

REVISTA AIDIS

de Ingeniería y Ciencias Ambientales:
Investigación, desarrollo y práctica.

ESTUDO DA DEGRADAÇÃO DO PARAQUAT EM REGIME DE BATELADA AGITADA INOCULADOS COM *Phanerochaete chrysosporium* COM ADIÇÃO DE GLICOSE OU SACAROSE

*Victória Maura Silva Bermúdez¹

Letícia Bezerra Farias²

Germana Maria Marinho³

Kelly de Araújo Rodrigues Pessoa¹

Glória Maria Marinho Silva¹

STUDY OF THE DEGRADATION OF THE PARAQUAT IN REACTORS IN AGITED BATCH REGIME INOCULATED WITH *Phanerochaete chrysosporium* WITH ADDED GLUCOSE OR SUCROSE

Recibido el 31 de enero de 2018; Aceptado el 16 de octubre de 2018

Abstract

The search to improve food quality and increase crop yields has increased the use of pesticides. As a result of these actions, these have caused environmental problems when they reach aquatic systems. Bioremediation using microorganisms to remove these compounds from the environment is a viable alternative both for its efficiency and cost, since traditional treatments (ozone, hydrogen peroxide, UV radiation and etc.) do not have such an effective action in their removal. The fungus *Phanerochaete chrysosporium* was the microorganism used, with the addition of sucrose or glucose, for the degradation of the herbicide paraquat (30 mg/L) in reactors in agitated batch regime. The reactors were monitored by the analysis of paraquat and reducing sugar concentrations. From the values obtained by the pesticide reduction, the kinetics of the pesticides were fitted with a first order equation. The reactor that obtained the best removal of paraquat was the one with the addition of 3.0 g / L of sucrose (49.0%), with consumption of 11.0% of sucrose and a constant of degradation rate of the pollutant in the value of 0.024 h⁻¹. With respect to the toxicity test with *Allium cepa*, the toxicity of the solutions containing paraquat is reduced after the treatment with *Phanerochaete chrysosporium*. The contamination check showed that the presence of fungi was predominant in relation to bacteria. Therefore, this study indicates the possibility of using *Phanerochaete chrysosporium* in the degradation of paraquat.

Keywords: bioremediation, co-substrate, fungus, herbicide, pesticide, paraquat.

¹ Programa de Pós-graduação em Gestão e Tecnologia Ambiental (PPGTA-IFCE), Campus Fortaleza, Brasil.

² Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Ceará (IFCE), Campus Fortaleza, Brasil.

*Autor correspondente: Laboratório de Tecnologia Ambiental – LATAM, Instituto Federal do Ceará – IFCE. Av. Treze de Maio, 2081, Benfica, campus Fortaleza. Fortaleza, Ceará, Brasil. Email: gloriamarinho@gmail.com

Resumo

A busca por melhoria da qualidade dos alimentos e aumentar a produção da colheita vem aumentando o uso de pesticidas. Decorrente dessa ação, estes tem acarretado problemas ambientais quando atingem os sistemas aquáticos. A biorremediação utilizando micro-organismos para a remoção desses compostos do meio ambiente é uma alternativa viável. O fungo *Phanerochaete chrysosporium* foi o micro-organismo utilizado, com a adição de sacarose e glicose, para a degradação do herbicida paraquat (30 mg/L) em reatores em regime de bateladas agitada. Os reatores foram monitorados por meio das análises: concentração de paraquat e de açúcar redutor. A partir dos valores obtidos pela redução do pesticida, foram realizadas as cinéticas das mesmas, ajustadas com uma equação de primeira ordem. O reator que obteve a melhor remoção de paraquat foi o com adição de 3.0 g/L de sacarose (49.0%), com consumo de 11.0% de sacarose e uma constante de velocidade de degradação do poluente no valor de 0.024 h^{-1} . Com relação ao teste de toxicidade com *Allium cepa*, a toxicidade das soluções com paraquat diminuiu após o tratamento com *Phanerochaete chrysosporium*. A verificação de contaminação demonstrou que a presença dos fungos foi predominante em relação às bactérias. Portanto, este estudo indica a possibilidade de utilização do *Phanerochaete chrysosporium* na degradação do paraquat.

Palavras chave: biorremediação, cossubstrato, fungo, herbicida, pesticida.

Introdução

A produção agrícola em todo mundo está vinculada ao uso de pesticidas (Dimitrijević *et al.*, 2017). Os pesticidas são utilizados para combater pragas agrícolas, melhorar a qualidade dos alimentos e aumentar a produção da colheita (Baird, 2011), acarretando problemas ambientais quando atingem os recursos hídricos. No Brasil, os herbicidas são os pesticidas de maior consumo, correspondendo a 45% de representação no comércio (Carneiro *et al.*, 2015).

O paraquat, dicloreto de 1,1'- dimetil – 4,4'- bipyridínio, é um herbicida de contato direto que possui um baixo preço e uma boa eficácia, por isso é amplamente utilizado no mundo para a eliminação de ervas daninhas (Roberts *et al.*, 2002; Larini, 1999). O uso incorreto e excessivo deste herbicida vem provocando impactos sobre o meio ambiente (Tomita e Beyruth, 2002). Segundo Agbohessi *et al.*, (2015) a presença de pesticidas no meio aquático causa graves danos ao sistema metabólico dos peixes além de ocasionar o desequilíbrio desse ecossistema. Através da água contaminada ele se estende por todo o ambiente indiretamente através do ar e do solo. Já o impacto pelo ar acontece por um processo de deriva, onde o produto químico é deslocado para outros locais (Barbosa, 2013).

O residual do paraquat no ambiente também tem sido um perigo potencial para saúde (Van Leeuwen, 2012) por ser um composto extremamente tóxico a humanos que ao ser ingerido, acidentalmente ou intencionalmente, causando lesões em todo o trato intestinal (dose de 21 à 50 mg.Kg^{-1}) e morte provável após 72 horas com doses acima de 50 mg.Kg^{-1} (Roede e Miller, 2014; Geller, 2007).

A biorremediação surgiu como uma técnica de tratamento biológico que utiliza como uma das opções os micro-organismos naturais para a degradação bioquímica dos contaminantes orgânicos

e inorgânicos (Bernoth *et al.*, 2000), uma vez que há poucos processos em relação ao meio ambiente e contaminantes químicos, que façam com o que os efluentes contaminados sejam descartados de forma correta, por isso há uma crescente busca por tecnologias menos onerosa e ambientalmente compatíveis (Singh *et al.*, 2014).

Segundo Reyna *et al.*, (2016), as novas alternativas, como a biorremediação com fungos, juntamente com as que já existem, são ferramentas potenciais que podem ser usadas para reduzir ou aliviar os níveis de contaminação agroquímica no meio ambiente.

Os fungos vêm sendo protagonistas no tratamento de efluente por apresentarem características naturais que os favorecem para a biorremediação (Santos *et al.*, 2015). Como por exemplo, a capacidade de crescer sob estresse com o auxílio da adição de uma fonte de carbono de fácil degradação, como os açúcares: sacarose e glicose (Chander *et al.*, 2004). Dentre os fungos, a espécie *Phanerochaete chrysosporium* faz parte do grupo dos basidiomicetos, são conhecidos como fungos de podridão branca e são caracterizados por sua habilidade de degradar uma variedade de compostos xenobióticos e orgânicos (Bogan e Lamar, 1996; Filho, 2005).

Assim sendo, este trabalho teve como objetivo estudar a degradação do herbicida paraquat de água sintética em reatores em bateladas agitadas inoculadas com *Phanerochaete chrysosporium* (disperso) quando adicionado glicose ou sacarose, como cossustrato.

Material e método

O pesticida escolhido foi o Paraquat, um herbicida que possui um alto grau de poluição e persistência no ambiente (Chuntib e Jakmune, 2015). A espécie escolhida para degradá-lo foi *Phanerochaete chrysosporium*, que com base em referências da literatura, vem sendo utilizado no tratamento de efluentes (Reyna *et al.*, 2017; Silva, 2015). Os cossustratos utilizados foram glicose e sacarose nas concentrações de 0.5 g.L⁻¹, 1.0 g.L⁻¹, 3.0 g.L⁻¹ e 4.0 g.L⁻¹, para verificar a influência das concentrações dos mesmos na remoção do paraquat.

As águas sintéticas dos reatores com adição de cada cossustrato foram preparadas com água de abastecimento público, 10.0% (v/v) de solução Vishniac e 5.0% (v/m) de antibiótico Megacilin Super Plus da Agener União[®], 30.0 mg.L⁻¹ de paraquat comercial (Gramoxone 200 – marca Syngenta[®]) e os cossustratos (glicose e sacarose) nas concentrações informadas anteriormente, para cada água sintética. Nos reatores controles, não foi adicionado nenhum cossustrato. A composição química da solução de Vishniac, usada na água sintética como meio de crescimento para o fungo foi obtida a partir da metodologia utilizada por Rodrigues (2006), e está apresentada na Tabela 1.

Tabela 1. Composição química da solução de Vishniac

Composição	g.L ⁻¹
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

A concentração inicial de paraquat para este estudo foi escolhida considerando estudos da literatura, como o de (2015), em que na concentração de 30 mg.L⁻¹ apresentou crescimento visual em placas com a presença do contaminante. Além de ser uma concentração encontrada nas águas residuárias de indústria de produção de pesticida. Tal escolha da concentração, deveu-se a proposta da pesquisa em buscar por tecnologia para tratamento de águas residuária industriais. Para a utilização segura do paraquat comercial Gramoxone – princípio ativo Dicloreto de Paraquate 276 g.L⁻¹, preparou-se uma solução estoque com a concentração de 1.500 mg.L⁻¹.

Os reatores foram nomeados segundo o cossustrato e concentração adicionada: 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 3.0 (adição de 3.0 g.L⁻¹ de sacarose), RPS 4.0 (adição de 4.0 g.L⁻¹ de sacarose); reatores com adição de glicose: RPS 0.5 (adição de 0.5 g.L⁻¹ de glicose), RPS 1.0 (adição de 1.0 g.L⁻¹ de glicose), RPS 3.0 (adição de 3.0 g.L⁻¹ de glicose), RPS 4.0 (adição de 4.0 g.L⁻¹ de glicose); e RC = reator controle (sem adição de cossustrato).

O estudo foi constituído em 7 etapas: Cultivo do inóculo, produção e contagem de esporos (I), Montagem das bateladas agitadas (II), Formação da biomassa fúngica (III), Remoção do PQT (IV), Consumo dos cossustratos (V), Teste de toxicidade com *Allium cepa* (VI) e Avaliação de contaminação (VII).

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

A espécie *Phanerochaete chrysosporium* foi cedida pela Universidade Estadual de São Paulo de Piracicaba (USP-Piracicaba), a cepa foi repicada e cultivada de acordo com os procedimentos de Andrade (2015), em meio de cultura com a composição: 2.0 g.L⁻¹ extrato de levedura, 20.0 g.L⁻¹ de glicose, 20.0 g.L⁻¹ de K₂HPO₄, 0.6 g.L⁻¹ de KH₂PO₄, 0.5 g.L⁻¹ MgSO₄ e 2.0 g.L⁻¹ de peptona. A repicagem foi realizada em 20 placas Petri e as mesmas foram mantidas sob temperatura média de 28.0°C±2 em estufa microbiológica por um período de 7 (sete) dias, até se observar o crescimento do fungo na superfície das placas.

Para a contagem dos esporos, foi preparada uma suspensão de esporos com solução salina de Tween 80 e em seguida foi transferida para a câmara de Neubauer 20 μL dessa suspensão final, na qual se procedeu a contagem dos esporos em microscópio óptico Bioval da marca Opton com aumento de 400 vezes.

A partir da concentração resultante da suspensão de esporos foi calculado o volume a ser inoculado nos reatores que correspondesse à concentração de 2.5×10^5 esporos mL^{-1} , conforme estudo de Andrade (2015). As concentrações de esporos foram calculadas a partir da Equação 1, também utilizada por Andrade (2015).

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

Equação (1)

ETAPA II – Montagem das Bateladas agitadas

As bateladas agitadas foram realizadas em uma incubadora de bancada CT -712 com agitadores rotatórios com velocidade de 150 rpm, temperatura média de $30.0^\circ\text{C} \pm 2.0$. Utilizou-se como reatores erlenmeyer de 250 mL (volume reacional de 200 mL), foram esterilizados em autoclaves à 121°C e 1 atm por 15 minutos. Após a esterilização, os erlenmeyer foram mantidos no escuro para prevenir a fotodegradação do meio. Os reatores foram embalados e montados em duplicatas para cada concentração de glicose e sacarose utilizada (0.5 g.L^{-1} , 1.0 g.L^{-1} , 3.0 g.L^{-1} e 4.0 g.L^{-1}) e controle (sem cossubstrato), totalizando 18 reatores.

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.

ETAPA III – Remoção do paraquat

Para o monitoramento da remoção de Paraquat, as leituras das amostras foram realizadas em um espectrofotômetro num comprimento de onda de 600 nm, seguindo a metodologia descrita em AOAC 969.09 (2000).

Para o estudo da degradação do paraquat, a cinética utilizada foi a de 1° ordem, conforme utilizadas por Tsai *et al.*, (2013), Barbosa (2016), Qui *et al.*, (2018). As reações de 1° ordem, são as que a velocidade depende da concentração de um único reagente elevado a primeira potência (Lima, 2014). Para a realização do gráfico cinético utilizou-se a Equação 2 e para encontrar a constante de velocidade (k) dividiu-se o tempo (horas) /1.

$$\ln[A]_t = -kt + \ln[A]_0$$

Equação (2)

Sendo,

[A]: concentração do reagente A em mol.L^{-1} ;

t: Tempo (h)

k: Constante de velocidade (h^{-1})

A avaliação estatística da análise de remoção de paraquat para cada concentração de cossustrato estudado foi determinada por meio da análise de variância (ANOVA) e comparação pelo Teste de Tukey. As leituras foram consideradas significativas a um nível de 95% de confiança ($p \leq 0,05$). Os programas utilizados foram o Microsoft Excel e Minitab 17 Statistical Software.

ETAPA IV – Consumo dos cossustratos

A análise de açúcar redutor foi realizada para monitorar o consumo da glicose durante o todo o tempo reacional, seguindo a metodologia da EMBRAPA (2013). Porém, quando realizado nos reatores com adição de sacarose foi necessária uma hidrólise prévia para a quebra da mesma em açúcar redutores, adaptando a metodologia de Curtis *et al.*, (2012).

ETAPA V – Formação da biomassa fúngica

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

Quanto à formação de biomassa nos reatores, foi utilizada a análise de sólidos suspensos voláteis -SSV para quantificar indiretamente, o crescimento da biomassa presente em cada reator no final do tempo reacional de 120 h, a partir da metodologia utilizada por Oliveira *et al.*, (2006).

ETAPA VI – Teste de toxicidade com *Allium cepa*

Para a realização do teste de toxicidade com o afluente e efluente dos reatores, operados em bateladas agitadas, com biomassa dispersa e com dois cossustratos diferentes, adaptou-se a metodologia proposta por Báez *et al.*, (2008). A utilização da cebola (*Allium cepa*) possui vantagens para a realização deste teste, uma vez que possui um baixo custo, cultivo rápido e fácil (Silva, 2008).

A metodologia de observação consiste no contato do bulbo da cebola frente ao afluente/efluente contendo o poluente. Quando em contato com água, ocorre o estímulo das raízes, porém quando em contato com o efluente/afluente que possuam inibidores, haverá um retardo da divisão celular, e consequentemente o não crescimento ou pouco crescimento das raízes (Barbosa, 2016).

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 de abastecimento público. Este controle foi realizado a fim de identificar quais cebolas poderiam ser utilizadas posteriormente. As cebolas que não apresentassem crescimento das raízes eram desprezadas.

Para cada concentração de cossustrato testado e para os reatores controle foram utilizados 3 (três) bulbos de *A. cepa*. Utilizou-se como recipientes copos plásticos de 50 mL, e as mesmas eram

armazenadas sob abrigo da luz para que não houvesse interferência solar no crescimento das raízes no período de 72 h. Após as 72 h, as raízes eram medidas e comparadas ao controle.

ETAPA VII – Avaliação de contaminação

No final do tempo reacional de 120 h, as amostras dos reatores foram preparadas e submetidas à análise microbiológica, com objetivo de verificar a presença da espécie, inicialmente inoculada, e identificar o surgimento de outra espécie por contaminação e/ou condições favoráveis.

Os materiais a serem utilizados para análise e a solução salina 0,9% foram autoclavadas a 121°C por 20 min. Alíquotas de 1 mL foram retiradas da amostra bruta de cada reator e transferidas para uma cubeta com 9.0 mL de solução salina (10^{-1}). Novamente, uma alíquota de 1.0 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 μ L 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*.

Após o plaqueamento, as placas foram mantidas em uma estufa microbiológica de cultura e bacteriológica da marca QUIMIS modelo 831612, durante 5 (cinco) dias e as com meio para bactérias foram mantidas durante 3 (três) dias para posterior contagem das colônias por meio de um contador de colônias CP 602 da marca Phoenix. A Equação 3 foi utilizada para obtenção do número de unidades formadoras de colônias por mL (UFC/mL), conforme APHA (2005).

$$\frac{UFC}{mL} = \frac{\text{número de colônias}}{\text{fator de diluição}}$$

Equação (3)

Resultados

Remoção do paraquat

A partir da Tabela 2, é possível observar que o *Phanerochaete chrysosporium* conseguiu remover o PQT, uma vez que todos os reatores com adição de ambos cossustratos apresentaram uma diminuição na concentração de PQT durante o experimento, enquanto que o controle (sem adição de cossustrato) não houve remoção. Apesar da concentração de paraquat encontrada no meio ambiente, não ser da grandeza de 30 mgL^{-1} , como estudada nesta pesquisa, esta concentração é identificada em água residuária de indústria de produção de pesticidas.

Os reatores com adição de sacarose obtiveram as melhores médias de eficiência de remoção do paraquat quando comparados aos reatores com adição de glicose. A concentração de 3 g.L^{-1} de ambos cossustratos corresponderam as melhores médias de remoções do PQT. No reator RPS-3.0 obteve-se uma remoção de $48.9 \pm 0.01\%$, no qual foi superior a remoção de PQT do estudo de Silva (2016) que alcançou 44% com 30 dias de operação, tempo esse bem superior ao empregado nesta pesquisa (120 h).

Tabela 2. Eficiência da remoção do paraquat (entrada/saída) nos reatores com adição de sacarose

REATORES	COM ADIÇÃO DE GLICOSE		REATORES	COM ADIÇÃO DE SACAROSE	
	REMOÇÃO DO PQT (%)	CONCENTRAÇÃO DE PQT (mg.L ⁻¹)		REMOÇÃO DO PQT (%)	CONCENTRAÇÃO DE PQT (mg.L ⁻¹)
RPG-0.5	7.19±0.02	E: 32.06±0.000 S: 22.92±0.760	RPS-0.5	7.40±0.02	E: 31.38±0.000 S: 22.92±0.306
RPG-1.0	15.00±0.03	E: 32.68±0.000 S: 22.35±0.156	RPS-1.0	30.53±0.06	E: 31.08±0.000 S: 22.35±0.326
RPG-3.0	15.62±0.01	E: 32.06±0.000 S: 21.12±0.302	RPS-3.0	48.90±0.01	E: 31.68±0.000 S: 21.12±0.153
RPG-4.0	10.92±0.02	E: 30.49±0.000 S: 27.86±0.302	RPS-4.0	13.50±0.06	E: 31.68±0.000 S: 27.86±0.306

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 3.0 (adição de 3.0 g.L⁻¹ de sacarose), RPS 4.0 (adição de 4.0 g.L⁻¹ de sacarose); e nos reatores com adição de glicose: RPS 0.5 (adição de 0.5 g.L⁻¹ de glicose), RPS 1.0 (adição de 1.0 g.L⁻¹ de glicose), RPS 3.0 (adição de 3.0 g.L⁻¹ de glicose), RPS 4.0 (adição de 4.0 g.L⁻¹ de glicose).

E: Entrada (afluente); S: Saída (efluente);

Os reatores RPG-1.0 e RPG-3.0, com adição de glicose, não apresentaram diferenças significativas ao analisar o nível de significância das médias finais da remoção do paraquat no tempo reacional de 120 h, ou seja, apresentaram semelhança no tratamento realizado, conforme apresentado na Tabela 3.

Tabela 3. Análise de variância (ANOVA) com teste de Tukey para as médias da Eficiência de remoção do paraquat dos reatores com adição de sacarose e glicose.

Reatores	Remoção do Paraquat (%)	Reatores	Remoção do Paraquat (%)
RPS-0.5	7.40 ^a ±0.02	RPG-0.5	7.19 ^a ±0.02
RPS-1.0	30.53 ^b ±0.06	RPG-1.0	15.00 ^b ±0.03
RPS-3.0	49.00 ^c ±0.01	RPG-3.0	15.62 ^b ±0.01
RPS-4.0	13.51 ^d ±0.06	RPG-4.0	10.92 ^c ±0.02

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) e RPS 5.0 (adição de 5.0 g.L⁻¹ de sacarose). 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).

*Os valores expressos correspondem à média da eficiência da remoção do PQT ± desvio padrão. (p < 0.05; p = 0.004). Médias que não compartilham uma letra são significativamente diferentes, pelo teste Tukey.

Para a utilização em escala real, considerando a qualidade do efluente final dos reatores, desta pesquisa, bem como custos com a aquisição de maiores quantidades de cossustratos, o ideal é reduzirmos a quantidade do mesmo, até retirá-lo completamente do processo. No entanto, a pesquisa ainda se encontra em escala laboratorial, em que outras condições para melhoramento e eficácia da tecnologia ainda serão monitoradas, tais como: imobilização da biomassa em reatores em bateladas sequenciais, controle de oxigênio, diminuição do tempo reacional, agitação em rotação por minuto, a fim de encontrar a melhor condição com o mínimo de cossustrato, ou até mesmo depois de um processo de aclimatação da biomassa, o mesmo poder ser completamente retirado para a biodegradação do poluente.

Consumo dos cossustratos

O fato de haver grande quantidade de cossustratos nos reatores RPS – 4.0 e RPG – 4.0, correspondente a 4 g.L⁻¹ de cossustrato no meio, fez com que o consumo de PQT fosse menor, conforme pode ser visualizado nas Figuras 1 e 2, caracterizando uma inibição por excesso de substrato. Nos reatores com menores concentração de cossustrato (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, a glicose e a sacarose nas concentrações de 0.5 g.L⁻¹ e 1.0 g.L⁻¹, não forneceram energia suficiente para que o fungo utilizasse o PQT de modo a alcançar mais eficiência de remoção como obtido nos reatores com adição de 3.0 g.L⁻¹ de cossustrato (RPS-3.0 - 48.9% de remoção do PQT e 11.0% de consumo de sacarose) e RPG-3.0 – 15.6% de remoção de PQT e 7.6% de consumo de glicose), os quais os fungos, possivelmente, recorreram como fonte de carbono o PQT, ao invés dos cossustratos adicionados.

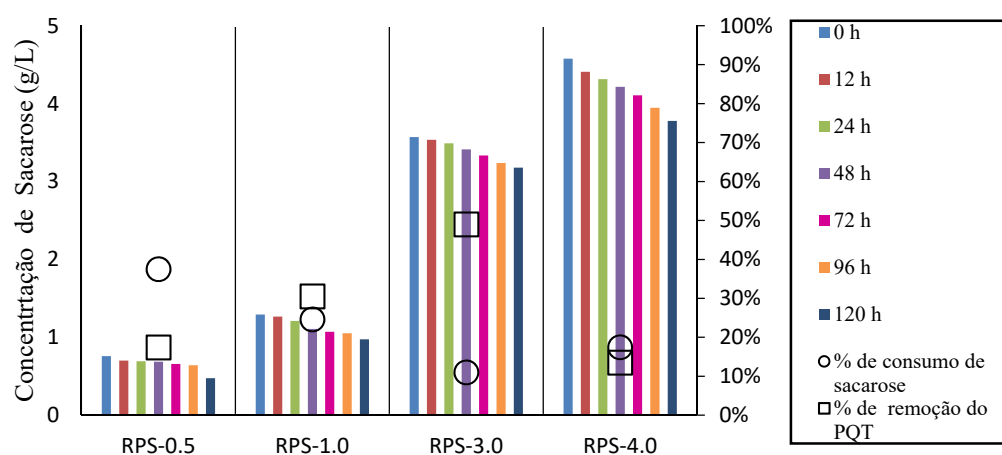


Figura 1. Eficácia de remoção do PQT e consumo da sacarose nos reatores: RPS 0.5 (adição de 0.5 g.L⁻¹ de sacarose), RPS 1.0 (adição de 1.0 g.L⁻¹ de sacarose), RPS 3.0 (adição de 3.0 g.L⁻¹ de sacarose), RPS 4.0 (adição de 4.0 g.L⁻¹ de sacarose).

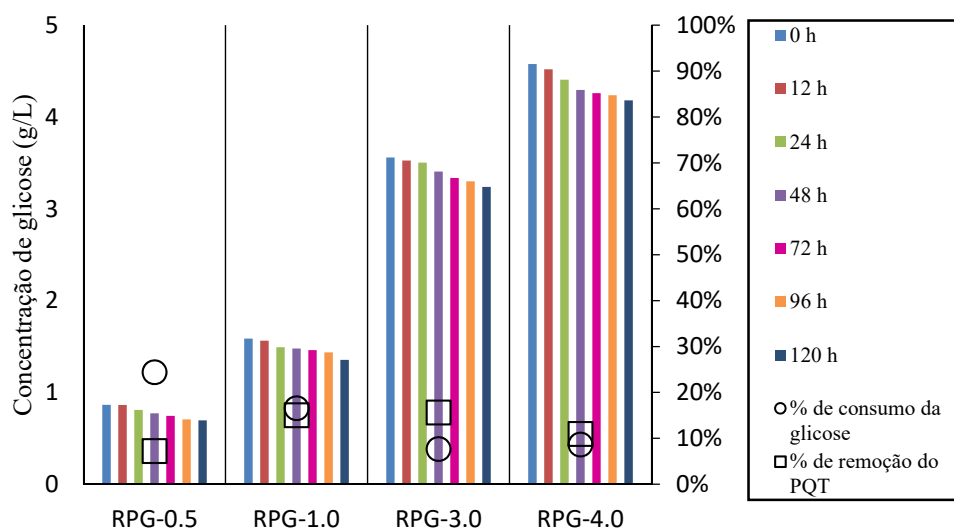


Figura 2. Eficiência de remoção do PQT e consumo de glicose nos reatores: RPG 0.5 (adição de 0.5 g.L⁻¹ de glicose), RPG 1.0 (adição de 1.0 g.L⁻¹ de glicose), RPG 3.0 (adição de 3.0 g.L⁻¹ de glicose), RPG 4.0 (adição de 4.0 g.L⁻¹ de glicose).

Assim, o uso da sacarose favoreceu a melhor assimilação do poluente pelo fungo, o qual obteve a melhor média de remoção de PQT em 120 h (48.9 ± 0.01%), com a concentração de 3 g.L⁻¹ e menor consumo de cossustrato (11.0%).

Com a finalidade de verificar a influência dos cossustratos no metabolismo dos fungos, suprimiu-se a adição de cossustrato no meio dos reatores controles (RC). Os mesmos obtiveram uma média de eficiência de remoção do paraquat inferior em comparação aos reatores que foram adicionados os cossustrato, apenas 1.21 ± 0.04% de remoção do poluente. Portanto a adição de cossustrato foi um diferencial positivo para a remoção do poluente. Marinho *et al.*, (2011), Silveira (2014), Silva (2015) também encontraram as melhores eficiências de remoção de pesticida quando adicionado um cossustrato ao tratamento.

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 1° ordem, isto é a taxa de degradação decresce na proporção da concentração residual do pesticida. Neste presente estudo, 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⁻¹ de glicose) conforme ilustrado na Tabela 4.

Tabela 4. Médias das constantes de velocidades da cinética do decaimento do PQT, médias de eficiência de remoção do PQT nos reatores com adição de sacarose e glicose e desvio padrão das médias.

Reatores	k (h ⁻¹)	% de remoção de PQT	Reatores	k (h ⁻¹)	% de remoção de PQT
RPS 0.5	0.022±0.001	7.40±0.02	RPG 0.5	0.011±0.002	7.19±0.02
RPS 1.0	0.024±0.005	30.53±0.06	RPG 1.0	0.012±0.001	15.00±0.03
RPS 3.0	0.026±0.002	48.90±0.01	RPG 3.0	0.013±0.003	15.62±0.01
RPS 4.0	0.037±0.004	13.50±0.06	RPG 4.0	0.017±0.002	10.92±0.02

Reatores: RPS 0.5 (adição de 0.5 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) 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).

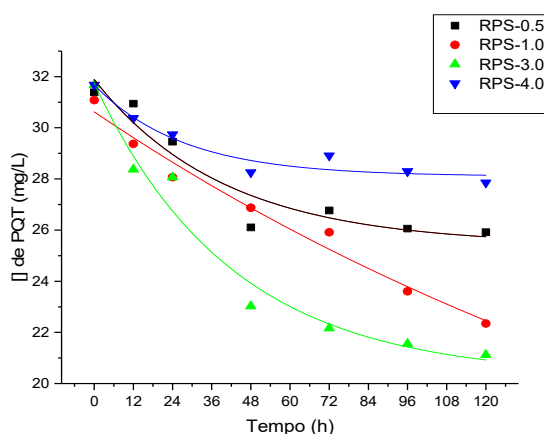
k = constante de velocidade de degradação; t = tempo; h = horas.

A 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) ao adicionar um cossustrato. Quispe e Carvalho (2010) estudaram a degradação do paraquat através da ozonização e obtiveram uma constante de velocidade de 1.42 s⁻¹, uma constante superior a encontrada neste trabalho, porém é processo de alto custo e um elevado consumo elétrico quando comparado ao tratamento biológico (Campos *et al.*, 2012), o que é uma desvantagem em relação à pesquisa apresentada.

Foi também verificado que a medida que aumenta-se a concentração do cossustrato maior é a velocidade de remoção e que a utilização da sacarose fez com que a constante cinética fosse aproximadamente 2 (duas) vezes mais rápida que as dos reatores com adição de glicose quando comparadas às mesmas concentrações de cossustratos, revelando outra vantagem frente aos cossustratos estudados, uma vez que a sacarose possui custo inferior à glicose.

Porém, 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 obtiveram os melhores perfis de curva de degradação, observadas nas Figuras 3a e 3b.

3a



3b

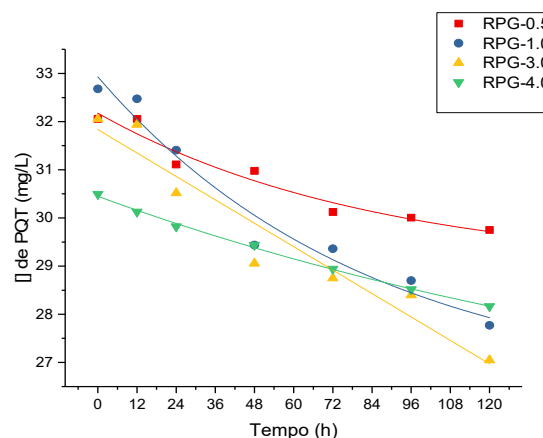


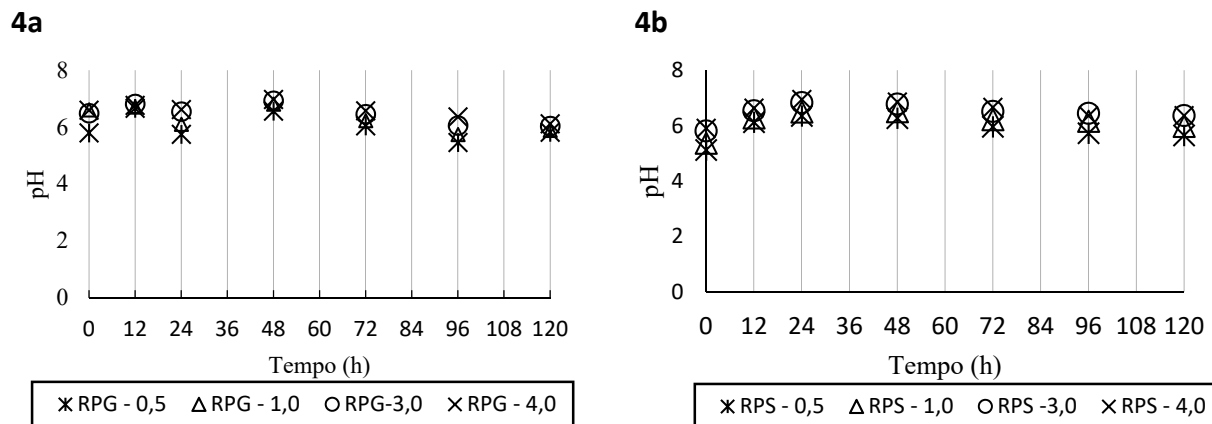
Figura 3. Curvas de degradação do paraquat em reatores em bateladas agitadas inoculados com *Phanerochaete chrysosporium* **3a.** com adição de sacarose nos reatores RPS-0.5 (adição de 0.5 g.L⁻¹ de sacarose), RPS-2.0 (adição de 2.0 g.L⁻¹ de sacarose), RPS-3.0 (adição de 3.0 g.L⁻¹ de sacarose), RPS-4.0 (adição de 4.0 g.L⁻¹ de sacarose); **3b.** com adição de glicose 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).

Formação da biomassa fúngica

As temperaturas durante toda a batelada em todos os reatores permaneceram na faixa de 25 a 30 °C. De acordo com Gimeno (2001) os fungos crescem em uma ampla faixa de temperatura de 0 a 45°C, porém a melhor faixa de crescimento é de 25 a 30°C, a mesma apresentada neste estudo e também corresponde à melhor faixa de temperatura para degradação de pesticidas (Topp *et al.*, 1997).

Com relação ao pH, os afluentes aos reatores iniciavam com a média de 5.4±0.2 e após 120 h do tempo reacional os efluentes apresentavam a média de pH 6.1±0.2, ou seja, superior ao valor de entrada, porém ainda de acordo com os autores Trabulsi e Alterthum (2008) que afirmam 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 e no final do tempo reacional os reatores estavam sob condições ótimas de pH para o desenvolvimento fúngico.

As oscilações de pH durante todo o tratamento, observados nas Figuras 4a e 4b, deveram-se a presença de oxigênio e de um fornecimento de elétrons contínuo, pois o PQT produz um ciclo de oxidações e reduções, com produções contínuas de ânions superóxidos (Silva *et al.*, 2004).



Figuras 4. Variação do pH nos tempos de 0h, 12h, 24h, 48h, 72h, 96h e 120h nos reatores: **4a.** - com adição de sacarose nos reatores RPS-0.5 (adição de 0.5 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); **4b** - com adição de glicose 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).

Reyna *et al.*, (2017) 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, no caso 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. Logo, estas enzimas podem ter sido ativadas promovendo assim a degradação parcial do PQT, durante esta pesquisa.

Paralelamente ao consumo do PQT e dos co-substratos, observou-se o crescimento da biomassa fúngica em forma de "pellets", pequenas esferas aglutinadas (Figura 6.), devido, possivelmente, ao estímulo da produção de polissacarídeos pelo uso de glicose e de sacarose, dissacarídeo formado por glicose e frutose, contribuído pelo pH do meio dos reatores (5-6) e a temperatura média entre 25°C±0.4 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 (Pamboukian, 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 facilitou 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 5. Formación de "pellets" nos reatores utilizados nas bateladas agitadas

A quantidade de biomassa presente nos reatores foi medida em SSV. Os reatores que tinham a concentração de 0.5 g.L⁻¹ de cossustrato foi a que obteve o maior valor de SSV (RPS-0.5 = 0.278 g.L⁻¹ e RPG-0.5 = 0.290 g.L⁻¹). Pode-se observar nas Figuras 6a e 6b, que os reatores com menor consumo de cossustrato corresponderam a menor produção de biomassa.

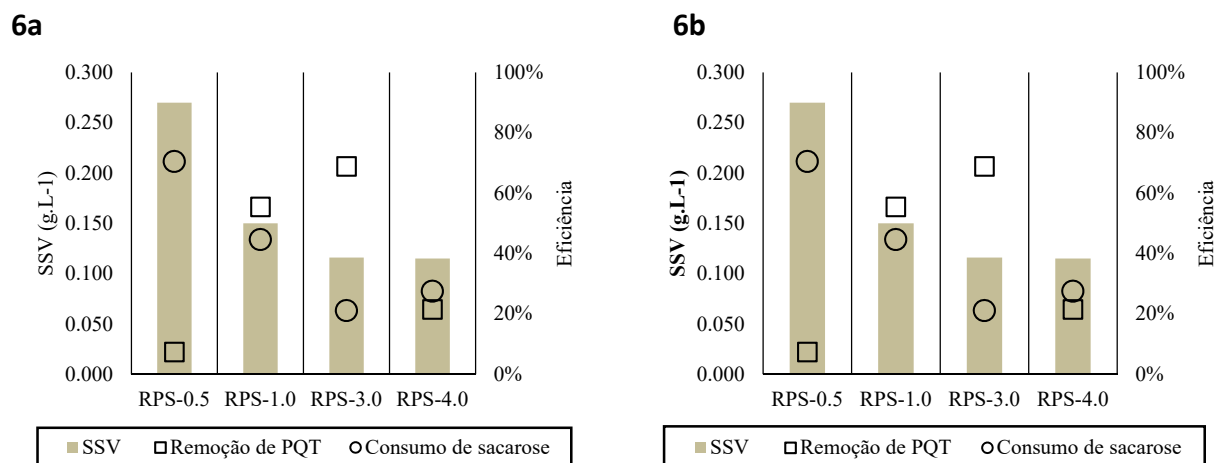


Figura 6. SSV, eficiência da remoção de PQT e consumo do cossustratos no tempo reacional final (120h) nos reatores: **6a**. - com adição de sacarose nos reatores RPS-0.5 (adição de 0.5 g.L⁻¹ de sacarose), RPS-2.0 (adição de 2.0 g.L⁻¹ de sacarose), RPS-3.0 (adição de 3.0 g.L⁻¹ de sacarose), RPS-4.0 (adição de 4.0 g.L⁻¹ de sacarose); **6b** - com adição de glicose 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).

O reator RC, o qual não foi adicionado cossustrato, obteve $SSV = 0.063 \text{ g.L}^{-1}$, provavelmente, o desenvolvimento da biomassa foi inferior aos demais reatores devido à ausência de uma fonte primária de carbono de fácil consumo, já 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 obtiveram maior consumo de sacarose foram os mesmos que obtiveram uma menor remoção do paraquat.

Teste de toxicidade com *Allium cepa*

Em todos os testes de controle, as raízes das cebolas obtiveram crescimento de $3 \pm 0.2 \text{ cm}$ (Figura 7), o qual corresponde a 0% de inibição para posterior comparação.



Figura 7. Crescimento das raízes no teste controle das cebolas.

O teste de toxicidade com cebolas foi realizado com o afluente (entrada) e o efluente (saída) de cada reator após o tratamento, com ambos cossustratos estudados. O crescimento das raízes dos efluentes sintéticos com adição de sacarose e de glicose podem ser observados nas Figura 8 e Figura 9.

A *Allium cepa* (cebola) tem sido bastante utilizada em ensaios ecotoxicológicos na avaliação da toxicidade de diversos compostos (Arambasic *et al.*, 1995; Jardim, 2004; Bolle *et al.*, 2004; Torres, 2012; Hou *et al.*, 2018; Dizdari e Kopliku, 2018), uma vez que é um teste rápido e de fácil execução e com finalidade ambiental (Benassi, 2004).

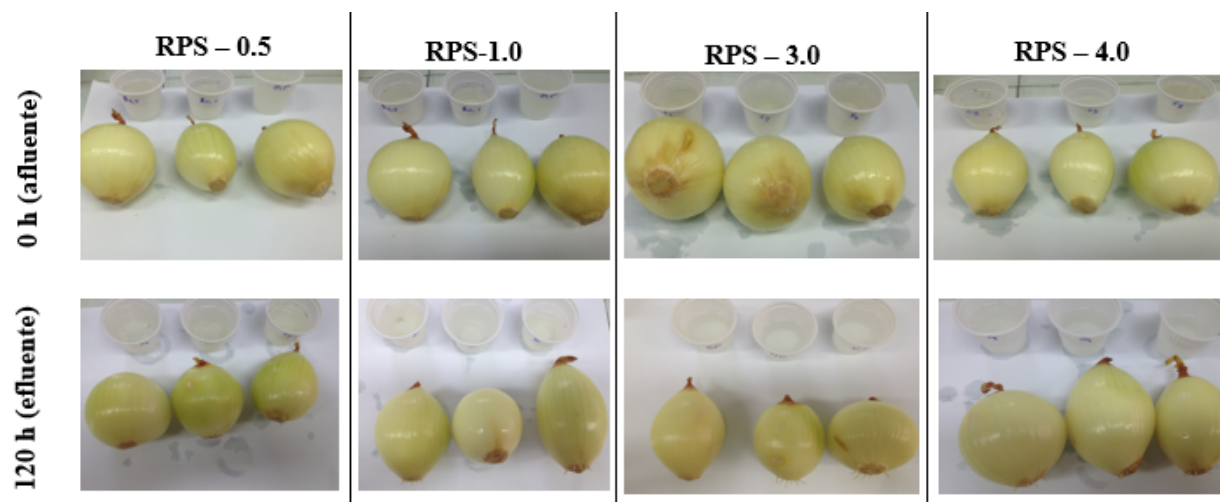


Figura 8. Teste de toxicidade com cebolas com o afluente e efluente dos reatores com adição de sacarose nos reatores RPS-0.5 (adição de 0.5 g.L^{-1} de sacarose), RPS-2.0 (adição de 2.0 g.L^{-1} de sacarose), RPS-3.0 (adição de 3.0 g.L^{-1} de sacarose), RPS-4.0 (adição de 4.0 g.L^{-1} de sacarose).

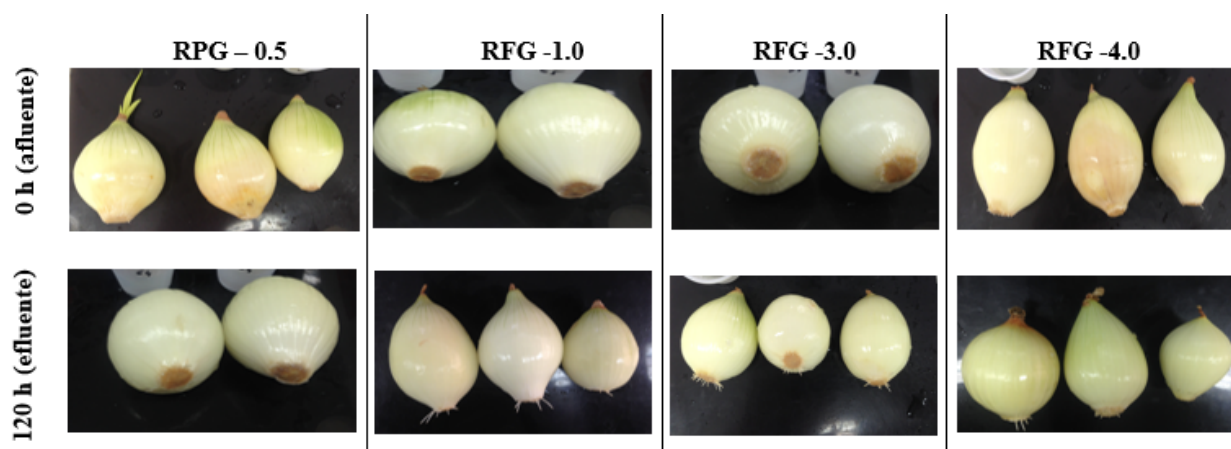


Figura 9. Teste de toxicidade com cebolas com o afluente e efluente dos reatores com adição de glicose nos reatores RPG-0.5 (adição de 0.5 g.L^{-1} de glicose), RPG-1.0 (adição de 1.0 g.L^{-1} de glicose), RPG-3.0 (adição de 3.0 g.L^{-1} de glicose), RPG-4.0 (adição de 4.0 g.L^{-1} de glicose).

As raízes sofreram uma inibição de 100% no crescimento quando submersas ao afluente. Assim, podemos dizer que o PQT com 30 mg.L^{-1} de concentração causou um efeito inibitório no crescimento das raízes. Com o tratamento, após 72 h de contato das raízes com efluente, o reator RPS-3.0 foi o que apresentou a menor inibição de crescimento com 66% ($1 \pm 0.1 \text{ cm}$ de crescimento), possivelmente por ter removido 48.9% do PQT. Nos demais reatores, as inibições foram acima de 80%, conforme apresentado na Tabela 5.

Tabela 5. Crescimento das raízes no teste de toxicidade realizados com a afluyente e efluente dos reatores com adição de sacarose nos reatores

REATORES	CRESCIMENTO (cm)	INIBIÇÃO (%)	REATORES	CRESCIMENTO (cm)	INIBIÇÃO (%)
RPS-0.5	A: 0 ± 0.0 E: 0 ± 0.0	100 100	RPG-0.5	A: 0 ± 0.0 E: 0 ± 0.0	100 100
RPS-1.0	A: 0 ± 0.0 E: 0.5 ± 0.1	100 83	RPG-1.0	A: 0 ± 0.0 E: 0.3 ± 0.1	100 90
RPS-3.0	A: 0 ± 0.0 E: 1 ± 0.0	100 66	RPG-3.0	A: 0 ± 0.0 E: 0.3 ± 0.1	100 90
RPS-4.0	A: 0 ± 0.0 E: 0.1 ± 0.0	100 96	RPG-4.0	A: 0 ± 0.0 E: 0.1 ± 0.0	100 96

RPS-0.5 (adição de 0.5 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); e com adição de glicose 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). Legenda: A:Afluyente; E: Efluente; 0% de inibição = 3 cm de crescimento.

Avaliação de contaminação

Com relação ao teste biológico, constatou-se que a presença de fungos foi superior à presença de bactérias, garantindo assim que a remoção de paraquat foi predominante pela ação fúngica. As Figuras 10a e 10b apresentam as contagens (UFC.mL⁻¹) realizadas no tempo reacional 120 h em todos os reatores.

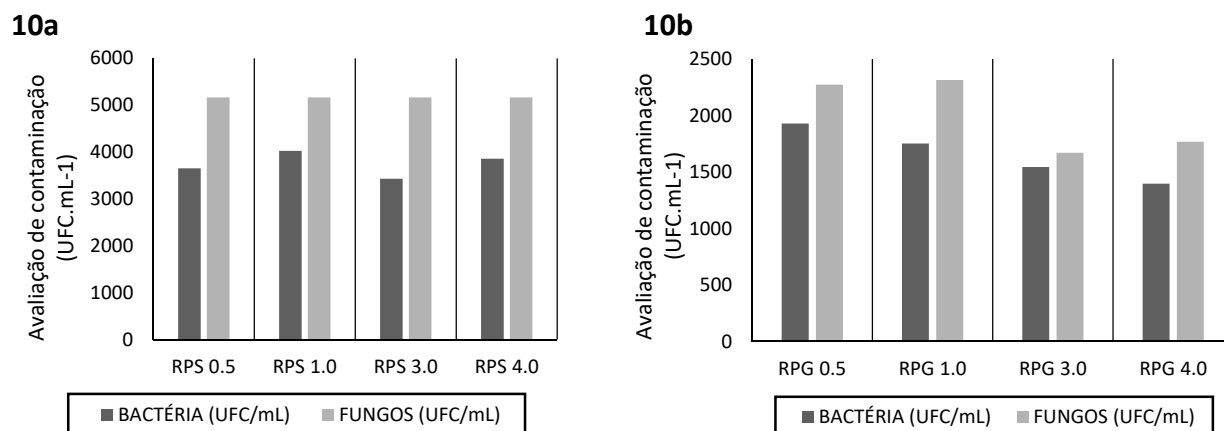


Figura 10. Teste biológico no tempo reacional de 120h nos reatores 10a. RPS 0.5 (adição de 0.5 g.L⁻¹ de sacarose), RPS 1.0 (adição de 1.0 g.L⁻¹ de sacarose), RPS 3.0 (adição de 3.0 g.L⁻¹ de sacarose), RPS 4.0 (adição de 4.0 g.L⁻¹ de sacarose); 10b. RPG-0.5 (adição de 0.5 g.L⁻¹ de glicose), RPG-1.0 (adição 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).

Conclusão

Os reatores inoculados com a espécie fúngica *Phanerochaete chrysosporium* com adição de sacarose demonstraram as melhores eficiências quanto a remoção do herbicida paraquat. O reator com adição de 3.0 g.L⁻¹ de sacarose (RPS – 3.0) destacou-se por remover 49.0% do paraquat, que para tratamento biológico corresponde a uma elevada eficiência. Em termos econômicos, o reator RPS – 1.0 possui a condição mais viável para ser utilizado em escalas reais, uma vez que empregou menos cossustrato e houve remoção do poluente (30.53 %). A concentração do cossustrato empregada, ainda deixa um efluente sem condições de atender à legislação, portanto necessitando de um pós-tratamento para a tecnologia, ora proposta com as condições apresentadas.

O reator sem adição do cossustrato (RC) não apresentou remoção do Paraquat superior a 2.0%, ou seja, a presença de um cossustrato foi indispensável para a remoção do herbicida.

No que se diz a respeito da cinética da degradação do paraquat, podemos afirmar que a adição de cossustrato influenciou na velocidade da constante cinética e que as constantes cinéticas obtidas nos reatores com adição de sacarose foram superiores aos obtidos nos reatores com adição de glicose.

O consumo de PQT, do cossustrato e a temperatura, pH e a agitação do meio favoreceram a formação de “pellets”, o qual facilitou o processo biológico.

O teste de toxicidade com *Allium cepa* com o afluente e efluente dos reatores indicou que houve diminuição da toxicidade dos efluentes com PQT, indicando que o tratamento realizado foi positivo para possível diminuição do impacto desses poluentes no ambiente. Apenas os reatores RPS-0.5 e RPG-0.5 não apresentaram diminuição da toxicidade, uma vez que houve pouca remoção do poluente. Porém, ocorreu 100% de inibição dos crescimentos das raízes quando submetidos ao afluente, sendo a concentração de 30 mg.L⁻¹ de PQT um fator inibitório.

A avaliação de contaminação realizado em todos os reatores no tempo reacional de 120 h, demonstrou que a presença dos fungos foi predominante em relação às bactérias.

O uso da espécie *Phanerochaete chrysosporium* apresentou-se como uma alternativa para o tratamento de águas contaminadas com paraquat, em elevadas concentrações. Porém, é necessário destacar que são necessárias políticas públicas que monitorem a utilização dos pesticidas e repassem alternativas biológicas ao uso desses poluentes sem que acarrete problemas ambientais.

Referências

- Agbohessi, P., Imorou, T., Quédraogo, A., Jauniaux, T., Mandiki, S., Kestemont, P. (2015) 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*, **506**, 567-584.
- Almeida, D., Lucena, M. (2006) Gestão estoques na cadeia de suprimentos. *Revista ECCO*, **1**, 1.-3.
- APHA (2005) *Standard methods for water and wastewater examination*, 21th ed., American Public Health Association, Washington, DC, USA.
- Arambasic, M. B., Bjelic, S., Subakov, G. (1995) Acute toxicity of heavy metals (copper, lead, zinc), phenol and sodium on *Allium cepa* L., *Lepidium sativum* L. and *Daphnia magna* St.: comparative investigation and the practical applications. *Water Research*, **29**, 497-503.
- AOAC, Association of Official Analytical Chemists (2000) Official methods of analysis of AOAC international 969.09. 17th ed., aoac international, Arlington.
- Andrade, M. (2015) *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, Instituto Federal do Ceará, Fortaleza, 95 pp.
- Báez, A., Padilla, H., García, R., Torres, M. C., Rosas, L., Belmont, R. (2003) Carbonyls levels in indoor and outdoor air in Mexico City and Xalapa, Mexico. *Sci. Total Environ*, **302**, 211-226.
- Baird, C. (2011) *Química ambiental*. Bookman ed. Porto Alegre, 670 pp.
- Barbosa, D. B. P. (2013) *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, 105pp.
- Barbosa, B. C. A. (2016) *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, 125pp.
- Benassi, J. C. (2004) *O uso de bioindicadores e biomarcadores na avaliação do processo de remediação de efluente de lixiviação de carvão mineral utilizando microesferas de quitosana*. 106 f. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal De Santa Catarina, Florianópolis,.
- Bernoth, L., Firth, I., Mcallister, P., Rhodes, S. (2000) Biotechnologies for remediation and pollution control in the mining industry. *Miner. Metall. Proc*, **17**, 105-111.
- Bolle, P., Mastragelo, S., Tucci P., Evandri M. G. (2004) Clastogenicity of atrazine assessed with the *Allium cepa* test. *Environmental And Molecular Mutagenesis*, [s.l.], **43**, 2,137-141.
- Bogan, B. W., Lamar, R. T. (1996) Polycyclic Aromatic Hydrocarbon- Degrading Capabilities of *Phanerochaete laevis* HHB-1625 and Its Extracellular Lignolytic Enzymes. *Applied and Environmental Microbiology*, **62** (5), 1597-1603.
- Campos, A., Andrioli, E. e Gutterres, M (2012). Tratamento de efluentes por ozonização. *XX Congresso Brasileiro de Engenharia Química*. Florianópolis/SC.
- Carneiro, F. F., Rigotto, R. M., Augusto, L. G. S., Friedrich, K. Búrigo, A. C. (2015) *Dossiê ABRASCO: Um alerta sobre os impactos dos Agrotóxicos na Saúde*. Rio de Janeiro: World Nutrition, 628 pp .
- Chander, S., Nayyar, H. (2004) Protective Effects of Polyamines against Oxidative Stress Induced by Water and Cold Stress in Chickpea. *Journal of agronomy and crop science*, **190**, 355-365
- Chuntib, P. Kajmune, J. (2015) Simple flow injection colorimetric system for determination of para- quat in natural water. *Talanta*, **114**, 432-438.
- Dimitrijević, A., Ignjatovic, L., Toc, A., Vranes, M., Zec, N., Gadzuric, S., Trtic-Petrovic, T (2017) Simultaneous extraction of pesticides of different polarity applying aqueous biphasic systems based on ionic liquids. *Journal of Molecular Liquids*, **243**, 646-653
- Dizadan, A.M., Kopliku, D. (2018) Cytotoxic and Genotoxic Potency Screening of Two Pesticides on *Allium cepa* L. *Procedia technology*, **8**, 19-25.

- EMBRAPA, Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (2013) *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.
- Filho, M. A. M. (2005) *Avaliação do potencial biotecnológico de Phanerochaete chrysosporium UCP 963 E Cunninghamella elegans ucp 596 na remoção de cobre e zinco*. Dissertação (Mestrado), Departamento de micologia, pós graduação em biologia dos fungos, Universidade de Pernambuco, Recife, 74 pp.
- Geller, R. (2007) Paraquat and diquat. *Poisoning & drug overdose*, **10**, 297-299.
- Gimeno, A. (2001) Los Hongos y las Micotoxinas en la Alimentación Animal; Conceptos, Problemas, Control y Recomendaciones. *Albeitar*, **45**, 46-47
- Grundlingh, J., Dargan, P.I., El-Zanfaly, M., Wood, D. M. (2011) 2,4-Dinitrophenol (DNP): A Weight Loss Agent with Significant Acute Toxicity and Risk of Death. *Journal of Medical Toxicology*, **7**(3), 205-212.
- Hou, J., Wu, Y., Li, X., Wei, B., Li, S., Wang, X. (2018) Toxic effects of different types of zinc oxide nanoparticles on algae, plants, invertebrates, vertebrates and microorganisms. *Chemosphere*, **193**, 852-860
- IGME, Instituto Geológico y Minero de España (s/a) Degradación e inactivación de plaguicidas. Acesso em: 20 de setembro de 2017, disponível em: www.aguas.igme.es/igme/publica/libro28/pdf/lib28/3_degra.pdf
- Jardim, G. M. (2004) *Estudos ecotoxicológicos da água e do sedimento do Rio Corumbataí, São Paulo*. 2004. 138 f. Dissertação (Mestrado) - Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Universidade de São Paulo, Piracicaba.
- Kyriacou, A., Lasaridi, K.E., Kotsou, M., Balies, C., Pilidis, G.(2005) Combined bioremediation and advanced oxidation of green table olive processing wastewater. *Process Biochemistry*, **40**, 1404 – 1408.
- Larini, L. (1999) Toxicologia dos praguicidas. Manole LTD ed. São Paulo: [s.n.].
- Lima, L. L., Cunha, R. M., Cardoso, L. M. (2014) 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. VII CONNEPI – Congresso norte e nordeste de pesquisa e inovação. Brasil, Tocantins - Palmas.
- Marinho, G., Rodrigues, K., Araújo, R., Pinheiro, Z., Silva, G.(2011). Glucose effect on degradation kinetics of methyl parathion by filamentous fungi species *Aspergillus Niger* AN400. *Eng Sanit Ambient*, **16**(3), 225-230.
- Oliveira, R., Silva, S. (2001) *Manual de análises físico-químicas de águas de abastecimento e residuárias*, DEC/CCT/UFGP, Campina grande, 270 pp.
- Pelczar, M., Chan, E. C. S., Krieg, N. R. (1996) *Microbiologia: conceitos e aplicações*. 2a ed. São Paulo: McGraw-Hill, 1, 517.
- Qi, H. Huang, Q. Hung, Y. (2018) Effectiveness of electrolyzed oxidizing water treatment in removing pesticide residues and its effect on produce quality. *Food chemistry*, **239**, 561-568.
- Quispe, P. R. Carvalho, R. J. (2010) Degradación del pesticida paraquat a través del proceso de ozonización. *Revista CENIC. Ciencias Químicas*, **41**, 1-11
- Reyna, L., Gerardo, J. L., Navarro, G., Sanchez, J.E. (2017) Producción de enzimas ligninolíticas durante la degradación del herbicida paraquat por hongos de la pudrición blanca. *Revista Argentina de Microbiología*, **49** (20), 189-196.
- 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. (2006) *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. Universidade de São Paulo, Brasil.100 pp.
- Roede, J. R., Miller, G. W. (2014) *Paraquat*. Encyclopedia of Toxicology, 756-758.
- Santos, A. D. O., Souza, A. M. X., Barreto, I. N., Wanderley, C, R, P., Marinho, G., Rodrigues, K. (2015) Degradación de índigo carmim em reator em bateladas sequenciais com aspergillus niger an 400 no tratamento de água residuária têxtil *in natura*. *AIDIS*, **8**(3), 328-343.

- Silva, C. M. M. S., Fay, E. F. (2004) *Agrrotóxicos e ambiente*. Brasília, DF: EMBRAPA informação tecnológica, 400 pp.
- Silva, L. C. N. (2015) *Degradação biológica de paraquat em reatores em bateladas por biomassa fúngica*. Dissertação (Mestrado), Departamento de meio ambiente, Pós-graduação em tecnologia e gestão ambiental, Instituto Federal do Ceará IFCE, Fortaleza, 90pp.
- Silveira, R. B. (2014) *Degradação do 2,4 – Dinitrofenol (2,4-DNF) por Aspergillus niger AN 400 em reatores bateladas*. Dissertação (Mestrado em Tecnologia e Gestão Ambiental). Programa de Pós-Graduação em Tecnologia e Gestão Ambiental do Instituto Federal do Ceará – PGTGA/IFCE. 130 pp.
- Singh. A. P, Singh, T. (2014) Biotechnological applications of wood-rotting fungi: A review. *Biomass and bioenergy*, **62**, 198-206.
- Trabulsi, L. R., Alterthum, F. (2008) *Microbiologia*. [6ª edição.]: Editora Ateneu.
- Tomita, R. Y., Beyruth, Z. (2002) Toxicologia de agrrotóxicos em ambiente aquático. *Biológico*. **64**, 135-42.
- Torres, D. L. F. F. (2012) *Avaliação da toxicidade de efluente sanitário tratado e ondicionado para aplicação na agricultura, utilizando Allium cepa, Daphnia similis e Vibrio fischeri, como organismos-teste*. 2012. 154 pp. Dissertação (Mestrado) – Curso de Engenharia Civil, Arquitetura e Urbanismo da nicamp, Universidade Estadual de Campinas, Campinas – SP.
- Tsai, W. T., Chen, H. R. (2013) Adsorption kinetics of herbicide paraquat in aqueous solution onto a low-cost adsorbent, swine-manure-derived biochar. *Int. J. Environ. Sci. Technol.*, **10**, 1349-1356.
- Van Leeuwen, J., Rasnussen, M., Sankaran, S., Jin B. (2012) Fungal Treatment of Crop Processing Wastewaters with Value-Added Co-Products. *Sustainable Bioenergy and Bioproducts, Green Energy and Technology*, [S.I: s.n.], 13-44.
- Yin, X., Lian, B. (2012) Dimethoate degradation and calcium phosphate formation induced by *Aspergillus niger*. *African Journal of Microbiology Research*, **6**(50), 7603-7609.