007/2009	Dispõe sobre o comércio, o transporte, armazenamento, o uso e aplicação, o destino final dos resíduos e embalagens vazias, o controle, a inspeção e a fiscalização de agrotóxicos, seus componentes e afins, bem como o monitoramento de seus resíduos em produtos vegetais, e dá outras providências.

Fonte: Barbosa (2016)

No Ceará, as diretrizes estaduais que regulam as normas ambientais estão apresentadas na Tabela 10.

Tabela 10 - Diretrizes estaduais do Ceará

ÂMBITO	INSTRUMENTO	Nº	DATA	ASSUNTO
ESTADUAL	Lei	11.411	28 de dezembro de 1987	Política estadual do meio ambiente
	Lei	12.228	9 de dezembro de 1993	Lei estadual do agrotóxico
	Decreto	23.705	8 de junho de 1995	Regulamentação da lei do agrotóxico
	Resolução COEMA	8	28 de maio de 1998	Aprova o regulamento interno da comissão estadual de agrotóxicos
	Portaria SEMACE	668	28 de setembro de 1995	Fixa os preços para o cadastro de produtos e o registro de estabelecimentos que comercializem agrotóxicos, seus componentes e afins e prestadoras de serviços com finalidade fitossanitária em toda circunscrição territorial do Estado do Ceará.
	Portaria SEMACE	151	25 de novembro de 2002	Dispõe sobre normas técnicas e administrativas necessárias à execução e acompanhamento do automonitoramento de efluentes líquidos industriais
	Resolução COEMA	2	02 de fevereiro de 2017	Dispõe sobre padrões e condições para lançamento de efluentes líquidos gerados por fontes poluidoras

Fonte: SEMACE (2017)

A resolução 2 de 2 de fevereiro de 2017 do Conselho Estadual do Meio Ambiente (COEMA) dispõe sobre padrões e condições para lançamento de efluentes líquidos gerados por fontes poluidoras, revoga as Portarias SEMACE nº 154, de 22 de julho de 2002 e nº 111, de 05 de abril de 2011, e altera a Portaria SEMACE nº 151, de 25 de novembro de 2002. Na Tabela 11 estão apresentados os parâmetros de lançamento de acordo com a resolução COEMA 02/2017.

Tabela 11 - Parâmetros de lançamentos de efluente segundo Resolução COEMA 02/2017.

PARÂMETROS	VALORES
pH	Entre 5 e 9
Temperatura	<40°C
Compostos organoclorados como pesticidas, solventes, etc	<0,05 mg.L ⁻¹

Fonte: Adaptado da Resolução COEMA 02/2017

Para Franco (2014), o Brasil é conhecido por possuir boas leis, mas não consegue que as mesmas sejam cumpridas por falta de uma vigorosa fiscalização.

3.5 Cinética química

Cinética química é o estudo das velocidades de reações químicas e dos mecanismos de reação (FOGLER, 1932).

Segundo Lima (2014) é por meio da cinética química que podemos entender a rapidez com que as reações ocorrem, seus mecanismos e os fatores que controlam as velocidades de reação.

Nas reações químicas, pode-se calcular a velocidade da reação determinando a variação na concentração dos reagentes ou produtos por unidade de tempo. Existem 4 (quatro) fatores que permitem a variação das velocidades nas quais reações específicas ocorrem (LIMA, 2014)

- Superfície de contato – quanto maior o contato entre os reagentes, mais rápido as moléculas se chocam e mais rapidamente elas reagem.
- As concentrações dos reagentes – grande parte das reações químicas acontece mais rápido quando a concentração de um ou mais reagentes é aumentada.
- Temperatura na qual a reação ocorre – as velocidades das reações (em alguns casos) aumentam com o aumento da temperatura.
- A presença de um catalisador – os catalisadores aumentam a velocidade de reação sem serem consumidos.

As reações que acontecem em uma única etapa são chamadas de reação elementar, como apresentada na equação (1).



A velocidade desta reação pode ser calculada a partir da equação (2) descrita a seguir

$$v = k[A]^a [B]^b \quad (2)$$

Sendo:

v = velocidade instantânea da reação;

k = constante de velocidade;

$[A]$ = concentração do reagente A em mol.L⁻¹;

$[B]$ = concentração do reagente B em mol.L⁻¹;

a e b = coeficientes estequiométricos da equação.

Os coeficientes presentes na lei de velocidade é o que determina a ordem da reação (FORMOSINHO, 1982). A ordem de uma reação química é a relação matemática que existe entre a velocidade e as concentrações dos reagentes (LIMA, 2014).

Reações de ordem zero

São as reações mais simples que apresentam a seguinte lei de velocidade e não sofre alteração com o consumo dos reagentes. Na equação (3) está apresentada a reação de ordem zero.

$$-r_A = k [A]^0 = k \quad (3)$$

Reações de 1ª ordem

São as reações em que a velocidade depende da concentração de um único reagente elevado a primeira potência. (LIMA, 2014). Na equação (4) está apresentada a reação de 1º ordem.

$$-r_A = \frac{\Delta[A]}{\Delta T} = k [A] \quad (4)$$

Reações de 2ª ordem

Segundo Lenzi *et al.* (2012) reações de segunda ordem é aquela em que a velocidade estará sujeita a concentração do reagente à segunda potência ou da concentração de 2 (dois) reagentes diferentes, cada um elevado à primeira potência. Na equação (5) está apresentada a reação de 2º ordem.

$$-r_A = \frac{\Delta[A]}{\Delta T} = k [A]^2 \quad (5)$$

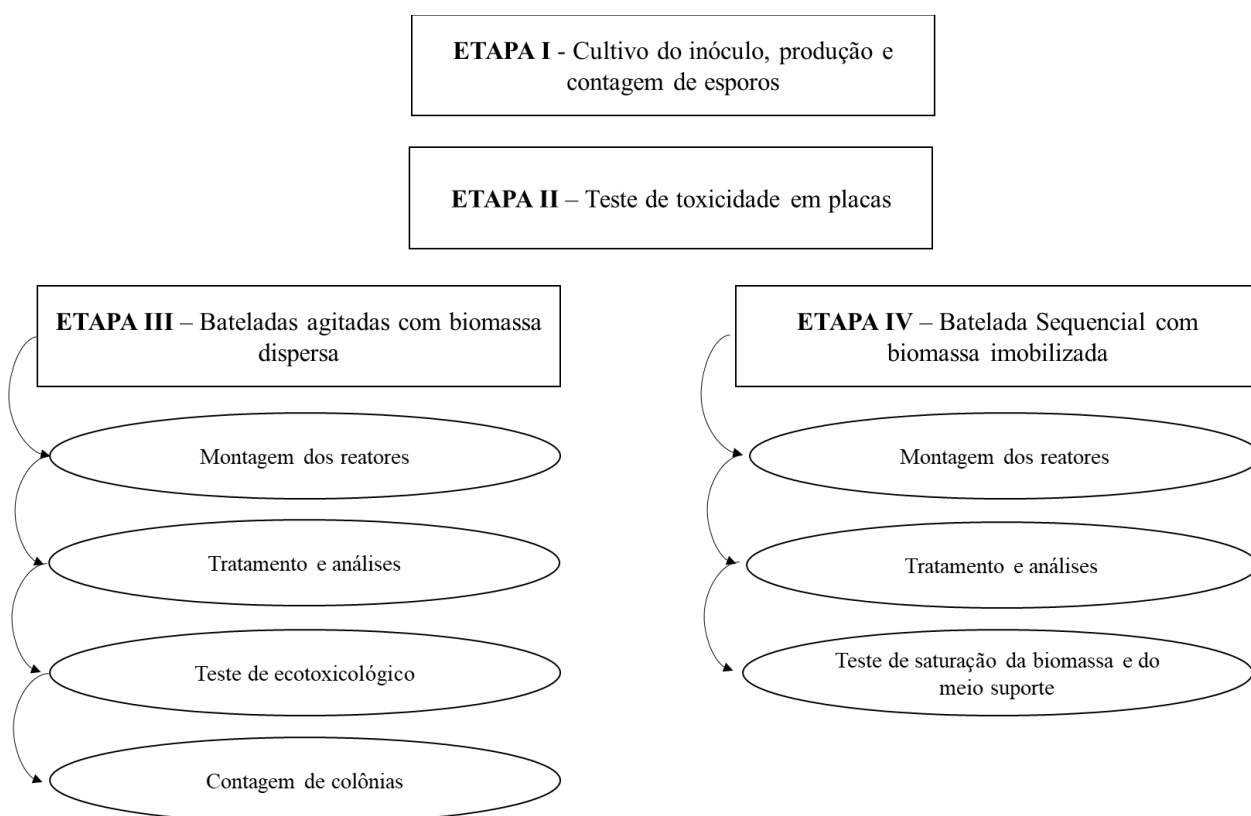
Por fim, o potencial de degradação dos fungos vem sendo estudado amplamente, com os mais variados compostos, inclusive com substâncias consideradas recalcitrantes. Destarte, a pesquisa com paraquat em meio aquoso utilizando *Aspergillus niger* AN 400 e *Phanerochaete chrysosporium* corrobora com a necessidade de alternativas para o tratamento deste herbicida.

4 MATERIAS E MÉTODOS

Esta pesquisa foi realizada no Laboratório de Tecnologia Ambiental - LATAM, localizada no Instituto Federal de Ciência, Educação e Tecnologia do Ceará – IFCE, campus Fortaleza, Brasil

O estudo foi constituído por 4 etapas: (I) Cultivo do inóculo, produção e contagem de esporos do *Aspergillus niger* AN 400 e *Phanerochaete chrysosporium*, (II) Teste de toxicidade em placas, (III) bateladas agitadas com a biomassa dispersa, (IV) batelada sequencial com biomassa imobilizada. Em ambas as bateladas foram inoculados em separado o *Aspergillus niger* AN 400 e *Phanerochaete chrysosporium*. Na Figura 9 está apresentado o esquema desenvolvido para a pesquisa.

Figura 9 - Esquema de desenvolvimento da pesquisa.



Fonte: Autora (2018).

4.1 Procedimentos comuns nas Etapas III e IV

4.1.1.1 Água sintética

A água sintética dos reatores fora preparada com: água da torneira, 10% (v/v) de solução Vishniac e 5% (v/m) de antibiótico Megacilin Super Plus da Agener União ®. A composição química da solução de Vishniac, usada na água sintética como meio de crescimento para o fungo, está apresentada na Tabela 12.

Tabela 12 - Composição química da solução de Vishniac.

Composição	g.L ⁻¹ de solução
EDTA	10,0
ZnSO ₄ .7H ₂ O	4,40
MnCl ₂ .4H ₂ O	1,00
CoCl ₂ .6H ₂ O	0,32
(NH ₄) ₆ Mo ₇ O ₂₄ .4H ₂ O	0,22
CaCl ₂ .2H ₂ O	1,47
FeSO ₄ .7H ₂ O	1,00

Fonte: Sampaio (2005).

Para a utilização segura do paraquat comercial Gramoxone – princípio ativo Dicloreto de Paraquat com concentração de 276 g.L⁻¹, preparou-se uma solução estoque com a concentração de 1.500 mg.L⁻¹ para a água sintética.

4.1.1.2 Análises realizadas

As análises realizadas e os respectivos métodos utilizados estão descritos na Tabela 13.

Tabela 13 - Variáveis analisadas e métodos utilizados.

Variável	Técnica	Fonte
pH	Potenciometria	APHA (2005)
Temperatura	Potenciometria	APHA (2005)
Açúcar redutor	Espectroscopia	EMBRAPA (2013)
Paraquat	Espectroscopia	AOAC 969.09 (2000)
SSV	Calcinação	Oliveira <i>et al.</i> (2006)
DQO	Espectroscopia	Oliveira <i>et al.</i> (2006)

Fonte: Autora (2018)

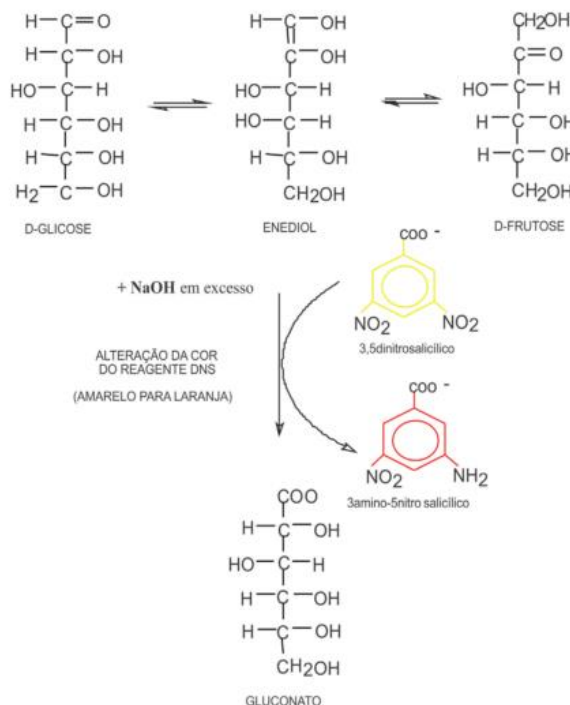
- **pH e temperatura**

As variações de pH e temperatura foram verificada para observar a atividade metabólica do fungo e conseqüentemente a morfologia do fungo, seguindo a metodologia APHA (2005).

- **Determinação de açúcar redutor**

Para a determinação de glicose utilizou-se a metodologia EMBRAPA (2013) que utiliza o reagente DNS (ácido dinitrosalicílico) que se baseia na reação entre o açúcar redutor e o ácido 3,5-dinitrosalicílico, de coloração amarela, que é reduzido a um composto colorido avermelhado, o ácido 3-amino-5-nitrosalicílico, oxidando o monossacarídeo redutor. Na Figura 10 está apresentado o esquema das reações envolvidas no método DNS.

Figura 10 - Esquema das reações envolvidas no método DNS



Fonte: EMBRAPA (2013).

A curva padrão do DNS foi realizada variando entre 0,1 e 1 g.L⁻¹ de uma solução estoque de 1g.L⁻¹ de glicose. Para que as amostras dos reatores fossem lidas, fez-se necessário

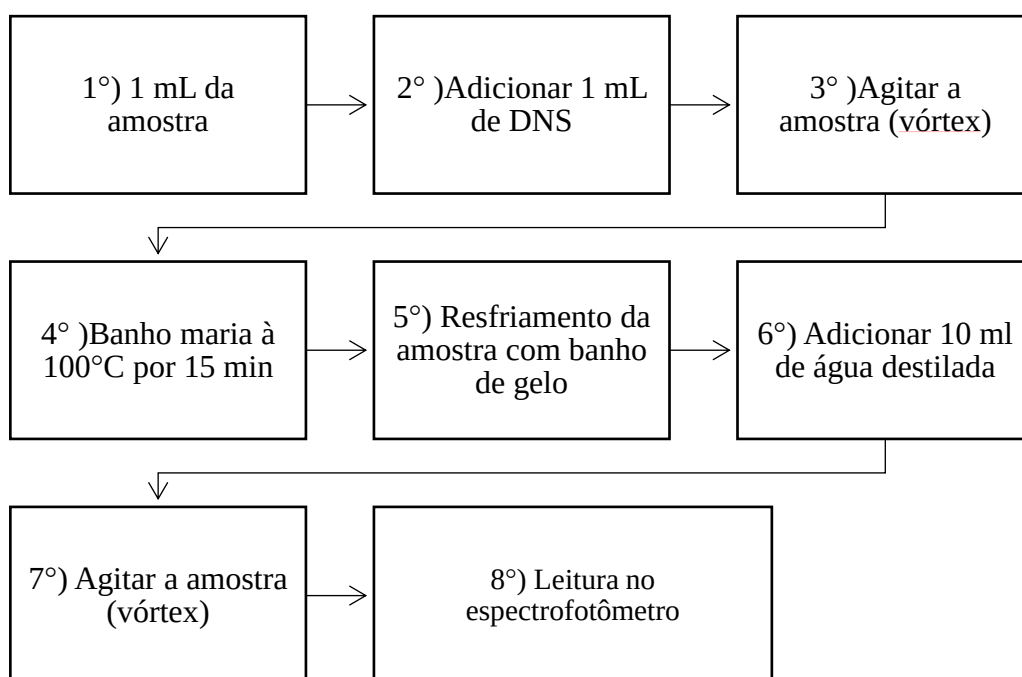
diluições, conforme as apresentadas na Tabela 14. A partir das amostras diluídas foram realizados os procedimentos demonstrados na Figura 11.

Tabela 14- Diluições das amostras dos reatores em batelada agitada

Concentração de açúcar	Diluições
0,0	Bruto
0,5	Bruto
1,0	1:2
3,0	1:5
4,0	1:5

Fonte: Autora (2018).

Figura 11 - Metodologia açúcar redutor.



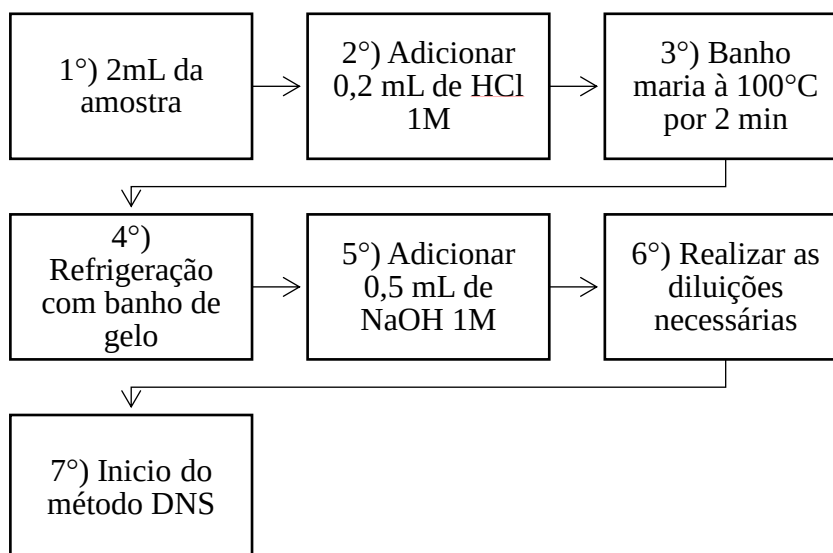
Fonte: EMBRAPA (2013)

As leituras das absorbâncias foram realizadas em um espectrofotômetro UV-Vis (Rayleigh UV-2601) no comprimento de onda de 540 nm.

Para a determinação da sacarose fez-se necessário uma hidrólise parcial das amostras, ou seja, realizar a quebra da sacarose em açúcares redutores (glicose e frutose) para ser utilizado como complemento na metodologia da EMBRAPA (2013), apresentada na Figura 11.

A hidrólise parcial foi adaptada de Curtis *et al.* (2012) conforme procedimento apresentado na Figura 12.

Figura 12- Procedimento da hidrólise parcial da sacarose.



Fonte: adaptado Curtis *et al.* (2012)

Segundo Chambré *et al.* (2007), o ácido utilizado na hidrólise da sacarose, no caso o HCl, é usado para aumentar a taxa de hidrólise da reação e o banho de gelo reduz rapidamente esta taxa de hidrólise e a adição da base termina a reação por neutralização.

Após a hidrólise, as amostras hidrolisadas foram diluídas e realizada a metodologia do DNS.

- **Determinação do paraquat**

A determinação do paraquat foi realizada de acordo com o Método AOAC 969.09 (2000), que compreende na reação entre o $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_4$ - ditionito de sódio 1% (diluído com NaOH 0,1 mol/L⁻¹) e as amostras contendo o herbicida, obtendo-se uma coloração azul conforme a Figura 13. As leituras foram realizadas em espectrofotômetro UV-Vis (Ray-leigh UV-2601) no comprimento de onda de 600 nm.

Figura 13 - Diluições para a curva de determinação do PQT.



Fonte: Autora (2018)

- **SSV - Sólidos suspensos voláteis**

Os SSV são aqueles que se volatilizam depois de calcinados a $550 \pm 50^\circ\text{C}$. A importância do mesmo reside na quantificação de substâncias orgânicas presentes na água residuária (SOUZA, 2011). De acordo com Jordão e Pessoa (1995), as substâncias orgânicas volatilizam e as minerais continuam em forma de cinza e, sabendo a fração de sólidos voláteis, pode-se inferir sua estabilidade biológica.

São utilizadas na metodologia de Oliveira *et al.* (2006) membranas de vidro para a filtração do efluente, um suporte, dessecador e uma mufla conforme a Figura 14.

Figura 14 - Dessecador, suporte, membrana de vidro e mufla



Fonte: Autora (2018).

- **DQO – Demanda Química de Oxigênio**

A demanda química de oxigênio é um parâmetro que se refere a quantidade de O₂ consumido por materiais e por substâncias orgânicas e minerais, que se oxidam sob condições definidas. Esta análise foi realizada somente na etapa IV, nos reatores sequenciais, nos tempos reacionais de 0, 24, 48, 72, 96, 120 e 168 h, para medir o decaimento da DQO em função do tempo.

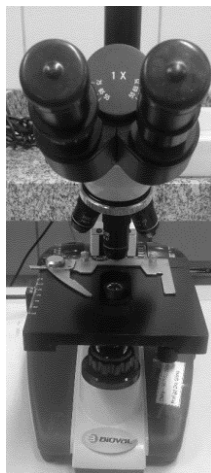
4.2 ETAPA I - Cultivo do inóculo, produção e contagem de esporos

O cultivo e produção da espécie fúngica *Aspergillus niger* AN 400 foram realizados de acordo com os procedimentos descritos em Sampaio (2005). A espécie foi cultivada em placas de Petri (20 placas) com meio de cultura Agar Sabouraud Dextrose (aproximadamente 11 ml do meio), meio específico para o crescimento de fungos, o qual foi previamente esterilizado, acrescido de 1 mL da solução de Vishniac por litro de meio de cultura e antibiótico Megacilin – Super Plus para evitar a proliferação das bactérias.

A espécie *Phanerochaete chrysosporium* foi cultivada de acordo com os procedimentos de Andrade (2015), em meio de cultura com a seguinte composição: 2 g.L⁻¹ extrato de levedura, 20 g.L⁻¹ de glicose, 20 g.L⁻¹ de K₂HPO₄, 0,6 g.L⁻¹ de KH₂PO₄, 0,5 g.L⁻¹ MgSO₄ e 2 g.L⁻¹ de peptona. As placas de ambos os fungos foram mantidas sob temperatura de 28 ± 2°C, em estufa microbiológica, por um período de 7 (sete) dias, até se observar o crescimento dos mesmos na superfície das placas.

Para a contagem dos esporos, foi preparada uma suspensão de esporos com solução de Tween 80 e em seguida foi transferida para a câmara de Neubauer 20 µL da solução preparada, na qual se procedeu a contagem dos esporos em microscópio óptico Bioval da marca Opton com aumento de 400 vezes. Na Figura 15 é apresentado o microscópio Biobal utilizado para a contagem de esporos.

Figura 15 - Microscópio óptico Bioval.



Fonte: Autora (2018)

A partir da concentração resultante da suspensão mãe de esporos foi calculado o volume a ser inoculado nos reatores que correspondesse à concentração de 2×10^6 esporos mL^{-1} para a espécie *Aspergillus niger* AN 400 e $2,5 \times 10^5$ esporos mL^{-1} para *Phanerochaete Chrysosporium*, as concentrações de esporos foram calculadas a partir das metodologias utilizadas por Sampaio (2005), Rodrigues (2006) e Andrade (2015).

Para o cálculo do número de esporos foram empregadas as equações (6) e (7).

$$\text{Esporos/mL} = \text{esporos contados} \times \text{diluição} \times 2 \times 10^6 \quad (6)$$

$$\text{Esporos/mL} = \text{esporos contados} \times \text{diluição} \times 2,5 \times 10^5 \quad (7)$$

4.3 ETAPA II – Teste de toxicidade em placas

Para a realização do teste de toxicidade, foram utilizadas placas Petri com o fungo e o poluente presente, para avaliar visualmente o efeito inibitório do pesticida sobre o crescimento dos fungos e em qual maior concentração desse poluente o fungo foi capaz de crescer em 7 dias.

O teste foi realizado em duplicada, onde foram preparadas 12 placas para cada fungo estudado e acrescentado a água sintética com paraquat nas concentrações $0,1 \text{ mg.L}^{-1}$, $0,5$

mg.L⁻¹, 1,0 mg.L⁻¹, 2,0 mg.L⁻¹, 3,0 mg.L⁻¹, 4,0 mg.L⁻¹, 5,0 mg.L⁻¹, 10,0 mg.L⁻¹, 20,0 mg.L⁻¹, 30,0 mg.L⁻¹ e controle (não possui o poluente). O meio de cultura utilizado para o *Aspergillus niger* AN 400 foi o potato dextrose Agar (PDA) modelo K25-610102 da marca Kasvi (Composição: 200 g.L⁻¹ Infusão de batata, 20 g.L⁻¹ de glicose e 17 g.L⁻¹ de Agar), já para as placas com *Phanerochaete Chrysosporium* utilizou-se o meio Martin (Tabela 16). O fungo foi inoculado com a ajuda do Plag de 6 mn centralizado. As placas foram incubadas em uma estufa microbiológica a 28°C durante sete dias a fim de verificar o crescimento do fungo diariamente.

O crescimento foi avaliado através do diâmetro de crescimento do fungo com o auxílio de uma régua ou paquímetro, conforme Figura 17.

Figura 16 - Medição do crescimento micelial do fungo com auxílio de um paquímetro



Fonte: Autora (2018)

4.4 ETAPA III – Batelada agitada com biomassa dispersa

4.4.1 Montagem dos reatores

As bateladas agitadas foram realizadas em uma incubadora de bancada modelo CT -712 com agitadores rotatórios, conhecido como shake, com velocidade de 150 rpm, temperatura de $30 \pm 2^\circ\text{C}$. Os reatores eram erlenmeyer de 250 mL (volume reacional de 200 mL), foram esterilizados, em autoclaves, e fechados com papel alumínio e TNT (Tecido Não Tecido), que visava impedir contaminação. Os reatores foram embalados com jornal para evitar a fotodegradação do meio e foram montados em duplicatas. Na Figura 17 é apresentado o shake utilizado para a batelada agitada.

Figura 17 - Incubadora de bancada CT -712 com agitadores rotatórios



Fonte: Autora (2018)

O tempo de reação final foi de 120 h, os reatores foram desmontados depois de 6 dias, sendo estudados os tempos de reações de 0, 12, 24, 48, 72, 96 e 120 h. As composições da água sintética com 30 mg.L⁻¹ de PQT e o nome dos reatores inoculados com fungos podem ser observadas na Tabela 15.

Tabela 15– Reatores RF e composições da água sintética

	COSSUBSTRATO	REATORES		COSSUBSTRATO	REATORES
<i>Aspergillus niger</i> AN 400	GLICOSE	RNG 0,5	<i>Phanerochaete chrysosporium</i>	GLICOSE	RPG 0,5
		RNG 1,0			RPG 1,0
		RNG 3,0			RPG 3,0
		RNG 4,0			RPG 4,0
	SACAROSE	RNS 0,5		SACAROSE	RPS 0,5
		RNS 1,0			RPS 1,0
		RNS 3,0			RPS 3,0
		RNS 4,0			RPS 4,0

Fonte: Autora (2018).

Legenda: RNG 0,5 – Reator com PQT, *Aspergillus niger* AN 400 e 0,5 g.L⁻¹ de glicose; RFNG 1,0 – Reator com PQT, *Aspergillus niger* AN 400 e 1,0 g.L⁻¹ de glicose; RFNG 3,0 – Reator com PQT, *Aspergillus niger* AN 400 e 3,0 g.L⁻¹ de glicose; RFNG 4,0 – Reator com PQT, *Aspergillus niger* AN 400 e 4,0 g.L⁻¹ de glicose; RFNS 0,5 – Reator com PQT, *Aspergillus niger* AN 400 e 0,5 g.L⁻¹ de sacarose; RFNS 1,0 – Reator com PQT, *Aspergillus niger* AN 400 e 1,0 g.L⁻¹ de sacarose; RFNS 3,0 – Reator com PQT, *Aspergillus niger* AN 400 e 3,0 g.L⁻¹ de sacarose; RFNS 4,0 – Reator com PQT, *Aspergillus niger* AN 400 e 4,0 g.L⁻¹ de sacarose; RFPG 0,5 – Reator com PQT, *Phanerochaete chrysosporium* e 0,5 g.L⁻¹ de glicose; RFPG 1,0 – Reator com PQT, *Phanerochaete chrysosporium* e 1,0 g.L⁻¹ de glicose; RFPG 3,0 – Reator com PQT, *Phanerochaete chrysosporium* e 3,0 g.L⁻¹ de glicose; RFPG 4,0 – Reator com PQT, *Phanerochaete chrysosporium* e 4,0 g.L⁻¹ de glicose;

RFPS 0,5 – Reator com PQT, *Phanerochaete chrysosporium* e 0,5 g.L⁻¹ de sacarose; RFPS 1,0 – Reator com PQT, *Phanerochaete chrysosporium* e 1,0 g.L⁻¹ de sacarose; RFPS 3,0 – Reator com PQT, *Phanerochaete chrysosporium* e 3,0 g.L⁻¹ de sacarose; RFPS 4,0 – Reator com PQT, *Phanerochaete chrysosporium* e 4,0 g.L⁻¹ de sacarose;

Os reatores controles (RC) foram utilizados para verificar uma possível degradação abiótica do pesticida.

4.4.2 Teste de ecotoxicidade com cebolas (*Allium cepa*)

Para realização do teste de toxicidade com o afluente e efluente dos reatores operados em bateladas agitadas com biomassa dispersa, adaptou-se metodologia proposta por México (2008). De acordo com o referido autor, bulbos de *Allium cepa* (cebola) são usados para investigação da toxicidade em resíduos líquidos (afluentes e efluentes)

A escolha das cebolas utilizadas levou-se em conta o tamanho e se não apresentavam defeitos. Foram utilizadas cebolas, adquiridas no comércio local de Fortaleza, sendo em todos os ensaios realizados com cebolas da mesma procedência. As cebolas foram adquiridas um dia anterior ao teste e armazenadas em uma faixa de temperatura entre 10°e 20°C.

Antes da utilização das cebolas foi necessário realizar um ensaio de controle, no qual avaliou-se o crescimento das raízes das cebolas no período de 72 h com água da torneira. Este controle foi realizado para saber quais cebolas poderiam ser utilizadas posteriormente. As cebolas que não apresentassem crescimento das raízes eram desprezadas.

Para cada ciclo testado e para o controle foram utilizados 3 (três) bulbos de *A. cepa*. Inicialmente, os bulbos foram preparados de acordo com Báez *et al.* (2008):

- a) As cebolas foram descascadas eliminando as epidermes secas;
- b) Removeu-se os tecidos e raízes presentes na área radicular, sem fazer algum dano às raízes primordiais;
- c) Lavou-se para eliminar qualquer resto de tecido e deixou-se secar.

Após o preparo inicial, as cebolas foram postas em um recipiente, no qual somente a área radicular entrava em contato com o afluente/efluente, e foram identificadas. Utilizou-se como recipientes copos plásticos de 50 mL, e as mesmas foram armazenadas sob abrigo da

luz para que não houvesse interferência solar no crescimento das raízes no período de 72 h, como apresentado na Figura 18.

Figura 18 - Armazenamento das cebolas.



Fonte: Autora (2018)

Os testes de toxicidades com cebolas foram realizados com afluente e efluente do tratamento. Ou seja, a entrada e saída de cada batelada de 120 h. Para cada concentração de fonte de carbono foram utilizadas 3 cebolas.

4.4.3 Contagem de colônias

No final de cada etapa, as amostras dos reatores foram preparadas e submetidas à análise microbiológica, foi realizado contagem de colônias de fungos e de possíveis bactérias contaminantes.

Inicialmente, os materiais a serem utilizados para análise e a solução salina foram autoclavadas a 121 °C por 20 min.

Alíquotas de 1 mL foram retiradas da amostra bruta de cada reator e transferida para uma cubeta com 9 mL de solução salina (10^{-1}). Novamente uma alíquota de 1 mL foi retirada da concentração de 10^{-1} e transferida para uma cubeta com 9 mL de solução salina (10^{-2}) e assim sucessivamente até obter as concentrações 10^{-3} e 10^{-4} . Em seguida, 200 µL de cada diluição foram plaqueadas no meio Martin (para o crescimento de fungos) e meio Agar nutritivo (para o crescimento de bactérias) e espalhado com auxílio da alça de *Drigalsky*. Na Tabela 16 está apresentada a composição meio Martin.

Tabela 16- Composição do meio Martin.

Compostos	Concentração (mg.L ⁻¹)
K ₂ HPO ₄	1,00
Peptona	5,00
KH ₂ PO ₄	5,00
MgSO ₄ .7H ₂ O	0,50
Dextrose	10,00
Extrato de levedura	0,50
Rosa bengala	0,03
Ágar	18,00

Fonte: Silva (2015).

Após o plaqueamento, as placas foram mantidas em uma estufa microbiológica de cultura e bacteriológica da marca QUIMIS modelo 831612, durante 5 dias e as com meio para bactérias foram mantidas durante 3 dias para posterior contagem das colônias por meio de um contador de colônias CP 602 da marca Phoenix apresentado na Figura 19.

Figura 19 - Estufa microbiológica e contador de colônia.



Fonte: Autora (2018)

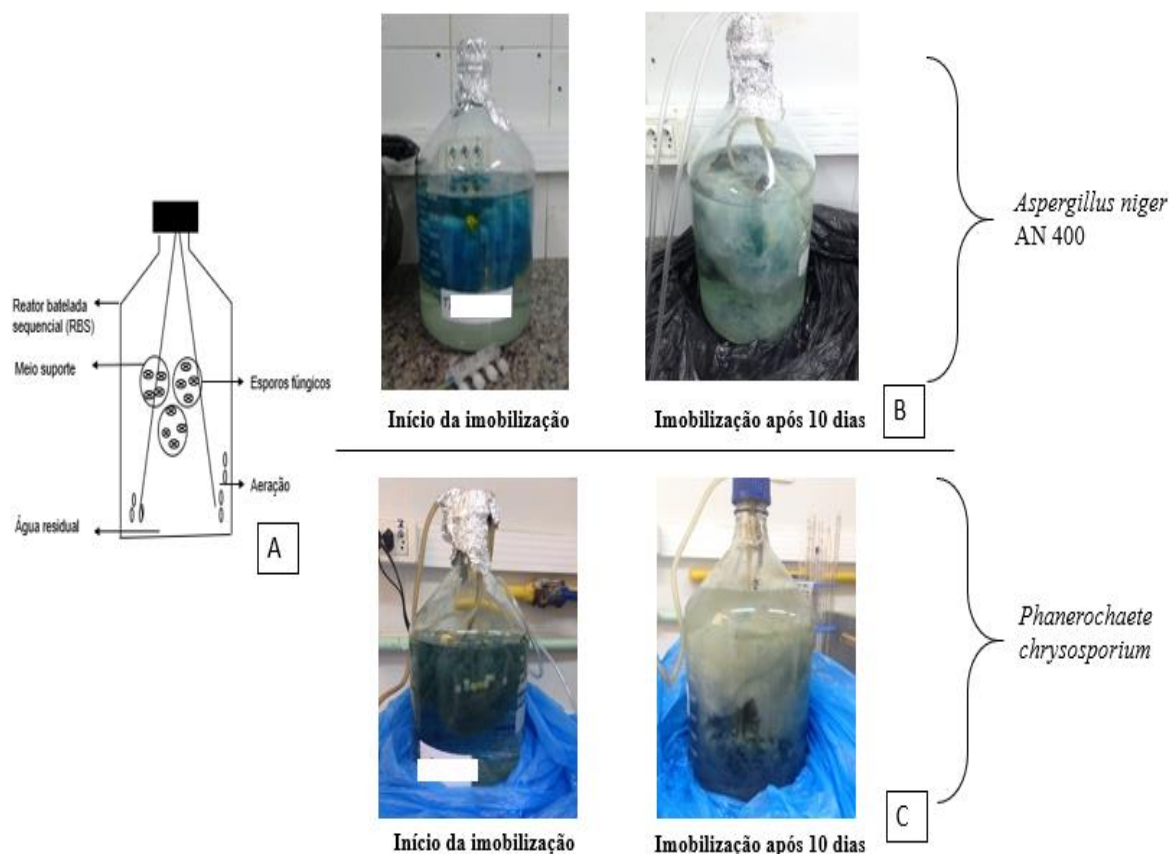
4.5 ETAPA IV – Reatores em bateladas sequenciais com biomassa imobilizada

4.5.1 Montagem dos reatores

O reator foi operado em bateladas sequenciais, utilizando como reator, recipiente de vidro (frascos de Duran), com capacidade de 5 L e volume útil de 4,5 L (Figura 20). Para imobilização da espécie fúngica, utilizou-se 15 g de espuma de poliuretano como meio suporte, que foram cortadas em cubos de 1 cm de aresta e, posteriormente, lavadas com água

de abastecimento e sabão. Em seguida, os cubos de poliuretano foram mantidos em estufa a $\pm 80^{\circ}\text{C}$ por 3 h para sua secagem.

Figura 20 - Modelo de um reator sequencial (RBS) com o meio suporte e aeração.



Legenda: A- Modelo de RBS com meio suporte e aeração; B- RBS no início da imobilização e após 10 dias com *Aspergillus niger* AN 400; C - RBS no início da imobilização e após 10 dias com *Phanerochaete chrysosporium*
 Fonte: Autora (2018).

Para a montagem dos reatores, as espumas de poliuretano foram colocadas em sacos de polietileno e esterilizadas em autoclave por 20 min junto com o meio basal de nutrientes para a imobilização da biomassa, acrescido de solução de Vishniac (1 mL.L^{-1}) e antibiótico Megacilin Super Plus® ($0,1 \text{ g.L}^{-1}$), proposto por Rodrigues (2006). Depois de colocados os esporos da espécie fúngica, a aeração só ocorre depois de 24 h para que os esporos se firmem no meio suporte.

A troca do meio basal para a imobilização ocorreu após 24 h. Após o meio de imobilização utilizou-se o meio para crescimento e a troca foi realizada a cada 2 dias, até que se pudesse verificar (visualmente) a presença da biomassa no reator. A aeração no reator foi

feita por meio de mini compressores de ar. A composição do meio de imobilização e de crescimento foi realizada de acordo com Andrade (2015), como descrita na Tabela 17.

Tabela 17– Composição do meio de imobilização e de crescimento para os reatores em batelada sequencial

MACRONUTRIENTES	MEIO PARA 4 L	
	IMOBILIZAÇÃO	CRESCIMENTO
C₆H₁₂O₆	3,0 g	4,0 g
NaNO₃	1,0 g	4,0 g
MgSO₄.7H₂O	1,0 g	1,0 g
CaCl₂.H₂O	0,04g	0,04 g
(NH₄)₂SO₄	2,0 g	8,0 g
KH₂PO₄	0,8 g	-
K₂HPO₄	-	0,8 g
H₂MoO₄	0,2 g	0,2 g
MnSO₄	0,2 g	0,2 g
Fe₂(SO₄)₃	0,2 g	0,2 g
ZnSO₄.7H₂O	0,16 g	0,16 g
Antibiótico	1,4 g	0,3 g

Fonte: Andrade (2015)

Foram estudadas as seguintes condições:

- *Aspergillus niger* AN 400 + 30 mg.L⁻¹ de PQT + 4 g.L⁻¹ de glicose
- *Aspergillus niger* AN 400 + 5 mg.L⁻¹ de PQT + sem adição de glicose
- *Aspergillus niger* AN 400 + 1 mg.L⁻¹ de PQT + sem adição de glicose
- *Phanerochaete Chrysosporium* + 30 mg.L⁻¹ de PQT + 3 g.L⁻¹ de sacarose
- *Phanerochaete Chrysosporium* + 5 mg.L⁻¹ de PQT + sem adição de sacarose
- *Phanerochaete Chrysosporium* + 1 mg.L⁻¹ de PQT + sem adição de sacarose

Os tempos reacionais estudados foram de 0, 24, 48, 72, 96, 120, 168 h e realizadas as análises de açúcar redutor, DQO filtrada, PQT, pH e temperatura.

4.5.2 Teste de saturação do material suporte

O teste de saturação do material suporte foi realizado segundo a metodologia utilizada por SILVA (2015), para avaliar a capacidade de adsorção da esponja de poliuretano

Utilizou-se para o ensaio de saturação um Becker de 4 L, onde foram adicionados 15 g de esponja de poliuretano, com aresta de 1 cm, previamente lavados e autoclavados e a água

sintética com 1 mg.L⁻¹ de PQT, 4 mL de Vishiac e 2 g de antibiótico, conforme foi utilizado nos reatores em bateladas sequenciais.

A capacidade de absorção do PQT na esponja de poliuretano foi monitorada a partir da sua concentração inicial e final, no meio durante um período de 3 minutos, não ultrapassando 10% do volume reacional.

Para encontrar a massa total de PQT adsorvido no material suporte, foi utilizado a equação 8.

$$(mg) = (C_0 - C_e) \times V \text{ (mg.L}^{-1}\text{)} \quad (8)$$

Sendo,

mg: massa do PQT absorvida

C₀: Concentração inicial do PQT (mg.L⁻¹)

C_e: Concentração final do PQT (mg.L⁻¹)

V: volume (L)

4.5.3 Teste de saturação da biomassa

O teste de saturação da biomassa foi adaptado segundo a metodologia utilizada por Barbosa (2016), para avaliar a capacidade de adsorção da biomassa.

Para a realização deste teste, retirou-se um cubo de poliuretano de cada reator, contendo biomassa fúngica, foi colocado em um erlenmeyer contendo solução salina a 0,9 % de NaCl e pérolas de vidro (previamente autoclavadas por 15 minutos a 121 °C). Posteriormente levou-se para agitação em 100 rpm em vortex para que a biomassa pudesse se desprender da espuma e passar para o meio líquido. Após a agitação, retirou-se o líquido e foi levado à centrifugação a 3500 rpm por 10 min. Ao final do processo, separou-se o sobrenadante da biomassa, e à biomassa foram adicionados 10 mL de metanol para remover o pesticida presente na mesma. O metanol mais a biomassa foram levados a centrifugação a 3500 rpm por 10 min e, em seguida adicionaram-se mais 5 mL de metanol e o material foi centrifugado novamente. A separação dos meios foi realizada por filtração com membrana. A parte sólida foi caracterizada a partir da análise de SSV e a parte líquida foi realizada a leitura no espectrofotômetro no comprimento de onda de 600 nm.

5 RESULTADOS E DISCUSSÕES

Os resultados e discussões foram abordados seguindo a ordem das etapas apresentadas no tópico Materiais e Métodos.

5.1 Etapa II – Teste de toxicidade em placas

Esta etapa do estudo foi para avaliar o crescimento de colônias fúngicas em placas de Petri ao longo de 7 dias, com concentrações variadas de PQT.

O teste de toxicidade em placas mostrou que a espécie *Phanerochaete chrysosporium* cresceu em todas as concentrações testadas (30 mg.L⁻¹, 20 mg.L⁻¹, 10 mg.L⁻¹, 5 mg.L⁻¹, 4 mg.L⁻¹, 3 mg.L⁻¹, 2 mg.L⁻¹, 1 mg.L⁻¹, 0,5 mg.L⁻¹, 0,1 mg.L⁻¹), além do controle que não possuía o poluente. Após 48 horas de incubação foi verificado um crescimento discreto dos esporos do *Phanerochaete chrysosporium* no controle e nas placas com as concentrações 1 mg.L⁻¹, 0,5 mg.L⁻¹, 0,1 mg.L⁻¹, conforme apresentado na Tabela 18.

Tabela 18 - Média do crescimento micelial (cm) *Phanerochaete chrysosporium* e desvio padrão

Tempo (h)	30 (mg.L ⁻¹)	20 (mg.L ⁻¹)	10 (mg.L ⁻¹)	5 (mg.L ⁻¹)	4 (mg.L ⁻¹)	3 (mg.L ⁻¹)	2 (mg.L ⁻¹)	1 (mg.L ⁻¹)	0,5 (mg.L ⁻¹)	0,1 (mg.L ⁻¹)	controle
0	0,0 ±0,0	0,0 ±0,0	0,0 ±0,0	0,0 ±0,0	0,0 ±0,0	0,0 ±0,0	0,0 ±0,0	0,0 ±0,0	0,0 ±0,0	0,0 ±0,0	0,0 ±0,0
24	0,0 ±0,0	0,0 ±0,0	0,4 ±0,0	0,1 ±0,0	0,0 ±0,0	0,4 ±0,0	0,4 ±0,0	0,7 ±0,0	0,6 ±0,0	0,7 ±0,0	0,8 ±0,1
48	0,4 ±0,0	0,5 ±0,0	2,4 ±0,1	2,6 ±0,0	1,7 ±0,0	4,0 ±0,1	3,5 ±0,2	4,3 ±0,0	3,9 ±0,1	4,4 ±0,1	4,4 ±0,1
72	0,8 ±0,0	1,6 ±0,1	5,1 ±0,0	6,7 ±0,0	4,1 ±0,0	8,0 ±0,0	7,0 ±0,2	6,5 ±0,0	7,8 ±0,1	8,2 ±0,1	8,4 ±0,0
96	2,0 ±0,1	2,4 -	7,4 ±0,0	8,4 -	6,7 -	8,4 ±0,0	8,4 ±0,0	8,4 ±0,0	8,4 ±0,0	8,4 ±0,0	8,4 ±0,0
120	3,5 -	4,0 -	7,6 -	8,4 -	7,9 -	8,4 ±0,0	8,4 -	8,4 -	8,4 -	8,4 ±0,0	8,4 ±0,0
144	4,4 -	4,7 -	8,0 -	8,4 -	8,4 -	8,4 ±0,0	8,4 -	8,4 -	8,4 -	8,4 ±0,0	8,4 ±0,0
168	7,6 -	6,1 -	8,2 -	8,4 -	8,4 -	8,4 ±0,0	8,4 -	8,4 -	8,4 -	8,4 ±0,0	8,4 ±0,0

(-) = Não houve média, uma das placas foi contaminada.

Fonte: Autora (2018)

O crescimento total dos esporos na placa foi de 8,4 cm e observado nas concentrações 3 mg.L⁻¹, 2 mg.L⁻¹, 1 mg.L⁻¹, 0,5 mg.L⁻¹, 0,1 mg.L⁻¹, em 96 horas. Na placa de controle, o

crescimento total foi observado em 74 horas. No entanto, nas concentrações mais elevadas, (30 mg.L⁻¹, 20 mg.L⁻¹, 10 mg.L⁻¹), não houve crescimento em toda placa ao final do tempo estudado de 168 h, as colônias cresceram de forma mais lenta, o que pode indicar uma maior dificuldade de crescimento do micro-organismo, frente às maiores concentrações de PQT. O crescimento do fungo sobre a superfície das placas ao longo do teste está representado no Anexo I.

Diante da exposição do *Aspergillus niger* AN 400 ao herbicida paraquat, observou-se que o fungo foi capaz de se desenvolver em todas as concentrações estudadas, porém não foi possível medir o crescimento micelial, uma vez que o *Aspergillus niger* AN 400 não cresceu de forma regular no centro da placa, conforme apresentado no Anexo II.

Visualmente, foi possível verificar que o *Aspergillus niger* AN 400 na presença do paraquat foi o que melhor se desenvolveu, pois teve um crescimento mais rápido em todas as concentrações de poluente testadas, comparado à espécie *Phanerochaete chrysosporium*, uma vez que a partir de 72 h já havia a formação dos esporos do *Aspergillus niger* AN 400.

Contudo, a maior quantidade de PQT parece ter influenciado no crescimento celular de ambos fungos, pois nas concentrações superiores a 10 mg.L⁻¹ observaram-se crescimentos reduzidos quando comparados aos controles, principalmente na concentração de 30 mg.L⁻¹.

Silva (2015), em estudo semelhante a este, avaliou a toxicidade do *Aspergillus niger* AN 400 ao PQT nas concentrações de 30 mg.L⁻¹, 75 mg.L⁻¹, 150 mg.L⁻¹, 300 mg.L⁻¹, 400 mg.L⁻¹, 750 mg.L⁻¹. O crescimento micelar na concentração de 30 mg.L⁻¹ de PQT ocorreu a partir de 72 h, da mesma forma que ocorreu neste estudo. Nas demais concentrações, a espécie *Aspergillus niger* AN 400 foi capaz de se reproduzir como visualizado, nesta pesquisa. Uma vez que o fungo também foi capaz de crescer em todas as concentrações, embora seu crescimento tenha sido reduzido nas concentrações de 400 mg.L⁻¹ e 750 mg.L⁻¹. Cabe mencionar aqui que as concentrações usadas por Silva (2015) foram superiores às testadas nesta pesquisa, a comparação é válida para se perceber que existem concentrações mais propícias para o desenvolvimento microbiano em detrimento de outras.

Souza Neto (2012) estudou o grau de toxicidade ao fungo *Aspergillus niger* AN 400 com água sintética com mistura de vários pesticidas (atrazina, metil paration, paraquat e deltametrina), nas concentrações 7,5 mg.L⁻¹, 15 mg.L⁻¹, 22,5 mg.L⁻¹ e 30 mg.L⁻¹ durante 9 dias (216 h). Todas as placas houve um crescimento fúngico, porém o menor crescimento ocorreu na placa com concentração de 30 mg.L⁻¹, o mesmo ocorrido nesta pesquisa, uma vez que visualmente a placa com 30 mg.L⁻¹ de PQT foi a que apresentou o menor crescimento.

Corroborando também com o presente estudo, Rodrigues (2013), Silveira (2014), Vancondio (2014) estudaram a toxicidade de pesticidas, metil paration, 2,4-dinitrofenol e pentaclorofenol – PCP, respectivamente, com espécies fúngicas. Também observaram que em concentrações mais altas foi reduzido o crescimento, indicando assim a toxicidade do poluente.

5.2 Etapa III – Batelada agitada com biomassa dispersa

Aos reatores operados em bateladas agitadas com biomassa dispersas foram inoculados com *Aspergillus niger* AN 400 e *Phanerochaete Chrysosporium*, e adicionados dois cossustratos: glicose e sacarose, a fim de verificar a influência dos mesmos na degradação do PQT. Foi utilizada a concentração de 30 mg.L⁻¹ de PQT, uma vez que no teste de toxicidade em placas (Etapa II) ambos os fungos tiveram crescimento, nesta concentração.

Verificou-se a partir da Tabela 19 que o *Aspergillus niger* AN 400 e o *Phanerochaete chrysosporium* removeram o PQT, uma vez em que todos os reatores, com ambos substratos, apresentaram uma eficiência de remoção. A análise de variância (ANOVA) com o teste Tukey foi realizada para os reatores RFN e outro para os reatores RFP, ou seja, a análise estatística foi realizada entre os reatores com inoculados com o mesmo fungo.

Tabela 19– Eficiência média de remoção do paraquat, concentração inicial e final, desvio padrão e análise de variância (ANOVA) com teste de Tukey dos reatores inoculados com *Aspergillus niger* AN 400 e *Phanerochaete Chrysosporium* com adição de glicose e sacarose após 120 h

	COM ADIÇÃO DE GLICOSE			COM ADIÇÃO DE SACAROSE		
	REATOR	REMOÇÃO DO PQT (%) e DV	CONCENTRAÇÃO DE PQT (mg.L ⁻¹) e DV	REATOR	REMOÇÃO DO PQT (%) e DV	CONCENTRAÇÃO DE PQT (mg.L ⁻¹) e DV
Inoculados com <i>Aspergillus niger</i> AN 400 (RFN)	RNG-0,5	8,61 ± 0,04 ^a	E: 32,25±0,000 S: 27,64±0,260	RNS-0,5	12,08 ± 0,05 ^c	E: 31,86±0,000 S: 28,05±0,310
	RNG-1,0	10,61 ± 0,09 ^b	E: 32,22±0,000 S: 28,80±0,119	RNS-1,0	19,96 ± 0,01 ^d	E: 33,20±0,000 S: 26,57±0,241
	RNG-3,0	9,50 ± 0,01 ^a	E: 30,53±0,000 S: 27,64±0,331	RNS-3,0	19,65 ± 0,02 ^d	E: 33,53±0,000 S: 26,94±0,283
	RPG-4,0	20,28 ± 0,05 ^d	E: 32,50±0,000 S: 25,91±0,205	RNS-4,0	16,45 ± 0,04 ^e	E: 33,87±0,000 S: 28,30±0,321
Inoculados com <i>Phanerochaete Chrysosporium</i>	RPG-0,5	7,19 ± 0,02 ^a	E: 32,06±0,000 S: 22,92±0,760	RPS-0,5	7,40 ± 0,02 ^a	E: 31,38±0,000 S: 22,92±0,306

RPG-1,0	15,00 ± 0,03 ^b	E: 32,68±0,000 S: 22,35±0,156	RPS-1,0	30,53 ± 0,06 ^d	E: 31,08±0,000 S: 22,35±0,326
RPG-3,0	15,62 ± 0,01 ^b	E: 32,06±0,000 S: 21,12±0,302	RPS-3,0	49,00 ± 0,01 ^e	E: 31,68±0,000 S: 21,12±0,153
RPG-4,0	10,92 ± 0,02 ^c	E: 30,49±0,000 S: 27,86±0,302	RPS-4,0	13,51 ± 0,06 ^f	E: 31,68±0,000 S: 27,86±0,306

DV= Desvio padrão; E=entrada; S= Saída.

*Os valores expressos correspondem à média da eficiência da remoção do PQT ± desvio padrão. ($p < 0,05$; $p = 0,004$). Médias dos reatores RFN que não compartilham uma letra são significativamente diferentes, pelo teste Tukey. Médias dos reatores RFP que não compartilham uma letra são significativamente diferentes, pelo teste Tukey.

Fonte: Autora (2018)

A maior média de remoção nos reatores RFN correspondeu ao RNG-4,0 (20,28 ± 0,05 %), eficiência média semelhante aos reatores com adição de sacarose RNS-1,0 e RNS-3,0 com 19,96 ± 0,01% e 19,65 ± 0,02%, respectivamente. Verificou-se que com a adição de apenas 1,0 g.L⁻¹ de sacarose (RNS-1,0) resultou em uma eficiência média semelhante ao reator que foi adicionado 4 vezes o valor de glicose (RNG-4,0). Ambos reatores não apresentaram diferenças significativas ao analisar o nível de significância das médias finais da remoção do paraquat no tempo reacional de 120 h.

Nos reatores RFP, com a concentração de 3 g.L⁻¹, com ambos cossubstratos, corresponderam às melhores médias de remoções do PQT, porém os com adição de sacarose apresentaram as melhores médias de eficiência de remoção do paraquat quando comparados aos reatores com adição de glicose, dentre os reatores RFP. A eficiência média de remoção do PQT foi 2 vezes maior quando adicionado 1,0 g.L⁻¹ de sacarose e 3 vezes maior quando adicionado 3,0 g.L⁻¹ sacarose, quando comparados com a mesma concentração de glicose (Tabela 19).

O reator RPS-3.0 apresentou uma remoção de 48.9 ± 0,01% - a maior eficiência média de remoção máxima encontrada nos reatores RFP. Os reatores RPS - 0,5 e RPG – 0,5; RPG-1.0 e RPG-3.0 não apresentaram diferenças significativas entre si ao analisar o nível de significância das médias finais da remoção do paraquat no tempo reacional de 120 h. Portanto, verificou-se que a utilização da sacarose como fonte primária para ambos fungos (*Aspergillus niger* AN e *Phanerochaete Chrysosporium*) foi superior do que quando usou a glicose como cossubstrato.

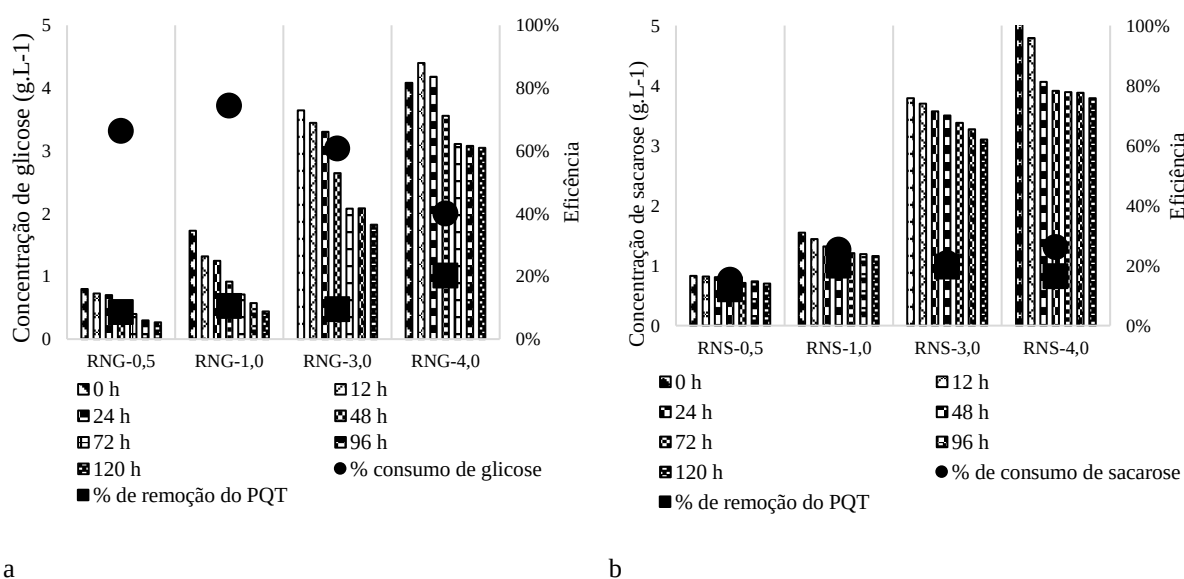
Para um processo em larga escala, redução de custos é um fator imperativo. Logo seria economicamente viável a utilização da concentração de 1,0 g.L⁻¹ de sacarose ao invés de 4,0 g.L⁻¹ de glicose. No tratamento em bateladas agitadas inoculado com *Aspergillus niger* AN

400 disperso a eficiência média foi semelhante nessas concentrações. Nos reatores inoculados com *Phanerochaete Chrysosporium*, a utilização da sacarose levou a melhores eficiências médias de remoção do pesticida e assim a melhor relação fungo/sacarose no tratamento em bateladas agitadas com biomassa dispersa.

Apesar de apresentar uma significativa remoção do paraquat, as concentrações finais, sendo a maior remoção de $48.9 \pm 0,01\%$, ainda não estão de acordo com a resolução COEMA nº 2 de 02 de fevereiro de 2017, onde o valor máximo de lançamento é de $0,05 \text{ mg.L}^{-1}$, sendo assim necessário buscar novos tratamentos/condições que visem uma maior eficiência de remoção.

Em termos de consumo da fonte primária, os reatores RFN com adição de glicose que apresentaram os melhores consumos foram o RNG-1,0 com 74,4% de consumo ($1,72 \text{ g.L}^{-1} - 0,45 \text{ g.L}^{-1}$), seguido do reator RNG - 0,5 que resultou no consumo de 66,4% ($0,79 \text{ g.L}^{-1} - 0,26 \text{ g.L}^{-1}$). Nos demais reatores, o consumo foi inferior a 45%, como pode ser observado na Figura 21a. No tocante aos reatores com adição de sacarose, o consumo do cossubstrato, foi para RNS - 4,0, RNS - 1,0 e RNS - 3,0 de 26,2% ($5,14 \text{ g.L}^{-1} - 3,79 \text{ g.L}^{-1}$), 22,7% ($1,55 \text{ g.L}^{-1} - 1,16$) e 21% ($3,79 \text{ g.L}^{-1} - 3,00 \text{ g.L}^{-1}$), respectivamente (Figura 21b).

Figura 21 - Eficiência de remoção do PQT e consumo de glicose nos reatores em batelada agitada com biomassa dispersa.



a

b

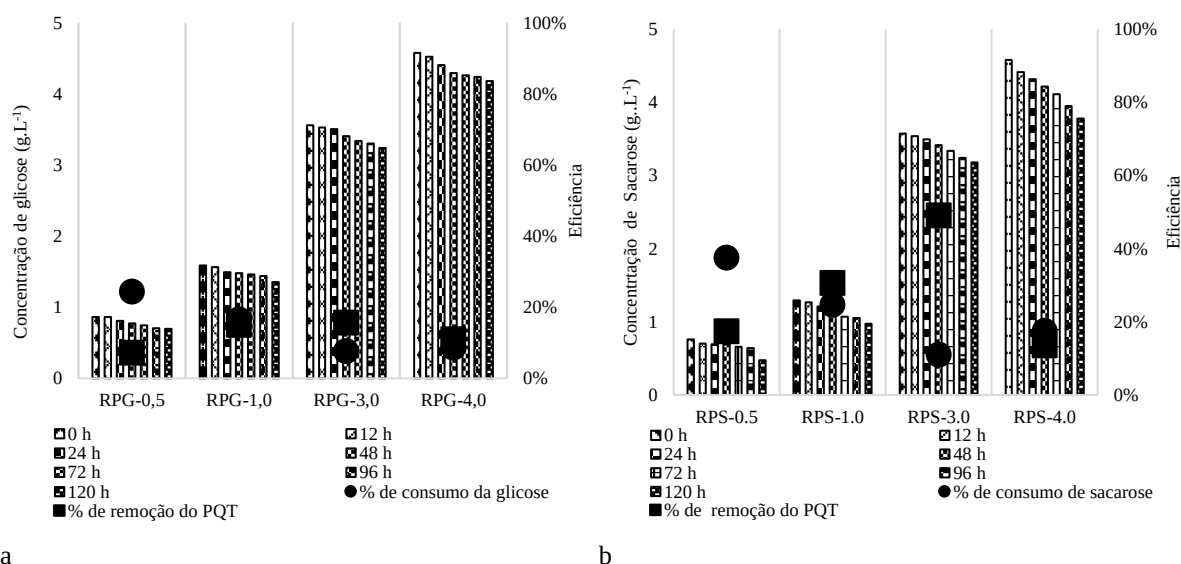
(a) RNG 0,5 (adição de $0,5 \text{ g.L}^{-1}$ de glicose), RNG 1,0 (adição de $1,0 \text{ g.L}^{-1}$ de glicose), RNG 3,0 (adição de $3,0 \text{ g.L}^{-1}$ de glicose), RNG 4,0 (adição de $4,0 \text{ g.L}^{-1}$ de glicose) e (b) RNS 0,5 (adição de $0,5 \text{ g.L}^{-1}$ de sacarose), RNS

1,0 (adição de 1,0 g.L⁻¹ de sacarose), RNS 3,0 (adição de 3,0 g.L⁻¹ de sacarose), RNS 4,0 (adição de 4,0 g.L⁻¹ de sacarose).

Fonte: Autora (2018).

Nos RFP (reatores inoculados com *Phanerochaete chrysosporium*), o fato de haver grande quantidade de cossubstratos nos reatores RPS – 4,0 e RPG – 4,0, correspondente a 4 g.L⁻¹ de cossubstrato no meio, fez com que o consumo de PQT fosse menor, caracterizando uma inibição por excesso de substrato. O reator RPG – 3,0, que teve a melhor remoção de PQT entre os reatores (15,62 ± 0,01%), teve um baixo consumo de glicose (7,62%). Em relação ao consumo de sacarose o reator RPS – 0,5 teve o maior consumo de sacarose, com um percentual de 37,5% (0,76 g.L⁻¹– 0,47 g.L⁻¹). O reator RPS – 3,0, o qual apresentou 49% de remoção do PQT, teve apenas 11,0% de consumo de sacarose, consequentemente o *Phanerochaete chrysosporium* buscou como fonte de carbono o PQT ao invés da sacarose, conforme pode ser visualizado nas Figuras 22a e 22b

Figura 22 - Eficiência de remoção do PQT e consumo de glicose nos reatores em batelada agitada com biomassa dispersa.



(a) RPG 0,5 (adição de 0,5 g.L⁻¹ de glicose), RPG 1,0 (adição de 1,0 g.L⁻¹ de glicose), RPG 3,0 (adição de 3,0 g.L⁻¹ de glicose), RPG 4,0 (adição de 4,0 g.L⁻¹ de glicose) e (b) RNS 0,5 (adição de 0,5 g.L⁻¹ de sacarose), RNS 1,0 (adição de 1,0 g.L⁻¹ de sacarose), RNS 3,0 (adição de 3,0 g.L⁻¹ de sacarose), RNS 4,0 (adição de 4,0 g.L⁻¹ de sacarose).

Fonte: Autora (2018).

De forma geral, observou-se que onde houve uma maior assimilação de cossustrato pelo fungo, houve uma menor remoção do poluente na presença de ambos fungos. Nos reatores RNG-0,5, RNG-1,0, RNG-3,0, RPS-0,5, RPS-1,0, RPG-0,5 e RPG-1,0 houve uma assimilação do cossustrato pelo fungo, porém a concentração do cossustrato empregada não foi suficiente para influenciar positivamente na remoção do poluente, isto é, não forneceram energia suficiente para que o fungo utilizasse o PQT de modo a alcançar mais eficiência de remoção. Já nos reatores RNS-0,5, RNS-1,0, RNS-3,0, RPG-1,0 e RPG-4,0 o consumo do cossustrato foi consumido em paralelo ao consumo de PQT, resultando em uma melhor eficiência de remoção. Porém apenas quando o consumo do cossustrato foi inferior a remoção de PQT resultou na maior eficiência de degradação do poluente, foi o caso do RPS – 3,0 ($48,9 \pm 0,01 \%$) e RPG-3,0 ($15,6 \pm 0,01 \%$), sendo assim, a concentração ótima de 3 g.L^{-1} de ambos cossustratos.

Em relação ao *Phanerochaete chrysosporium*, verificou-se que o uso de sacarose como cosustrato foi mais eficiente para a espécie, uma vez que utilizou-se 3 g.L^{-1} de sacarose e resultou na melhor eficiência média de remoção em 120 h e menor consumo de sacarose.

A influência dos cossustratos sobre a degradação do PQT também foi avaliada por meio do estudo cinético. A cinética de degradação de pesticida seguiu um modelo de 1º ordem, isto é a taxa de degradação decresce na proporção da concentração residual do pesticida.

Dentre os reatores com *Aspergillus niger* AN400, os reatores RNG apresentaram as maiores constantes cinéticas, quando comparadas aos reatores com adição de sacarose RNS, ou seja, houve uma rápida assimilação do pesticida, caracterizando-os assim como processo de adsorção e não de degradação.

Os reatores RNG – 0,5 e RNG – 3,0 apresentaram valores das constantes de velocidade próximos de $3,15 \text{ h}^{-1}$ e $2,94 \text{ h}^{-1}$, respectivamente, pois não apresentaram diferenças significativas ao analisar o nível de significância das médias finais da remoção do paraquat no tempo reacional de 120 h (Tabela 20).

Tabela 20 - Parâmetros cinéticos dos reatores RFN e RFP

	Reatores	k (h ⁻¹)	% de remoção de PQT	Reatores	k (h ⁻¹)	% de remoção de PQT
Inoculados com <i>Aspergillus niger</i> AN 400 (RFN)	RNG-0,5	3,15±0,002	8,60±0,04	RNS-0,5	0,04±0,003	12,08±0,05
	RNG-1,0	2,20±0,001	10,61±0,09	RNS-1,0	0,01±0,002	19,96±0,01
	RNG-3,0	2,94±0,004	9,50±0,01	RNS-3,0	0,08±0,002	19,65±0,02
	RNG-4,0	0,06±0,002	20,28±0,05	RNS-4,0	0,11±0,01	16,45±0,04
Inoculados com <i>Phanerochaete chrysosporium</i> (RFP)	RPG-0,5	0,011±0,002	7,19±0,02	RPS -0,5	0,022±0,001	7,40±0,02
	RPG-1,0	0,012±0,001	15,00±0,03	RPS- 1,0	0,024±0,005	30,53±0,06
	RPG-3,0	0,013±0,003	15,62±0,01	RPS -3,0	0,026±0,002	48,90±0,01
	RPG -4,0	0,017±0,002	10,92±0,02	RPS -4,0	0,037±0,004	13,50±0,06

k = Constante cinética; h= horas

Fonte: Autora (2018).

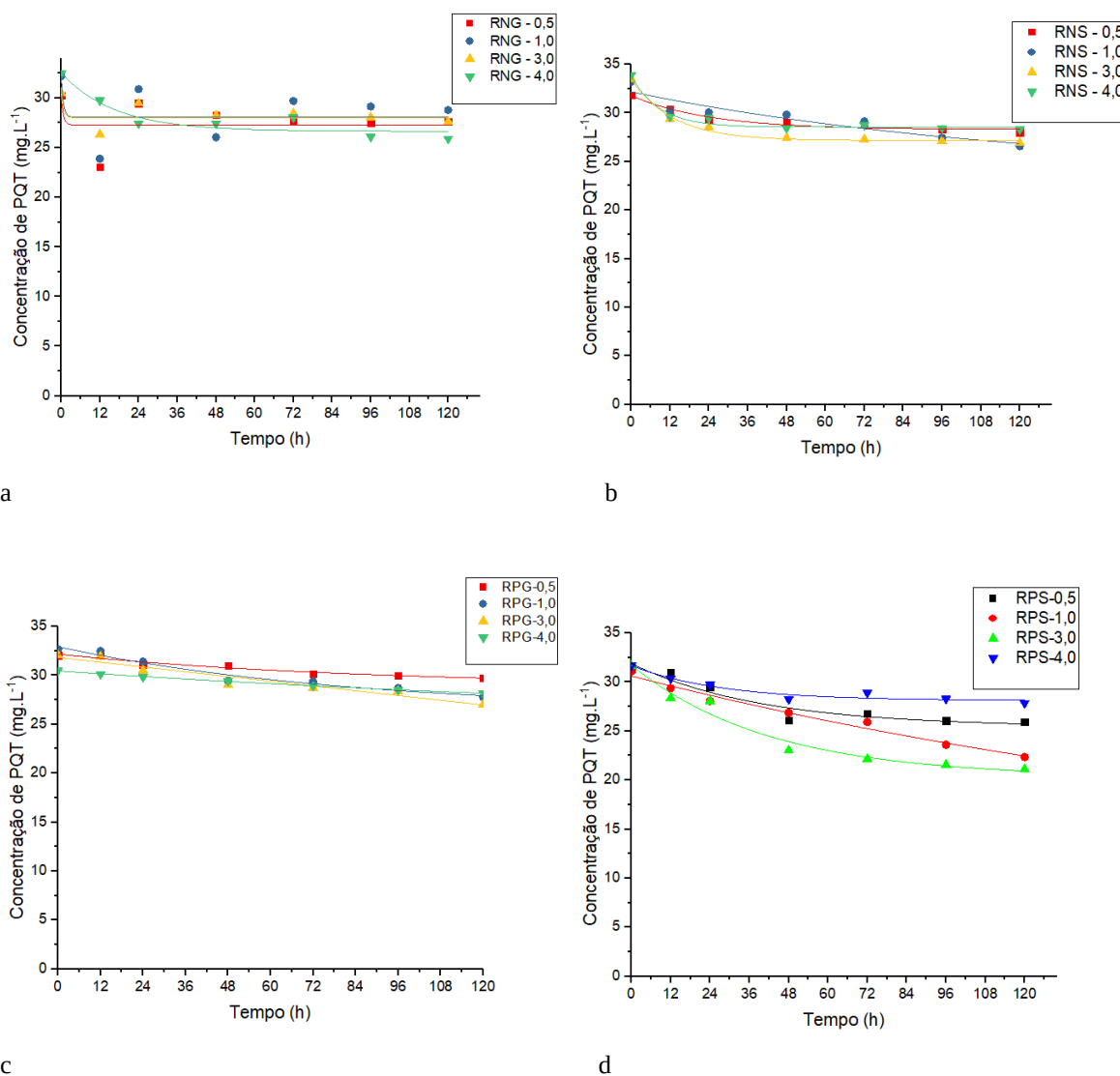
Nenhum dos reatores RFN que apresentaram maior valor da constante de velocidade tiveram uma remoção significativa do cossustrato. Ficando todos com percentual abaixo de 10%. O reator RNS – 1,0, o que teve a maior média de remoção de PQT (19,96 ± 0,01%), apresentou o menor valor da constante de velocidade, apenas 0,01h⁻¹, porém o decaimento não se configura como degradação e sim processo de adsorção, por sua rápida assimilação.

Apenas os reatores RNG-4,0, RNS-3,0 e RNS-4,0 apresentaram perfis de curvas de decaimento de degradação do PQT (Figura 23).

Em relação aos RFP verificou-se que a maior constante cinética foi encontrada no reator com adição de 4 g.L⁻¹ de sacarose (RPS-4,0), com uma constante de degradação de 0,037 ± 0,004 h⁻¹, sendo que a melhor constante cinética dos reatores com adição de glicose foi de 0,017 ± 0,002 h⁻¹, correspondente ao reator RPG-4,0 (adição de 4 g.L⁻¹de glicose) conforme ilustrado na Tabela 20.

Essa rápida degradação é precedida pela fase *lag*, supostamente durante a qual a biomassa degradativa aumenta até sua atividade se tornar bastante alta para ser detectada (Silva *et al.*, 2004). Portanto, a adição de cossustrato influenciou na constante cinética. Resultados semelhantes aos realizados por Marinho *et al.* (2011), Barbosa (2016) que ao adicionarem um cossustrato no tratamento biológico, obtiverem melhores valores da constante cinética.

Figura 23 - Curvas de decaimento do paraquat nos reatores em bateladas agitadas com biomassa dispersa com 120 h de reação.



(a) RNG 0,5 (adição de 0,5 g.L⁻¹ de glicose), RNG 1,0 (adição de 1,0 g.L⁻¹ de glicose), RNG 3,0 (adição de 3,0 g.L⁻¹ de glicose), RNG 4,0 (adição de 4,0 g.L⁻¹ de glicose); (b) RNS 0,5 (adição de 0,5 g.L⁻¹ de sacarose), RNS 1,0 (adição de 1,0 g.L⁻¹ de sacarose), RNS 3,0 (adição de 3,0 g.L⁻¹ de sacarose), RNS 4,0 (adição de 4,0 g.L⁻¹ de sacarose); (c) : RPG 0,5 (adição de 0,5 g.L⁻¹ de glicose), RPG 1,0 (adição de 1,0 g.L⁻¹ de glicose), RPG 3,0 (adição de 3,0 g.L⁻¹ de glicose), RPG 4,0 (adição de 4,0 g.L⁻¹ de glicose); (d) RPS 0,5 (adição de 0,5 g.L⁻¹ de sacarose), RPS 1,0 (adição de 1,0 g.L⁻¹ de sacarose), RPS 2,0 (adição de 2,0 g.L⁻¹ de sacarose), RPS 3,0 (adição de 3,0 g.L⁻¹ de sacarose), RPS 4,0 (adição de 4,0 g.L⁻¹ de sacarose).

Fonte: Autora (2018).

Observa-se também, que as constantes cinéticas dos reatores com adição de sacarose foram duas vezes mais rápidas quando comparadas às constantes cinéticas dos reatores com adição de glicose, que consequentemente influenciaram na eficiência de remoção do PQT. Logo os reatores com adição de sacarose, RPS-1,0 e RPS-3,0, apresentaram duas e três vezes

maior remoção do pesticida, respectivamente, quando comparados aos reatores com adição de glicose. Diante estes resultados, a sacarose apresentou-se como melhor cossubstrato na remoção do PQT.

No entanto, o reator RPS-3,0, com adição de 3.0 g.L^{-1} de sacarose e o RPG-1,0, com adição de 1 g.L^{-1} de glicose foram os reatores que apresentaram os melhores perfis de curva de degradação, os demais possivelmente houve uma adsorção e não uma degradação do poluente, como observadas nas Figuras 23c e 23d.

Assim sendo, os reatores RPS-3,0 e RPG-1,0, apresentaram as melhores condições para a remoção do paraquat, levando em consideração a concentração do cossubstrato, a velocidade de reação e a eficiência de remoção do poluente.

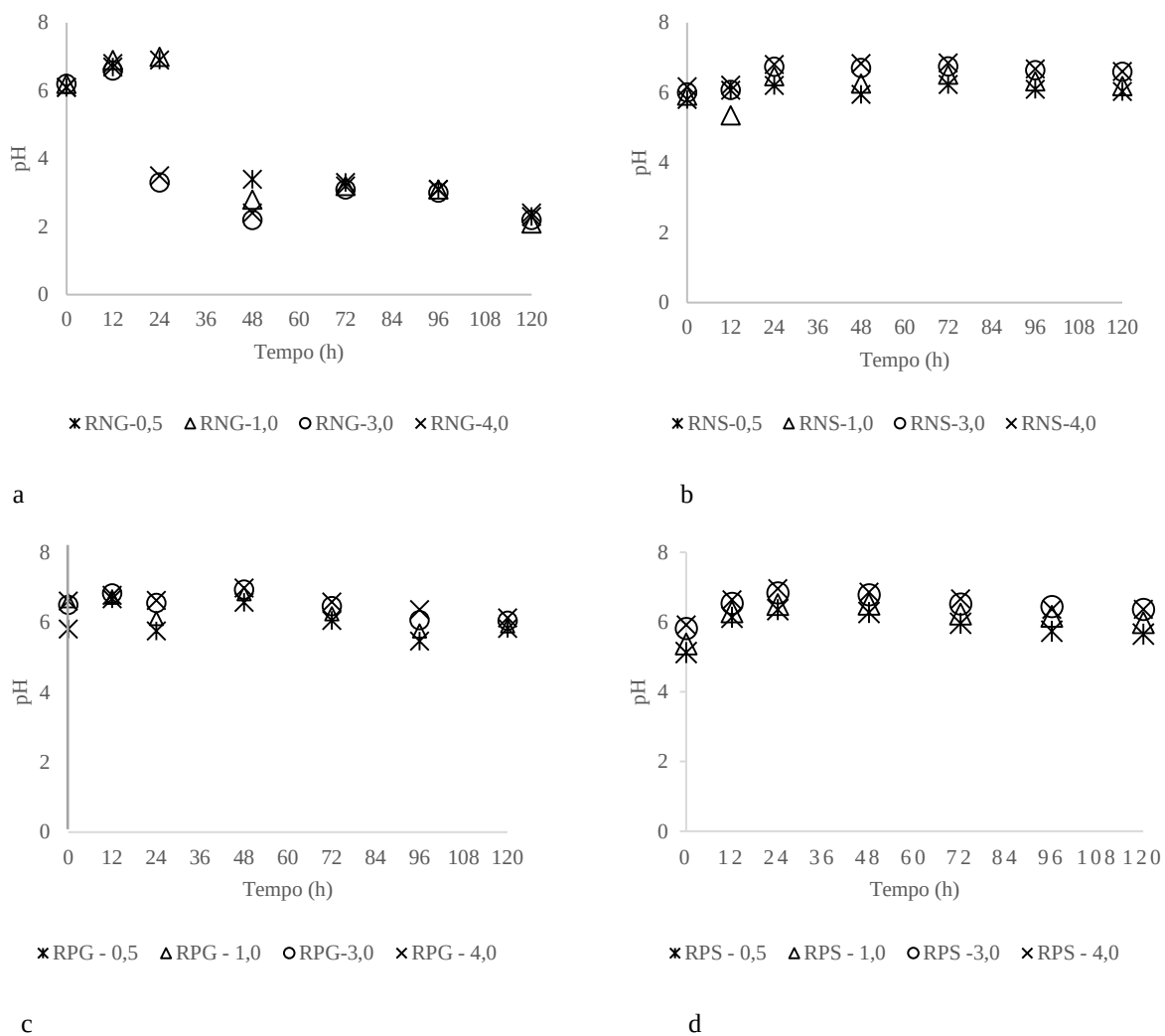
As temperaturas durante toda as bateladas, em todos os reatores, permaneceram na faixa de 25 a 30°C. De acordo com Pelczar *et al.* (1996), os fungos crescem em uma ampla faixa de temperatura de 0 a 62°C, porém a melhor faixa de crescimento é de 25 a 30°C, a mesma apresentada, neste estudo. Além de corresponde à melhor faixa de temperatura para degradação de pesticidas (Topp *et al.*, 1997).

As oscilações de pH durante todo o tratamento nas bateladas agitadas, observados em todos os reatores, deveram-se a presença de oxigênio e do fornecimento contínuo de elétrons, pois o PQT produz um ciclo de oxidações e reduções, com produções contínuas de ânions superóxidos (Silva *et al.*, 2004).

O pH de entrada dos reatores RNG inicia com uma média de $6,1 \pm 0,1$. Após 24 h de tempo reacional, o pH dos reatores RNG – 3,0 e o RNG- 4,0 decaíram para $3,8 \pm 0,6$. Contudo, no reator RNG – 1,0, a partir de 48 h, houve uma diminuição do pH para $2,9 \pm 0,3$. Os reatores RNS apresentaram poucas oscilações de valores de pH, em comparação aos reatores RNG. Iniciaram com $6,0 \pm 0,3$ e permaneceram com $6,6 \pm 0,2$ na saída do reator (120 h).

Com relação ao pH dos afluentes aos reatores RPS e RPG iniciaram com a média de $5,4 \pm 0,2$ e após 120 h do tempo reacional, os efluentes apresentaram uma média de pH $6,1 \pm 0,2$, ou seja, superior ao valor de entrada. No entanto, ainda de acordo com o que afirma Trabulsi *et al.*, que o pH entre 5,6 e 6,0, de forma geral, é a faixa de pH ideal para crescimento. Ou seja, tanto no início como no final do tempo reacional, os reatores estavam sob condições ótimas de pH para o desenvolvimento fúngico, conforme apresentado Figura 24.

Figura 24 – Variação do pH nos reatores em batelada agitada com biomassa dispersa com 120 h de reação.



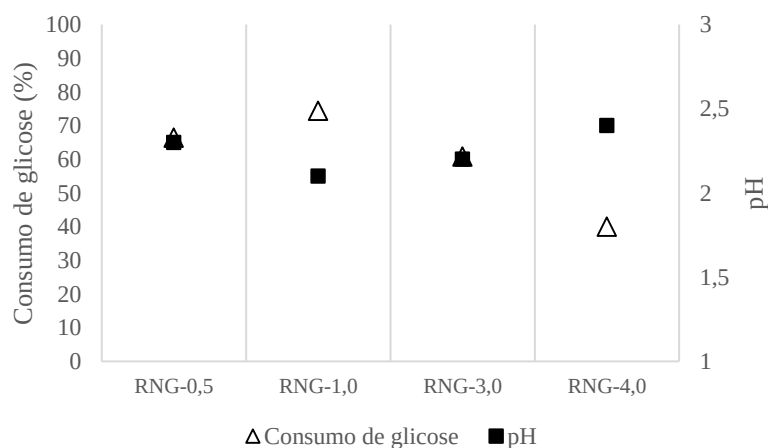
(a) RNG 0,5 (adição de 0,5 g.L⁻¹ de glicose), RNG 1,0 (adição de 1,0 g.L⁻¹ de glicose), RNG 3,0 (adição de 3,0 g.L⁻¹ de glicose), RNG 4,0 (adição de 4,0 g.L⁻¹ de glicose); (b) RNS 0,5 (adição de 0,5 g.L⁻¹ de sacarose), RNS 1,0 (adição de 1,0 g.L⁻¹ de sacarose), RNS 3,0 (adição de 3,0 g.L⁻¹ de sacarose), RNS 4,0 (adição de 4,0 g.L⁻¹ de sacarose); (c) : RPG 0,5 (adição de 0,5 g.L⁻¹ de glicose), RPG 1,0 (adição de 1,0 g.L⁻¹ de glicose), RPG 3,0 (adição de 3,0 g.L⁻¹ de glicose), RPG 4,0 (adição de 4,0 g.L⁻¹ de glicose); (d) RPS 0,5 (adição de 0,5 g.L⁻¹ de sacarose), RPS 1,0 (adição de 1,0 g.L⁻¹ de sacarose), RPS 2,0 (adição de 2,0 g.L⁻¹ de sacarose), RPS 3,0 (adição de 3,0 g.L⁻¹ de sacarose), RPS 4,0 (adição de 4,0 g.L⁻¹ de sacarose).

Fonte: Autora (2018).

Ao relacionar o pH com o consumo de cossubstrato adicionado, observou-se que os reatores RNG foram os únicos, que a partir de 24 h de reação, o pH ficou abaixo de 4. Ao final de 120 h, o pH médio foi de $2,25 \pm 0,11$, consequência do alto consumo de glicose nesses reatores. Ou seja, quanto maior o consumo de glicose mais ácido o efluente se torna (Figura

25). Os demais reatores apresentaram consumos do cossubstratos abaixo de 40% e pH médio de $6,13 \pm 0,16$.

Figura 25 – pH e consumo de glicose com 120 h de tempo reacional nos reatores em batelada agitada com glicose



Reatores RNG 0,5 (adição de $0,5 \text{ g.L}^{-1}$ de glicose), RNG 1,0 (adição de $1,0 \text{ g.L}^{-1}$ de glicose), RNG 3,0 (adição de $3,0 \text{ g.L}^{-1}$ de glicose), RNG 4,0 (adição de $4,0 \text{ g.L}^{-1}$ de glicose).

Autora (2018)

Reyna *et al.* e Yanez-Montalvo *et al.* (2015) justificaram alterações de pH em seu trabalho com a produção de enzimas extracelulares que são sintetizadas por fungos de podridão branca, no qual faz parte o *Phanerochaete chrysosporium*, utilizado nesta pesquisa. Segundo Silva *et al.* (2004), na degradação de compostos aromáticos, a exemplo do paraquat, o *Phanerochaete chrysosporium* libera duas heme-peroxidases: lignina peroxidase (LiP) e manganês peroxidase, também um sistema gerador de água oxigenada, então o sistema desempenha um papel central no metabolismo oxidativo, bem como em a desintoxicação de xenobióticos.

Ao estudarem técnicas para a avaliação do potencial degradativo de compostos naturais por fungos, Valente *et al.* (2002) avaliaram as atividades enzimáticas de alguns fungos, dentre eles o *Phanerochaete chrysosporium* e o *Aspergillus niger*. Observou-se atividade enzimática degradadora onde estava presente lipase, amilases, celulase, pectinase e quitinases (*Aspergillus niger*) e amilases, celulases, quitinases e lenhinas para *Phanerochaete chrysosporium*.

Segundo Soares (2014), Braga *et al.* (2014) e Yang *et al.* (2013), essas enzimas extracelulares produzidas por fungos estão envolvidas na liberação de nutrientes para o crescimento do mesmo e pela digestão do tecido hospedeiro, ou seja, a função dessa enzima é de executar as alterações de determinados nutrientes possibilitando a entrada dos mesmo na célula, logo a hidrólise de compostos de alto peso molecular e atuam fora da membrana celular protetora (COURI e DAMASCO, 2016). Em assim sendo, estas enzimas podem ter sido ativadas promovendo assim a degradação parcial do PQT, durante esta pesquisa.

Paralelamente ao consumo do PQT e dos cossubstratos, observou-se o crescimento da biomassa fúngica em forma de “*pellets*”, pequenas esferas aglutinadas (Figura 25), devido, possivelmente, ao estímulo da produção de polissacarídeos pelo uso de glicose e de sacarose, contribuído pelo pH do meio dos reatores (5-6) e a temperatura média entre $25^{\circ}\text{C} \pm 0,4^{\circ}\text{C}$ durante o tempo reacional do tratamento. Condição esta que garantiu a formação de *pellets*, uma vez que estas variáveis têm influência na morfologia dos fungos (PAMBOUKIAM, 1997; GALVÃO *et al.*, 2008).

De acordo com Panini (2006), este tipo de crescimento gera uma superfície de contato externa, facilitando o surgimento de reações de hidroxilas, as mesmas que são frequentemente utilizadas pelos fungos em algumas vias de degradação de compostos aromáticos a fim de fornecer o rompimento de anéis aromáticos o que pode ter facilitado a degradação biológica do paraquat. Gibbs *et al.* (2000) complementa que a formação dos *pellets* deve ser pequena para evitar o surgimento de deficiência nutricional no interior dos mesmos, como foi verificado, neste estudo. Este tipo de crescimento também foi observado por Yin e Lian (2012) em seus estudos com *Aspergillus niger*.

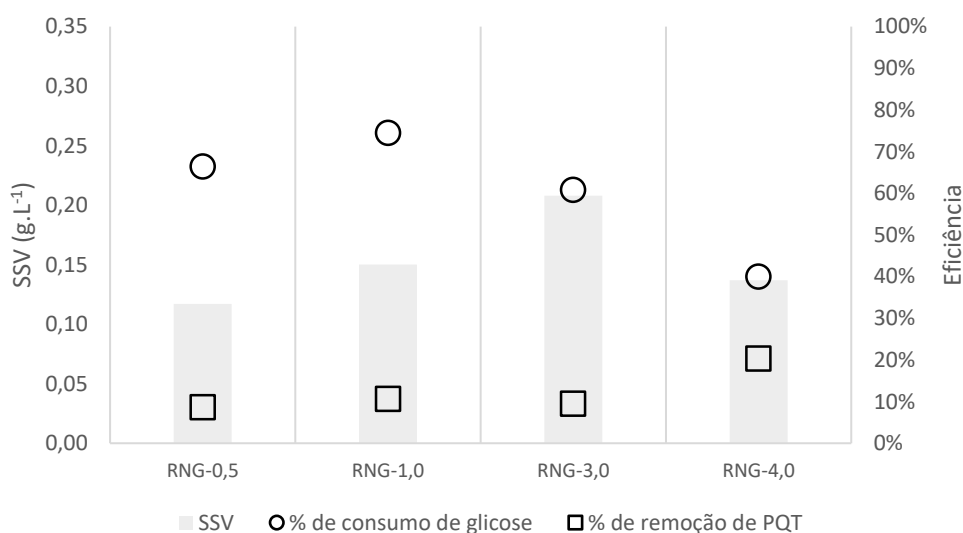
Figura 26- Formação de “*pellets*” nos reatores em bateladas agitadas inoculados com *Aspergillus niger* AN400



Fonte: Autora (2018)

A quantidade de biomassa presente nos reatores foi medida em SSV (g.L^{-1}). Nos reatores RNG, a assimilação da glicose pelo fungo proporcionou uma maior formação de biomassa. Entre os reatores inoculados com *Aspergillus niger* AN 400, o reator RNG – 3,0 foi o que apresentou maior formação de $0,208 \text{ g.L}^{-1}$, 60,0% de consumo de glicose e apenas $9,50 \pm 0,01\%$ de remoção de PQT, ou seja, para a formação da biomassa, o fungo priorizou o metabolismo primário com a glicose, conforme ilustrado na Figura 27.

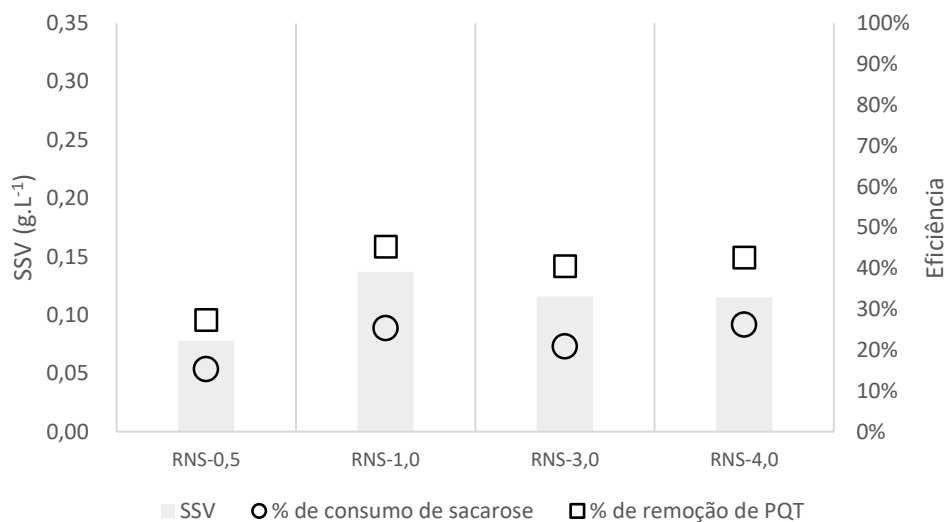
Figura 27– SSV (g.L^{-1}), eficiência da remoção de PQT (%) e consumo do cossubstratos (%) no tempo reacional final (120h) nos reatores RNG 0,5 (adição de $0,5 \text{ g.L}^{-1}$ de glicose), RNG 1,0 (adição de $1,0 \text{ g.L}^{-1}$ de glicose), RNG 3,0 (adição de $3,0 \text{ g.L}^{-1}$ de glicose), RNG 4,0 (adição de $4,0 \text{ g.L}^{-1}$ de glicose).



Fonte: Autora (2018).

A formação de biomassa nos reatores RNS foi inferior ao do RNG, enquanto que a eficiência de remoção do PQT foi maior nos reatores com adição de sacarose. Sendo assim, houve uma menor assimilação da sacarose como fonte de energia e crescimento. O reator RNS-1,0 apresentou a maior formação correspondente à $0,137 \text{ g.L}^{-1}$ de biomassa, 25,36 % de consumo da sacarose e $19,96 \pm 0,01\%$ de remoção de PQT, conforme apresentado na Figura 28.

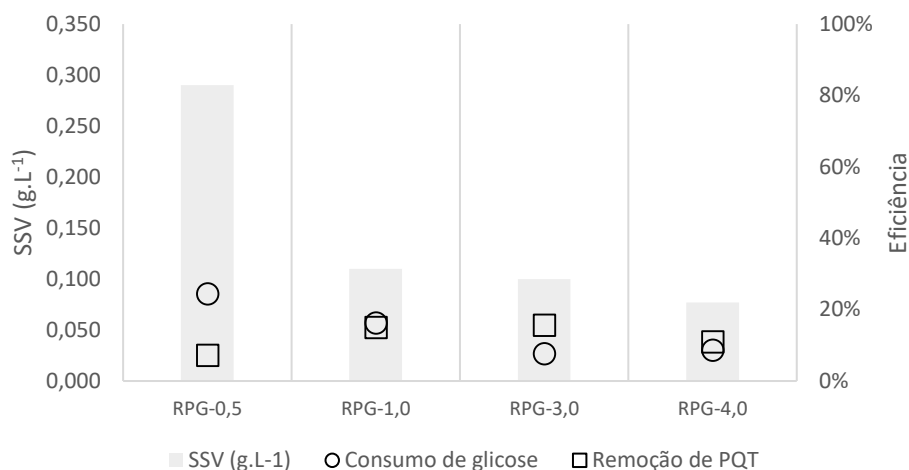
Figura 28— SSV (g.L^{-1}), eficiência da remoção de PQT (%) e consumo do cossustratos (%) no tempo reacional final (120h) nos reatores: RNS 0,5 (adição de $0,5 \text{ g.L}^{-1}$ de sacarose), RNS 1,0 (adição de $1,0 \text{ g.L}^{-1}$ de sacarose), RNS 3,0 (adição de $3,0 \text{ g.L}^{-1}$ de sacarose), RNS 4,0 (adição de $4,0 \text{ g.L}^{-1}$ de sacarose).



Fonte: Autora (2018).

Os reatores que tinham a concentração de $0,5 \text{ g.L}^{-1}$ de cossustrato nos reatores RFP (RPS-0,5 e RPG-0,5) foram os que apresentaram os maiores valores de SSV (RPS-0,5 = $0,278 \text{ g.L}^{-1}$ e RPG-0,5 = $0,290 \text{ g.L}^{-1}$). Pode-se observar nas Figuras 29 e 30, que os reatores com menor consumo de cossustrato corresponderam à menor produção de biomassa.

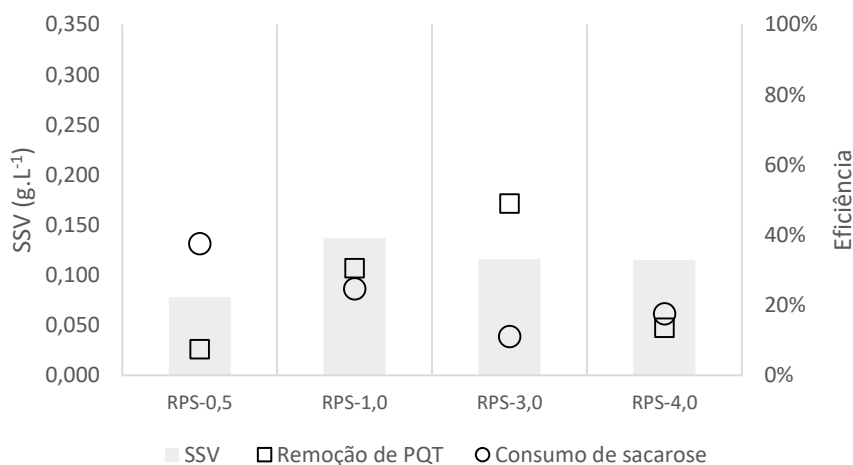
Figura 29 - SSV (g.L^{-1}), eficiência da remoção de PQT (%) e consumo do cossustratos (%) no tempo reacional final (120h) nos reatores: RPG 0.5 (adição de 0.5 g.L^{-1} de glicose), RPG .0 (adição de 1.0 g.L^{-1} de glicose), RPG 3.0 (adição de 3.0 g.L^{-1} de glicose), RPG 4.0 (adição de 4.0 g.L^{-1} de glicose)



Fonte: Autora (2018).

No reator RPS-4,0, no qual foi verificada a maior eficiência média de remoção do poluente, é possível ver claramente que o PQT foi utilizado como fonte primária de energia para se desenvolver, o que ocasionou na degradação do mesmo (Figura 30).

Figura 30– SSV (g.L^{-1}), eficiência da remoção de PQT (%) e consumo do cossustratos (%) no tempo reacional final (120h) nos reatores: RPS 0,5 (adição de $0,5 \text{ g.L}^{-1}$ de sacarose), RPS 1.0 (adição de $1,0 \text{ g.L}^{-1}$ de sacarose), RPS 2,0 (adição de $2,0 \text{ g.L}^{-1}$ de sacarose), RPS 3,0 (adição de $3,0 \text{ g.L}^{-1}$ de sacarose), RPS 4,0 (adição de $4,0 \text{ g.L}^{-1}$ de sacarose).



Fonte: Autora (2018).

Portanto, a quantidade de biomassa está relacionada com qual cossustrato o fungo utilizou. Consequentemente, maior quantidade de biomassa significa que o metabolismo primário utilizado foi a glicose ou sacarose e o poluente como secundário.

O reator RC, o qual não foi adicionado cossustrato, apresentou $SSV = 0,063 \text{ g.L}^{-1}$, valor este, inferior ao dos demais reatores devido à ausência de uma fonte primária de carbono de fácil consumo, uma vez que quantidade de biomassa presente no reator, é proporcional ao maior consumo de matéria orgânica pela população microbiana (Rodrigues, 2006), por isso os reatores que apresentaram maior consumo de cossustrato foram os mesmos que obtiveram uma menor remoção do paraquat.

5.2.1 Contagem de colônias

Em ambos reatores RFN e RFP, a presença de fungos foi superior à presença de bactérias, garantindo assim que a remoção de paraquat foi predominantemente por fungos, conforme resultados apresentados na Tabelas 21 e 22.

Tabela 21– Plaqueamentos nos reatores RNG e RNS ao final do tempo reacional de 120h.

	REATORES			
	RNS -0,5	RNS -1,0	RNS -3,0	RNS -4,0
BACTÉRIA (UFC/mL)	1795	2567	1733	1572
FUNGOS (UFC/mL)	5167	5167	5167	5167
	RNG -0,5	RNG -1,0	RNG -3,0	RNG -4,0
BACTÉRIA (UFC/mL)	1953	2345	1942	2350
FUNGOS (UFC/mL)	3300	3300	3300	3300

Fonte: Autora (2018).

Tabela 22- Plaqueamentos nos reatores RPG e RPS ao final do tempo reacional de 120h

	REATORES			
	RPG- 0,5	RPG-1,0	RPG-3,0	RPG-4,0
BACTÉRIA (UFC/mL)	1928	1752	1543	1397
FUNGOS (UFC/mL)	2273	2313	1670	1767
	RPS-0,5	RPS-1,0	RPS-3,0	RPS-4,0
BACTÉRIA (UFC/mL)	3653	4027	3433	3860
FUNGOS (UFC/mL)	5167	5167	5167	5167

Fonte: Autora (2018)

5.2.2 Teste de ecotoxicidade do paraquat com as cebolas

Segundo Leme e Marin (2009), os ensaios de toxicidades em cebolas são aconselhados por terem baixo custo, serem de fácil manuseio e são excelentes indicadores. Grant (1982) complementa que a maior vantagem de se trabalhar com ensaios de cebolas está na disponibilidade dos bulbos, pois estão disponíveis o ano todo uma vez que não precisam de condições ou equipamentos especiais para o seu cultivo.

De acordo com a metodologia de Báez, *et al.* (2008), primeiro foi realizado o teste controle com as cebolas, assim foi possível selecionar as cebolas que tiveram crescimento das raízes e estimular o desenvolvimento do meristema radicular.

No ensaio controle, as raízes das cebolas apresentaram crescimento de 3 cm (0% de inibição), conforme a apresentado na Figura 31.

Figura 31 – Crescimento das raízes no teste controle



Fonte: Autora (2018)

O mecanismo consiste na observação da estimulação das raízes das cebolas frente ao afluente e efluente de cada reator contendo compostos considerados tóxicos.

Observou-se que a entrada (afluente) da água sintética com 30 mg.L⁻¹ de PQT em todos os reatores não houve crescimento das raízes, ocorrendo assim inibição de 100% de crescimento. Fiskesjö (1985,1993,1997) justifica que quando a hidratação das células das raízes acontece na presença de substâncias tóxicas, pode ocorrer uma inibição da divisão dos meristemas radiculares, seja retardando o processo de mitoses ou destruindo as células. Desta forma, impedindo o crescimento normal das raízes. Portanto, a concentração de 30 mg.L⁻¹ do paraquat é um fator inibidor para o crescimento das raízes, uma vez que no afluente (entrada) de todas as bateladas não foi observado um crescimento das raízes. Porém, após o tratamento realizado, algumas cebolas apresentaram crescimento das raízes, conforme apresentado na Tabela 23.

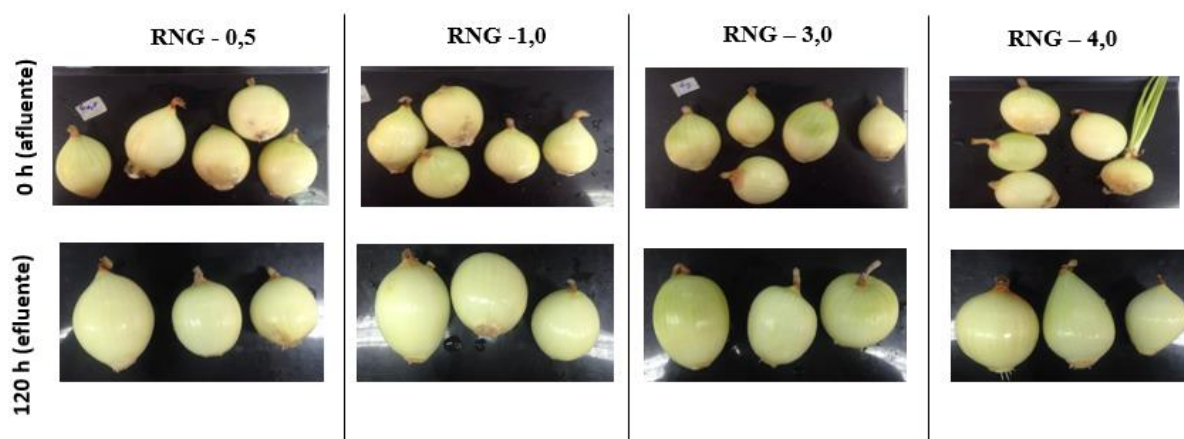
Tabela 23– Média de crescimento das raízes do teste de toxicidade nos reatores em batelada agitada e desvio padrão.

Reatores	Crescimento (cm)	Inibição (%)	Reatores	Crescimento (cm)	Inibição (%)
RPG-0,5	0,0±0,0	100,0	RPS-0,5	0,0±0,0	100,0
RPG-1,0	0,0±0,0	100,0	RPS-1,0	0,5±0,1	83,3
RPG-3,0	0,5±0,1	83,3	RPS-3,0	1,0±0,2	77,0
RPG-4,0	0,0±0,0	100,0	RPS-4,0	0,0±0,0	100,0
RNG-0,5	0,0±0,0	100,0	RNS-0,5	0,0±0,0	100
RNG-1,0	0,0±0,0	100,0	RNS-1,0	0,5±0,1	83,3
RNG-3,0	0,0±0,0	100,0	RNS-3,0	0,5±0,1	83,3
RNG-4,0	0,5±0,1	83,3	RNS-4,0	0,5±0,0	83,3

Fonte: Autora (2018)

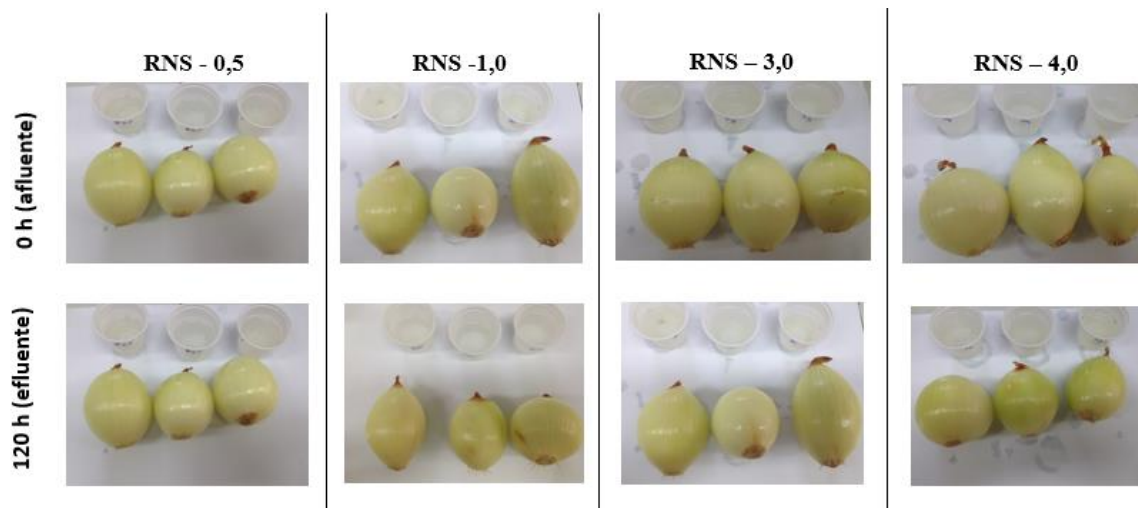
A menor inibição ocorreu no reator RPS-3,0, o qual corresponde a melhor remoção de paraquat ($48,9 \pm 0,01\%$), apenas 77%, comprovando a toxicidade do PQT. O crescimento das raízes pode ser observado nas Figuras 32, 33, 34 e 35.

Figura 32- Teste de ecotoxicidade com cebolas com o afluente e efluente dos reatores RNG 0,5 (adição de $0,5 \text{ g.L}^{-1}$ de glicose), RNG 1,0 (adição de $1,0 \text{ g.L}^{-1}$ de glicose), RNG 3,0 (adição de $3,0 \text{ g.L}^{-1}$ de glicose), RNG 4,0 (adição de $4,0 \text{ g.L}^{-1}$ de glicose).



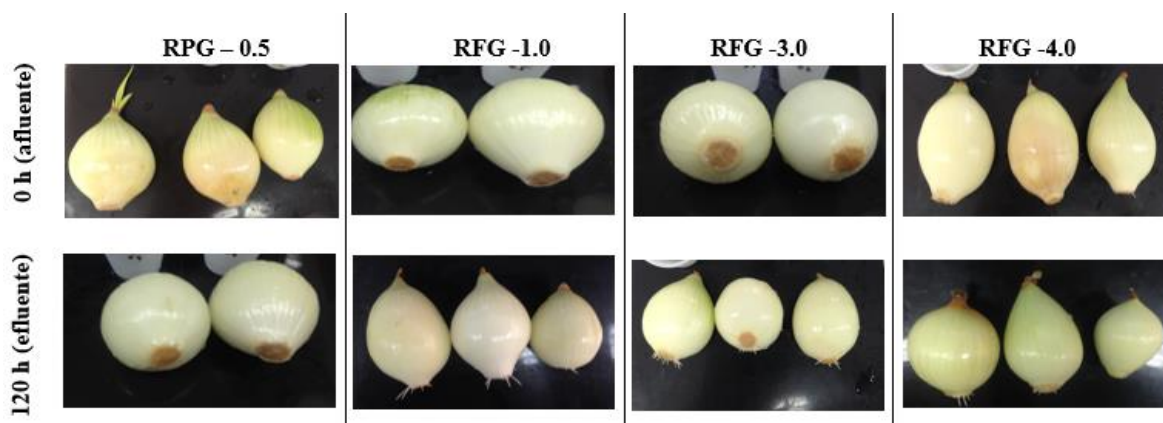
Fonte: Autora (2018)

Figura 33- Teste de ecotoxicidade com cebolas com o afluente e efluente dos reatores RNS 0,5 (adição de 0,5 g.L⁻¹ de sacarose), RNS 1,0 (adição de 1,0 g.L⁻¹ de sacarose), RNS 3,0 (adição de 3,0 g.L⁻¹ de sacarose), RNS 4,0 (adição de 4,0 g.L⁻¹ de sacarose).



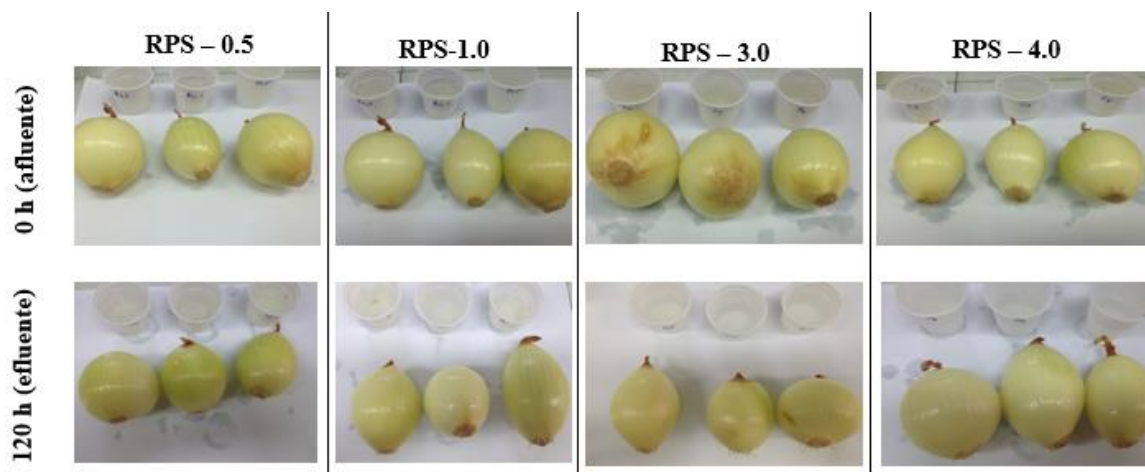
Fonte: Autora (2018)

Figura 34- Teste de ecotoxicidade com cebolas com o afluente e efluente dos reatores RPG 0,5 (adição de 0,5 g.L⁻¹ de glicose), RPG 1,0 (adição de 1,0 g.L⁻¹ de glicose), RPG 3,0 (adição de 3,0 g.L⁻¹ de glicose), RPG 4,0 (adição de 4,0 g.L⁻¹ de glicose).



Fonte: Autora (2018)

Figura 35- Teste de ecotoxicidade com cebolas com o afluente e efluente dos reatores: RPS 0,5 (adição de 0,5 g.L⁻¹ de sacarose), RPS 1,0 (adição de 1,0 g.L⁻¹ de sacarose), RPS 2,0 (adição de 2,0 g.L⁻¹ de sacarose), RPS 3,0 (adição de 3,0 g.L⁻¹ de sacarose), RPS 4,0 (adição de 4,0 g.L⁻¹ de sacarose).



Fonte: Autora (2018)

Barbosa (2016), também realizou o teste de toxicidade com as cebolas com os efluentes contaminados com 30 mg.L⁻¹ de Atrazina e 30 mg.L⁻¹ de metil paratila e, ao final do tratamento apresentaram 55% e 21,5% de inibição de crescimento das raízes, respectivamente.

5.3 ETAPA III – Reatores em bateladas sequenciais

A fim de verificar a eficiência do para o tratamento de água residuária sintética dopada com paraquat, foram realizados experimentos com reatores em bateladas sequenciais com a biomassa imobilizada. Uma vez que a biomassa imobilizada apresenta vantagens com relação à biomassa dispersa, pois favorece um aumento do tempo de retenção celular, que influencia diretamente no processo de adaptação entre o poluente e a mesma.

5.3.1 Operação nos reatores em batelada sequencial (RBS)

Inicialmente, optou-se por seguir as melhores condições da Etapa II, concentração de 30 mg.L⁻¹ de PQT em um reator inoculado com *Aspergillus niger* AN 400 com adição de 4 g.L⁻¹ de glicose, e no outro com *Phanerochaete chrysosporium* com adição de 3 g.L⁻¹ de sacarose.

Os reatores não apresentaram uniformidades nas eficiências de PQT ao longo dos ciclos, conforme resultados apresentados no apêndice A. Também foram testadas as concentrações de 5 mg.L⁻¹ de PQT sem adição de um cossubstrato em ambos reatores, conforme resultados apresentados no apêndice B.

Após os testes de toxicidade em placa, e frente aos resultados negativos com as concentrações, acima elencadas, optou-se pela concentração de 1 mg.L⁻¹ de PQT para realizar os tratamentos nos reatores em bateladas sequenciais com biomassa imobilizada, uma vez que com ambos fungos houve um melhor crescimento nessa concentração. RBS-AN400 é o reator inoculado com *Aspergillus niger* AN 400 e o RBS-PHC, o reator inoculado com *Phanerochaete chrysosporium*.

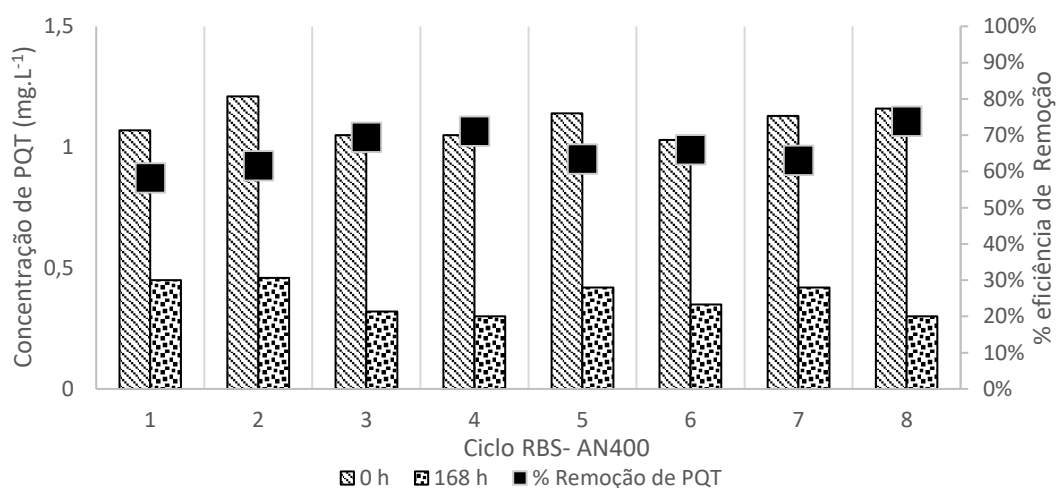
Foram realizados 8 ciclos ao total, sendo o tempo reacional de 168 h de cada ciclo e os tempos estudados, ao longo desse perfil, foram de 0 h, 24 h, 48 h, 72 h, 96 h, 120 h e 168 h. A concentração estudada de PQT foi de 1 mg.L⁻¹ sem adição de cossubstrato. As variáveis analisadas nos reatores em bateladas sequenciais com biomassa imobilizada foram concentrações de paraquat, DQO total, pH e temperatura.

5.3.1.1 RBS com *Aspergillus niger* AN 400 (RBS-AN) e RBS com *Phanerochaete chrysosporium* (RBS-PHC)

A maior remoção de PQT ocorreu no RBS-NA, nos 4º e 8º ciclos, com 71,1% (1,05 mg.L⁻¹ – 0,3 mg.L⁻¹) e 73,8% (1,16 mg.L⁻¹ – 0,3 mg.L⁻¹) de remoção, respectivamente. No RBS-PHC, a maior remoção ocorreu nos 1º e 8º ciclos, com 70,7% (1,07 mg.L⁻¹ – 0,32 mg.L⁻¹) e 71,4% (1,03 mg.L⁻¹ – 0,3 mg.L⁻¹) de remoção, respectivamente. Em média, a remoção do PQT durante os 8 ciclos foi de 65,7 ± 4,9% para o RBS-AN e de 64,4 ± 4,6% para o RBS-PHC. Contudo, observou-se que ao longo dos ciclos as remoções tenderam à estabilidade, apesar de provavelmente haver a renovação de uma nova biomassa a cada troca do afluente sintético, aos reatores. Por tanto, ambos fungos responderam satisfatoriamente, após o início operacional, ou seja, foram capazes de degradar o paraquat em regime de bateladas sequenciais. Portanto, o uso de biomassa imobilizada, favoreceu a remoção do pesticida.

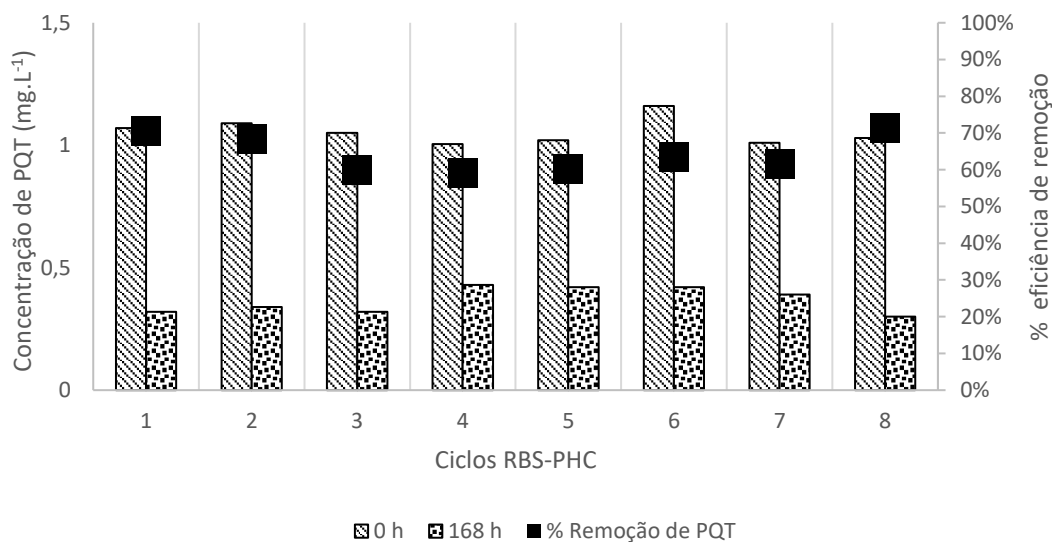
Nas Figuras 36 e 37 estão apresentadas as variações das concentrações de entrada e saída do PQT e a eficiência de remoção no RBS-AN e RBS-PHC, respectivamente

Figura 36- Eficiência na remoção do paraquat nos 8 ciclos com 168 horas de tempo reacional no RBS-AN.



Fonte: Autora (2018)

Figura 37 - Eficiência na remoção do paraquat nos 8 ciclos com 168 horas de tempo reacional no RBS-PHC.



Fonte: Autora (2018).

Com relação à legislação, os valores finais de PQT do RBS- AN400 e RBS-PHC, ainda não estão dentro do previsto pela Portaria da SEMACE nº 154 de 22 de Julho de 2002, pois a concentração máxima de pesticidas para o lançamento em efluentes é de 0,05 mg.L⁻¹, e nesta

pesquisa foi em média de $0,5 \text{ mg.L}^{-1}$. Dessa forma, há uma necessidade de buscar mais alternativas de tratamento para que os valores finais se enquadrem na legislação.

Na Tabela 24 estão apresentadas as médias finais de pH e temperatura no RBS-AN400 e RBS-PHC durante os 8 ciclos, com 168 h de reação. Os valores médios de pH foram de $5,18 \pm 0,43$ e de temperatura $26,2 \pm 0,55^\circ\text{C}$ para o RBS-AN e pH de $5,08 \pm 0,50$ e a média de temperatura de $26,46 \pm 0,65^\circ\text{C}$ para RBS-PHC. Observaram-se pequenas oscilações de pH, porém todos se mantiveram na faixa ácida. Esses baixos valores proporcionam, segundo Han *et al.* (2014) e Reyna *et al.* (2017), melhor atividade enzimática dos fungos e consequentemente para o processo de degradação do PQT, uma vez que as melhores remoções do pesticida ocorreram em pH mais ácidos, conforme pode ser verificado na Tabela 24.

Tabela 24- Variações finais de pH, temperatura e desvio padrão durante os 8 ciclos no RBS-AN e RBS-PHC

	Média pH	Desvio padrão	Média T°C	Desvio padrão
RBS-AN				
Ciclo 1	4,99	$\pm 0,76$	25,80	$\pm 1,22$
Ciclo 2	5,50	$\pm 0,19$	25,72	$\pm 0,73$
Ciclo 3	6,01	$\pm 0,80$	26,41	$\pm 1,02$
Ciclo 4	4,65	$\pm 0,56$	26,40	$\pm 1,18$
Ciclo 5	5,54	$\pm 0,62$	27,52	$\pm 0,75$
Ciclo 6	5,07	$\pm 0,53$	26,31	$\pm 1,48$
Ciclo 7	4,93	$\pm 0,38$	26,12	$\pm 0,53$
Ciclo 8	4,76	$\pm 0,38$	25,70	$\pm 0,35$
MÉDIA FINAL	5,18	$\pm 0,43$	26,28	$\pm 0,55$
RBS-PHC				
Ciclo 1	4,59	$\pm 0,30$	25,86	$\pm 1,31$
Ciclo 2	6,05	$\pm 0,68$	25,70	$\pm 0,90$
Ciclo 3	5,65	$\pm 0,61$	26,37	$\pm 1,02$
Ciclo 4	4,79	$\pm 0,36$	26,99	$\pm 1,10$
Ciclo 5	5,30	$\pm 0,69$	27,36	$\pm 0,45$
Ciclo 6	4,81	$\pm 0,43$	26,67	$\pm 1,43$
Ciclo 7	4,76	$\pm 0,37$	27,19	$\pm 0,96$
Ciclo 8	4,73	$\pm 0,35$	25,56	$\pm 0,36$
MÉDIA FINAL	5,08	$\pm 0,50$	26,46	$\pm 0,65$

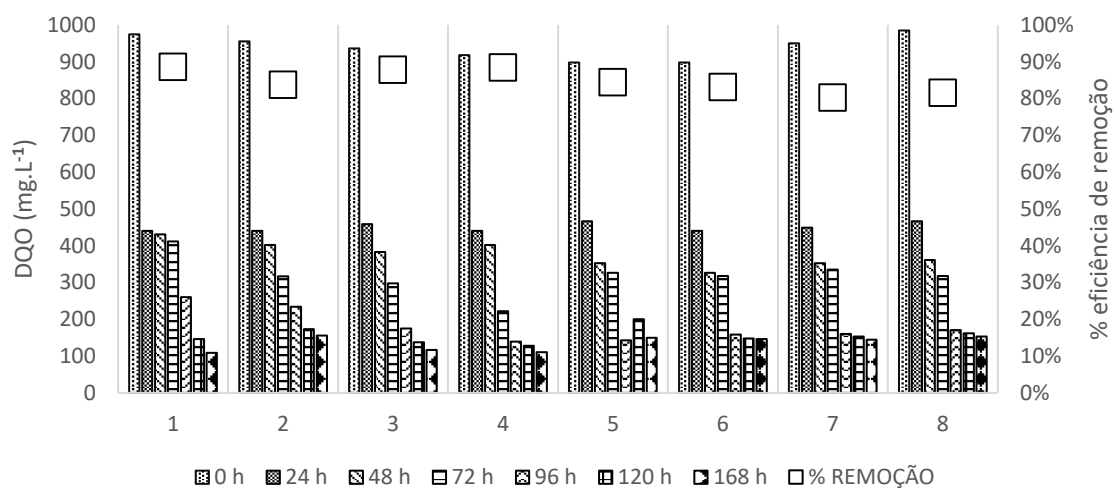
Fonte: Autora (2018).

O aumento do pH durante o tempo reacional já foi mencionado pelo possível consumo de ácidos e produção de enzimas no meio (EL-RAHIM *et al.*, 2009). Essas enzimas são extracelulares, como por exemplo lignina peroxidase (LiP) e manganês peroxidase (MnP) (HUANG *et al.*, 2016), liberada pelo *Phanerochaete chrysosporium*.

Com relação à remoção de DQO filtrada, as maiores remoções ocorreram nos 1º e 4º ciclos, 88,6% ($974,45 \text{ mg.L}^{-1} - 108,61 \text{ mg.L}^{-1}$) e 88,4% ($917,66 \text{ mg.L}^{-1} - 110,7 \text{ mg.L}^{-1}$) respectivamente. A eficiência média de remoção da DQO total no RBS-AN400 foi de $84,71 \pm 3,01\%$. Com relação à DQO filtrada no RBS-PHC, as maiores remoções ocorreram no 5º e 6º ciclos, 82,0% ($845,22 \text{ mg.L}^{-1} - 67, \text{ mg.L}^{-1}$) e 93,2% ($862,73 \text{ mg.L}^{-1} - 58,2 \text{ mg.L}^{-1}$), respectivamente. A eficiência média de remoção da DQO total no RBS-PHC foi de $90,9 \pm 1,67$, resultado bem superior ao encontrado no RBS-AN400.

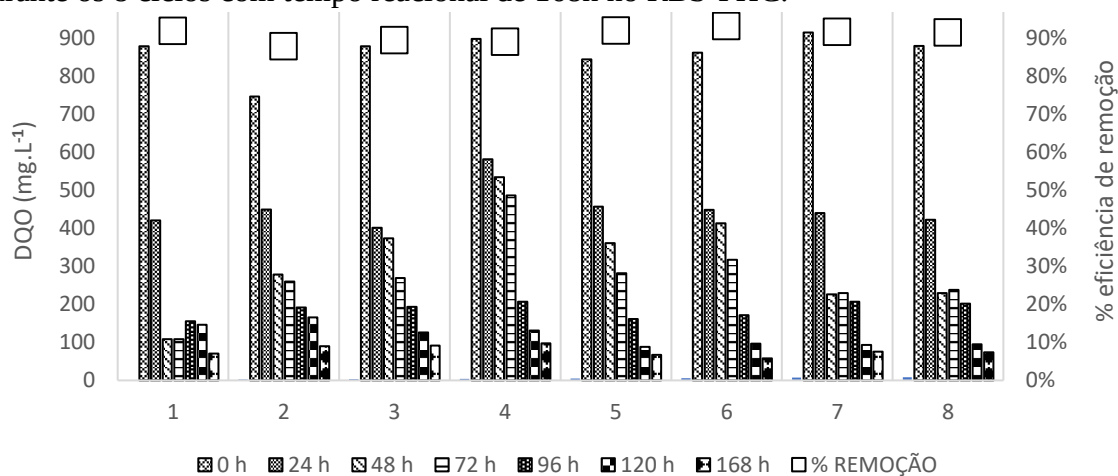
Observou-se que após 24 h do tempo reacional, houve uma eficiência média de remoção de $52,0 \pm 1,95\%$ em todos os ciclos do RBS-NA. De igual forma ocorreu uma redução média de $53,2 \pm 2,05\%$ de DQO em 24 h do tempo reacional no RBS-PHC. Este comportamento pode estar ligado ao da variável pH, visto que permaneceu em meio ácido durante todo o tempo reacional, bem como a estabilidade da biomassa e a nova configuração do reator, como pode ser observado na Tabela 24. Nas figuras 38 e 39 estão apresentadas as variações das concentrações de DQO e a eficiência de remoção no RBS-AN e RBS-PHC.

Figura 38– Variações das concentrações de DQO filtrada (mg.L^{-1}), eficiência de remoção durante os 8 ciclos com tempo reacional de 168h no RBS-AN.



Fonte: Autora (2018).

Figura 39 - Variações das concentrações de DQO filtrada (mg.L^{-1}), eficiência de remoção durante os 8 ciclos com tempo reacional de 168h no RBS-PHC.



Fonte: Autora (2018).

As remoções de DQO no RBS-AN400 e RBS-PHC foram consideradas promissoras, visto que sem a utilização de cossustratos, os micro-organismos removeram a maior parcela orgânica presente no meio, junto aos possíveis produtos da degradação do paraquat.

Os valores de DQO foram próximos aos encontrados por Sousa *et al.* (2014), em que avaliaram a DQO de água sintética dopada com o inseticida aldrin em reatores em bateladas aeradas com biomassa de *Aspergillus niger* AN 400 dispersa, e obtiveram 88,9% de eficiência em 168 h de tempo reacional, tempo igual ao usado nesta pesquisa.

Apolinário *et al.* (2014), também estudaram a remoção de DQO em reatores com água sintética com paraquat e inoculados com *Aspergillus niger* AN 400 obtiveram eficiência próximas à encontrada neste estudo, porém houve adição de um cossustrato em que se eleva o custo do processo. Freitas *et al.* (2012) também avaliou a degradação de água sintética dopada com pesticidas em reatores em batelada agitada com biomassa dispersa de *Aspergillus niger* AN 400 com $0,5 \text{ g.L}^{-1}$ de glicose, e ao final do tratamento apresentou uma remoção de DQO máxima de 46,27%, apenas quando o reator teve a adição da fonte de carbono. Resultados esses inferiores ao encontrado neste trabalho e sem adição de cossustrato.

Ao avaliar a cinética de degradação da DQO filtrada, os parâmetros cinéticos do decaimento da DQO filtrada do RBS-AN e RBS-PHC em função do tempo reacional obtidos a partir do ajuste ao modelo de primeira ordem estão apresentados na Tabela 25.

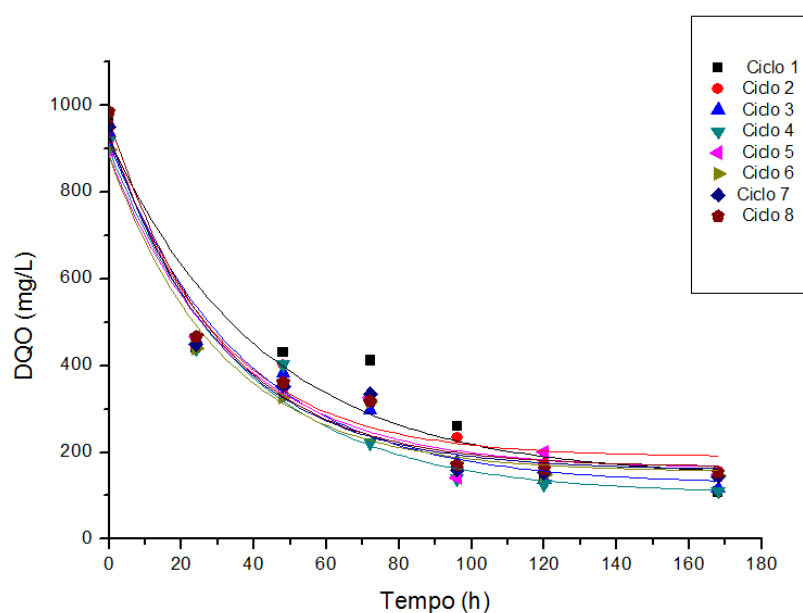
Tabela 25 - Parâmetros cinéticos do decaimento da DQO filtrada do RBS-AN e RBS-PHC em função do TDH de 168 h obtidos a partir do ajuste ao modelo de primeira ordem

CICLOS RBS-AN	k (h ⁻¹)	Remoção de DQO	Remoção de PQT	CICLOS RBS-PHC	k (h ⁻¹)	Remoção de DQO	Remoção de PQT
1	0,023	88,60%	58,20%	1	0,045	92,00%	70,60%
2	0,033	83,70%	61,50%	2	0,024	88,00%	68,40%
3	0,027	87,80%	69,40%	3	0,027	89,60%	60,00%
4	0,027	88,40%	71,10%	4	0,009	89,20%	59,30%
5	0,03	84,40%	63,40%	5	0,02	92,10%	60,30%
6	0,032	83,10%	65,90%	6	0,017	93,20%	63,60%
7	0,032	80,20%	63,00%	7	0,036	91,70%	61,60%
8	0,033	81,50%	73,80%	8	0,035	91,60%	71,40%
Média	0,03			Média	0,027		
Desvio padrão	0,003			Desvio padrão	0,011		

Fonte: Autora (2018).

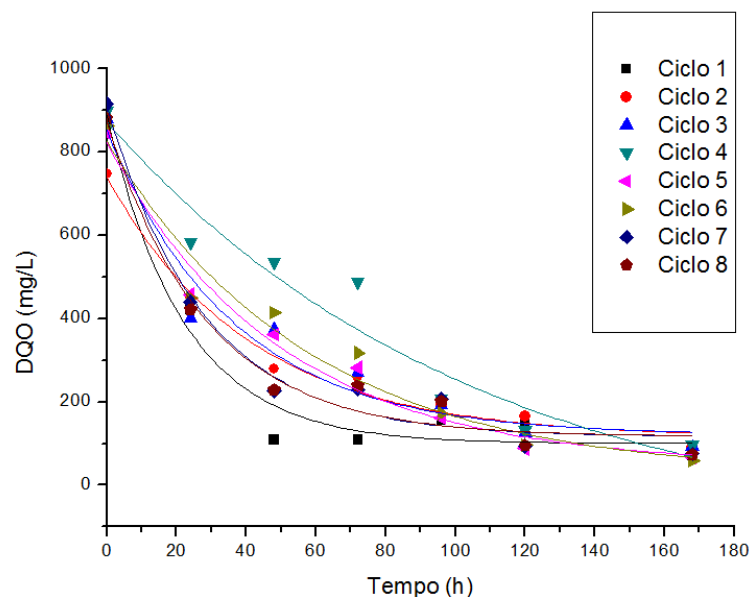
As curvas de decaimento ao longo de 168 h de tempo reacional estão apresentadas nas Figuras 40 e 41.

Figura 40 - Curvas de decaimento da DQO filtrada no reator RBS-AN em 168 h



Fonte: Autora (2018).

Figura 41 - Curvas de decaimento da DQO filtrada no reator RBS-PHC em 168 h



Fonte: Autora (2018).

A média da constante cinética de 1º ordem foi de $0,03 \pm 0,003 \text{ h}^{-1}$, no RBS-AN. Todos os 8 ciclos apresentaram perfis de curvas de decaimento quando plotado o gráfico cinético. Logo, o RBS-AN apresentou resultados expressivos na remoção do PQT, assim como na remoção da DQO. A média de remoção do PQT foi de $65,7 \pm 4,9\%$, sendo que no 8º ciclo houve a melhor remoção (73,8%), a eficiência média foi de $84,71 \pm 3,01\%$ e no 7º ciclo a melhor remoção foi de 80,2 %.

No RBS-PHC, apenas a curva do ciclo 4 não se enquadrou no perfil de decaimento, e a constante de decaimento do ciclo 4 não foi próxima ao dos demais ciclos. A média da constante cinética do RBS-PHC foi de $0,027 \pm 0,011 \text{ h}^{-1}$. As constantes cinéticas dos ciclos do RBS-PHC podem ser observadas na Tabela 27.

Todos os ciclos do RBS-AN e RBS-PHC estiveram com a concentração de DQO abaixo de 200 mg.L^{-1} , valor limite estipulado pela Superintendência Estadual do Meio Ambiente do Ceará – SEMACE em sua Resolução 154/2002 para lançamento de efluentes industriais em rede coletora (CEARÁ, 2002), demonstrando a eficiência do processo desta pesquisa, para a variável em tela.

Mendonça (2002), a fim de verificar a influência da temperatura na degradação da matéria orgânica em condições aeróbias, realizou ensaios cinéticos em batelada, simulando o processo de lodos ativados, nas temperaturas de 15, 20, 25 e 30°C. O efluente estudado era proveniente de um reator anaeróbio de leito expandido. O modelo que melhor representou a

cinética de degradação de matéria orgânica, na forma de DQO filtrada, foi o de primeira ordem tendo concluído que para as temperaturas estudadas os valores encontrados para as constantes cinéticas foram muito semelhantes, com valor médio de $0,021 \text{ h}^{-1}$ e 80% de remoção. Estes resultados corroboram com o do presente estudo já que o modelo cinético utilizado foi o de 1º ordem, a temperatura estava entre os valores estudados pelos autores citados e a constante cinética semelhante.

5.3.2 Teste de saturação do meio suporte

Neste teste, foi realizado um ensaio para verificar a quantidade de pesticida absorvido no meio suporte. Este ensaio foi realizado sem a interferência do fator biológico, por isso não houve adição dos fungos *Aspergillus niger* AN 400 e *Phanerochaete chrysosporium*. O resultado do teste de saturação está apresentado na Tabela 26.

Tabela 26– Teste de saturação do meio suporte

tempo (min)	Co (mg.L⁻¹)	Ce (mg.L⁻¹)	Co-Ce (mg.L⁻¹)	(Co-Ce) x V (mg)
0	1,3	1,3	0,0	0,00
1	1,3	1,1	0,2	0,80
2	1,3	0,9	0,4	1,60
3	1,3	1,3	0,0	0,00
Σ				2,40

Fonte: Autora (2018)

Verificou-se que o material suporte alcançou o ponto de saturação para o pesticida em 2 minutos, no qual resultou em uma capacidade máxima de 0,00240 g de paraquat em 15 g de espuma de poliuretano, ou seja, 0,00016 g de pesticida por grama de espuma de poliuretano.

Ao realizar a média do balanço de massa total de pesticida removido pelo sistema no tempo reacional de 168 h, verificou-se uma remoção média de 0,00518 g (colocar o desvio padrão) de pesticida. Considerando 15 g de material suporte no reator, haveria 0,000340 g de paraquat para cada grama do material suporte, valor este superior à capacidade de absorção da espuma de poliuretano que foi de 0,00016 g/g de espuma. Portanto, isso significa que a adsorção não foi o principal mecanismo de remoção do paraquat, comprovando que a remoção do pesticida ocorreu da ação fúngica presente nos reatores.

5.3.3 Teste de saturação na biomassa

Sobre o teste de saturação na biomassa do *Aspergillus niger* AN 400, observou-se que foram absorvidos 0,00105 g de paraquat para 13,1 g de biomassa total. Correspondendo a 1,9% de remoção via adsorção de paraquat. Com o *Phanerochaete chrysosporium*, observou-se que foram adsorvidos 0,00090 g de paraquat para 15,2 g de biomassa total. Correspondendo a 1,7% de remoção via adsorção de paraquat.

Os valores dos testes de saturação das duas biomassas foram inferiores quando comparados com os de remoções biológicas.

6 CONCLUSÕES

O *Phanerochaete chrysosporium*, nos reatores em batelada agitada com biomassa dispersa com adição de 3 g.L⁻¹ de sacarose, apresentou a melhor condição, quando comparado aos reatores inoculados com *Aspergillus niger* AN 400, com eficiência média de remoção do paraquat de 48,90 ± 0,01%. A contagem de colônias realizada comprovou que a presença dos fungos no meio foi predominante, mesmo com a presença de bactérias em menor quantidade.

No regime em bateladas sequenciais com biomassa imobilizada, ambos os fungos *Aspergillus niger* AN 400 e *Phanerochaete chrysosporium*, apresentaram eficiência média de remoção do paraquat de 65,7 ± 4,9% e 64,4 ± 4,6%, respectivamente.

A remoção de DQO nos reatores RBS-AN e RBS-PHC se mostraram de acordo com a Resolução do COEMA nº 2 de 2017, com remoções médias de 84,7 ± 3,0% e 90,0 ± 1,65%, respectivamente.

O teste de adsorção mostrou que o principal mecanismo de remoção do paraquat nos reatores em bateladas sequenciais decorreu da ação dos micro-organismos presentes nos reatores com biomassa imobilizada.

Com relação ao teste de toxicidade em placas e ao teste ecotoxicológico, foi possível observar que o paraquat na concentração de 30 mg.L⁻¹ apresentou-se como fator inibitório de desenvolvimento das hifas nas placas e das raízes das cebolas. Porém ao final do tratamento nos reatores em bateladas agitadas, as raízes que tiveram a menor inibição de crescimento corresponderam aos reatores que tiveram a maior remoção do poluente.

Portanto, ambos os fungos estudados apresentaram potencial de degradação do herbicida paraquat na água residual sintética. Porém, ainda há uma necessidade de buscar

novos tratamentos alternativos que visem uma maior eficiência de remoção deste poluente - PQT.

7 SUGESTÕES PARA FUTUROS TRABALHOS

São sugeridos os seguintes estudos para a continuidade do tema desenvolvido na presente pesquisa:

- Estudar outros tempos de reação nos reatores sequenciais;
- Utilizar outros meios suportes;
- Realizar ensaios com inoculação das duas espécies fúngicas juntas;
- Realizar experimentos com variadas concentrações de cossustratos nos reatores sequenciais;
- Estudar as atividades enzimáticas do *Aspergillus niger* AN 400 e *Phanerochaete chrysosporium*;
- Realizar ensaios em reator de fluxo contínuo;
- Após o tratamento biológico, realizar um pós-tratamento de adsorção com terras aditivadas.

REFERÊNCIAS

AGBOHESSI, P T. *et al.* Assessment of the health status of wild fish inhabiting a cotton basin heavily impacted by pesticides in Benin (West Africa). **Science of The Total Environment**, v. 506, p. 567–584, 2015.

Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Programa de análise de resíduos de agrotóxicos em alimentos**. Relatório Anual de 2009. Disponível em: <<http://www.anvisa.gov.br/institucional/anvisa/relatorios/relatorio2009/pdf/CDROM%20miolo%20relatorio%20Anvisa2007.pdf>>. Acesso em: 24 de mai. 2017.

Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Decreto 4074/02 regulamenta a Lei nº 7.802 de 11 de julho de 1989 que dispõe sobre assuntos relativos aos agrotóxicos, seus componentes e afins, e dá outras providências**. Disponível em: <<http://portal.anvisa.gov.br/wps/content/Anvisa+Portal/Anvisa/Inicio/Agrotoxicos+e+Toxicologia/Assuntos+de+Interesse/Legislacao/Legislacao+de+Agrotoxicos+Componentes+e+Afins/Decretos>>. Acesso em: 25 de mai. 2017.

ALMEIDA, R. M. **Desenvolvimento e aplicação das análises toxicológicas no diagnóstico e prognóstico da intoxicação aguda por paraquat e diquat**. Dissertação para o Departamento de Análises Clínicas e Toxicológicas. 2007. 106 f. Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade de São Paulo, 2007.

ANDRADE, M. **Biodegradação de corante têxtil por uso de reator biológico em bateladas sequenciais com biomassa imobilizada de *Phanerochaete chrysosporium***. Dissertação (Mestrado), Programa de pós-graduação em tecnologia e Gestão Ambiental, 95 p., 2013.

AMARO, P. A Protecção Integrada. **ISA/Press ed.** Lisboa: [s.n.], 2003.

ANDREI, E. **Compêndio de defensivos agrícolas: guia prático de produtos fitossanitários para uso agrícola**. 4 ed. São Paulo: Andrei Editora, 1993. 448 p.
AOAC: **association of official analytical chemists. official methods of analysis of aoac international**. 17th etd., AOAC International, Arlington, 2000.

ARTS, G.H.P.; BELGERS, J.D.M.; HOEKZEMA, C.H.; THISSEN, J.T.N.M. Sensitivity of submersed freshwater macrophytes and endpoints in laboratory toxicity tests. **Environ. Pollut.** 153, 199–206, 2008.

ARAÚJO, K. C. N. **Degradação de hidrocarbonetos por fungos filamentosos**. 2010. 62f. Monografia (Especialização) –Curso de Pós-graduação em Microbiologia da Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2010.

APOLINÁRIO, M.G. *et l.* Degradação de matéria orgânica de água sintética dopada com paraquat por fungo. **V Congresso Brasileiro de Gestão ambiental**, Belo horizonte, 2014.

AUGUSTO, L. G. S. Agrotóxicos: nuevos y viejos desafíos para la salud colectiva. **Salud**

colectiva. p. 5-8, 2012.

BÁEZ, A., PADILLA, H., GARCÍA, R., TORRES, M. C., ROSAS, L., BELMONT, R, Carbonyls levels in indoor and outdoor air in Mexico City and Xalapa, Mexico, **Sci. Total Environ.** v. p 302, 211-226, 2003.

BAIRD, C. Química ambiental. **Bookman ed.** Porto Alegre: [s.n.], 2011.

BAHALOO-HOREH, S.M. M., Enhanced recovery of valuable metals from spent lithium-ion batteries through optimization of organic acids produced by *Aspergillus niger*, **Waste Management**, v. 60, p. 666-679, 2017.

BARBOSA, D. B. P. **Degradação de atrazina em solo sob plantio direto aplicado em formulações de liberação controlada**. Tese (Doutorado) - Curso de Pós-graduação em ciências do solo, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 105p, 2013.

BARBOSA, B.C.A. **Micodegradação de metil paration e atrazina em matriz aquosa sintética utilizando aspergillus niger an 400**. Tese (Doutorado) - Curso de Pós-graduação em Engenharia civil - Saneamento ambiental, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 125p, 2016.

BASTOS, A.E.R. Agricultura e meio ambiente. **Scipione ed. São Paulo**: [s.n.], 1997.

BENEVIDES, J A J; SAMPAIO, G.M. M. S. Degradação de pesticidas por fungos - uma revisão. **HOLOS**, v. 2, p. 110, 20 abr. 2015.

BERNETH, L.; FIRTH, I.; MCALLISTER, P. & RHODES, S. Biotechnologies for remediation and pollution control in the mining industry. **Miner. Metall. Proc.** v. 17, p. 105–111, 2000.

BRAGA, I.F.A. Alterações Tireoidianas em Pacientes Expostos a Organoclorados. 2012. 120 f. Universidade Federal do Rio de Janeiro, 2012.

BRAGA, FR AND ARAÚJO, JV. Nematophagous fungi for biological control of gastrointestinal nematodes in domestic animals. **Applied Microbiology and Biotechnology**. 98, 71-82, 2014.

BRASIL. LEI Nº 7.802, de 11 de julho de 1989. Dispõe sobre assuntos relativos a agrotóxicos e seus componentes afins, e dá outras providências. Disponível em:<http://www.planalto.gov.br/ccivil_03/leis/17802.htm>. Acesso em: 16 de fev. 2017.

BRAIBANTE, E.M.F; ZAPPE, J.A. A Química dos Agrotóxicos QUÍMICA NOVA NA ESCOLA Química e Sociedade. **Química nova na escola**, v. 34, n. 1, p. 10–15, 2012.

BOGAN, B. W.; LAMAR, R. T. Polycyclic Aromatic Hydrocarbon- Degrading Capabilities of *Phanerochaete laevis* HHB-1625 and Its Extracellular Ligninolytic Enzymes. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 62 (5), p. 1597-1603, 1996.

CALVO, G. *et al.* Degradación de pesticida. (n.d)1998.

CARDOSO, M. L.; OLIVEIRA, H.; UETANABARO, A. P.; KAMIDA, H. Biodegradação de celulose e lignina por fungos: uma breve revisão. **Sitientibus Série Ciências biológicas**. V. 9 - N. 1, Janeiro-Março, 2009.

CARNEIRO, Fernando Ferreira *et al.* Dossiê ABRASCO: Um alerta sobre os impactos dos Agrotóxicos na Saúde. Rio de Janeiro: **World Nutrition**, 2015. 628 p.

CARTER, A. How pesticides get into water and proposed reduction measures. **Pestic Outlook**, v. 11, p. 149–56, 2000.

CASTILLO MDP, ANDER P, STENSTRÖM J, TORSTENSSON L. Degradation of the herbicide bentazon as related to enzyme production by *Phanerochaete chrysosporium* in two solid substrate fermentation systems. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, v. 16, n. 3, p. 289–295, 2000.

CASTILLO MDP, VON WIRÉN-LEHR S, SCHEUNERT I, TORSTENSSON L. Degradation of isoproturon by the white rot fungus *Phanerochaete chrysosporium*. **Biology and Fertility of Soils**, v. 33, n. 6, p. 521–528, 2001.

CHAMBRÉ D, IDITOIU C, SZABO M-R (2007) The reaction conditions influence on sucrose acid hydrolysis studied by means of the DSC method. **Journal of Thermal Analysis and Calorimetry** 88, 681–686.2007.

CHENG, H. H. Pesticides in the soil environment: Processes, impact and modeling. Madison. **Soil Science Society of America Books Series**. p.176, 1990.

COELHO-MOREIRA, J.S. Mini-curso : **Utilização de basidiomicetos na degradação de compostos recalcitrantes**. [S.d.].

CONAMA – Conselho Nacional do Meio Ambiente. RESOLUÇÃO n. 357, de 17 de março de 2005. Disponível em: < <http://www.mma.gov.br/port/conama/res/res05/res35705.pdf> > Acesso em: 07 mar. 2017.

COSTA e SILVA, L.V. *et al.* Tratamento de efluente sintético de laticínio em reatores em batelada inoculados com *Aspergillus niger* AN400. **Eng. Sanit Ambient.** v.18, n.4, 2013

COSTA, F. L. F.; ROHLFS, D. B. **Resíduos de agrotóxicos em alimentos: implicações para saúde pública e meio ambiente**. 2011. Pontifícia Universidade Católica de Goiás, 2011.

COURI, S. ; DAMASO, M. C. T. **Enzimas intracelulares e extracelulares**. EMBRAPA-AGEITEC, 2016

CURTIS, M J; DONALD, D a; RIDD, M. Determination of Sucrose and Glucose in Sugarcane Using a Glucose Biosensor. **Proc Aust Soc Sugar Cane Technol**, v. 34, p. 1–11, 2012.

DAVIES, J., *et al.* Herbicide risk assessment for non-target aquatic plants: sulfosulfuron – a case study. **Pest. Manag. Sci.** 59, 231–237.2013

DELLAMATRICE, P.M, COSTA, L.S, MARQUES, A.S, VIANA,M.S, ARAÚJO, R.S. Degradação de agrotóxicos por fungos basidiomicetos em solo agrícola contendo altos níveis de três produtos diferentes. **Pesticidas: r. ecotoxicol. e meio ambiente**, Curitiba, v. 22, p. 7-16, jan./dez. 2012

DINIZ, G.F. **Emprego de fungos na descoloração e redução da toxicidade de corantes têxteis.Trabalho de final de curso** (Curso de graduação em Engenharia Agrônoma). Universidade de são João del rei, sete lagoas. (2015)

DOREA, H.S; LANC, F.M. Matrix Solid-Phase Dispersion Extraction of Organophosphorus and Synthetic Pyrethroid Pesticides in Cashew Nut and Passion Fruit. **J. Microcolumn Separations**, v. 11, p. 367–375, 1999.

DOREA, E.F.G.C. **Contaminação de águas superficiais e subterrâneas por pesticidas em Primavera do Leste, Mato Grosso**. Tese (Doutorado em química) Instituto de química da universidade Estadual Paulista.2004

EDWARDS, C.A. **Persistent pesticides in the environment**. 2. ed. U.S.A.: CRC Press, 1973, 170p.

EL-RAHIM, W. M. A.; EL-ARDY; O. A., MOHAMMAD, F. H. A. The effect of pH on bioremediation potential for the removal of direct violet textile dye by *Aspergillus niger*. **Desalination**, v.249, p.1206-1211, 2009.

EMBRAPA. Produção de Sementes Sadias de Feijão Comum em Várzeas Tropicais. Embrapa Arroz e Feijão , 2004. No.4 ISSN 1679-8869 Versão eletrônica. Disponível em: <<http://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/Feijao/FeijaoVarzeaTropical/agrotoxicos.htm>>. Acesso em: 18 fev. 2017

EMBRAPA. **Determinação de açúcares redutores pelo ácido 3, 5-dinitrosalicílico: histórico do desenvolvimento do método e estabelecimento de um protocolo para o laboratório de bioprocessos**. Fortaleza: Embrapa Agroindústria Tropical, 2013.

ESPOSITO, E.; AZEVEDO, J.L. Fungos: uma introdução à biologia, bioquímica e biotecnologia. **2a edição** ed. [S.l.]: EDUCS, 2010.

ETO, M. Organophosphorus pesticides: organic and biological chemistry,. **Cleveland**: [s.n.], 1997.

FÁBREGA, F. M. Cálculo de Reatores I. (Apostila) Curso de Engenharia Química. 1. Ed. 2012. Jundiaí – SP

FAY, E.F. Agrotóxicos e ambiente. Brasília: Embrapa Informação Tecnológica, 2004.

FERNANDEZ, J.A., HENAO, L.M., PEDROZA-RODRÍGUEZ, A.M., QUEVEDO-HIDALGO, B. Inmovilización de hongos ligninolíticos para la remoción del colorante negro reactivo 5. **Rev. Colomb. Biotecnol.** v. 6, p. 59-72, 2009.

FENIK, J., TANKIEWICZ, M., BIZIUK, M. Properties and determination of pesticides in fruits and vegetables. **Trends in Analytical Chemistry**, v. 30, n. 6, p. 814–826, 2001.

FICHA INTERNACIONALES DE SEGURIDADE QUÍMICA – PARAQUAT. Programa internacional de seguridade de las substancias químicas. ICSC:0005, Oct, 2001.

FILHO, M.A.M. Avaliação do potencial biotecnológico de *phanerochaete chrysosporium* ucp 963 e *cunninghamella elegans* ucp 596 na remoção de cobre e zinco. 74 f. Dissertação (Mestrado em biologia dos fungos) Universidade Federal de Pernambuco, 2005.

FISKESJÖ, G *et al.* The Allium Test as Standard in Environmental Monitoring. **Here- ditas** v.102: p.99-112, 1985.

———. The Allium Test in Wastewater Monitoring. **Environmental Toxicology and Water Quality** v.8: p.291-298, 1993.

———. Allium Test for Screening Chemicals; Evaluation of Cytological Parame- ters. En: W. Wancheng, J. W. Gorsuch y J. S. Hughes (eds.). **Plants for Environmental Studies**. CRC Press, Florida, pp. 308-329, 1997.

FRATILA-APACHITEI LE, HIRST JA, SIEBEL MA, GIJZEN HJ. Diuron degradation by *Phanerochaete chrysosporium* BKM-F-1767 in synthetic and natural media . **Biotechnology Letters**, 21, 147–154, 1999.

FREITAS, A.; COSTA, A.; PEREIRA, R.; ANTUNES, S.; GONÇALVES, F.; ROCHA-SANTOS, T.; DINIZ, M.; CASTRO, L.; PERES, I.; DUARTE, A. Biological treatment of the effluent from a bleached kraft pulp mill using basidiomycete and zygomycete fungi. **Science of the Total Environment**, v. 47, p. 3282- 3289, 2009 .

FREITAS, L. M.C. BARBOSA, B. C. A. RODRIGUES, K. MARINHO, G. Emprego de *Aspergillus niger* AN 400 em reatores de bancada para remover pesticida de matriz aquosa. *Eng. Sanit. Ambient.* [online]. 2017, vol.22, n.6, pp.1175-1185. Epub Apr 20, 2017.

FOGLER, S. C., **Elementos de Engenharia das Reações Químicas**, 3ª ed., Editora LTC, 2002.

FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS - FAO. Codex alimentarius. 2 ed. Roma, vol. 2, 495 p. 1994.

FORMOSINHO, S.J. **Fundamentos de cinética química**. Lisboa: Fundação Calouste Gulbenkian, 1982. P 15-47.

FORNARI, ERNANI. Manual prático de agroecologia. **Aquariana ed. São Paulo:** [s.n.], 2002.

GALVÃO, V. *et al.*. Modelagem do complexo enzima-substrato da sacarose. XXXI Encontro Nacional de Física da Matéria Condensada .(2008)

GARCIA, J.C; SIMIONATO, J.I; ALMEIDA, V.C; PALÁCIO, S.M; ROSSI, F.L; SCHNEIDER, M.V; SOUZA, N.E. Evolutive Follow-up of the Photocatalytic Degradation of Real Textile Effluents in TiO₂ and TiO₂/H₂O₂ Systems and their Toxic Effects on *Lactuca sativa* Seedlings. **Journal Brazilian Chemical Society**, São Paulo, v.20, n.9, 2009.

GARCIA, I. G. *et al.* Removal of phenol compounds from olive Mill wastewater using *Phanerochaete chrysosporium*, *Aspergillus niger*, *Aspergillus terreus* and *Geotrichum candidum*. **Process Biochemistry**, v. 35, p. 751-758. 2000.

GELLER, R. Paraquat and diquat. olson, K.R; ED. **Poisoning & drug overdose**, p. 297–299, 2007.

GRANT, W. F. Chromosome aberration assays in *Allium*, a report of the U.S. Environmental Protection Agency Gene-Tox Program. **Mutation Research**, n.99, p. 273-291, 1982.

GRIFFIN, D. H. Fungal physiology. 2 nd ed. New York. Wiley-Liss, 1994. 458p.

GUILHERME, L. R. G.; SILVA, M. L. N.; LIMA, J. M. DE; RIGITANO, R. L. de O. Contaminação de microbacia hidrográfica pelo uso de pesticidas. **Informe Agropecuário**, v. 21, n. 207, p. 40–50, 2000.

HAMED, S.A.M. In-vitro studies on wood degradation in soil by soft-rot fungi: *Aspergillus niger* and *Penicillium chrysogenum*. **International Biodeterioration & Biodegradation**, v. 78, p. 98–102, 2013.

HAN, H. ZHAO, Q.; HOU, B. ZHUANG, H.; JIA, S.; FANG F. Nitrogen removal from coal gasification wastewater by activated carbon technologies combined with short-cut nitrogen removal process. **Journal of environmental sciences**, 2014.

HARBHAJAN, S. **Mycoremediation : fungal bioremediation**. New Jersey: [s.n.], 2006.

HAVENS, P. L.; SIMS, G. K.; ERHARDT-ZABIK, S. Fate of herbicides in the environment. In: SMITH, A. E. (Ed.) Handbook of weed management systems. New York: **H. Wiley & Sons**, p. 245-278.1995.

HONORÉ, P *et al.* Paraquat poisoning: State of the Art. **Acta clinica Belgica**, v. 49, n. 5, 1994.

HUANG, Z., CHEN, G *et al.* Toxicity mechanisms and synergies of silver nanoparticles in 2,4-dichlorophenol degradation by *Phanerochaete chrysosporium*, **Journal of Hazardous Materials**, v. 321, p. 37-46, 2017.

JERNEJC, K; LEGIŠA, M. A drop of intracellular pH stimulates citric acid accumulation by some strains of *Aspergillus niger*. **Journal of Biotechnology**, v. 112, n. 3, p. 289–297, 2004.

JESUS, J.T.A. **Degradación de los plaguicidas endosulfán y malatión por cepas bacterianas aisladas de suelo agrícola**. 2014. 84 f. Dissertação do programa de ciências ambientais. Universidade veracruzana, 2014.

JORDÃO, E. P.; PESSOA, C. A. **Tratamento de esgotos domésticos**. 3. ed. Rio de Janeiro: ABES, 1995

KRISHNA, C. 2005. Solid-state fermentation systems - an overview. **Critical Reviews in Biotechnology** 25: 1–30.

KRÜGER, R.A. **Análise da Toxicidade e da Genotoxicidade de agrotóxicos utilizados na agricultura utilizando bioensaios com *Allium cepa***. Dissertação do Programa de Pós-Graduação em Qualidade Ambiental como requisito para a obtenção do título de mestre em Qualidade Ambiental. 2009. 58 f. Centro Universitário Feevale, 2009.

KUSSUMI, T.A. **Desenvolvimento de Método Multirresíduo Para Determinação de Pesticidas Benzimidazóis, Carbamatos e Triazinas em Milho por Cromatografia Líquida Aacoplada à Espectometria de Massas em Tandem e sua Certificação**. 2007. 152 f. Universidade de São Paulo, 2007.

KYRIACOU, A. *et al.* Combined bioremediation and advanced oxidation of green table olive processing wastewater. **Process Biochemistry**, v. 40, n. 3–4, p. 1401–1408, mar. 2005. Disponível em: <<http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0032959204002134>>. Acesso em: 8 jul. 2017.

LACASANÃ, M.; LOPES-FLORES, I.; RODRIGUEZ-BARRANCO, M.; AGUILLAR-GARDUÑO, C.; MUÑOZ-BLANCO, J.; PÉREZ-MÉNDEZ, O. Association between organophosphate pesticides exposure and thyroid hormones in floriculture workers. **Toxicology and Applied Pharmacology**, v. 243, p. 19–26, 2010.

LARA W.H.; BATISTA, G.C. Pesticidas. **Química Nova**, v. 15, p. 161–166, 1992.

LARINI, L. Toxicologia dos praguicidas. Manole LTD ed. São Paulo: [s.n.], 1999.

LATIFI, A.M *et al.* Isolation and characterization of five chlorpyrifos degrading bacteria. **African Journal of Biotechnology**, [s.l.], v. 11, n.13, p. 3140–3146, 2012.

LEDOUX, M. Analytical methods applied to the determination of pesticide residues in foods of animal origin. A review of the past two decades. **Journal of Chromatography A**, v. 1218, n. 8, p. 1021–1036, fev. 2011.

LEE, A.K.; LEWIS, D.M.; ASHMAN P.J. Disruption of microalgal cells for the extraction of lipids for biofuels: processes and specific energy requirements. **Biomass Bioenergy**, v. 46, p. 89–101, 2012.

LEME, D. M.; MARIN, M. A. M. *Allium cepa* test in environmental monitoring: A review on its application. **Mutation Research**, v. 682, p.71–81, 2009

LEVENSPIEL, O. (2000). **Engenharia das Reações Químicas**. 3ª edição. Edgard Blücher, São Paulo

LIMA, L. L; CUNHA, R. M; CARDOSO, L. 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* AN 400. Congresso Norte e Nordeste de pesquisa e inovação - CONNEPI. 2012.

LONDRES, F. Agrotóxicos no Brasil: uma guia para a ação da vida. **AS-PTA – A ed.** Rio

de Janeiro: [s.n.], 2011.

MAC LOUGHLIN, T., PELUSO, L., MARINO, D. Pesticide impact study in the peri-urban horticultural area of Gran la Plata, Argentina. **Science of the total environment**. v. 598, pp. 572-580. 2017

MARASCHIN, L. **Avaliação do Grau de Contaminação por Pesticidas nas Água dos principais rios formadores do Pantanal Mato-Grossense**. 88 f. Universidade Federal de Mato Grosso, Cuiabá, 2003.

MARINHO, C.O. **Biodegradação de corante de efluente têxtil sintético por aspergillus niger an 400 em reator de escoamento contínuo**. 96 f. Dissertação (mestrado em tecnologia e gestão ambiental) IFCE. 2015

MARINHO, G.; Barbosa, B. C. A.; Rodrigues, K.; Aquino, M.; Pereira, Luciana, Potential of the filamentous fungus *Aspergillus niger* AN 400 to degrade Atrazine in wastewaters. **Biocatalysis and Agricultural Biotechnology**, v.9, p.162-167, 2017

MARTINS, T. Herbicida Paraquat: conceitos, modo de ação e doenças relacionadas. Semina: **Ciências Biológicas e da Saúde**, v. 34, n. 2, p. 175, 2013.

MATIAS, O.; MARTINS, P, *Biologia 12*, Areal Editores, Porto, Portugal, 2012.

MELO, I. P. DE; LOPES, M.; WANDERLEY, C. R. P.; SILVA, G. M. M.; RODRIGUES, K. DE A. Remoção de Nutrientes e Matéria Orgânica por *Aspergillus niger* AN 400 no Tratamento de Água Residuária Sintética. In: XVII SIMPÓSIO NACIONAL DE BIOPROCESSOS, Anais... Natal: UFRN, 2009.

MENDONÇA, L.C. **Microbiologia e cinética de sistema de lodos ativados como pós-tratamento de efluente de reator anaeróbico de leito expandido**. 217p. Tese (Doutorado em Engenharia Civil) – Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade Federal de São Paulo, São Carlos, 2002.

MENTEM, J .O. **Evolução do consumo de agrotóxicos no Brasil 2003-2007**. . [S.l: s.n.], 2008.

MÉXICO. Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales (Semarnat). Ensayos toxicológicos para la evaluación de sustancias químicas en agua y suelo. La experiencia en México. Patricia Ramírez Romero y Ania Mendoza Cantú (Compiladoras). Delegación Tlalpan, México, D. F. 2008.

MIRANDA, M. P. Color elimination from molasses wastewater by *Aspergillus niger*. **Bioresource Technology**. v. 57, p.229-235. 1996.

MOJOVIĆ, Z.; NKOVIĆ, P.; MILUTINOVIĆ-NIKOLIĆ, A.; DOSTANIĆ, J.; JOVIĆ-MOMANI, A.; FARES, S. A.; AHMAD T. Photocatalytic treatment of water soluble pesticide by advanced oxidation technologies using UV light and solar energy. **Solar Energy** v. 84 p.1157–1165, 2010.

MORALES-FONSECA, D. *et al.* Desarrollo de un bioadsorbente laminar con *Phanerochaete chrysosporium* hipertolerante al cadmio, al níquel y al plomo para el tratamiento de aguas. **Revista Iberoamericana de Micología**. 2010.

MORE, T. *et al.* Potencial use of filamentous fungi for wastewater sludge treatment. **Bioresource Technology**, [s.l.], v. 101, n.20, p. 7691-7700, 2010.

MOREIRA, J.C. Avaliação integrada do impacto do uso de agrotóxicos sobre a saúde humana em uma comunidade agrícola de Nova Friburgo, RJ. **Ciência e Saúde Coletiva**, v. 7, p. 299–311, 2002.

MOUGIN C, BOYER FD, CAMINADE E, RAMA R. Cleavage of the diketone nitrile derivative of the herbicide isoxaflutole by extracellular fungal oxidases (2000). **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, 48 (10), 4529- 453.

NIELSEN, J. Modelling the growth of filamentous fungi. **Advances in Biochemical Engineering/Biotechnology**, v. 46, p. 187–223, 1992.

NIMMO, D.R. Pesticides. In: RAND, G.M. & PETROCELLI, S.R., (Ed.). Fundamentals of aquatic toxicology: methods and applications, New York: **Hemisphere**, 1985. p. 335-373.

NORDBORG, M., DAVIS, J., CEDERBERG, C., WOODHOUSE, A. Freshwater ecotoxicity impacts from pesticide use in animal and vegetable foods produced in Sweden. *Science of the total environment*. v.581-582, pp. 448-459. 2017.

OLIVEIRA, R. SILVA, S. Manual de análises físico-químicas de águas de abastecimento e residuais. DEC/CCT/UFGP, Campina Grande, 2001. 270p.

ORGANIZATION FOR ECONOMIC COOPERATION AND DEVELOPMENT; FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS. Agricultural Outlook 2010-2019. Disponível em: <<http://www.agri-outlook.org/dataoecd/13/13/45438527.pdf>>. Acesso em: 20 fev. 2017.

PAMBOUKIAN, C. R. D. **Influência das condições de preparo do inóculo na morfologia do micro-organismo e na síntese de glicoamilase por *Aspergillus Awamori***. 1997. 189 f. Escola Politécnica de São Paulo, 1997.

PAPAGIANNI, M. Fungal morphology and metabolite production in submerged mycelial processes. *Biotechnology Advances*, v. 22, n. 3, p. 189–259, 2004. PARAQUAT. In: ROEDE, J.R.; MILLER, G. W. **Encyclopedia of Toxicology**. [S.l.: s.n.], 2014. p. 756–758.

PATUSSI, C; BÜNDCHEN, M. Avaliação in situ da genotoxicidade de triazinas utilizando o bioensaio Trad-SHM de Tradescantia clone 4430. . **Ciência & Saúde Coletiva**, v. 4, n. 18, p. 1173–1178, 2014.

PAULINO, R.S. *et al.* Utilização de *aspergillus niger* an 400 como inóculo de reatores em batelada agitada para biodegradação de água residual sintética contaminada com metil paration. **V Congresso Brasileiro de Gestão Ambiental**. Belo Horizonte/MG – 2014.

PAWLOWSKY, U. *et al.* Tratabilidade de efluentes de produção de pesticidas. In: 19º Congresso Brasileiro de Engenharia Sanitária e Ambiental, Fóz do Iguaçu: **ABES**, p. 793-802, 1997.

PEDROSA, R.C. **Determinação de paraquat em material biológico e alimentos**. São Paulo, 94p. Dissertação de Mestrado – Faculdade de Ciências Farmacêuticas - Universidade de São Paulo, 1984.

PELCZAR JR, M. J.; CHAN, E. C. S.; KRIEG, N. R. Microbiologia. Microbiologia. **Makron Boo** ed. [S.l: s.n.], 1997. p. 166–183.

PERES, F.; MOREIRA, J.C. É veneno ou remédio? Agrotóxicos, saúde e ambiente. Editora **Fi ed**. Rio de Janeiro: [s.n.], 2003.

PEIXOTO, F. P. R. **Tratamento de água residuária têxtil in natura por aspergillus niger AN 400 com o uso de etanol como cossubstrato**. Dissertação de Mestrado (Programa de Pós- Graduação em Tecnologia e Gestão Ambiental). 92f. Fortaleza – 2014

PIMENTEL, M. F. **Análise ecotoxicológica do efluente da indústria de beneficiamento da castanha de caju antes e após tratamento em reator aeróbio inoculado com fungos**. 70f. Dissertação (Mestrado em Ciencias Marinahs Tropicais) - Instituto de Ciencais do Mar, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2008.

PINHEIRO, Z. B., DAMASCENO, E. P., SILVA, G. M. M., RODRIGUES, K. SAMPAIO, G. M. M. S. Degradação de fenol por *Aspergillus niger* AN400 em reatores em batelada. Congresso de Pesquisa e Inovação da rede Norte Nordeste de Educação Tecnológica – **CONNEPI**, 2007.

PIZZUTTI, I. R. *et al.* Determination of paraquat and diquat: LC-MS method optimization and validation. **Food Chemistry**, v. 209, p. 248–255, out. 2016.

POINTING, S. B. Feasibility of bioremediation by white-rot fungi. **Applied Microbiology and Biotechnology** v.57, p. 20–33, 2001.

PRENAFETA BOLDU, F.X. **Growth of fungi on volatile aromatic hydrocarbons: environmental technology perspectives**. Thesis (Wageningen University). Wageningen, 2002.

PROCÓPIO, S.O. *et al.* Toxicidade de herbicidas utilizados na cultura da cana-de- açúcar à bactéria diazotrófica *azospirillum brasilense*. **Erva daninha**, v. 29, p. 1079–1089, 2011.

PURISAI, M. G.; McCORMACK, A. L.; CUMINE, S.; LI, J.; ISLA, M. Z.; Di MONTE, D. A. Microglial activation as a priming event leading to paraquat-induced dopaminergic cell degeneration. **Neurobiology of Disease**, Oxford, v. 25, n. 2, p. 392– 400, fev. 2007

QUISPE, P.R. CARVALHO, R.J. (2010) Degradación del pesticida paraquat a través del proceso de ozonización. Revista CENIC. **Ciencias Químicas**, vol. 41, 2010, pp. 1-11

RASOULNIA, P.; MOUSAVI, S.M. Maximization of organic acids production by *Aspergillus niger* in a bubble column bioreactor for V and Ni recovery enhancement from power plant residual ash in spent-medium bioleaching experiments. **Bioresource**

Technology, v. 216, p. 729–736, 2016.

REDDY, G. V. B., GELPKKE, M. D. S. & GOLD, M. H. Degradation of 2,4,6-trichlorophenol by *Phanerochaete chrysosporium*: Involvement of Reductive Dechlorination. **Journal of Bacteriology**. v.180, n.19, p.5159–5164, 1998.

REDDY, G. V. B & GOLD, M. H. Degradation of pentachlorophenol by *Phanerochaete chrysosporium*: intermediates and reactions involved. **Microbiology** v.146, p. 405–413, 2000.

REYNA L. *et al.* Producción de enzimas ligninolíticas durante la degradación del herbicida paraquat por hongos de la pudrición blanca. **Revista Argentina de Microbiología**, v. 49, n. 2, p. 189–196, 2017.

RIBERO, M. L. *et al.* Contaminação de águas subterrâneas por pesticidas: avaliação preliminar. **Química Nova**, v. 30, n. 3, p. 688–694, 2007.

RIVEROS, A. C. R.; PESSOLATO, A. G. T. ; PALOMINO-RODRIGUEZ, M. G. ; MARIA, D. A. Análise de pesticidas por espectrometria de massas acoplada a cromatografia gasosa (CG-EM). **Enciclopédia Biosfera**, v. 8, p. 2008–2018, 2012.

ROBERTS, D.W., KNUTESON, J.A., JACKSON, R., (2003) In Pesticide in air, plant, soil, and water system. Proc. XII Symp. **Pesticide Chemistry Piacenza**, Italy, 43, 349–357.

RODRIGUES, K. **Uso de reatores biológicos com fungos para remoção de fenol de água residuária sintética**. Tese (Doutorado em Engenharia Civil, área de concentração em hidráulica e Saneamento) - Escola de engenharia de são Carlos, Universidade de São Paulo, .2006. Universidade de São Paulo, Brasil, 2006.

RODRIGUES, K.; VIDAL, C. B.; ARBOSA, B. C. A.; PESSOA-WANDERLEY, C. R.; DUARTE, I. C. S.; MARINHO, G. Viabilidade do tratamento de água residuária sintética têxtil em reator aeróbio de leito fixo. **Engenharia Sanitária e Ambiental**, v. 15, n. 1, p. 99–106, 2010.

RODRIGUES, K.; MARINHO, G. Fungos e Águas Residuárias Industriais: uma nova tecnologia. Fortaleza, **Editora Imprima**, 2012, 414p.

RODRIGUES, G.N. **Bio transformação do pesticida metil paration por fungos isolados da ascídia *didemnum ligulum***. 105f. Dissertação (Mestrado em ecologia e recursos naturais) - Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, 2013.

ROEDE, J.R.; MILLER, G. W. (2014) Paraquat. **Encyclopedia of Toxicology**, p. 756-758

SALVI, M.B. Fungos basidiomicetos em biorremediação. Curso de capacitação de monitores e educadores. **Instituto de botânica de são paulo**, 2011.

SANTAELLA, S. T.; JÚNIOR, F.; GADELHA, D.; COSTA, K.; AGUIAR, R.; ARTHAUD, I.; I.; LEITÃO, R. C. Tratamento de efluentes de refinaria de petróleo em reatores com *Aspergillus niger*. **Engenharia Sanitária Ambiental**, v.14, n.1, p.139-148, 2009

SANTOS, G.C. **Análise comparativa da capacidade de remoção do corante direct blue 71 em solução pelos fungos *phanerochaete chrysosporium* e *aspergillus oryzae***. 119 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Biológicas). Universidade Estadual Paulista, 2011.

SANTOS, A, D, O. SOUZA, A,M,X. BARRETO, I, N. WANDERLEY, C,R,P.MARINHO,G. RODRIGUES, K. Degradação de índigo carmim em reator em bateladas sequenciais com *aspergillus niger* an 400 no tratamento de água residuária têxtil *in natura*. **AIDIS**, v.8, pp. 328-343, 2015.

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.

SANT’ANNA JR., G. L. Tratamento biológico de efluentes: fundamentos e aplicações. 418p. Rio de Janeiro: **Interciência**, 2010.

SAUR, L.; RODRIGUES, M. F.; NIQUE, P. S.; MULLER, C.; BAGATINI, P. B.; VIANNA, M. R. M. R.; XAVIER, L. L. Efeitos do envelhecimento na atividade locomotora de *Drosophila melanogaster* como modelo de Parkinsonismo. **Salão de iniciação científica- Pontifícia Universidade do Rio Grande do Sul**, p. 283–285, 2009.

SCHNOOR, J. L. Chemical fate and transport in the environment. In: SCHNOOR, J. L. (Ed.). Fate of pesticides & chemicals in the environment. New York: **John Wiley & Sons**, 1992. 436 p.

SERRA, A; DOMINGOS, F; PRATA, M.M. Paraquat intoxication. **Acta Médica Portuguesa**, v. 16, n. 1, p. 25–32, 2003.

SHIM, S. S. & KAWAMOTO, K. Enzyme production activity of *Phanerochaete chrysosporium* and degradation of pentachlorophenol in a bioreactor. **Water Research**. v.36, p. 4445–4454. 2002.

SILVA, G. B. BOTELHO, M. I. V.. O processo histórico da modernização da agricultura no Brasil (1960-1979). *Revista de geografia agrária*,[s.l], v. 9, n. 17, p. 362-387, 2014.

SILVA, M.; ESPOSITO, E. O papel dos fungos na recuperação ambiental. In: ESPOSITO, E.; AZEVEDO, J. (Orgs). *Fungos: uma introdução à biologia, bioquímica e biotecnologia*. Caxias do Sul : EDUCS, p. 337-375, 2010.

SILVA, C. M. M. D. S.; FAY, E. F. Agrotóxicos e meio ambiente. Brasília: **EMBRAPA** Informação Tecnológica, p.400, 2004.

SILVA, J. M.; NOVATO-SILVA, E.; FARIA, H. P.; PINHEIRO, T. Agrotóxico e trabalho: uma combinação perigosa para a saúde do trabalhador rural. **Ciência & Saude Colectiva**, v. 10, p. 891–903, 2005.

SILVA, K. M. L. **Tratamento de efluente têxtil in natura por *Aspergillus níger* AN 400 inoculado em reator em bateladas sequenciais**. Dissertação (Mestrado em Tecnologia e

Gestão Ambiental). Programa de Pós-Graduação em Tecnologia e Gestão Ambiental do Instituto Federal do Ceará – PGTGA/IFCE, 2012.

SILVA, L. V. C. **Tratamento aeróbio de efluente sintético de laticínio usando reatores inoculados com fungos *Aspergillus niger* AN 400**. Dissertação (Mestrado em Tecnologia e Gestão Ambiental). Programa de Pós-Graduação em Tecnologia e Gestão Ambiental do Instituto Federal do Ceará – PGTGA/IFCE, 2010.

SILVA, L.C. **Degradação biológica de paraquat em reatores em bateladas por biomassa fúngica** Dissertação (Mestrado em Tecnologia e Gestão Ambiental). Programa de Pós-Graduação em Tecnologia e Gestão Ambiental do Instituto Federal do Ceará – PGTGA/IFCE, 2015.

SILVEIRA, R. B. **Degradação do 2,4 – Dinitrofenol (2,4-DNF) por *Aspergillus niger* AN 400 em reatores bateladas**. Dissertação (Mestrado em Tecnologia e Gestão Ambiental). 130. Programa de Pós-Graduação em Tecnologia e Gestão Ambiental do Instituto Federal do Ceará – PGTGA/IFCE, 2014.

SOARES, F. E. F. **Produção, purificação e identificação de enzimas extracelulares de fungos nematófagos e suas atividades nematocidas**. 128f. Tese (Doutorado em bioquímica agrícola), Universidade Federal de Viçosa, 2014.

SOLOMON, K.R. Chemistry of pesticides. **Pesticide Biochemistry and Physiology**, v. 21, n. 2, p. 290, abr. 1984. Disponível em: <<http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/004835758490066X>>. Acesso em: 16 fev. 2017.

SONDHIA, S. *et al.* Biodegradation of the herbicide penoxsulam (triazolopyrimidine sulphonamide) by fungal strains of *Aspergillus* in soil. **Applied Soil Ecology**, v. 105, p. 196–206, set. 2016. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.apsoil.2016.03.010>>.

SOROLLA, M G *et al.* Photocatalytic degradation of paraquat using nano-sized Cu-TiO₂ / SBA-15 under UV and visible light. **Journal of Environmental Sciences**, v. 24, n. 6, p. 1125–1132, 2012. Disponível em: <[http://dx.doi.org/10.1016/S1001-0742\(11\)60874-7](http://dx.doi.org/10.1016/S1001-0742(11)60874-7)>.

SOUZA NETO, A. **Remoção de matéria orgânica em matriz aquosa dopada com os pesticidas atrazina, metil paration, paraquat e deltametrina empregando reatores em batelada inoculados com *Aspergillus niger* AN 400**. Dissertação (Mestrado) – Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Ceará, Fortaleza. 2012

TOMITA RY, BEYRUTH Z. Toxicologia de agrotóxicos em ambiente aquático. **Biológico**. v.64, p.135-42, 2002.

TORQUEMADA, R.A *et al.* Biologia e sistemática de fungos, algas e briófitas. Universita **ed. João Pessoa**: [s.n.], 2011.

TORTELLA, G. R., DIEZ, M. C. & DURÁN, N. 2005. Fungal Diversity and Use in Decomposition of Environmental Pollutants. **Critical Reviews in Microbiology** v.31, p. 197–212. 2005.

TRABULSI, L.R.; ALTERTHUM, F.; GOMTERTZ, O.; SCANDEIAS, J.A.N. Microbiologia. [S.l.]: **Editora Ateneu**, 1999.

VALE, M. S. **Remoção de cromo e zinco por *Aspergillus Níger***. 2010. 120 f. Tese (Doutorado em Engenharia Civil: Saneamento Ambiental) – Centro de Tecnologia, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2010.

VANCONDIO, B. **Biodegradação do pesticida pentaclorofenol por uma linhagem de fungo marinho isolado da ascídia *Didemnum ligulum***. 2014. 96 f. Dissertação (Mestrado) – Curso de Pós-Graduação em Ecologia e Recursos Naturais, Universidade Federal de São Carlos, São Carlos-SP, 2014.

VAN LEEUWEN, J. *et al.* Fungal Treatment of Crop Processing Wastewaters with Value-Added Co-Products. **Sustainable Bioenergy and Bioproducts, Green Energy and Technology**,. [S.l: s.n.], 2012. p. 13–44.

VANDENBERGHE, L.P.S. *et al.* Production and Application of Citric Acid. **Current Developments in Biotechnology and Bioengineering**. [S.l.]: Elsevier, 2017. p. 557–575. Disponível em: <<http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/B9780444636621000257>>. Acesso em: 25 mar. 2017.

VEIGA, M. M.; SILVA, D. M.; VEIGA, L. B. E.; FARIA, M. V. C. Análise da contaminação dos sistemas hídricos por agrotóxicos numa pequena comunidade rural do Sudeste do Brasil. **Caderno de Saúde Pública**, v. 22, p. 2391-2399, 2006

VIDAL, R. A. **Herbicidas: mecanismos de ação e resistência de plantas**. Porto Alegre: Palotti, 1997.

VINHAL, Jonas O. *et al.* Modeling, kinetic, and equilibrium characterization of paraquat adsorption onto polyurethane foam using the ion-pairing technique. **Journal of Environmental Management**, v. 156, p. 200–208, jun. 2015.

VON SPERLING, M. Princípios do tratamento biológico de águas residuárias. Vol. 1: Introdução à qualidade das águas e ao tratamento de esgotos. **Departamento de Engenharia Sanitária e Ambiental - UFMG**. 3a ed., 2005, 452 p.

WANDERLEY, C. R. P. ***Aspergillus niger* AN 400 como inóculo de reatores em batelada para remoção do corante vermelho do congo em meio aquoso sintético**. 71f. Dissertação (Mestre em Engenharia Civil, área de concentração em Saneamento Ambiental). Universidade Federal de Ceará, 2007.

WAINWRIGHT, O. Introducción a la bitemologia de los hongos. Zaragoza: **Acribia**, 1989.

WESSELING, C.; VAN WENDEL, J. B.; RUEPERT, C.; LEÓN, C.; MONGE, P.; HERMOSILLO, H.; PARTANEN, T. J. Paraquat in development countries. **Journal Occupational Health**, v. 7, n. 4, p. 275–286, 2001.

WHELLER, K.A. Influence of pH on the growth of some toxigenic species of *Aspergillus*, *Penicillium* and *Fusarium*. **International Journal of Food Microbiology**, n. 141-150, 1991.

YAO, F. *et al.* Determination of paraquat in water samples using a sensitive fluorescent probe titration method. **Journal of Environmental Sciences**, v. 25, n. 6, p. 1245–1251, 2013.

YANG J, LIANG L, LI J, ZHANG KQ. Nematicidal enzymes from microorganisms and their applications. **Applied Microbiology and Biotechnology**. 97, 7081-7095, 2013.

YEMENDZHIEV, H.; ZLATKA, A.; ALBERT, K. Decolorization of synthetic dye Reactive Blue 4 by mycelial culture of white- rot fungi *Trametes Versicolor*. **Biotechnol. & Biotechnol**, v. 23, p. 1337-1339, 2009.

YIN, X. LIAN, B. (2012) Dimethoate degradation and calcium phosphate formation induced by *Aspergillus niger*. **African Journal of Microbiology Research**, 6, 50, 7603-7609.

ZENEBON, O. Métodos físico- químicos para análise de alimentos. **Instituto Adolfo Lutz**. [S.l: s.n.], 2008. v. 4.

ZHAO, L., & LEE, H. K. Application of static liquid-phase microextraction to the analysis of organochlorine pesticides in water. **Journal of Chromatography A**, v. 919, p. 381–388, 2001

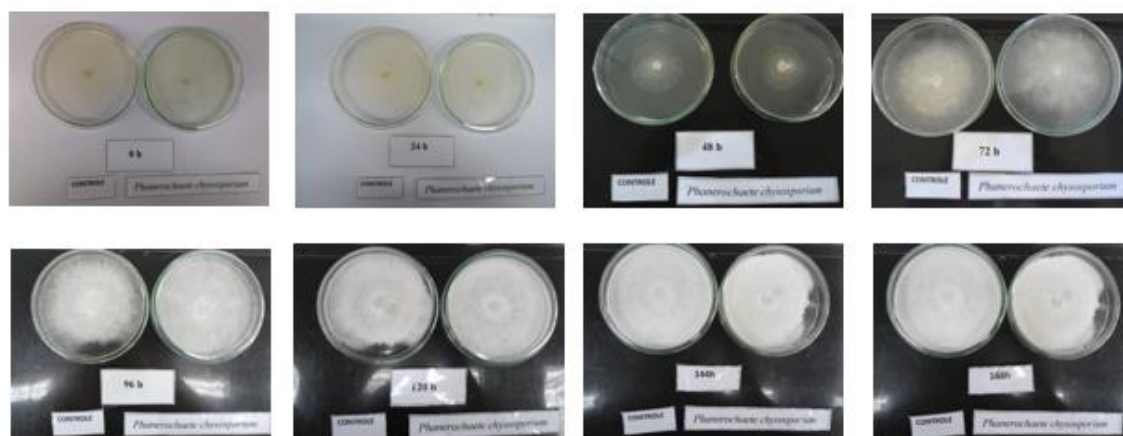
ZHENG, G., SELVAM, A., WONG, J. Oil-in-water microemulsions enhance the biodegradation of DDT by *Phanerochaete chrysosporium*, **Bioresource Technology**, v. 126, p. 397-403, 2012.

ZHONG, J. J. Bioreactor Engineering. **Engineering Fundamentals of Biotechnology**, v. 2, p. 165-177, 2011.

APÊNDICES

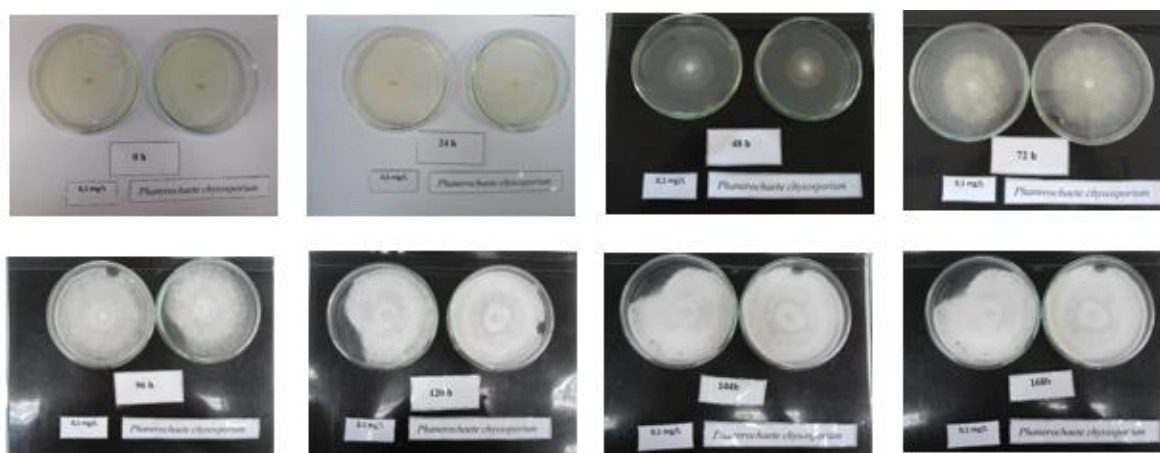
Apêndice I

Visualização do crescimento do *Phanerochaete chrysosporium* no teste de toxicidade sem paraquat (controle)



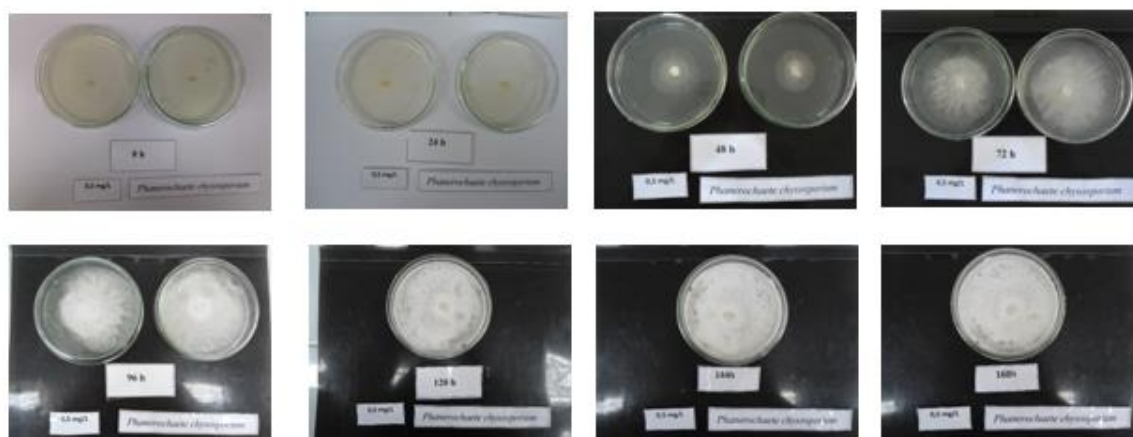
Fonte: Autora (2018)

Visualização do crescimento do fungo *Phanerochaete chrysosporium* no teste de toxicidade com 0,1 mg.L⁻¹ de paraquat



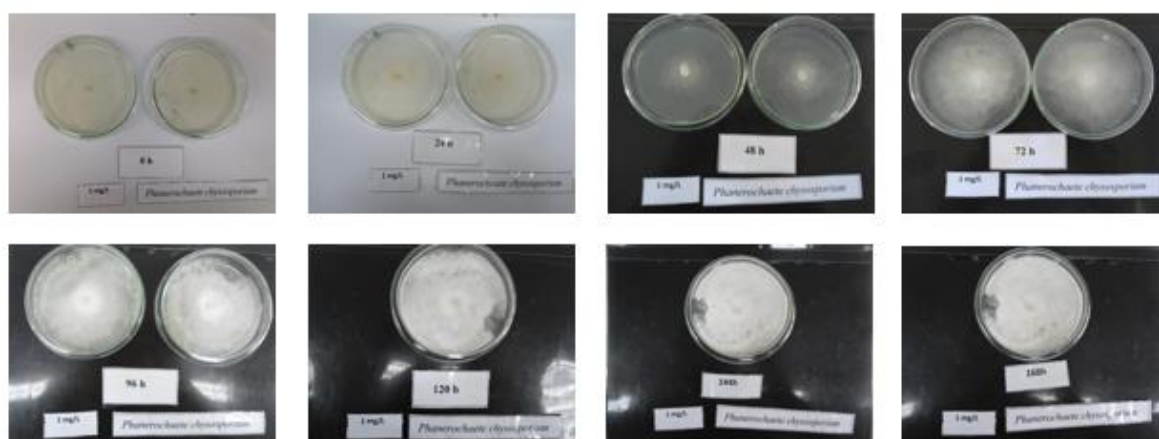
Fonte: Autora (2018)

Visualização do crescimento do fungo *Phanerochaete chrysosporium* no teste de toxicidade com 0,5 mg.L⁻¹ de paraquat



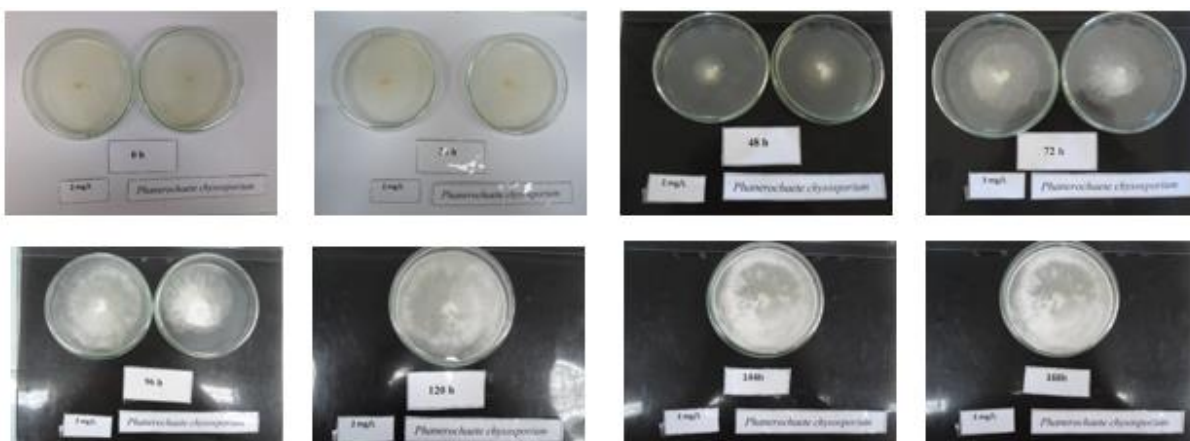
Fonte: Autora (2018)

Visualização do crescimento do fungo *Phanerochaete chrysosporium* no teste de toxicidade com 1,0 mg.L⁻¹ de paraquat



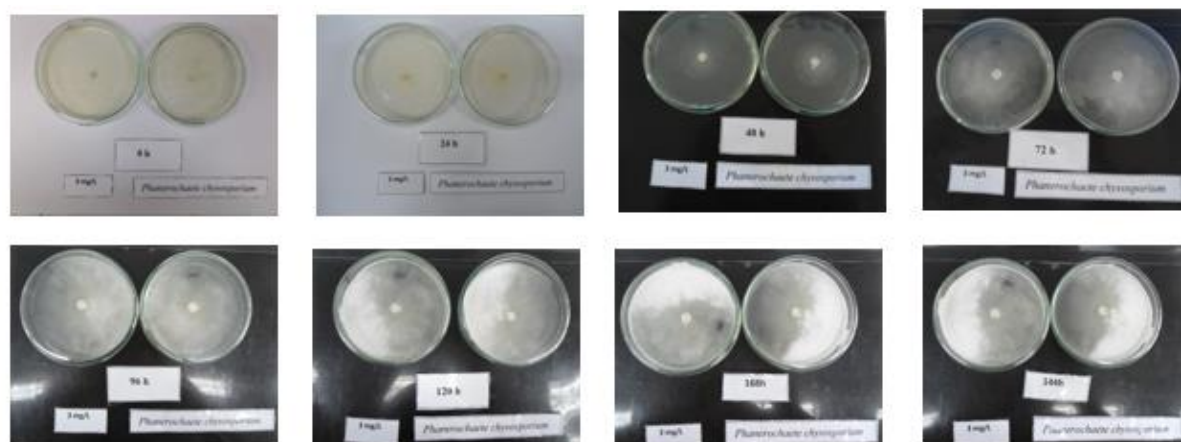
Fonte: Autora (2018)

Visualização do crescimento do fungo *Phanerochaete chrysosporium* no teste de toxicidade com 2,0 mg.L⁻¹ de paraquat



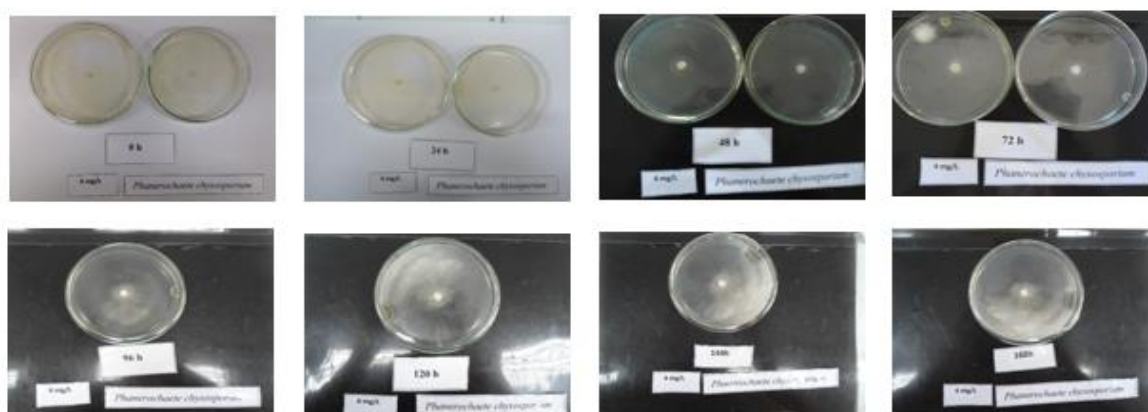
Fonte: Autora (2018)

Visualização do crescimento do fungo *Phanerochaete chrysosporium* no teste de toxicidade com 3,0 mg.L⁻¹ de paraquat



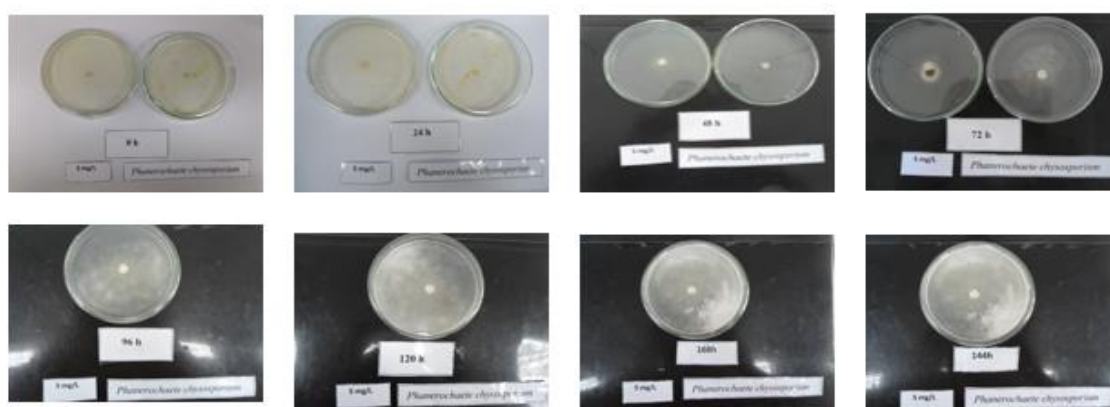
Fonte: Autora (2018)

Visualização do crescimento do fungo *Phanerochaete chrysosporium* no teste de toxicidade com 4,0 mg.L⁻¹ de paraquat



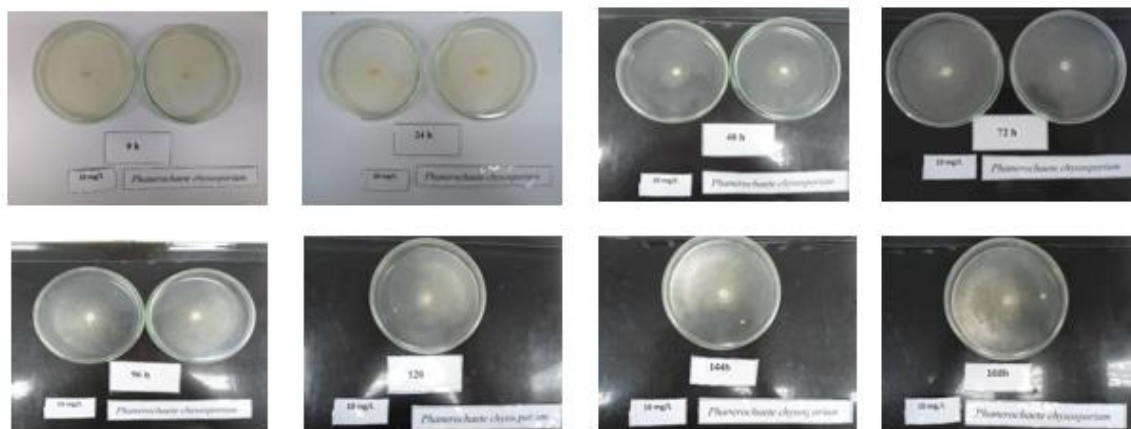
Fonte: Autora (2018)

Visualização do crescimento do fungo *Phanerochaete chrysosporium* no teste de toxicidade com 5,0 mg.L⁻¹ de paraquat



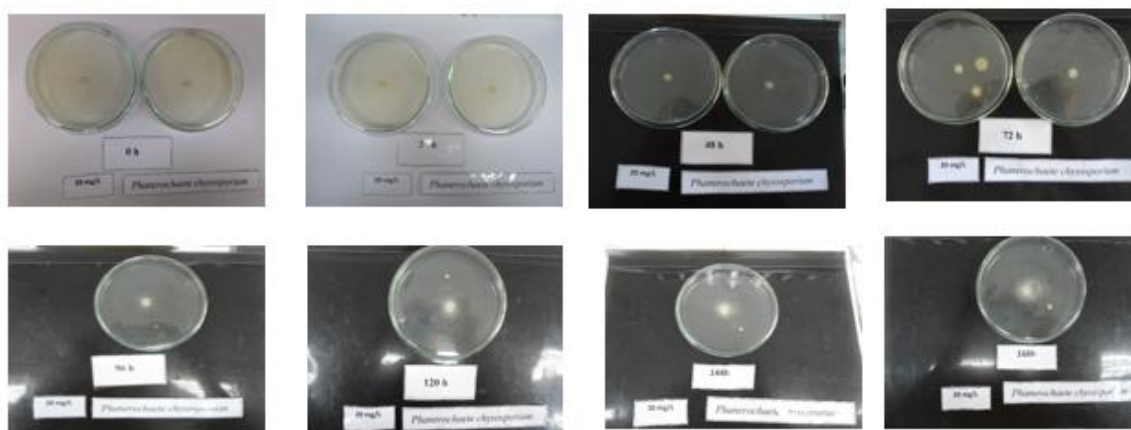
Fonte: Autora (2018)

Visualização do crescimento do fungo *Phanerochaete chrysosporium* no teste de toxicidade com 10,0 mg.L⁻¹ de paraquat



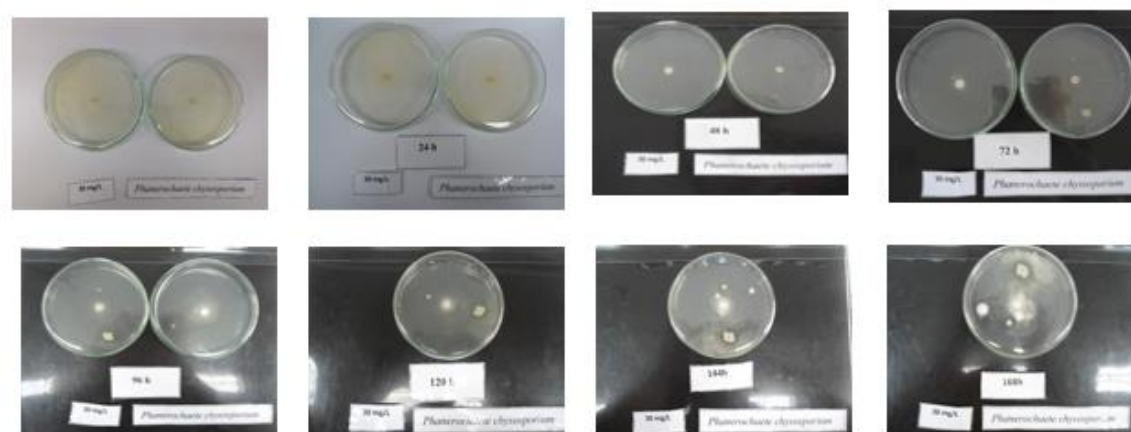
Fonte: Autora (2018)

Visualização do crescimento do fungo *Phanerochaete chrysosporium* no teste de toxicidade com 20,0 mg.L⁻¹ de paraquat



Fonte: Autora (2018)

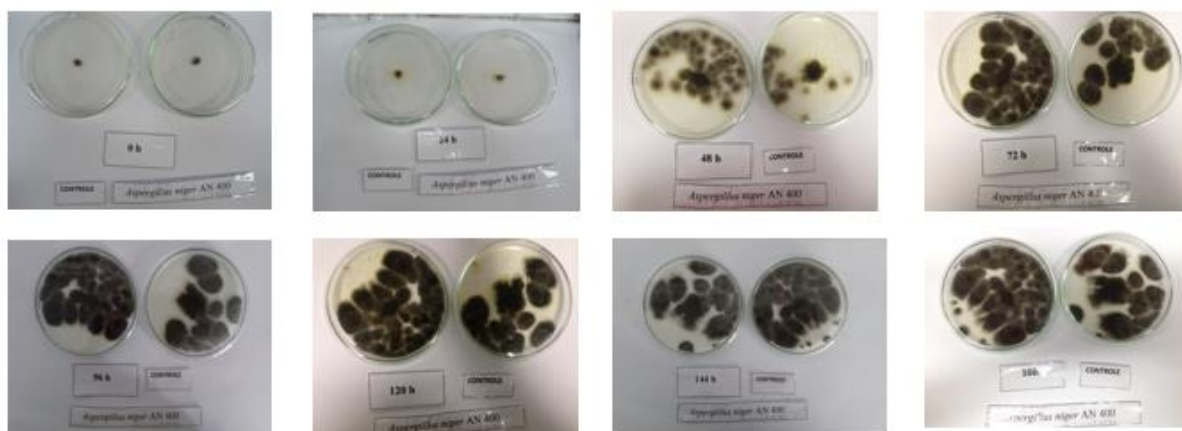
Visualização do crescimento do fungo *Phanerochaete chrysosporium* no teste de toxicidade com 30,0 mg.L⁻¹ de paraquat



Fonte: Autora (2018)

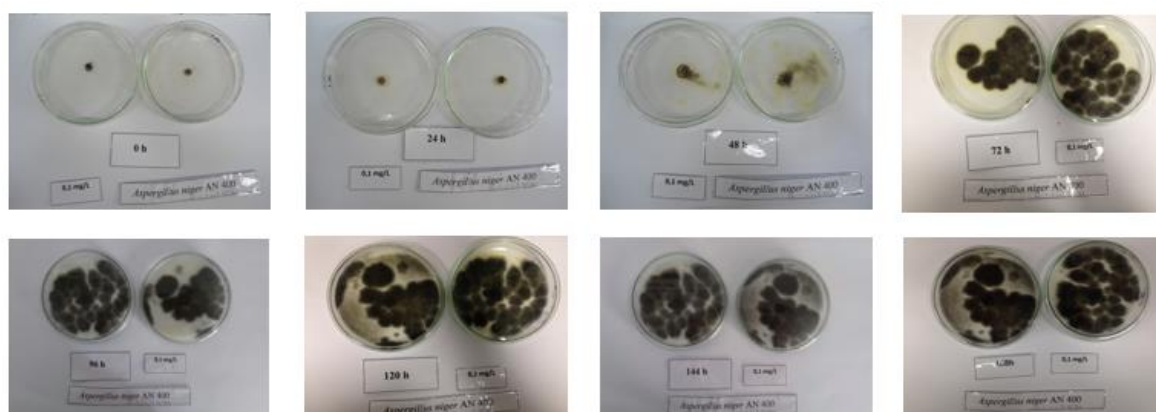
APÊNDICE II

Visualização do crescimento do fungo *Aspergillus niger* AN 400 no teste de toxicidade sem paraquat (controle)



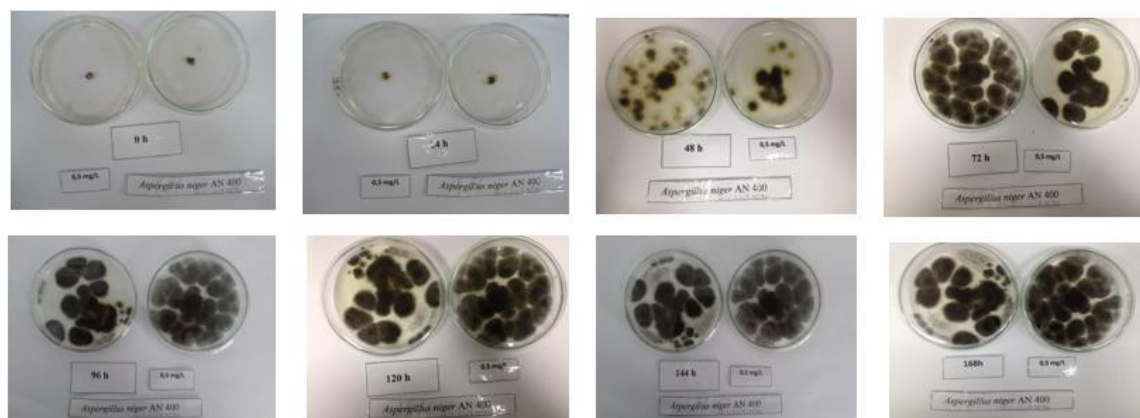
Fonte: Autora (2018)

Visualização do crescimento do fungo *Aspergillus niger* AN 400 no teste de toxicidade com 0,1 mg.L⁻¹ de paraquat



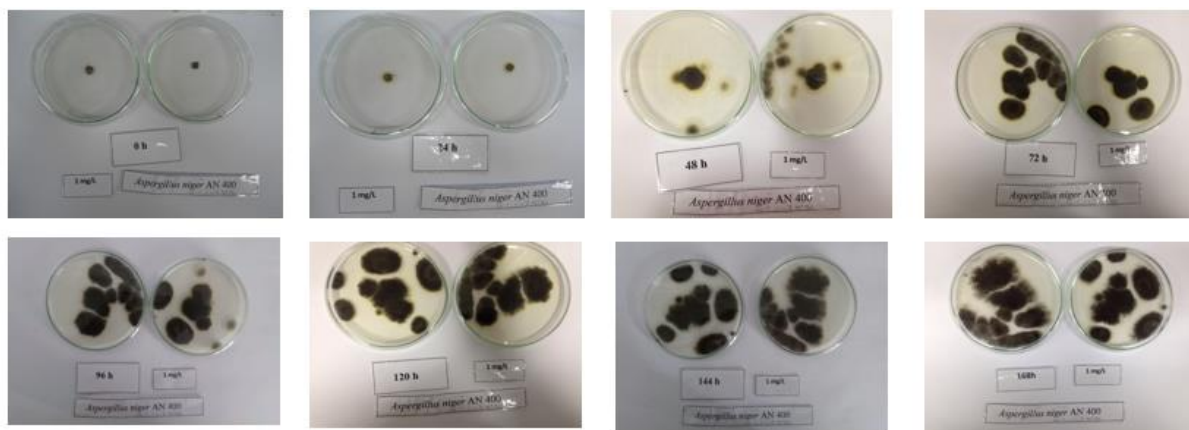
Fonte: Autora (2018)

Visualização do crescimento do fungo *Aspergillus niger* AN 400 no teste de toxicidade com 0,5 mg.L⁻¹ de paraquat



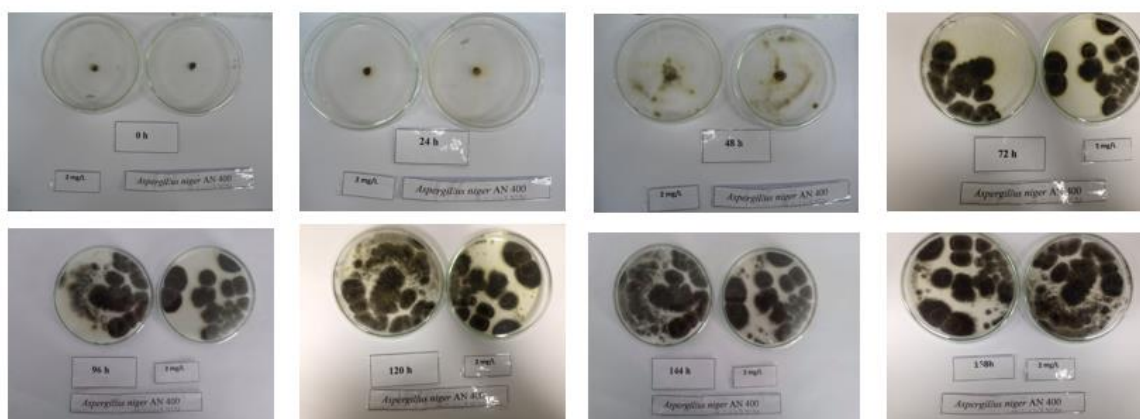
Fonte: Autora (2018)

Visualização do crescimento do fungo *Aspergillus niger* AN 400 no teste de toxicidade com 1,0 mg.L-1 de paraquat



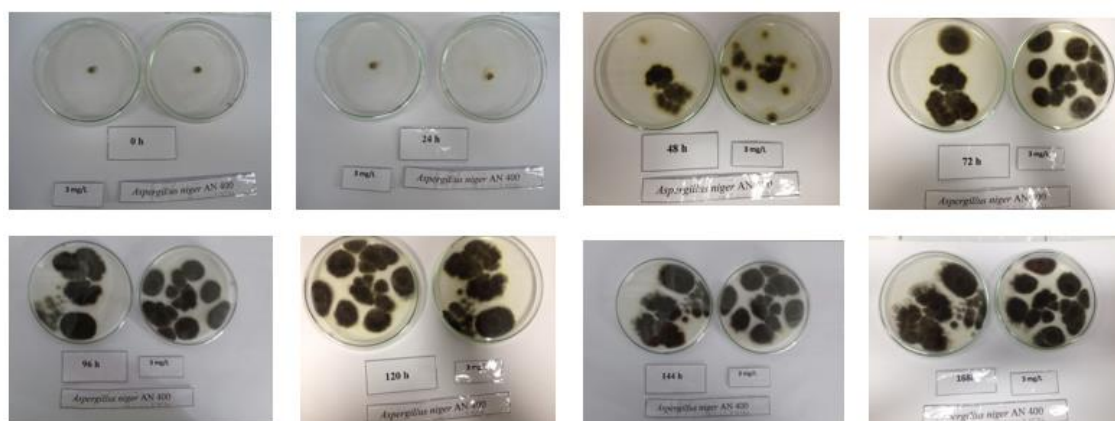
Fonte: Autora (2018)

Visualização do crescimento do fungo *Aspergillus niger* AN 400 no teste de toxicidade com 2,0 mg.L-1 de paraquat



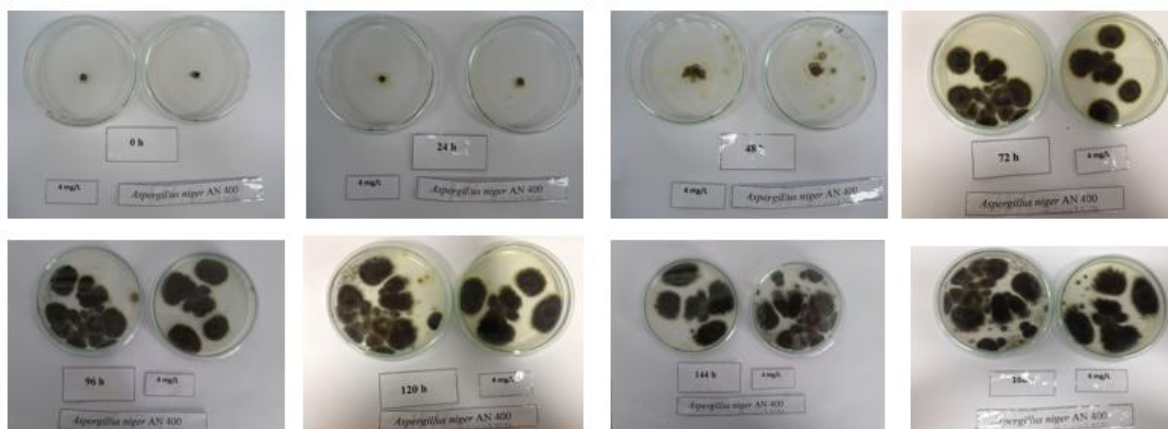
Fonte: Autora (2018)

Visualização do crescimento do fungo *Aspergillus niger* AN 400 no teste de toxicidade com 3,0 mg.L-1 de paraquat



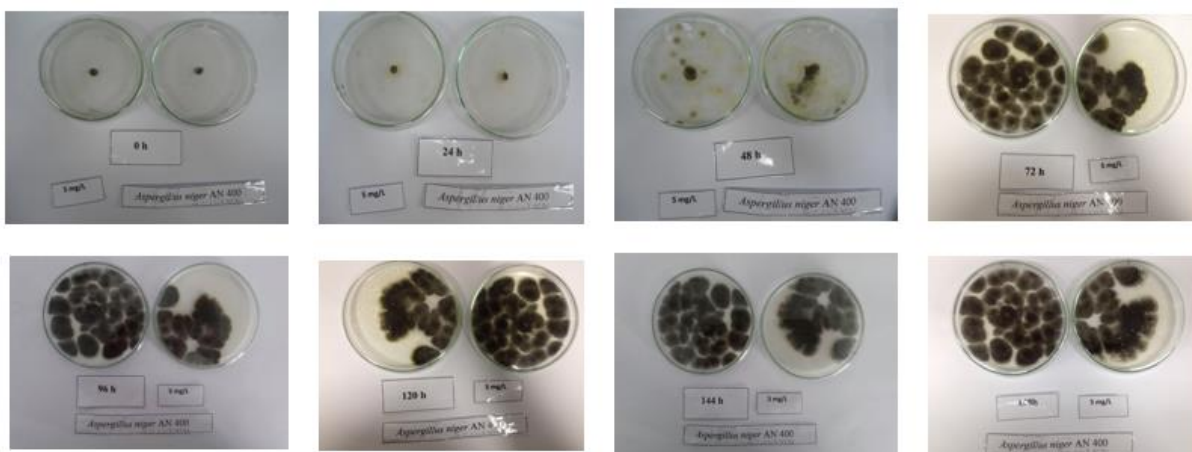
Fonte: Autora (2018)

Visualização do crescimento do fungo *Aspergillus niger* AN 400 no teste de toxicidade com 4,0 mg.L-1 de paraquat



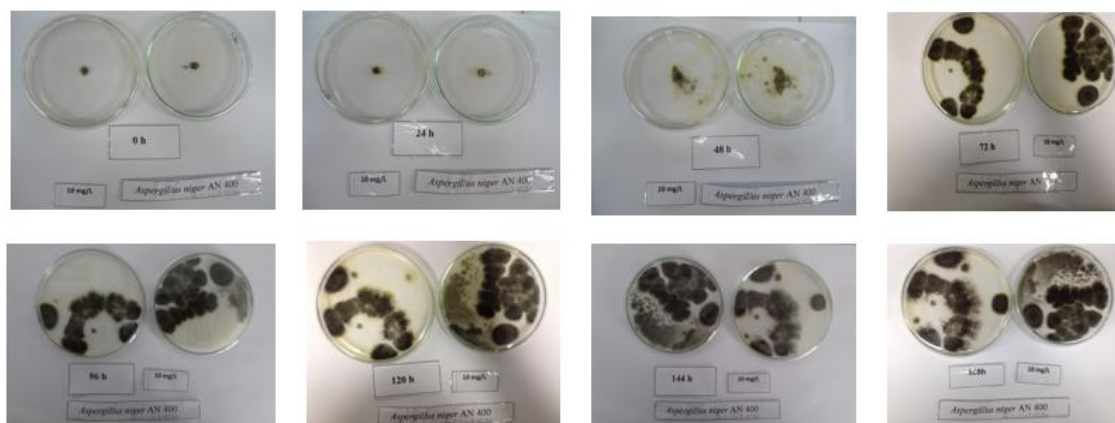
Fonte: Autora (2018)

Visualização do crescimento do fungo *Aspergillus niger* AN 400 no teste de toxicidade com 5,0 mg.L-1 de paraquat



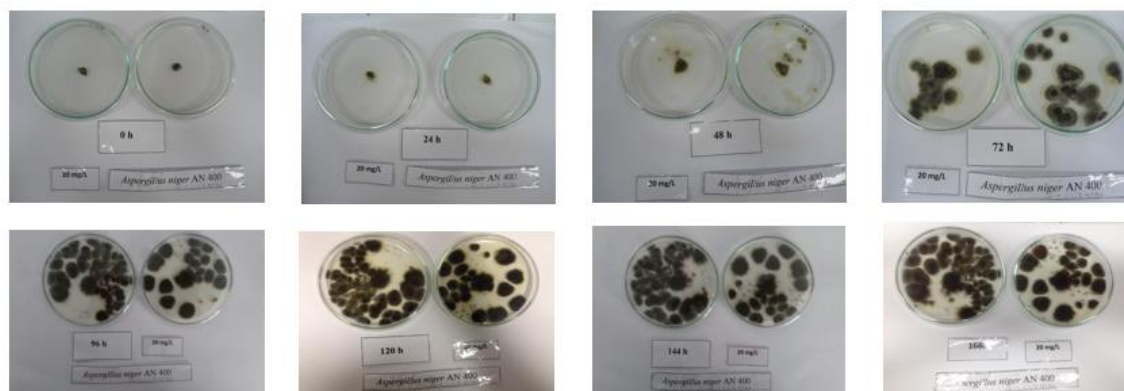
Fonte: Autora (2018)

Visualização do crescimento do fungo *Aspergillus niger* AN 400 no teste de toxicidade com 10,0 mg.L-1 de paraquat



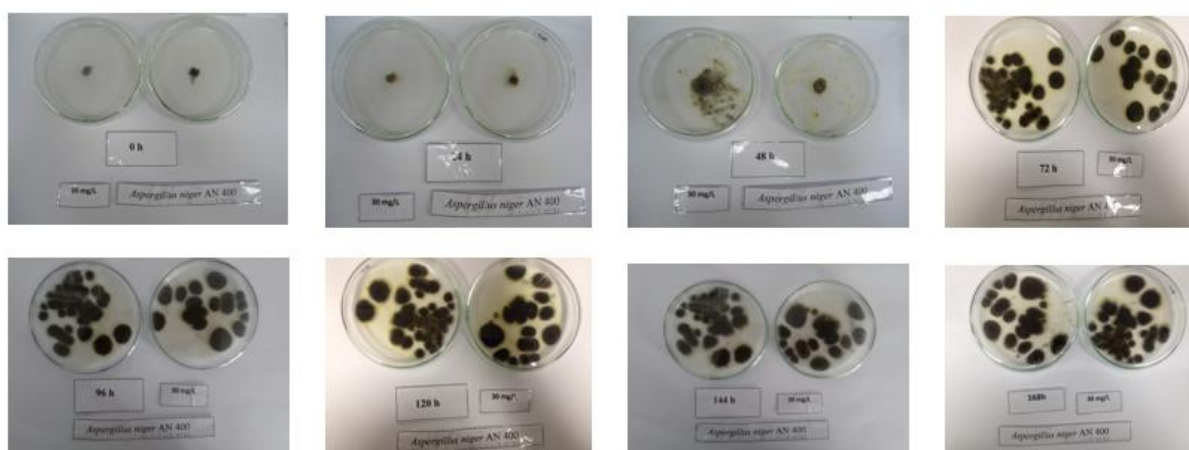
Fonte: Autora (2018)

Visualização do crescimento do fungo *Aspergillus niger* AN 400 no teste de toxicidade com 20,0 mg.L⁻¹ de paraquat



Fonte: Autora (2018)

Visualização do crescimento do fungo *Aspergillus niger* AN 400 no teste de toxicidade com 30,0 mg.L⁻¹ de paraquat



Fonte: Autora (2018).

APÊNDICE III

Bateladas sequenciais com *Aspergillus niger* AN 400 , 30 mg.L⁻¹ de PQT e 3 g.L⁻¹ de glicose

CICLO 1 – RBS-AN COM 30 mg.L ⁻¹ de PQT + 3 g.L ⁻¹ de glicose						
Tempo (h)	ABS 1	ABS 2	CONC 1 (mg.L ⁻¹)	CONC 2 (mg.L ⁻¹)	média	Eficiência (%)
0	0,149	0,150	32,45	32,74	32,6	
24	0,130	0,132	26,65	27,24	26,95	17,33
48	0,129	0,128	29,13	28,82	28,98	11,10
72	0,125	0,125	26,61	26,61	26,61	18,37
96	0,119	0,119	25,26	25,26	25,26	22,51
120	0,112	0,112	23,84	23,84	23,84	26,87
168	0,108	0,109	22,63	22,93	22,78	30,12

Fonte: Autora (2018)

CICLO 2 – RBS-AN COM 30 mg.L ⁻¹ de PQT + 3 g.L ⁻¹ de glicose						
Tempo (h)	ABS 1	ABS 2	CONC 1 (mg.L ⁻¹)	CONC 2 (mg.L ⁻¹)	média	Eficiência (%)
0	0,14	0,13	30,79	30,49	30,64	
24	0,13	0,13	30,29	29,68	29,98	2,15
48	0,13	0,13	26,59	26,59	26,59	13,22
72	0,13	0,13	28,09	29,02	28,55	6,82
96	0,13	0,13	28,09	28,4	28,25	7,80
120	0,12	0,12	26,18	26,18	26,18	14,56
168	0,12	0,13	26,18	26,48	26,33	14,07

Fonte: Autora (2018)

CICLO 3 – RBS-AN com 30 mg.L ⁻¹ de PQT + 3 g.L ⁻¹ de glicose						
Tempo (h)	ABS 1	ABS 2	CONC 1 (mg.L ⁻¹)	CONC 2 (mg.L ⁻¹)	média	Eficiência (%)
0	0,137	0,137	30,41	30,41	30,41	
24	0,135	0,135	29,81	29,81	29,81	1,97
48	0,13	0,132	29,07	29,69	29,38	3,39
72	0,13	0,129	29,25	28,95	29,1	4,31
96	0,127	0,125	28,35	27,74	28,05	7,76
120	0,124	0,124	26,67	26,67	26,67	12,30
168	0,124	0,123	26,67	26,37	26,52	12,79

Fonte: Autora (2018)

Bateladas sequenciais com *Phanerochaete chrysosporium* com 30 mg.L⁻¹ e 3 g.L⁻¹ de sacarose

CICLO 1 - RBS-PHC COM 30 mg.L ⁻¹ de PQT + 3 g.L ⁻¹ de sacarose						
Tempo (h)	ABS 1	ABS 2	CONC 1 (mg.L ⁻¹)	CONC 2 (mg.L ⁻¹)	média	Eficiência (%)
0	0,15	0,16	33,62	34,5	34,06	
24	0,13	0,13	26,35	26,95	26,65	21,76
48	0,12	0,12	26,67	26,97	26,82	21,26
72	0,12	0,13	26,00	26,61	26,31	22,75
96	0,12	0,12	25,26	24,63	24,94	26,78
120	0,11	0,12	23,84	25,35	24,60	27,77
168	0,11	0,12	23,24	25,35	24,29	28,68

Fonte: Autora (2018)

CICLO 2 - RBS-PHC COM 30 mg.L ⁻¹ de PQT + 3 g.L ⁻¹ de sacarose						
Tempo (h)	ABS 1	ABS 2	CONC 1 (mg.L ⁻¹)	CONC 2 (mg.L ⁻¹)	média	Eficiência (%)
0	0,13	0,13	30,19	30,19	30,19	
24	0,12	0,12	27,21	27,21	27,21	9,87
48	0,13	0,13	26,59	26,59	26,59	11,92
72	0,12	0,12	27,17	26,86	27,01	10,53
96	0,12	0,12	27,17	27,17	27,17	10,00
120	0,12	0,12	26,18	26,18	26,18	13,28
168	0,12	0,12	25,26	25,26	25,26	16,33

Fonte: Autora (2018)

CICLO 3 - RBS-PHC COM 30 mg.L ⁻¹ de PQT + 3 g.L ⁻¹ de sacarose						
Tempo (h)	ABS 1	ABS 2	CONC 1 (mg.L ⁻¹)	CONC 2 (mg.L ⁻¹)	média	Eficiência (%)
0	0,14	0,14	29,81	30,11	29,96	
24	0,13	0,13	28,60	28,00	28,30	5,54
48	0,13	0,13	28,45	29,69	29,07	2,97
72	0,13	0,13	27,74	28,35	28,05	6,38
96	0,12	0,13	27,44	27,74	27,59	7,91
120	0,13	0,13	28,18	28,18	28,18	5,94
168	0,13	0,13	28,49	28,18	28,34	5,41

Fonte: Autora (2018)

APÊNDICE IV

Bateladas sequenciais com *Aspergillus niger* AN 400, 5 mg.L⁻¹ de PQT e sem glicose

Ciclo 1 - RBS-AN com 5 mg.L⁻¹ de PQT + sem glicose

Tempo (h)	ABS 1	ABS 2	CONC 1 (mg.L ⁻¹)	CONC 2 (mg.L ⁻¹)	média	Eficiência (%)
0	0,057	0,058	5,15	5,44	5,30	
24	0,058	0,059	5,44	5,73	5,59	0,0
48	0,056	0,056	4,87	4,87	4,87	8,2
72	0,058	0,058	5,03	5,03	5,03	5,1
96	0,059	0,058	5,32	5,03	5,18	2,3
120	0,056	0,057	4,45	4,74	4,59	13,3
168	0,056	0,055	5,07	4,78	4,93	7,0

Fonte: Autora (2018)

Ciclo 2- RBS-AN com 5 mg.L⁻¹ de PQT + sem glicose

Tempo (h)	ABS 1	ABS 2	CONC 1 (mg.L ⁻¹)	CONC 2 (mg.L ⁻¹)	média	Eficiência (%)
0	0,057	0,058	5,15	5,44	5,30	
24	0,058	0,059	5,44	5,73	5,59	0,0
48	0,056	0,056	4,87	4,87	4,87	8,2
72	0,058	0,058	5,03	5,03	5,03	5,1
96	0,059	0,058	5,32	5,03	5,18	2,3
120	0,056	0,057	4,45	4,74	4,59	13,3
168	0,056	0,055	5,07	4,78	4,93	7,0

Fonte: Autora (2018)

Ciclo 3 - RBS-AN com 5 mg.L⁻¹ de PQT + sem glicose

Tempo (h)	ABS 1	ABS 2	CONC 1 (mg.L ⁻¹)	CONC 2 (mg.L ⁻¹)	média	Eficiência (%)
0	0,061	0,061	5,89	5,89	5,89	
24	0,058	0,057	5,01	4,72	4,87	17,4
48	0,059	0,058	5,21	4,92	5,07	13,9
72	0,055	0,057	5,02	5,59	5,30	9,9
96	0,059	0,058	5,92	5,64	5,78	1,8
120	0,060	0,059	5,60	5,32	5,46	7,3
168	0,060	0,058	5,60	5,03	5,32	9,7

Fonte: Autora (2018)

Bateladas sequenciais com *Phanerochaete chrysosporium* com 5 mg.L⁻¹ e sem sacarose

Ciclo 1 - RBS-PHC com 5 mg.L⁻¹ e sem sacarose

Tempo (h)	ABS 1	ABS 2	CONC 1 (mg.L ⁻¹)	CONC 2 (mg.L ⁻¹)	média	Eficiência (%)
0	0,059	0,057	5,49	4,90	5,19	
24	0,056	0,057	4,87	5,15	5,01	3,49
48	0,054	0,055	4,33	4,60	4,46	14,03
72	0,059	0,058	4,88	4,59	4,74	8,77
96	0,057	0,058	3,88	4,17	4,02	22,49
120	0,055	0,057	4,27	4,86	4,57	12,03
168	0,055	0,054	4,27	3,98	4,13	20,51

Fonte: Autora (2018)

Ciclo 2- RBS-PHC com 5 mg.L⁻¹ e sem sacarose

Tempo (h)	ABS 1	ABS 2	CONC 1 (mg.L ⁻¹)	CONC 2 (mg.L ⁻¹)	média	Eficiência (%)
0	0,057	0,058	5,15	5,44	5,30	
24	0,057	0,058	5,15	5,44	5,30	0,00
48	0,057	0,057	4,70	4,70	4,70	11,37
72	0,059	0,058	5,32	5,03	5,18	2,32
96	0,058	0,057	5,03	4,74	4,89	7,83
120	0,057	0,058	4,74	5,03	4,89	7,83
168	0,056	0,056	5,07	5,07	5,07	4,26

Fonte: Autora (2018)

Ciclo 3- RBS-PHC com 5 mg.L⁻¹ e sem sacarose

Tempo (h)	ABS 1	ABS 2	CONC 1 (mg.L ⁻¹)	CONC 2 (mg.L ⁻¹)	média	Eficiência (%)
0	0,059	0,061	5,30	5,89	5,60	
24	0,056	0,057	4,43	4,72	4,57	18,26
48	0,058	0,058	4,92	4,92	4,92	12,05
72	0,055	0,056	5,02	5,30	5,16	7,77
96	0,056	0,057	5,07	5,35	5,21	6,91
120	0,058	0,059	5,03	5,32	5,18	7,49
168	0,059	0,059	5,32	5,32	5,32	4,96

Fonte: Autora (2018)