



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE CAMPINA GRANDE  
CENTRO DE TECNOLOGIA E RECURSOS NATURAIS  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA CIVIL E AMBIENTAL-PPGECA  
ÁREA DE CONCENTRAÇÃO: ENGENHARIA DE RECURSOS HÍDRICOS E SANITÁRIA**

**ROBERTA DANIELA DA SILVA SANTOS**

**AVALIAÇÃO DE UM REATOR BIOLÓGICO AERADO PARA O  
TRATAMENTO DE EFLUENTES CONTAMINADOS POR  
AGROTÓXICOS**

Campina Grande – PB  
2015

ROBERTA DANIELA DA SILVA SANTOS

**AVALIAÇÃO DE UM REATOR BIOLÓGICO AERADO PARA O TRATAMENTO DE  
EFLUENTES CONTAMINADOS POR AGROTÓXICOS**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós Graduação em Engenharia Civil e Ambiental da Universidade Federal de Campina Grande, como requisito necessário para obtenção do grau de Mestre.

Orientadora: Prof<sup>a</sup>. DSc. Veruschka Escarião Dessoles Monteiro

Coorientadora: Pesquisadora DSc. Paula Tereza de Souza e Silva

Coorientador: Prof<sup>o</sup>. DSc. Márcio Camargo de Mello

Área de Concentração: Engenharia de Recursos Hídricos e Sanitária

Campina Grande – PB  
2015

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA BIBLIOTECA CENTRAL DA UFCG

- S237a Santos, Roberta Daniela da Silva.  
Avaliação de um reator biológico aerado para o tratamento de efluentes contaminados por agrotóxicos / Roberta Daniela da Silva Santos. – Campina Grande, 2015.  
84 f. : il. Color.
- Dissertação (Mestrado em Engenharia Civil e Ambiental) – Universidade Federal de Campina Grande, Centro de Tecnologia e Recursos Naturais, 2015.
- "Orientação: Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Veruschka Escarião Dessoles Monteiro, Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Paula Tereza de Souza e Silva, Prof. Dr. Márcio Camargo de Melo".  
Referências.
1. Biodegradação. 2. Agrotóxicos. 3. Efluente. 4. Reuso. 5. Biofertilizante. I. Monteiro, Veruschka Escarião Dessoles. II. Silva, Paula Tereza de Souza e. III. Melo, Márcio Camargo de. IV. Título.

CDU 624:504.1(043)

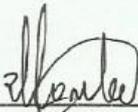
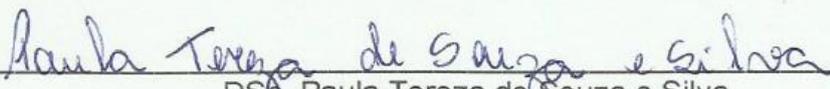
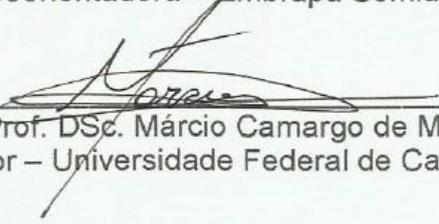
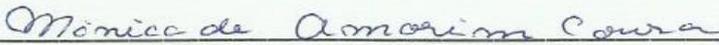
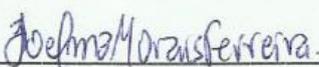
UNIVERSIDADE FEDERAL DE CAMPINA GRANDE  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA CIVIL E AMBIENTAL-PPGECA  
ÁREA DE CONCENTRAÇÃO: ENGENHARIA DE RECURSOS HÍDRICOS E SANITÁRIA

**FOLHA DE APROVAÇÃO**

Roberta Daniela da Silva Santos

AVALIAÇÃO DE UM REATOR BIOLÓGICO AERADO PARA O TRATAMENTO DE  
EFLUENTES CONTAMINADOS POR AGROTÓXICOS

Trabalho apresentado ao Programa de Pós Graduação em Engenharia Civil e Ambiental da Universidade Federal de Campina Grande, como requisito para a obtenção do título de mestre em Engenharia Civil e Ambiental.


Profª. DSc. Veruschka Escarião-Dessoles Monteiro (Orientadora – Universidade Federal de Campina Grande)

DSc. Paula Tereza de Souza e Silva (Coorientadora – Embrapa Semiárido)

Prof. DSc. Márcio Camargo de Mello (Coorientador – Universidade Federal de Campina Grande)

Profª. DSc. Mônica de Amorim Coura (Examinador Interno – Universidade Federal de Campina Grande)

Profª. DSc. Joelma Morais Ferreira (Examinador Externo – Universidade Federal da Paraíba)

Campina Grande-PB, 27 de Fevereiro de 2015.

## AGRADECIMENTOS

Primeiramente a Deus por que por ele, dele e para ele são todas as coisas.

À minha família em especial aos meus pais Pedro e Edilza pelo carinho, apoio e dedicação durante toda a minha vida o que permitiu a realização de mais esse sonho. Sem dúvida nenhuma ao meu eterno e grande amor meu sobrinho Luís Gustavo.

Ao meu namorado Marcello pela paciência, dedicação, carinho, amor enfim por me ajudar em todos os meus projetos sempre me motivando a não desistir e à nossa filha Cristal, cuja lealdade infinita despertou em mim um amor inenarrável e inigualável.

Aos amigos e colegas da pós-graduação da UFCG pela oportunidade de compartilhar inúmeros momentos de alegria e dificuldades. Em especial, Tayron, Lucivânia e Bárbara que sempre estiveram presentes me apoiando e motivando.

À equipe do laboratório Agroambiental da Embrapa Semiárido, pela amizade, companheirismo, motivação e pelo grandioso auxílio nas análises. Em especial Emerson, Carol, Hellen, Layanny, Jacqueline, Inaracy e Thaís.

À Embrapa Semiárido, ao SENAI e ao Laboratório de Bioquímica da UNIVASF por ter disponibilizado suas instalações para realização desse trabalho.

Aos amigos da graduação que sempre me motivaram e ajudaram no que fosse preciso, em especial Simone, Danielle, Cristiane, Anne Kallyne, Gilmara, Carlos Henrique e Antunes.

Ao corpo docente da Pós-Graduação em Engenharia Civil e Ambiental da UFCG, pela contribuição na minha formação.

À minha orientadora DSc. Veruschka Monteiro e ao meu Co-Orientador DSc. Márcio Mello pelo incentivo, paciência e por me auxiliar no que fosse necessário para realização desse trabalho.

À minha Co-Orientadora DSc. Paula Silva por toda a atenção, paciência e auxílio, tornando possível a execução desse trabalho.

À Capes pelo incentivo financeiro, fundamental para realização do mestrado.

Enfim a todos que colaboraram de alguma forma para realização dessa conquista. Muito Obrigada

"Bem aventurado é o homem que acha sabedoria e  
o homem que adquire conhecimento."

Provérbios 3.13

SANTOS, R.D.S. **Avaliação de um reator biológico aerado para o tratamento de efluentes contaminados por agrotóxicos.** 2015. 84f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Civil e Ambiental) - Universidade Federal de Campina Grande - UFCG.

## RESUMO

O processo agrícola passou por mudanças significativas na década de 50 que contemplaram principalmente o uso extensivo de agrotóxicos no controle de pragas e doenças. No entanto, a utilização dessas substâncias gera efluentes contaminados que podem impactar significativamente o meio ambiente, o que torna imprescindível a utilização de métodos para tratá-los e reduzir sua toxicidade, a exemplo do tratamento biológico aerado. O objetivo desse trabalho foi avaliar um sistema de tratamento biológico combinando aeração e esterco caprino na biodegradação de efluentes contaminados com agrotóxicos, visando reutilizar esse efluente como um biofertilizante. Esse trabalho foi conduzido em duas etapas, a primeira, consistiu na avaliação do tratamento biológico adotado por uma fazenda produtora de uva no Vale do São Francisco e a segunda etapa, contemplou um estudo em escala laboratorial com efluente sintético contaminado com imidacloprido empregando reator biológico aerado. Na primeira etapa, os efluentes e a calda orgânica foram coletados em tanques aerados da fazenda Produtora de uva. Foram feitas as seguintes análises, físico-químicas e microbiológicas nas amostras de efluente e calda orgânica; resíduos de agrotóxicos no efluente e esterco caprino; ensaios de toxicidade com o efluente antes e após o tratamento. O tratamento foi capaz de biodegradar o fungicida ciproconazol. Na segunda etapa, o delineamento experimental utilizado foi um planejamento fatorial 2x2 com três repetições. O efluente sintético, preparado com o inseticida imidacloprido foi colocado em um reator, em seguida adicionou-se esterco caprino e o sistema permaneceu sob aeração constante por meio de bombas de aeração para aquário. Foram monitorados temperatura, oxigênio dissolvido, nitrogênio e COT. Foram realizadas análises microbiológicas no efluente e também de resíduos de agrotóxicos no efluente e no esterco. Esse tratamento foi capaz de biodegradar aproximadamente 40% da concentração inicial de imidacloprido em 15 dias. Estudos dessa natureza trazem uma enorme contribuição para a ciência e a região do Vale do São Francisco, pois propõe uma alternativa de tratamento para sobras de calda e água de lavagem dos equipamentos de pulverização.

**Palavras chave:** Biodegradação, agrotóxicos, efluente, reuso, biofertilizante.

SANTOS, R.D.S. **Evaluation of an aerated biological reactor for the treatment of wastewater contaminated by pesticides.** 2015. 84f. Dissertation (Master in Civil and Environmental Engineering) - Federal University of Campina Grande - UFCG.

## **ABSTRACT**

The agricultural process has undergone significant changes in the 50s that mainly contemplated the extensive use of pesticides to control pests and diseases. However, the use of these substances generates contaminated effluents that may significantly impact the environment, which makes it essential to use methods for treat them and reduce their toxicity, such as the biological treatment. The aim of this study was to evaluate a biological treatment system combining aeration and goat manure in the biodegradation of wastewater contaminated with pesticides, in order to reuse this effluent as a biofertilizer. The work was conducted in two stages, the first, consisted of evaluation biological treatment adopted by a grape-producing farm in the São Francisco Valley and the second stage, gazed a study in laboratory scale with synthetic sewage using aerated biological reactor. In the first stage, the effluents and the organic syrup were collected in aerated tanks in the grape-producing farm. Were asked the following analyzes, physical-chemical and microbiological in effluent samples and organic syrup; pesticide residues in the goat manure and effluent; toxicity tests with the effluent before and after treatment. The treatment was able to biodegrade the fungicide cyproconazole. In the second step the experimental design was a 2x2 factorial design with three replications. The synthetic effluent prepared with the insecticide imidacloprid was placed in a reactor, followed by addition of goat manure and if the system remained under constant aeration by the aeration tank pumps. Temperature, dissolved oxygen, nitrogen and TOC were monitored. Microbiological analyzes were performed in the effluent and pesticide residues in the effluent and manure. Studies of this nature make an enormous contribution to science and the São Francisco valley, as they provide an alternative treatment method for leftover syrup and cleaning water for spraying equipment.

**Keywords:** Biodegradation, pesticides, effluent, reuse, biofertilizer.

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Localização do Polo Frutícola Petrolina-PE/Juazeiro-BA.....	14
Figura 2 - Modelo de fatores e processos que governam o destino e o impacto ambiental dos agrotóxicos no solo. ....	20
Figura 3 - Movimento dos agrotóxicos no ambiente aquático. ....	21
Figura 4 - Primeiro (A), segundo (B) e terceiro (C) estágio de larvas de <i>Artemia salina</i> após 24, 48 e 72 horas de eclosão, respectivamente. ....	27

### CAPITULO I

Figura 1 - Variação dos teores Nitrogênio total (mg/L).....	40
Figura 2 - Variação dos teores de Fósforo Total (mg/L).....	40
Figura 3 - Variação dos teores de Carbono Orgânico (mg/L).....	41
Figura 4 - Bactérias Heterotróficas (UFC/mL). ....	42
Figura 5 - Cromatograma de íons do efluente bruto (T0). ....	42

### CAPITULO II

Figura 1 - Esquema da disposição dos reatores no experimento.....	53
Figura 2 - Montagem do experimento. ....	54
Figura 3 - Mapas de Krigagem para a variável temperatura (°C) no interior dos reatores com proporções 95/5 (a) e 80/20 (b) respectivamente.....	58
Figura 4 - Variação dos teores de Oxigênio dissolvido (mg/L) nos três reatores com proporção efluente/biomassa 95/5 (a) e 80/20 (b) respectivamente. ....	59
Figura 5 - Cromatograma do efluente inicial contaminado com imidacloprido. ....	60
Figura 6 - Degradação do imidacloprido no efluente e esterco caprino, na proporção 80/20. ....	60
Figura 7 - Variação dos teores de COT (mg/L) nos três reatores com proporção efluente/ biomassa: 80/20. ....	65
Figura 8 - Contagem de microrganismos (UFC/mL) nos três reatores com proporção efluente/ biomassa 95/5 (a) e 80/20 (b) respectivamente. ....	67
Figura 9 - Placas com meio de cultura Pobre+P.A.....	67

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Agrotóxicos e seus respectivos alvos.....	16
Tabela 2 - Classificação dos agrotóxicos quanto à toxicidade. ....	17

### CAPITULO I

Tabela 1 - Caracterização química do esterco caprino. ....	37
Tabela 2 - Propriedades físicas e químicas dos fungicidas.....	38

### CAPITULO II

Tabela 1 - Níveis das variáveis do planejamento fatorial 2x2. ....	54
Tabela 2 - Meios de cultura e seus objetivos. ....	55
Tabela 3 - Parâmetros Cromatográficos utilizados na determinação do imidacloprido. .....	57
Tabela 4 – Teores de Nitrogênio e Carbono Orgânico nos reatores. ....	62
Tabela 5 – Comparação entre a degradação e a mineralização do COT nos diferentes tempos de detenção para a razão efluente/biomassa 80/20. ....	66

## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO</b>	<b>11</b>
1.1	Objetivo Geral	13
1.2	Objetivos Específicos	13
<b>2</b>	<b>REVISÃO BIBLIOGRÁFICA</b>	<b>14</b>
2.1	A produção de Uva no Vale do São Francisco	14
2.2	Agrotóxicos: Definição, Classificação e Propriedades Físico-Químicas	15
2.3	Agrotóxicos e Meio Ambiente	18
2.4	Bases Legais	22
2.5	Destinação e Tratamento dos Efluentes Contaminados com Agrotóxicos	22
2.5.1	Tratamento Biológico de Efluentes de Agrotóxicos	24
2.6	Ensaio de Toxicidade	27
<b>3</b>	<b>CAPÍTULO I: Avaliação de um tratamento biológico para degradar efluentes contaminados com fungicidas oriundos da cadeia produtiva da videira..</b>	<b>29</b>
	Introdução	30
	Materiais e Métodos	32
	Resultados e Discussões	37
	Conclusões	45
	Referências	46
<b>4</b>	<b>CAPÍTULO II: Avaliação da biodegradação do inseticida imidacloprido em reator de bancada</b>	<b>50</b>
	Introdução	51
	Materiais e Métodos	53
	Resultados e Discussões	58
	Conclusões	68
	Referências	69
<b>5</b>	<b>CONCLUSÃO GERAL</b>	<b>74</b>
<b>6</b>	<b>SUGESTÕES</b>	<b>75</b>
	<b>REFERÊNCIAS</b>	<b>76</b>

## 1 INTRODUÇÃO

O processo agrícola passou por mudanças significativas na década de 50, durante a revolução verde. Tais mudanças contemplaram principalmente a inserção de novas tecnologias e o uso intensivo de agrotóxicos no controle de pragas e doenças. Esse cenário, marcado principalmente, pela monocultura (cana de açúcar, uva, manga e etc.) e pela produtividade em larga escala, ocasionou uma série de impactos no meio ambiente e na saúde humana (RIBAS; MATSUMURA, 2009).

O termo agrotóxico contempla uma diversidade de compostos orgânicos, inorgânicos e sintéticos que abrange inseticidas, fungicidas, herbicidas, acaricidas, nematicidas, ou ainda, substâncias utilizadas como reguladores de crescimento, desfolhante ou dissecante (SILVA; FAY, 2004).

No mundo são consumidos anualmente cerca de 2,5 milhões de toneladas de agrotóxicos, no Brasil esse consumo supera 300 mil toneladas. O Vale do São Francisco, inserido no Bioma Caatinga, é responsável por uma parcela significativa do consumo nacional de agrotóxicos, pois essa região domina as exportações brasileiras, uma vez que, a produção de manga e uva abastece os mercados mais exigentes do mundo (ABRASCO, 2012).

Em se tratando da viticultura, o Vale do São Francisco destaca-se no cenário nacional, como sendo o maior exportador de uva de mesa (produção de 82.000 toneladas/ano) e o segundo maior produtor de vinhos finos abrangendo 15% da produção nacional (MAPA, 2014; AGRIANUAL, 2006).

Assim, para se manter nesse roll, faz-se necessário, a utilização de grandes quantidades de insumos, visando suprir os déficits nutricionais do solo e de agrotóxicos para combater pragas e doenças.

Essa crescente utilização de agrotóxicos, acarreta na geração de alguns passivos ambientais, como por exemplo, as embalagens vazias e os efluentes contaminados provenientes das águas de lavagens dos equipamentos destinados a sua aplicação e das sobras da pulverização.

O uso excessivo desses produtos e o descarte inadequado das sobras das pulverizações podem causar enormes prejuízos ambientais, dentre eles, alterações na qualidade dos corpos hídricos. Esse problema se potencializa, uma vez que, no

Vale do São Francisco existe grande demanda de água para fins de abastecimento público e irrigação.

Usualmente esses efluentes são tratados através de processos físicos, químicos e biológicos. Segundo Silva e Fay (2004) o tratamento biológico resume-se na utilização de uma comunidade mista de microrganismos para degradação de substâncias químicas, em condições ambientais favoráveis.

Os processos biológicos se mostram atrativos para degradação de efluentes contaminados com agrotóxicos, pois se enquadram no escopo da sustentabilidade. Entretanto são escassas as pesquisas que versam sobre o tratamento biológico de desses efluentes em condições brasileiras, e as existentes, avaliam técnicas empregando lodos ativados e biobed's.

Diante do exposto, o tratamento biológico de efluentes contaminados com agrotóxicos combinando aeração e biomassa em suspensão (esterco caprino), se torna uma alternativa inovadora e extremamente desafiante.

Escolheu-se como inóculo o esterco caprino, pois esta dissertação foi desenvolvida dentro de um projeto maior da Embrapa Semiárido, que visa identificar, isolar e coleccionar microrganismos pertencentes ao Bioma Caatinga com potencial de biorremediação. Tendo em vista que a caprino-ovinocultura é fortemente praticada na Região do Vale do São Francisco, a oferta de esterco caprino é largamente disponível.

## **1.1 Objetivo Geral**

Avaliar um sistema de tratamento biológico combinando aeração e esterco caprino na biodegradação de efluentes contaminados com agrotóxicos.

## **1.2 Objetivos Específicos**

- Identificar e caracterizar os principais princípios ativos utilizados nas pulverizações da cultura da uva;
- Avaliar o sistema de tratamento biológico adotado pelo produtor, caracterizando o efluente antes e depois do tratamento de biodegradação, por meio de variáveis físicas, químicas e biológicas;
- Caracterizar o esterco caprino utilizado no tratamento biológico em relação às variáveis químicas;
- Avaliar a biodegradação do inseticida imidacloprido, empregando reator de bancada;
- Avaliar a toxicidade dos efluentes contaminados por agrotóxicos, antes e após o processo de biodegradação.

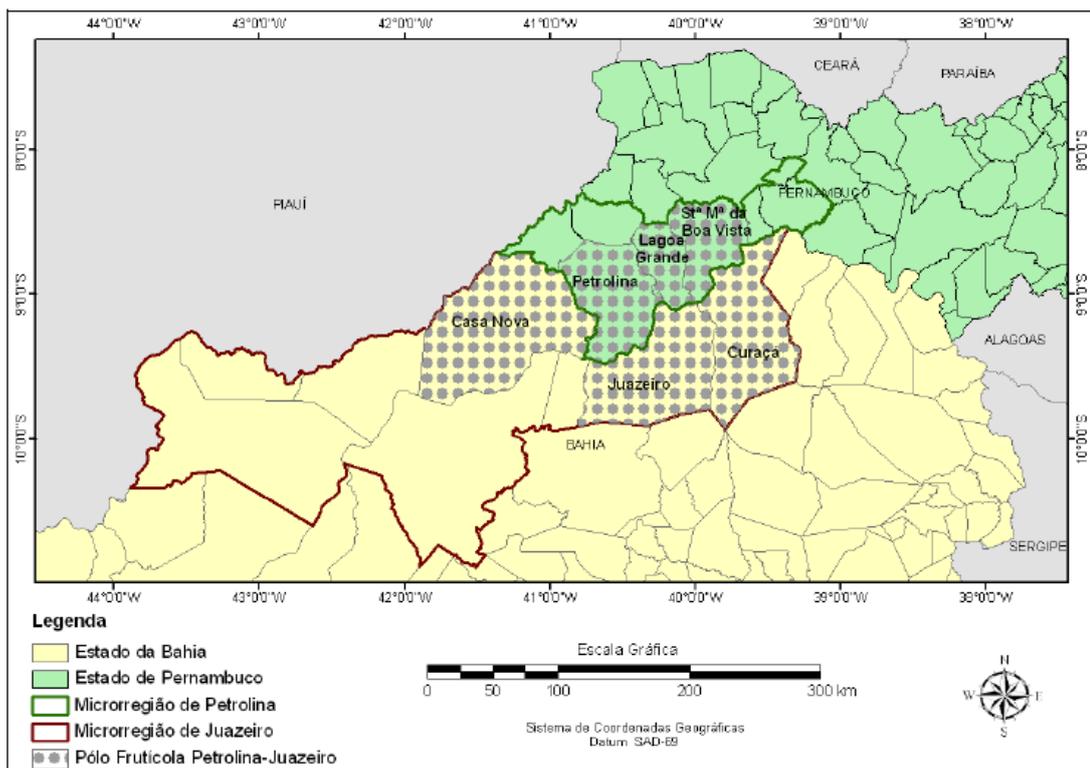
## 2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

### 2.1 A produção de Uva no Vale do São Francisco

O Vale do Submédio São Francisco está localizado entre os paralelos 8 e 9°S, cujo clima é caracterizado como tropical semiárido, com temperatura média anual de 26°C, pluviosidade em torno de 500 mm (concentrada nos meses de janeiro a abril) a 330 m de altitude (TONIETTO; TEIXEIRA, 2004). O Vale consagrou-se no cenário mundial como o polo da fruticultura irrigada, por ser a única região do mundo, capaz de produzir de duas a três safras de uva por ano, a depender do ciclo de cada cultivar.

O Polo da fruticultura irrigada (Figura 1) é representado basicamente por seis municípios, três do estado de Pernambuco: Petrolina, Lagoa Grande, Santa Maria da Boa Vista e três do estado da Bahia: Juazeiro, Casa Nova e Curaçá (ARAÚJO; SILVA, 2013).

Figura 1 - Localização do Polo Frutícola Petrolina-PE/Juazeiro-BA.



Fonte - IBGE, Malha Municipal Digital, 2001. *In:* Araújo e Silva (2013).

Os municípios supracitados respondem por um elevado volume de produção e exportação de manga e uva no Brasil. Nesta região a viticultura iniciou há aproximadamente 25 anos e só foi possível devido à utilização de técnicas de irrigação, para suprir o déficit hídrico e garantir o desenvolvimento das plantas.

A viticultura brasileira ocupa atualmente uma área de 81 mil hectares. Nesse cenário, duas regiões se destacam: o Rio Grande do Sul, com uma produção de 777 mil toneladas de uva por ano, sendo a maior parte destinada vitivinicultura e o polo da fruticultura irrigada Petrolina-PE e Juazeiro-BA, no Submédio do Vale do São Francisco, responsável por 95% das exportações nacionais de uvas finas de mesa (MAPA, 2014).

O polo Petrolina-PE e Juazeiro-Ba, é o maior exportador de frutas e o segundo maior polo vitivinicultor do Brasil. Dados do IBGE (2013) referentes à produção de uva nesses municípios mostram que no ano de 2012, foram produzidas 191.046 toneladas da fruta numa área colhida de 6.096 hectares.

As variedades de uvas finas de mesa mais cultivadas são: Itália, Benitaka, Red Globe, Sagraone, Thompson e Crimson. Nesta região, o ciclo produtivo da videira pode variar de 90 a 130 dias, alcançando produtividades anuais da ordem de 30 toneladas por hectare (SOARES, 2009).

Arelado a toda essa produção, as condições climáticas locais e as características físicas dos solos, favorecem sobremaneira o aparecimento de pragas e doenças culminando assim na extensa utilização de insumos e agrotóxicos (FERRACINI et al., 2001).

## **2.2 Agrotóxicos: Definição, Classificação e Propriedades Físico-Químicas**

A Lei Nº 7.802 de 11 de julho de 1989 define agrotóxicos e afins como sendo:

- a) “os produtos e os agentes de processos físicos, químicos ou biológicos, destinados ao uso nos setores de produção, no armazenamento e beneficiamento de produtos agrícolas, nas pastagens, na proteção de florestas, nativas ou implantadas, e de outros ecossistemas e também de ambientes urbanos, hídricos e industriais, cuja finalidade seja alterar a composição da flora ou da fauna, a fim de preservá-las da ação danosa de seres vivos considerados nocivos”;
- b) “substâncias e produtos, empregados como desfolhantes, dessecantes, estimuladores e inibidores de crescimento”.

As definições correspondentes a esse conjunto de substâncias químicas destinadas ao controle fitossanitário são inúmeras. Variam desde agrotóxicos, defensivos químicos, praguicidas, remédios de planta e até venenos (FUNDACENTRO, 1998).

Outros autores como Ormad et al. (1997), Ariaz-Estevez et al. (2008) e Tano (2011) definem os agrotóxicos ou agroquímicos, como sendo substâncias tóxicas, sintetizadas artificialmente, persistentes, destinadas a prevenir, controlar ou eliminar doenças e espécies indesejáveis (plantas e/ou animais), as quais estão sujeitas a alguns processos de degradação (biológica, hidrólise, oxidação, fotólise e etc).

Os agrotóxicos podem ser classificados de acordo com a finalidade, modo de ação, persistência e estrutura química. Essas substâncias podem matar ou controlar um organismo indesejável.

Quanto à finalidade, classificam-se de acordo com o organismo alvo. A Tabela 1 agrupa as diversas classes de agrotóxicos.

Tabela 1 - Agrotóxicos e seus respectivos alvos.

<b>Tipo de Agrotóxico</b>	<b>Organismo Alvo</b>
Acaricida	Ácaros
Algicida	Algas
Avicida	Aves
Bactericida	Bactérias
Desinfetante	Microrganismos
Fungicida	Fungos
Herbicida	Plantas
Inseticida	Insetos
Larvicida	Larvas
Moluscicida	Moluscos
Nematicida	Nematóide
Piscicida	Peixes
Raticida	Ratos

Fonte - Adaptado de Baird (2002).

Quanto à natureza química podem ser classificados em organofosforados, organoclorados, organometálicos, carbamatos, piretróides, biperidilo, anilinas, morfólinas, fenóis, dentre outros (MARRS; BALLANTYNE, 2004).

Outra classificação para os agrotóxicos se baseia em sua toxicologia. Segundo Barbosa (2004), a toxicologia dos agrotóxicos no Brasil é determinada através da Dose Letal 50%, que representa a quantidade da substância necessária, para eliminar 50% dos animais testados em condições experimentais. A OPAS/OMS (1996) enquadra os agrotóxicos baseada na dose letal ( $DL_{50}$ ) nas seguintes classes toxicológicas: extremamente tóxico, altamente tóxico, moderadamente tóxico e levemente tóxico.

É extremamente importante que as pessoas que manipulam agrotóxicos tenham conhecimento acerca de sua periculosidade. Nesse contexto, a legislação brasileira, exige que as embalagens contendo esses produtos, apresentem em seus rótulos, a cor correspondente a sua classe toxicológica (BRASIL, 2002). A Tabela 2 abaixo mostra essa identificação.

Tabela 2 - Classificação dos agrotóxicos quanto à toxicidade.

Classe	Classificação	Cor da faixa no rótulo da embalagem
I	Extremamente Tóxico	Vermelho
II	Altamente Tóxico	Amarelo
III	Medianamente Tóxico	Azul
IV	Pouco Tóxico	Verde

Fonte - Adaptado de ANVISA (2011).

É muito importante conhecer não só a classificação dos agrotóxicos como também suas propriedades físico-químicas. O conhecimento acerca dessas propriedades facilita a compreensão do comportamento destas substâncias no meio ambiente.

Segundo Silva e Fay (2004), dentre as propriedades físico-químicas desses compostos, algumas são essenciais para entender o comportamento dos agrotóxicos, das quais podemos citar:

- Densidade: relação da massa por unidade de volume, expressa em  $\text{g/m}^3$  a uma determinada temperatura. Essa propriedade pode determinar o potencial de lixiviação do agrotóxico;
- Solubilidade: a quantidade máxima do composto que se dissolve em água pura a uma dada temperatura e pH. Indica a tendência do agrotóxico ser carregado superficialmente no solo pela água;
- Constante de dissociação: refere-se à reatividade ou ionizabilidade dos grupos funcionais presentes no agrotóxico;
- Pressão de vapor: indica a pressão a uma dada temperatura, na qual ocorre o equilíbrio entre as fases de vapor e líquida. Essa propriedade é utilizada para estimar a volatilização do agrotóxico;
- Constante da Lei de Henry: representa a condição de equilíbrio entre a concentração de uma molécula orgânica dissolvida em solução e a pressão parcial no ar acima da solução a uma dada temperatura;
- Coeficiente de partição octanol-água: expressa a relação da concentração de um agrotóxico na fase de n-octanol saturado em água e sua concentração na fase aquosa saturada em n-octanol; e
- Meia vida: tempo necessário para degradar metade da concentração do agrotóxico, independente da sua concentração inicial. Essa propriedade pode elucidar a magnitude do impacto ambiental causado pelo agrotóxico.

### **2.3 Agrotóxicos e Meio Ambiente**

As aplicações de agrotóxicos nas diversas atividades agrícolas podem impactar significativamente o meio ambiente, seu uso frequente, e muitas vezes incorreto, oferece riscos como contaminação dos solos, das águas superficiais e subterrâneas e dos alimentos. Nessa perspectiva, surge a necessidade de desenvolver métodos seguros, convenientes e economicamente viáveis para remediação de contaminações por agrotóxicos.

De acordo com Johnsen et al. (2001), o ideal seria que os agrotóxicos apresentassem toxicidade apenas para os organismos alvo, fossem biodegradáveis e não contaminassem os corpos hídricos.

Entretanto, pesquisas realizadas por Gleber e Sapadotto (2008) indicam que mais de 80% das aplicações de agrotóxicos no campo se perdem no ambiente contaminando o solo, o ar e os corpos hídricos superficiais e subterrâneos. Outros estudos indicam que menos de 1% do montante total de agrotóxicos utilizados na agricultura atinge o alvo (CARDEAL et al., 2011).

A poluição causada pelos agrotóxicos é denominada “não pontual ou difusa”, uma vez que provém das aplicações de agrotóxicos no campo, onde maior parte do volume aplicado não atinge o alvo (CARTER, 2000).

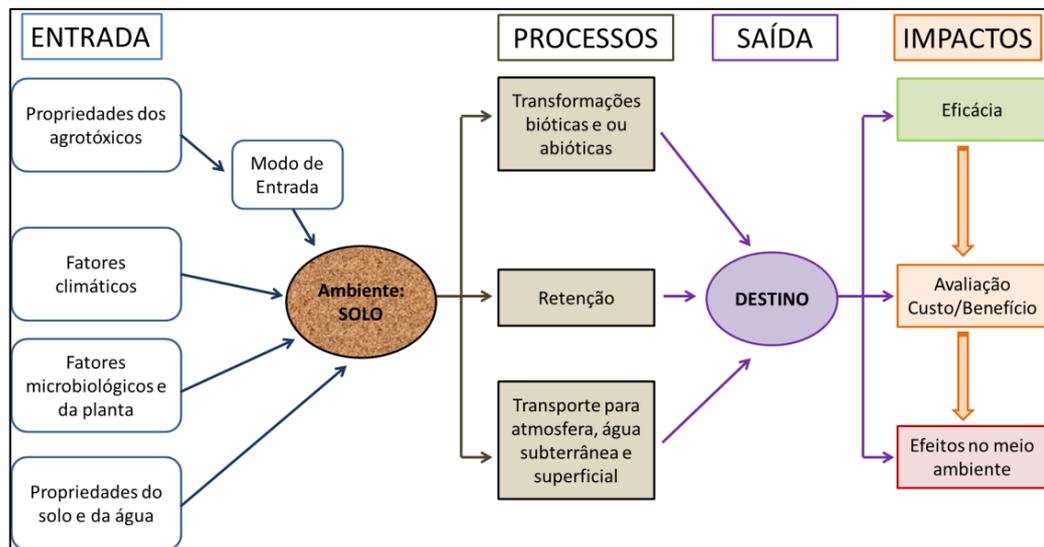
Segundo Silva e Fay (2004) nos últimos anos, houve um aumento da preocupação com a poluição causada pelos agrotóxicos devido ao aumento da densidade populacional e das atividades industriais; persistência da maioria dos compostos xenobióticos; bioacumulação em organismos e danos à saúde humana em longo prazo, como por exemplo, a elevada incidência de câncer relacionada a tais substâncias.

Os problemas ambientais decorrentes do uso de agrotóxicos também circundam-se em suas propriedades como: toxicidade seletiva, persistência no ambiente, potencial de bioacumulação e mobilidade (SILVA; FAY, 2004).

No solo (Figura 2), por exemplo, a biodisponibilidade desses compostos depende do tipo de solo e do agrotóxico empregado (GEVAO et al., 2000). Algumas propriedades do agrotóxico como, velocidade de evaporação, solubilidade em água e bioacumulação, podem prever como o produto irá interagir com a comunidade microbiana e as partículas do solo (RIBAS; MATSUMURA, 2009).

A análise da Figura 2 evidencia a complexidade de pressupor um modelo que represente o comportamento e as interações entre agrotóxicos e meio ambiente. Essa complexidade se deve a diversidade desses produtos e a fatores relacionados com sua aplicação, como por exemplo, deriva, adsorção, absorção, lixiviação, volatilização e erosão. Inclusive, agrotóxicos e/ou metabólitos podem também retornar à atmosfera por volatilização (RIBAS; MATSUMURA, 2009).

Figura 2 - Modelo de fatores e processos que governam o destino e o impacto ambiental dos agrotóxicos no solo.



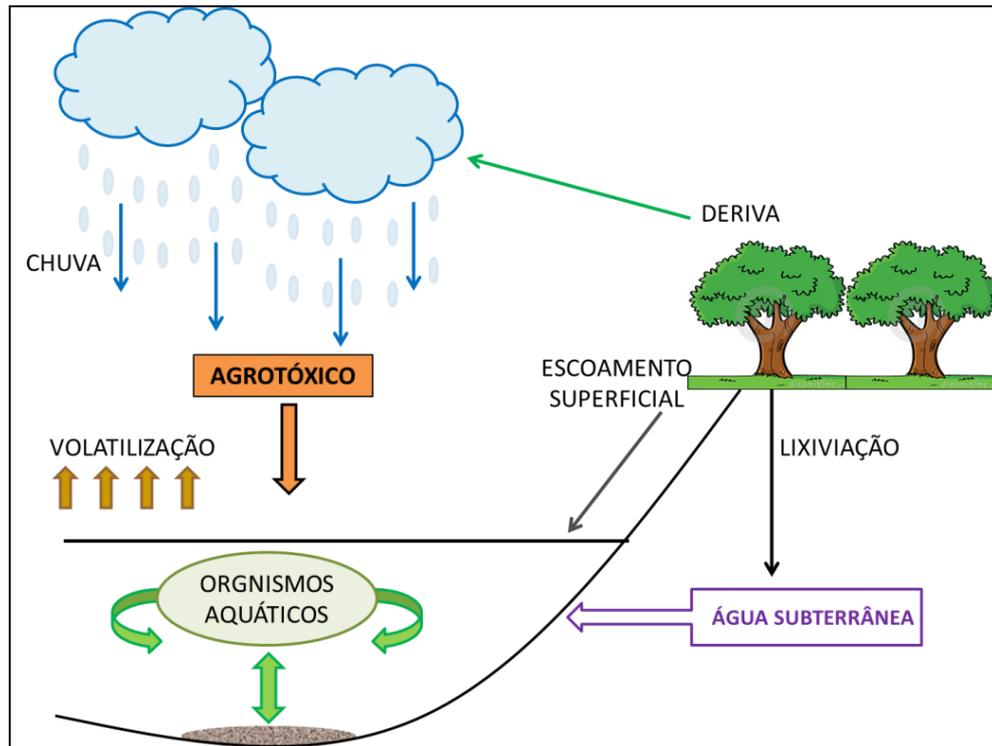
Fonte - Adaptado de CHENG (1990).

A literatura é vasta em pesquisas que avaliam os efeitos dos agrotóxicos sobre os microrganismos do solo (MARTÍN et al., 2008; HERRERO-HERNÁNDEZ et al., 2013; MARINOZZI et al., 2013), tais estudos relatam o potencial nocivo dessas substância sobre a comunidade microbiana do solo e salientam que, os efeitos são dependentes de fatores ambientais como tipo de solo e temperatura.

No ambiente aquático (Figura 3), a contaminação pode ser proveniente de descargas de efluentes contaminados, derrames acidentais e escoamento superficial (CELIS et al., 2008). De acordo com Tomita e Beyruth (2002), o transporte dos agrotóxicos na água pode ocorrer por difusão nas correntes de água ou nos corpos dos organismos aquáticos, podendo retornar a atmosfera através da volatilização.

Na água (Figura 3), o comportamento dos agrotóxicos também depende de suas características físico-químicas, como por exemplo,  $K_{oc}$ , solubilidade em água. Segundo Tomyta e Beyruth (2002), os resíduos de agrotóxicos podem ser depositados nos sedimentos e/ou serem adsorvidos ou absorvidos no material particulado em suspensão ou até mesmo acumular nos organismos aquáticos.

Figura 3 - Movimento dos agrotóxicos no ambiente aquático.



Fonte - Adaptado de Nimmo (1985).

Existem diversos estudos na literatura internacional (HILDEBRANDT et al., 2008; NAVARRO et al., 2010; HERRERO-HERNANDÉZ et al., 2013) que constataram a presença de agrotóxicos em águas superficiais e subterrâneas.

Em âmbito nacional também tem sido constatado a presença de agrotóxicos nos corpos hídricos (FERNANDES NETO; SARCINELLI, 2009; MARCHESAN et al., 2010; SILVA et al., 2011; MOREIRA et al., 2012). Silva et al. (2011) constatou que em todas as regiões orizícolas do Sul do Brasil, havia presença de pelo menos um agrotóxico nas águas subterrâneas. Dentre eles, o inseticida Fipronil foi encontrado na maioria das amostras.

Nesse contexto é extremamente importante mensurar o impacto da descarga dos efluentes contaminados com agrotóxicos no meio aquático. Uma ferramenta que vem sendo bastante utilizada pelos pesquisadores para tal finalidade são os testes de toxicidade, também conhecidos como bioensaios, ensaios ecotoxicológicos e testes de ecotoxicidade.

## **2.4 Bases Legais**

As leis relacionadas aos agrotóxicos versam sobre tópicos como comercialização, rotulagem, transporte, armazenamento, comercialização dentre outros, porém não norteiam quanto à destinação final ambientalmente adequada das sobras da pulverização e das águas de lavagens contaminadas com tais substâncias químicas.

A Lei Federal nº 7802 de 1989 regulamentada pelo Decreto Federal nº 4074/2002 dispõe sobre pesquisa, experimentação, produção, embalagem, rotulagem, transporte, armazenamento, propaganda comercial, utilização, importação, exportação, o destino final dos resíduos e embalagens, registro, classificação, controle, a inspeção e a fiscalização de agrotóxicos, seus componentes e afins, e dá outras providências.

No que diz respeito à destinação de embalagens vazias e de sobras de agrotóxicos e afins o Art. 52 do Decreto Federal nº 4074/2002 corrobora que tais atividades sigam às recomendações técnicas apresentadas na bula ou folheto complementar.

## **2.5 Destinação e Tratamento dos Efluentes Contaminados com Agrotóxicos**

Após a pulverização, inicia-se uma complexa cadeia de geração de efluentes contaminados com agrotóxicos, uma vez que os resíduos permanecem em contentores, equipamento de aplicação e na maioria dos casos, o preparo da calda é superestimado devido a fatores intervenientes como deriva, volatilização, calibração do equipamento e etc.

A água utilizada para remoção desses resíduos somada com as sobras da pulverização resulta na formação de um efluente extremamente tóxico. Assim deve-se tomar cuidado na aplicação, descarte e tratamento de efluentes contaminados com agrotóxicos.

Estudos realizados por Hattab et al. (2012) mostram que atualmente os resíduos de agrotóxicos são descartados de diversas maneiras, dentre elas estão, disposição na lavoura; lançado em fossas (plásticas, de concreto ou no próprio solo);

uso de leitos de evaporação e aterros. Ainda segundo o mesmo autor, em casos mais extremos, são descartados em córregos próximos ao local de lavagem dos equipamentos, podendo atingir rios, lagos e lençóis freáticos.

Segundo Gleber (2011), o Brasil tem dois problemas no que tange ao descarte de efluentes contaminados com as sobras de caldas de agrotóxicos. O primeiro deles refere-se à concentração desses resíduos e o segundo problema consiste no impedimento legal da mistura destas sobras de agrotóxicos com outras substâncias sem o manejo apropriado.

Ainda segundo Gebler (2011), o Brasil não dispõe de metodologias adequadas para tratamento de efluentes de agrotóxicos. O autor salienta que estes resíduos são considerados perigosos e que o país carece de pesquisas que avaliem a eficiência de tratamentos para esse tipo de efluente.

De acordo com Hattab et al. (2012), os métodos de tratamento das sobras das caldas de pulverização mais difundidos atualmente são:

- Térmico: consiste na combustão controlada do produto, a incineração é um exemplo de aplicação desse método;
- Químico: utilização de reagentes oxidativos, redutivos, hidrolíticos ou catalíticos. Exemplos: Oxidação Fenton (Peroxido de hidrogênio ( $H_2O_2$ ), sais de ferro),  $O_3/UV$  e hidrólise;
- Físico: realiza a remoção dos produtos químicos pela adsorção e sedimentação. Utiliza absorventes inorgânicos (ex.: argila) e orgânicos (ex.: casca de arroz, bagaço de cana.) para remover os agrotóxicos através da adsorção;
- Biológico: consiste na utilização de microrganismos para destruir os produtos químicos, dentre eles o lodo ativado é o processo biológico aeróbio mais difundido.

No Vale do São Francisco os métodos mais utilizados para destinação e tratamento de efluentes contaminados com agrotóxicos são: tanques de concreto com dimensões variadas para evaporação; disposição em tambores seguida de queima; utilização de fossas preenchidas com areia, brita e carvão, simulando “filtros”; utilização de bico vaporizador nos equipamentos de pulverização e tratamento biológico aerado.

Entretanto não existem pesquisas na Região, que avaliam a eficiência dos métodos supracitados. Os produtores de uva que almejam o mercado externo, também se beneficiariam com tais pesquisas, pois o tratamento de efluentes de agrotóxicos é um dos entraves, nos processos de certificações que comprovem a sustentabilidade da cadeia produtiva.

### **2.5.1 Tratamento Biológico de Efluentes de Agrotóxicos**

Na perspectiva do tratamento biológico, a biodegradação de compostos químicos é um dos mecanismos mais importantes para a decomposição de xenobióticos, sendo os microrganismos os principais agentes desse processo (DIEZ, 2010). Os microrganismos podem interagir com os agrotóxicos, causando mudanças estruturais ou completa degradação dos princípios ativos (RAYMOND et al, 2001).

Katayama e Matsumura (1993) citam como um dos entraves do tratamento biológico é a possibilidade de um microrganismo mostrar preferência por outros substratos orgânicos ao invés dos agrotóxicos presentes no meio, o que pode retardar a degradação de tais substâncias.

Nesse contexto as técnicas de tratamento biológico, mais difundidas atualmente, são lodos ativados e biobed's.

O biobed consiste basicamente na abertura de um fosso no solo, impermeabilizado ou não, preenchido com um biomix (uma mistura de solo agrícola, palha e turfa), sobre o qual é plantada uma cobertura de grama. Esse sistema é alimentado com resíduos de agrotóxicos e águas de lavagens de máquinas e equipamentos destinados a pulverização (TORSTENSSON, 2000; FOOG et al., 2003; GLEBER et al., 2007; CASTILLO et al., 2008; ROFFIGNAC et al., 2008; TORTELLA et al., 2012; OMIROU et al., 2012; TORTELLA et al., 2013; KARANASIOS et al., 2013).

Nos países onde foram realizados estudos com biorreatores na forma de biobed's, os resultados mostram que esse sistema consegue em longo prazo degradar efluentes contendo agrotóxicos (SPLIID et al., 2006; CASTILLO et al., 2008; ROFFIGNAC et al., 2008; WENNEKER et al., 2008; DIEZ, 2010; SNIEGOWSKI et al., 2011).

Exemplos da aplicação de Biobed's são encontrados em pesquisa de diversos autores como Foog et al. (2003) que avaliaram a taxa de degradação em biobed, de uma variedade de agrotóxicos em diferentes concentrações. Os autores concluíram que a degradação de uma mistura de agrotóxicos em biomix é mais lenta se comparada a aplicações isoladas.

Tortella et al. (2012) também estudaram a eficiência de três estágios de maturação de biomix na degradação de agrotóxicos e seus efeitos sobre a atividade biológica. Este trabalho constatou que o biomix fresco foi capaz de degradar 50% da concentração inicial do inseticida Clorpirifós e que quanto maior o tempo de maturação do biomix, maior será a formação de metabólitos do Clorpirifós (TCP).

Um outro trabalho foi desenvolvido por Omirou et al. (2012) que avaliaram o potencial do biobed para depurar águas contaminadas com agrotóxicos oriundos da cadeia de produção de citrus. Os autores confirmam o potencial de dissipação no biobed de todos os agrotóxicos testados e em termos de otimização, o biomix composto de materiais lignocelulósicos (resíduos da viticultura) apresentou os melhores resultados.

Além desses, Karanasios et al. (2013) investigaram a degradação de três agrotóxicos (Clorpirifós, Terbutilazina e Metribuzina) e o comportamento de seus metabólitos em diferentes substratos de biobed's. Os autores concluíram que os substratos que continham material lignocelulósicos (talos de uva e restos de sementes de algodão) obtiveram melhor desempenho na degradação dos agrotóxicos. Os metabólitos apresentaram comportamento semelhante em todos os substratos. Ainda segundo os mesmos autores são necessários estudos mais aprofundados relacionando o comportamento dos metabólitos de agrotóxicos no biomix e seu potencial de desintoxicação.

Outro tratamento biológico que vem sendo estudado para degradar efluentes de agrotóxicos, é o lodo ativado. Esse sistema consiste de uma associação de microrganismos (bactérias, protozoários, fungos e micrometazoários) que oxidam os compostos orgânicos e inorgânicos (BENTO et al., 2005; DAVIES, 2005). O processo consiste basicamente na introdução da matéria orgânica no reator, onde uma população de microrganismos é mantida em suspensão por aeração ou por movimentação mecânica.

Segundo Sant'Anna Jr. (2010) na degradação de compostos por via aeróbia, os principais agentes do processo são as bactérias, dentre os gêneros mais encontrados estão *Pseudomonas*, *Arthrobacter*, *Escherichia*, *Nitrobacter* entre outros. Os flocos microbianos e os biofilmes formam um microecossistema, onde sua dinâmica populacional é condicionada por fatores ambientais e nutricionais disponíveis no efluente.

Alguns pesquisadores avaliaram o sistema de lodo ativado na degradação de efluentes de agrotóxicos, um deles foi Mangat Elefsiniotis (1999) que investigou os efeitos do tempo de detenção hidráulica, do substrato suplementar e da concentração de alimentação sobre o potencial de biodegradação do herbicida 2,4-diclorofenoxiacético ácido (2,4-D) em reatores em batelada com lodos ativados.

Já Znad et al. (2006) estudaram a cinética de biodegradação do herbicida S-etilo dipropiltiocarbamato (EPTC), utilizando biorreatores preenchidos com lodos ativados livremente suspenso e imobilizado. Nesse estudo, a eficiência de biodegradação foi 35% para os reatores com lodos ativados livremente suspenso, enquanto que a dos imobilizado foi de 72%.

Celis et al. (2008) também avaliaram a biodegradabilidade de isoproturon e 2,4-D em biorreatores operado sob condições aeróbias com adição de lodos ativados e anaeróbias, em ambas condições ocorreu degradação do 2,4-D.

A capacidade de lodos ativados para biodegradar o herbicida Diuron também foi confirmada por Stasinakis et al. (2009), seus resultados constataram que ao final do experimento (312 h), quase 58% da concentração inicial do herbicida tinha sido eliminada.

Jin et al. (2010) avaliaram o tratamento de águas contaminadas com agrotóxicos por meio do processo de lodos ativados pressurizado e verificou que a remoção da demanda química de oxigênio (DQO) aumentou progressivamente com o aumento da pressão de funcionamento, o tempo de arejamento, e a concentração do lodo.

Acrescenta-se também como uma tipologia de tratamento de efluentes contaminados com agrotóxicos, a combinação de um sistema químico com biológico. Estudos realizados por Martin et al. (2009) mostraram que a combinação de oxidação foto fenton e biológica (lodos ativados) é um tratamento eficaz para a degradação rápida de águas contaminadas com agrotóxicos.

## 2.6 Ensaios de Toxicidade

Pimentel et al. (2010) definiram toxicidade como qualquer efeito adverso, como por exemplo, alterações genéticas, imobilidade, deformidades e letalidade, revelado nos organismos testes.

A Resolução CONAMA nº 357/05 define ensaios ecotoxicológicos como sendo “ensaios realizados para determinar o efeito deletério de agentes físicos ou químicos sob diversos organismos aquáticos”.

Ainda com menção a Resolução CONAMA nº 357/05, seu Artigo 8, parágrafo 4º, regulamenta o uso de testes ecotoxicológicos na avaliação da qualidade de águas e efluentes, para subsidiar as propostas de enquadramento.

De acordo com Forbes e Forbes (1994), os testes de toxicidade ou bioensaios consistem na utilização de uma determinada espécie, em condições experimentais controladas, para avaliar a toxicidade de efluentes, substâncias, amostras ambientais (águas ou sedimentos) e/ou prever os efeitos destes nos sistemas biológicos. Esses bioensaios expõem organismos-testes a diferentes concentrações de amostra, visando entender e quantificar os efeitos tóxicos produzidos sobre eles (OLIVI et al., 2008).

Inúmeras espécies de invertebrados são utilizadas em ensaios de toxicidade como organismos-teste. Dentre elas, destaca-se o crustáceo de água salgada *Artemia salina* (Figura 4), por se tratar de um animal de fácil manutenção em condições de laboratório e de ampla distribuição (PIMENTEL et al., 2010). Essas espécies são bastante empregadas em pesquisas nas áreas de Ecologia, Fisiologia, Ecotoxicologia, Aquicultura e Genética (NUNES, 2006).

Figura 4 - Primeiro (A), segundo (B) e terceiro (C) estágio de larvas de *Artemia salina* após 24, 48 e 72 horas de eclosão, respectivamente.



Fonte – Bustos-Obregon e Vargas (2010).

Segundo Shaw et al. (1998), a utilização dessa espécie é interessante devido a grande resistência à secagem e estocagem de seus ovos, que eclodem em aproximadamente 48 horas, após serem colocados em solução salina a 23 °C. Após eclosão, os organismos testes já estão prontos para serem utilizados nos testes de toxicidade.

O teste com *Artemia* sp. consiste na exposição dos náuplios na fase II ou III durante 24 e/ou 48 horas a concentrações crescentes da amostra que se pretende avaliar. Após 48 de exposição realiza-se a contagem do número de organismos vivos e mortos (VEIGA; VITAL, 2002; CETESB, 1987; VANHAECKE et al. 1981).

A literatura é vasta no que diz respeito à utilização de ensaios ecotoxicológicos com *Artemia salina* (NUNES et al., 2006; OLIVI et al., 2008; ARAÚJO et al., 2010; PIMENTEL et al., 2010; GEROLA, et al., 2013).

No caso específico de efluentes contaminados por agrotóxicos, Pelegrini et al. (2011) avaliaram o efeito de inseticidas usados na aquicultura sobre a atividade enzimática de organismos aquáticos bioindicadores.

Outro estudo nessa mesma perspectiva, foi desenvolvido por Souza et al. (2013), utilizando *Artemia salina*, para avaliar a toxicidade de efluente contaminado com o agrotóxico diazinon após tratamento com radiação UV. Os autores relataram que os produtos de fotodegradação exibiram toxicidade muito mais baixa do que o substrato primário.

Hinterholz et al. (2014) também utilizou náuplios de *Artemia salina*, para avaliar a toxicidade dos compostos gerados no tratamento do herbicida pós-emergente Basagran®600, através dos métodos fotocatalítico e Fenton.

### 3 CAPÍTULO I

#### **Avaliação de um tratamento biológico para degradar efluentes contaminados com fungicidas oriundos da cadeia produtiva da videira<sup>1</sup>**

#### **RESUMO**

Após a pulverização da videira, inicia-se uma complexa cadeia de geração de efluentes contaminados com agrotóxicos, dentre eles destacam-se os fungicidas zoxamida, azoxistrobina e ciproconazol. O objetivo deste trabalho é avaliar a capacidade de um tratamento biológico, combinando aeração e esterco caprino, para biodegradar efluentes contaminados com agrotóxicos, visando seu reuso como um biofertilizante. Os efluentes contaminados com agrotóxicos foram coletados em uma fazenda Produtora de uva, localizada no Brasil, na região do Vale do São Francisco, no estado de Pernambuco. As amostras do efluente e da calda orgânica para as análises físico-químicas e microbiológicas foram coletadas em tanques aerados, a cada cinco dias, durante um mês. A determinação dos resíduos de agrotóxicos no efluente foi feita através de extração líquido-líquido e no esterco caprino empregando o método Quechers (2003). Realizaram-se testes de toxicidade utilizando o microcrustáceo *Artemia salina*. O tratamento foi capaz de biodegradar o fungicida ciproconazol e o efluente após o tratamento biológico (T30) mostrou-se menos tóxico que o efluente bruto (T0). Estudos dessa natureza trazem uma enorme contribuição para a ciência e a região do Vale do São Francisco, pois propõe uma alternativa de tratamento para sobras de calda e água de lavagem dos equipamentos de pulverização.

**Palavras chave:** Biodegradação, fungicidas, efluente, reuso, biofertilizante.

#### **Assesment of biological treatment to degrade effluent contaminated with fungicides from the vine productive chain<sup>1</sup>**

---

<sup>1</sup> Artigo padronizado nas normas do International Journal of Environmental Research.

## ABSTRACT

Spraying a vine initiates a complex chain of events that generates effluent contaminated with pesticides, including the fungicides zoxamide, azoxystrobin and cyproconazole. The aim of the present study was to assess the capacity of a biological treatment method, combining aeration and goat manure, to biodegrade effluent contaminated with pesticides, as well as the possibility of reusing the treated effluent as a biofertilizer, known as organic syrup. Effluent contaminated with pesticides was collected from a grape farm in the São Francisco valley in Pernambuco, Brazil. The effluent and organic syrup samples were collected in aerated tanks every five days, for a period of 30 days, for the physical, chemical and microbiological analysis. Residue of pesticides was determined by liquid-liquid extraction for the effluent and using the Quechers method for goat manure. Toxicity tests were performed using the micro-crustacean *Artemia salina*. The treatment method proposed was capable of biodegrading the fungicide cyproconazole. In addition, the biologically treated effluent (T30) was less toxic than crude effluent (T0). Studies of this nature make an enormous contribution to science and the São Francisco valley, as they provide an alternative treatment method for leftover syrup and cleaning water for spraying equipment.

**Keywords:** Biodegradation; fungicides; effluent; reuse; biofertilizer.

### 1. Introdução

O Vale do Submédio São Francisco, localizado entre os paralelos 8-9°S, abriga o Polo de Fruticultura Irrigada Petrolina-PE/Juazeiro-BA, situado no nordeste brasileiro. Em se tratando da viticultura, o Polo destaca-se no cenário nacional, como sendo o maior exportador de uva de mesa, com uma produção de 82.000 toneladas/ano e o segundo maior produtor de vinhos finos abrangendo 15% da produção nacional (BRASIL, 2012; AGRIANUAL, 2006).

O manejo da uva contempla as seguintes etapas: repouso; poda de produção ou formação; brotação; desbrota; despenca ou raleio e por fim a colheita. Em todas

essas etapas utilizam-se vários agrotóxicos para prevenção ou controle de pragas e doenças.

Os fungicidas são frequentemente empregados na viticultura. Dentre eles, destacam-se os seguintes princípios ativos: zoxamida, azoxistrobina e ciproconazol, que são utilizados no controle de doenças como oídio (*Uncinula necator*) e míldio (*Plasmopara viticola*).

Após a pulverização, inicia-se uma complexa cadeia de geração de efluentes contaminados com agrotóxicos. Os resíduos dessas substâncias permanecem em contentores, equipamentos destinados à aplicação dos produtos e na maioria dos casos, o preparo da calda para pulverização é superestimado devido a fatores intervenientes como deriva, volatilização e calibração do equipamento.

As aplicações de agrotóxicos nas diversas atividades agrícolas podem impactar significativamente o meio ambiente, seu uso frequente, e muitas vezes incorreto, oferece riscos como contaminação dos solos, das águas superficiais e subterrâneas e dos alimentos. Segundo Cardeal et al. (2011) menos de 1% do total de agrotóxicos aplicado nas lavouras atinge o alvo, ou seja, cerca de 99% da aplicação resulta em poluição ambiental.

No Vale do São Francisco já existe a preocupação com a destinação correta de efluentes contaminados com agrotóxicos. Os métodos mais utilizados para destinação e tratamento desses efluentes são tanques de concreto com dimensões variadas para evaporação; disposição em tambores seguida de queima; utilização de fossas preenchidas com areia, brita e carvão simulando “filtros”; utilização de bico vaporizador nos equipamentos de pulverização e tratamento biológico aerado.

Tratar os efluentes contaminados por agrotóxicos torna-se uma preocupação frequente, pois grande parte dos mananciais utilizados para fins de abastecimento possuem uma área de abrangência que contempla o meio rural. Existem diversos estudos na literatura internacional (QUINTANA et al., 2001; CLAVER et al., 2006; HILDEBRANDT et al., 2008; NAVARRO et al., 2010; HERRERO-HERNANDÉZ et al., 2013; JEYAKUMAR et al., 2014) que constataram a presença de agrotóxicos em águas superficiais e subterrâneas.

De acordo com Hattab et al. (2012), os métodos de tratamento das sobras das caldas de pulverização mais difundidos atualmente no mundo são térmico, químico, físico e biológico. Alguns exemplos de aplicação desses métodos são

respectivamente incineração, oxidação fenton, adsorção e utilização de microrganismos para degradar os produtos químicos.

No que diz respeito ao tratamento biológico de efluentes contaminados por agrotóxicos, várias pesquisas utilizando biorreatores, lodo ativado e colônias puras de microrganismos, encontraram resultados positivos em termos de biodegradação de agrotóxicos (DIEZ, 2010; SNIEGOWSKI et al., 2011; OMIROU et al., 2012; HAI et al., 2012; PHUGARE et al., 2013; JILANI et al., 2014; HE et al., 2014; KASEMODEL et al., 2014).

A utilização de microrganismos para degradar efluentes contaminados com agrotóxicos mostrou-se uma alternativa promissora em pesquisas desenvolvidas por Hai et al. (2012). Os autores combinaram lodo ativado com uma cultura mista de bactérias e fungos da podridão branca, para degradar efluentes contaminadas com agrotóxicos. Durante um período de incubação de 14 dias, a cultura mista de Bactérias e fungos alcançou 47, 98, e 62% de remoção de aldicarbe, atrazina e alacloro respectivamente.

Outra pesquisa que mostrou resultados eficientes em termos de biodegradação de agrotóxicos foi a de Jilani et al. (2014). Nessa pesquisa os autores investigaram o potencial de bactérias isoladas para degradação da Cipermetrina, obtendo resultados de degradação em torno de 70%.

O objetivo deste trabalho é avaliar a capacidade de um tratamento biológico, combinando aeração e esterco caprino, para biodegradar efluentes contaminados com agrotóxicos, visando seu reuso como um biofertilizante, rico em nitrogênio, fósforo, matéria orgânica e microrganismos.

## **2. Materiais e Métodos**

### **2.1. Caracterização química do esterco caprino**

Foi coletada uma amostra do esterco caprino *in natura* na Fazenda produtora de uva, localizada na região do Vale do São Francisco, antes de adicioná-lo ao tanque de aeração, para realizar a caracterização química de macro e micronutrientes. As análises foram realizadas de acordo com a metodologia descrita

no Manual de Análises Químicas de Solos, Plantas e Fertilizantes (2009). Essa análise foi realizada no Laboratório de Solos da Embrapa Semiárido.

## **2.2. Identificação e caracterização dos princípios ativos dos agrotóxicos**

Os efluentes contaminados com agrotóxicos foram coletados em uma fazenda produtora de uva, localizada na região do Vale do São Francisco.

Inicialmente realizou-se a identificação e caracterização dos princípios ativos dos agrotóxicos utilizados na viticultura, através das planilhas de pulverizações da própria fazenda produtora de uva. Após a identificação dos princípios ativos, foram levantados por meio de consulta ao Compêndio de Defensivos Agrícolas (2013), informações sobre classe toxicológica, propriedades físico-químicas e periculosidade ambiental.

## **2.3. Coleta do efluente**

Após a pulverização da videira, as sobras da calda foram encaminhadas para tanques de concreto com capacidade para 5,0 m<sup>3</sup>, equipados com seis aeradores. Nesses tanques foi adicionado esterco caprino como inoculo na proporção 7:3 efluente: esterco, sendo o sistema operado sob aeração constante. As amostras do efluente foram coletadas nos referidos tanques, no período de janeiro a fevereiro de 2014, com intervalos de cinco dias. Em cada coleta foram retirados dos tanques 3,5 L do efluente, sendo 2 L colocados em recipientes plásticos para análises físico-química, 1 L colocado em frasco âmbar para análise de agrotóxicos e 500 mL colocados em recipiente de vidro autoclavado para as análises microbiológicas.

## **2.4. Coleta da calda orgânica**

A fazenda produtora de uva utiliza um dos tanques aerados para produção da calda orgânica, que é produzida na proporção 70/30: água/esterco caprino. As amostras de calda orgânica foram coletadas nos referidos tanques, no período de janeiro a fevereiro de 2014, com intervalos de cinco dias. Em cada coleta foram

retirados do tanque 2,5 L da calda orgânica, sendo 2 L colocados em recipiente plástico para análises físico-química e 500 mL colocados em recipiente de vidro autoclavado para as análises microbiológicas.

## **2.5. Análises laboratoriais**

### **2.5.1. Físico-química e microbiológica**

Foram analisados no efluente e calda orgânica os seguintes parâmetros: pH, Temperatura, Oxigênio Dissolvido, Condutividade, Turbidez, Nitrogênio Total, Fósforo total, Carbono Orgânico Total e Bactérias Heterotróficas, segundo metodologia do Standard Methods Analysis Water and Wastewater (APHA, 2012). Essas análises foram realizadas no Laboratório Agroambiental da Embrapa Semiárido.

### **2.5.2. Identificação dos resíduos de agrotóxicos**

As análises foram realizadas no Laboratório de Bioquímica da Universidade Federal do Vale do São Francisco – UNIVASF.

#### **2.5.2.1. Efluente**

A determinação dos resíduos de agrotóxicos zoxamida, azoxistrobina e ciproconazol no efluente foi feita através de extração líquido-líquido. As amostras foram inicialmente filtradas em membranas de 0,45 µm para remoção de partículas em suspensão. Em seguida, foram transferidos 500 mL da amostra para funis de separação com volume de 1 L, adicionando-se 60 mL de diclorometano ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ ) da marca VETEC Química Fina. A mistura da amostra com diclorometano foi agitada vigorosamente por cerca de 2 minutos e deixada em repouso até a separação completa das fases. A fase orgânica foi filtrada em funil contendo lã de vidro, sulfato de sódio anidro e recolhida em um balão de fundo chato com boca esmerilhada de 250 mL, sendo repetido esse procedimento por mais duas vezes. O volume final de extrato obtido, foi concentrado em rota-evaporador a  $40 \pm 1^\circ\text{C}$ , restando

aproximadamente 1 mL, que foi transferido para um balão de 5 mL e o volume foi completado e aferido com metanol.

### **2.5.2.2. Esterco**

Analisou-se resíduos de agrotóxicos zoxamida, azoxistrobina e ciproconazol no esterco caprino, utilizando o método QuEChERS (ANASTASSIADES et al., 2003) na etapa de extração.

Decorrido os trinta dias do tratamento, o tanque foi esvaziado para coleta da amostra do esterco caprino. Em seguida o esterco foi colocado em uma bandeja e permaneceu à temperatura ambiente durante 48 horas, para remover toda a umidade. A amostra foi homogeneizada e foram retiradas 5 sub amostras, cada uma, pesando 2 g, que foram colocadas em tubos falcon de 50 mL, adicionou-se 10 mL de acetonitrila (MeCN) e procedeu agitação vigorosa por 1 min. Na etapa seguinte, adicionou-se 1 pacote de Q-sep: QuEChERS Extraction Salts, contendo 4 g MgSO<sub>4</sub>, 1 g NaCl, 1 g TSCD e 0,5 g DHS, da marca Restek, repetiu-se a agitação vigorosa por 1 min, em seguida realizou-se a centrifugação a 3500 rpm por 10 min. De cada sub amostra foi retirado 1 mL do extrato e submetido a uma etapa de clean up, utilizando 150 mg MgSO<sub>4</sub> e 25 mg PSA, para melhorar sua qualidade. Os extratos foram submetidos à análise por cromatografia líquida acoplada ao espectrômetro de massa.

### **2.5.2.3. Análise cromatográfica**

As amostras obtidas após extração e concentração foram analisadas no LC-MS-MS (LC-IT-TOF-MS (Shimadzu Corp.)). As condições cromatográficas estabelecidas foram: coluna *Phenomenex Gemini C18*, 3 µm, 50 x 2,1 mm, fase móvel: água e metanol grau HPLC (30:70 V/V) na vazão da fase móvel 0,2 mL/min e volume de injeção de 5 µL. O fluxo de gás de nebulização N<sub>2</sub> no espectrômetro de massa, foi igual a 1,5 L/min, pressão do gás de secagem N<sub>2</sub> igual a 100 kPa, temperatura de interface - *curved dissolution time* (CDL) igual a 200 °C, tempo de acumulação dos íons no octopolo de 50 ms. Os espectros de massa foram

adquiridos no modo negativo e positivo com varredura na faixa de 100-500 m/z. Essa análise foi realizada no Laboratório de química fundamental da Universidade Federal de Pernambuco – UFPE.

### 2.5.3. Toxicidade

A toxicidade do efluente antes e após o tratamento biológico foi determinada utilizando organismos testes do crustáceo *Artemia salina* (48h de vida pós eclosão). Os bioensaios de toxicidade aguda foram realizados, de acordo com a metodologia proposta por Vanhaecke et al. (1981).

Os cistos de *Artemia salina* foram colocados para eclodir em Erlenmeyer de 500 mL com solução de sal marinho na concentração de 25 g/L durante 48 horas. Foi colocado uma bomba de aquário para aeração e deixados sob luz constante (15 W) e temperatura de 25 °C.

Para esse ensaio foram utilizadas 2 amostras de efluentes contaminados com agrotóxicos, efluente bruto sem adição de esterco e efluente com trinta dias de tratamento. Todas as amostras foram coletadas no tanque da fazenda produtora de uva. Para cada amostra foram preparadas sete concentrações a partir do efluente filtrado (100% v/v; 50% v/v; 25% v/v; 12,5% v/v; 6,25% v/v; 3,12% v/v e 1,56% v/v) e uma testemunha (0,00%) composta apenas de solução salina. As diluições dos efluentes foram realizadas usando solução salina preparada com água destilada e sal marinho da marca Natural Ocean.

Utilizou-se um delineamento experimental em blocos, com 2 amostras x 8 concentrações, com quatro repetições. Foram colocados 30 mL de cada concentração em Becker e adicionados 5 nauplios de *Artemia salina* em cada recipiente. A contagem dos organismos móveis e imóveis foi realizada após 48 horas. Os nauplios de *Artemia salina* foram consideradas imóveis quando não apresentaram qualquer movimento após 10 segundos de observação.

A concentração que afeta a mobilidade de 50% da população ( $CE_{50-48h}$ ) e o intervalo de confiança, foram calculados pelo módulo “Probit Analysis” do programa Statgraphics Plus 5.1 (Manugistics, 2001).

Os testes de toxicidade foram realizados no Laboratório GERELAB da Embrapa Semiárido.

### 3. Resultados e Discussões

#### 3.1. Caracterização química do esterco caprino *in natura*

Buscando estimar quais nutrientes eram advindos do esterco caprino, realizou-se a caracterização química (Tabela 1). Percebeu-se que ele é rico em nutrientes como N, Ca, K, B, Fe, Mn e Na. O resultado dessa caracterização depende diretamente da alimentação do caprino, que é bastante diversificada. Essa análise é importante, pois como o objetivo do tratamento é o reuso do efluente, faz-se necessário conhecer os nutrientes que estão sendo incorporados, ao solo e a planta, através da calda orgânica e quais são as exigências nutricionais da cultura. Segundo Malavolta (2006) esses elementos podem ser essenciais e benéficos às plantas, sua falta e/ou excesso compromete o desenvolvimento das culturas.

Dentre os nutrientes encontrados na caracterização química, destaca-se o nitrogênio. Segundo Mafra et al. (2011), em fase de brotação e crescimento de ramos, a videira requer grandes quantidades desse elemento, entretanto a dosagem correta é fundamental, pois o excesso pode causar diminuição da qualidade dos frutos e a deficiência pode provocar redução da produtividade.

Tabela 1 - Caracterização química do esterco caprino *in natura*.

<b>Nutriente</b>	<b>Quantidade (g/Kg)</b>	<b>Nutriente</b>	<b>Quantidade (g/Kg)</b>
Nitrogênio (N)	16,87	Boro (B)	0,23
Fósforo (P)	1,81	Cobre (Cu)	0,01
Potássio (K)	15,08	Ferro (Fe)	6,41
Cálcio (Ca)	22,37	Manganês (Mn)	0,29
Magnésio (Mg)	7,09	Zinco (Zn)	0,06
Enxofre (S)	1,77	Sódio (Na)	0,78

#### 3.2. Levantamento dos agrotóxicos

Com relação ao levantamento dos agrotóxicos utilizados na viticultura, no primeiro semestre de 2014, verificou-se que a maioria são fungicidas (Tabela 2), 65% são classificados quanto à toxicologia em Classe III (Medianamente tóxico) e quanto à periculosidade ambiental, 74% são Classe II (Muito perigoso). Esses dados reforçam a necessidade de se desenvolver tecnologias para tratamento desses efluentes contaminados com agrotóxicos, por se tratar de um resíduo com elevado potencial poluidor e porque a região do Vale do São Francisco se destaca na vitivinicultura, conseqüentemente, gera grandes quantidades de tais efluentes.

Tabela 2 - Propriedades físicas e químicas dos fungicidas.

<b>Propriedades</b>	<b>Azoxistrobina</b>	<b>Ciproconazol</b>	<b>Zoxamida</b>
Fórmula Molecular	$C_{22}H_{17}N_3O_5$	$C_{15}H_{18}ClN_3O$	$C_{14}H_{16}Cl_3NO_2$
Massa molecular (g/mol)	403,4	291,78	336,64
Solubilidade em água (mg/L)	6,7	93	0,681
Koc (mL/g)	589	-	1224
DT50 (dias)	8,7	40	8
Pressão de Vapor (mPa at 25°C)	$1,10 \times 10^{-7}$	$2,6 \times 10^{-2}$	$1,3 \times 10^{-2}$

Fonte: IUPAC (2014).

### 3.3. Caracterização físico química do efluente e da calda orgânica

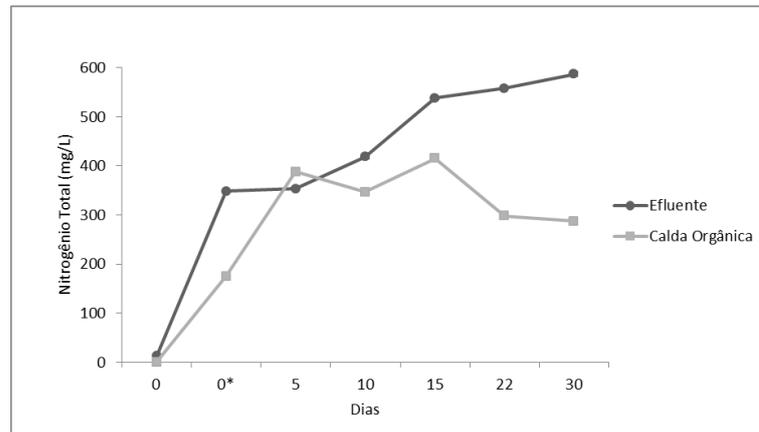
A temperatura das amostras foi medida no momento da coleta e apresentaram uma média de 24,26 °C. Para a turbidez, os valores variaram de 539 a 2960 UNT. Esse aumento da turbidez é decorrente do acúmulo de material em suspensão, como a finalidade do tratamento é reuso, a única implicação desse valor elevado seria a obstrução do sistema de irrigação utilizado. Para evitar essa implicação, o efluente poderia passar por um processo de decantação antes de ser reutilizado.

Com relação à condutividade elétrica, inicialmente o efluente bruto apresentou 0,3 mS/cm, imediatamente após adição do esterco caprino o valor atingiu 3,1 mS/cm e ao final do tratamento (30 dias) o efluente apresentava condutividade equivalente

a 6,7 mS/cm. Esse comportamento decorre da presença de íons dissolvidos provenientes dos agrotóxicos utilizados e provavelmente do esterco. Foi observado também o aumento da condutividade nos diferentes tempos de detenção, acredita-se que a ação dos microrganismos tornam esses íons mais disponíveis. Abdel-Gawad et al. (2012) ao estudar a viabilidade de remover agrotóxicos da água utilizando o método de eletrocoagulação, verificou que o aumento da condutividade da solução não tem um efeito considerável sobre o percentual de remoção dos agrotóxicos, visto que ao utilizarem uma solução contendo 1 g/L de NaCl, os percentuais de remoção de imidacloprido, malation e clorpirifos foram 98%, 100% e 97% respectivamente.

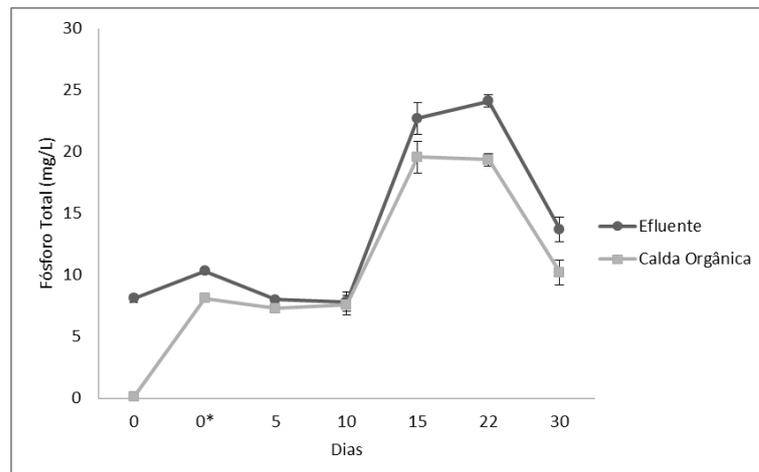
O teor de oxigênio dissolvido apresentou uma média equivalente a 11 mg/L durante os trinta dias do tratamento, o que é muito importante, pois como o tratamento é aerado, o oxigênio é fundamental para a biodegradação. Esse resultado é bem semelhante aos de Jilanni et al (2014), onde os autores relataram que houve degradação de 78% do agrotóxico cipermetrina, através de um processo biológico, empregando lodos ativados, em uma faixa de 11-12 mg/L de oxigênio dissolvido.

Os valores apresentados nas Fig. 1 e 2 indicam uma forte presença de nitrogênio e fósforo no efluente. Esses teores elevados de N e P são provenientes tanto do esterco quanto dos compostos orgânicos e fertilizantes foliares pulverizados juntamente com os agrotóxicos. O uso desses compostos, fez com que os teores de nitrogênio e fósforo fossem maiores no efluente do que na calda orgânica. Entre os compostos orgânicos e fertilizantes foliares frequentemente empregados na viticultura estão Ácido Fosfórico ( $H_3PO_4$ ), Aji Power (contém compostos orgânicos associados aos nutrientes nitrogênio e fósforo), Aminoplus (composto orgânico rico em nitrogênio, óxido de potássio), Citogrower (fertilizante foliar a base de fósforo e potássio), Codamax (fertilizante foliar a base de fósforo e nitrogênio), Naturamim (composto orgânico rico em nitrogênio).



**Fig. 1: Variação dos teores Nitrogênio total (mg/L).**

**0\*:** Amostra coletada no tempo zero, imediatamente após adição do esterco.

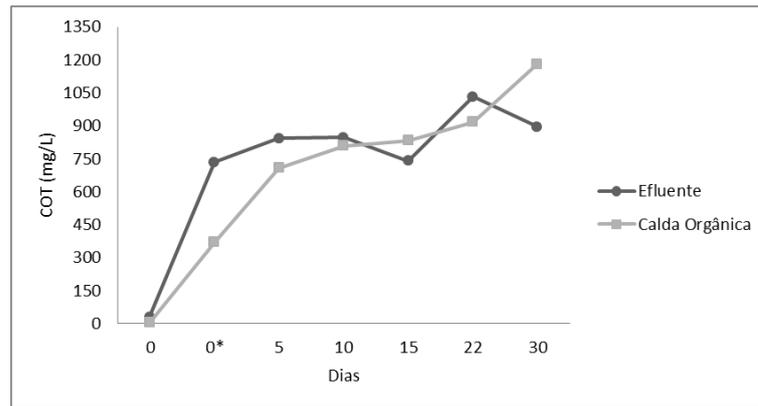


**Fig. 2: Variação dos teores de Fósforo Total (mg/L).**

**0\*:** Amostra coletada no tempo zero, imediatamente após adição do esterco.

A fonte de carbono orgânico (Fig. 3) tanto no efluente, quanto na calda orgânica, é o próprio esterco caprino, sendo mínima a contribuição dos agrotóxicos. Os valores de carbono orgânico – COT mantiveram-se praticamente estáveis, esse dado é um fator positivo para fins de reuso, pois o efluente bruto possuía inicialmente 30,75 mg/L de carbono orgânico e ao final do tratamento o efluente apresentava um teor de COT de 895 mg/L que se aproxima bastante do teor da calda orgânica (900 mg/L) com 22 dias de tratamento.

Como o objetivo do tratamento é reuso, segundo Figueiredo et al. (2012) a adição ao solo de materiais ricos em carbono orgânico, faz com que parte desse carbono seja utilizada pelos microrganismos como fonte de energia, aumentando assim a atividade microbiológica e consequentemente o rendimento das culturas.



**Fig. 3: Variação dos teores de Carbono Orgânico (mg/L).**

**0\*:** Amostra coletada no tempo zero, imediatamente após adição do esterco.

Verificou-se que os teores de nitrogênio, fósforo e carbono orgânico, estão dentro dos limites de calda orgânica. Apesar do elevado teor desses elementos, observou-se degradação do fungicida ciproconazol, embora Martín et al. (2009) salientam que quanto maior o teor de carga orgânica no efluente, maior será o tempo necessário para degradar agrotóxicos na fase de pré- tratamento.

Em relação ao pH, a maioria dos agrotóxicos apresenta pH ácido entre 3-5 para evitar a liberação de íons carbonatos e bicarbonatos, pois esses íons reduzem a meia vida dos agrotóxicos (FURTADO, 2012). Inicialmente o efluente bruto (T0) apresentou pH de 6,5 e ao final do tratamento o pH ficou em 8,5 dentro do limiar da calda orgânica.

### 3.4. Caracterização microbiológica do efluente

Quanto à caracterização microbiológica (Fig. 4) foram encontradas na faixa de  $10^3$  a  $10^8$  unidades formadoras de colônias - UFC de bactérias heterotróficas nas amostras do efluente, tais bactérias alimentam-se principalmente da matéria orgânica. Apesar da toxicidade do efluente, observou-se a presença desses microrganismos em todos os tratamentos, garantindo a sua ação no processo de biodegradação. Verificou-se também que a partir da situação inicial de bactérias (Efluente e Efluente + Esterco no tempo zero) para o quinto dia (T5), houve um aumento de  $10^5$  UFC, caracterizando um crescimento exponencial.

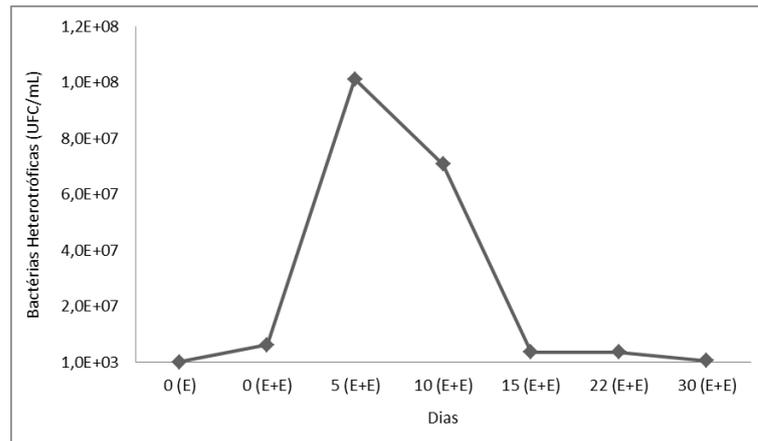


Fig. 4: Bactérias Heterotróficas (UFC/mL). E: efluente bruto; E+E: efluente + esterco.

### 3.5. Resíduos de agrotóxicos no efluente e no esterco caprino

Em relação aos resíduos dos agrotóxicos identificados no efluente bruto, no tempo zero, destacam-se três fungicidas: zoxamida ( $C_{14}H_{16}Cl_3NO_2$ ), azoxistrobina ( $C_{22}H_{17}N_3O_5$ ) e o ciproconazol ( $C_{15}H_{18}ClN_3O$ ). Na Fig. 5 encontram-se os cromatogramas de íons de dois dos resíduos de agrotóxicos identificados no efluente bruto. Já nas amostras de efluente do T30 não foi identificado a presença desses compostos.

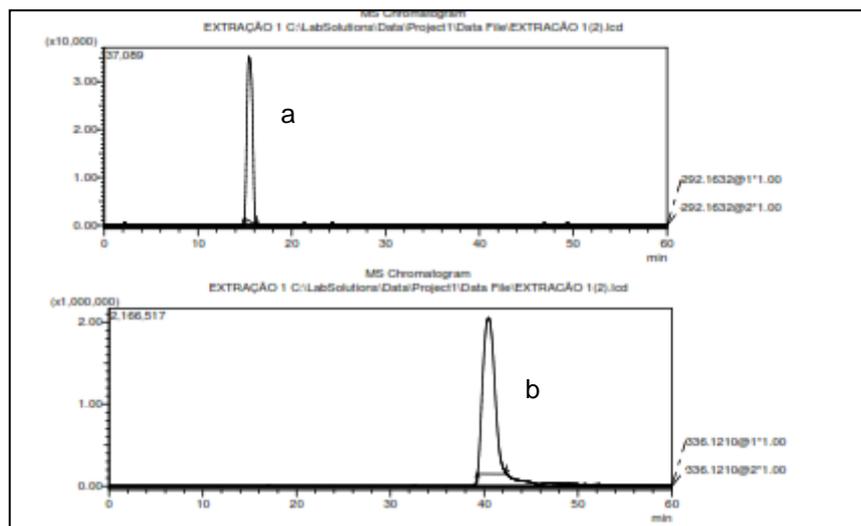


Fig. 5: Cromatograma de íons do efluente bruto (T0) a-ciproconazol e b-zoxamida.

Analisaram-se também os resíduos de agrotóxicos no esterco caprino, e foram encontrados zoxamida e azoxistrobina, ou seja, esses dois fungicidas foram

adsorvidos e o ciproconazol foi biodegradado. O ciproconazol possui uma baixa pressão de vapor ( $2,6 \times 10^{-2}$  mPa), significando assim que não sofreu volatilização, o que corrobora com a biodegradação.

O que pode ter favorecido o processo de adsorção da azoxistrobina e zoxamida ao esterco caprino, foi à elevada constante de adsorção ao carbono orgânico - Koc de ambos fungicidas, 589 e 1224 mL/g, respectivamente.

Resultados positivos de degradação do ciproconazol foram encontrados por Lhomme et al (2007), os autores avaliaram a degradação do ciproconazol utilizando um fotocatalisador, irradiação UV na presença de  $\text{TiO}_2$  e conseguiram 100% de degradação em 12 horas.

Outro estudo também desenvolvido por Lhome et al (2008), avaliou a degradação dos agrotóxicos chlortoluron e ciproconazol, diluídos em água pura e em solução comercial empregando  $\text{TiO}_2$ . Os autores conseguiram degradação completa dos dois agrotóxicos diluídos em água pura, com tempo de irradiação variando entre 15 e 20 horas. No caso das soluções comerciais, especificamente a que continha ciproconazol e aditivos orgânicos, o tempo de irradiação para completa degradação foi de 20 horas.

Observou-se que o fungicida azoxistrobina ficou adsorvido no esterco caprino. Este resultado, é semelhante ao encontrado por Sopeña et al. (2013) no qual constataram que o processo de adsorção da azoxistrobina em um solo tratado com biocarvão foi muito forte, e que, mesmo após o experimento de dessorção, não foi detectado a presença do fungicida na solução do solo. Singh et al. (2010) relatam que a azoxistrobina possui uma estrutura complexa, possibilitando diversas vias de degradação.

### **3.6. Toxicidade**

Com relação à toxicidade dos efluentes verificou-se que o efluente T0 (amostra bruta do efluente) possui uma  $\text{CE}_{50}$  equivalente a 2,19%, enquanto que a amostra de efluente + esterco T30 (final do tratamento) apresentou uma  $\text{CE}_{50}$  equivalente a 61,43% com intervalo de confiança (95% de certeza) de 47,48 a 85,31%. Portanto, o efluente T0 demonstrou-se ser mais tóxico que o efluente + esterco T30 e esta diferença de toxicidade é estatisticamente significativa ( $p < 0,05$ ).

Esse resultado é muito importante, pois evidencia que o tratamento biológico foi capaz de reduzir significativamente a toxicidade do efluente. O fato de dois fungicidas azoxistrobina e zoxamida terem ficados adsorvidos ao esterco caprino pode ter favorecido essa redução.

Mesmo o efluente contendo apenas fungicidas, foi constatado sua toxicidade frente à *Artemia salina* ( $CE_{50} = 2,19\%$ ), resultados semelhantes foram encontrados por Koutsaftis e Aoyama (2007), os autores relatam que, a dose letal do fungicida clorotalonil, capaz de eliminar 50% da população de *Artemia salina* em 24 horas de exposição é da faixa de 0,8 - 1,2 mg/L.

Os resultados apontam que o efluente bruto apresentou uma toxicidade elevada a *Artemia salina*. Resultados semelhantes foram encontrados por Rao et al (2007) que avaliaram a toxicidade de quatro inseticidas organofosforados usando camarão de água salgada e *Artemia salina*. Os autores obtiveram para o inseticida Clorpirifós, utilizando *Artemia salina*, uma  $CL_{50}$  da ordem de  $0,385 \pm 0,08$  mg/L.

O estudo desenvolvido por Obregon e Vargas (2010) também evidencia a toxicidade elevada de águas contaminadas com agrotóxicos. No referido estudo duas concentrações de 29,4 mg/L e 14,0 mg/L do agrotóxico diazinon, foram suficientes para eliminar 100% dos microcrustáceos de *Artemia salina* utilizados no bioensaio em apenas duas horas de exposição.

Resultados de redução de toxicidade também foram encontrados por Segura et al. (2008) empregando foto-Fenton para tratar águas residuais contaminadas com imidacloprido. Os autores constataram em amostras contaminadas com imidacloprido antes do tratamento, uma toxicidade aguda para *Daphnia magna* com  $CL_{50}$  dentro de 40-60% e 10-20%, após 24 h e 48 h respectivamente. Após aplicação do tratamento foto-Fenton, a  $CL_{50}$  aumentou para 50-80% e 40-70% após 24 e 48 horas respectivamente.

Em adição, a pesquisa de Kitsiou et al. (2009) apresentou em seus resultados redução de toxicidade do imidacloprido para o *Vibrio fischeri* empregando tratamento com  $TiO_2$  e foto-Fenton.

#### **4. Conclusões**

O tratamento biológico foi capaz de biodegradar o fungicida ciproconazol e o efluente após o tratamento biológico (T30) mostrou-se menos tóxico que o efluente bruto (T0).

O tratamento aqui proposto, apesar de ter contemplado apenas três fungicidas, se mostrou promissor, embora seja necessário avaliar com outros princípios ativos. Estudos dessa natureza são fundamentais para região do Vale do São Francisco, pois propõe uma alternativa de tratamento para sobras de calda e água de lavagem dos equipamentos de pulverização. O tratamento biológico aqui proposto pode minimizar o potencial poluidor desses efluentes, além de possibilitar seu reuso na irrigação como um biofertilizante.

#### **Agradecimentos**

A Embrapa Semiárido, a Universidade Federal de Campina Grande e a Capes por apoiar, financiar e fomentar esta pesquisa. A fazenda produtora de uva, por permitir a coleta do material.

## Referências

- Abdel-Gawad, S.A., Baraka, A.M., Omran, K.A. and Mokhtar, M.M. (2012). Removal of some pesticides from the simulated waste water by electrocoagulation method using iron electrodes. *International Journal of Electrochemical Science*, **7**, 6654 – 6665.
- Agrianual. (2006). Anuário Brasileiro da Uva e Vinho. Santa Cruz do Sul. Editora Gazeta Santa Cruz, 128 p.
- Anastassiades, M., Lehotay, S.J., Stajnbaher, D. and Schenck, F.J. (2003). Fast and easy multiresidue method employing acetonitrile extraction/partitioning and "dispersive solid-phase extraction" for the determination of pesticide residues in produce. *Journal of the Association of Official Analytical Chemists International*, **86**, 412-431.
- Andrei, E. (Coord.) (2013). *Compêndio de defensivos agrícolas: guia prático de produtos fitossanitários para uso agrícola*. (São Paulo: Andrei).
- APHA. (2012). *Standard Methods for Examination of Water and Wastewater*, 22<sup>th</sup> ed., American Public Health Association, Washington, D.C.
- Brasil (2012). Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Estatística. Retrieved February 20, 2014, from <http://www.agricultura.gov.br>.
- Cardeal, Z. L., Souza, A. G. and Amorim, L. C. A., (2011). Analytical methods for performing pesticide degradation studies in environmental sample. In *Pesticides – Formulations, Effects, Fate* (ed. Margarita, S.), In Tech Publishers, New York, 595–618.
- Claver, A., Ormad, P., Rodríguez, L. and Ovelleiro, J.L. (2006). Study of the presence of pesticides in surface waters in the Ebro river basin (Spain). *Chemosphere*, **64 (9)**, 1437–1443.
- Diez, M.C. (2010). Biological aspects involved in the degradation of organic pollutants. *Journal of soil science and plant nutrition*, **10 (3)**, 244-267.
- Figueiredo, C.C., Ramos, M.L.G., McManus, C.M., Menezes, A.M., (2012). Mineralização de esterco de ovinos e sua influência na produção de alface. *Horticultura Brasileira*, **(30)**, 175–179.
- Furtado, R.D. (2012). Tratamento de efluentes gerados pela lavagem de aeronaves agrícolas e pelo descarte das aplicações aéreas de agrotóxicos. Tese, Universidade Federal do Rio Grande do Sul.
- Hai, F.I., Modin, O., Yamamoto, K., Fukushi, K., Nakajima, F. and Nghiem, L.D. (2012). Pesticide removal by a mixed culture of bacteria and white-rot fungi. *Journal of the Taiwan Institute of Chemical Engineers*, **43**, 459–462.

Hattab, M.T. and Ghaly, A.E. (2012). Disposal and Treatment Methods for Pesticide Containing Wastewaters: Critical Review and Comparative Analysis. *Journal of Environmental Protection*, **3 (5)**, 431-453.

He, X., Wubie, A.J., Diao, Q., Li, W., Xue, F., Guo, Z., Zhou, T. and Xu, S. (2014). Biodegradation of neonicotinoid insecticide, imidacloprid by restriction enzyme mediated integration (REMI) generated *Trichoderma* mutants. *Chemosphere*, **112**, 526–530.

Hernández, E. H., Andrades, M.S., Martín, A. A., Juan, E. P., Cruz, M.S. R. and Martín, M.J. S. (2013). Occurrence of pesticides and some of their degradation products in waters in a Spanish wine region. *Journal of Hydrology*, **486**, 234–245.

Hildebrandt, A., Guillamón, M., Lacorte, S., Tauler, R. and Barcelo, D. (2008). Impact of pesticides used in agriculture and vineyards to surface and groundwater quality (north Spain). *Water Research*, **42 (13)**, 3315–3326.

IUPAC - International Union of Pure and Applied Chemistry (2014). Pesticide Properties DataBase (PPDB). Retrieved October 18, 2014, from <http://sitem.herts.ac.uk/aeru/projects/ppdb/index.htm>.

Jeyakumar, T., Kalaiarasi, I, Rajavel, A, Anbu, M. and kumar, R. (2014). Levels of organochlorine pesticide residues in water and sediment from selected agricultural sectors of Kanyakumari District, Tamil Nadu, India. *International Journal of Environmental Research*, **8(2)**, 493-500.

Jilani, S. and Khan, M. A. (2014). Treatment of toxic organics in industrial wastewater using activated sludge process. *International Journal of Environmental Research*, **8(3)**, 719-726.

Kasemodel, M.C., Porto, A.L.M, and Nitschke, M. (2014). Biodegradação bacteriana de compostos organoclorados. *Química Nova*, **XY (00)**, 1-6.

Kitsiou, V., Filippidis, N. and Poullos, I. (2009). Heterogeneous and homogeneous photocatalytic degradation of insecticide imidacloprid in aqueous solutions. *Applied Catalysis B: Environmental*, **86 (1-2)**, 27-35.

Koutsaftis, A. and Aoyama, I. (2007). Toxicity of four antifouling biocides and their mixtures on the brine shrimp *Artemia salina*. *Science of the Total Environment*, **387**, 166 –174.

Lhomme, L., Brosillon, S. and Wolbert, D. (2007). Photocatalytic degradation of a triazole pesticide, cyproconazole, in water. *Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry*, **188**, 34–42.

Lhomme, L., Brosillon, S. and Wolbert, D. (2008). Photocatalytic degradation of pesticides in pure water and a commercial agricultural solution on TiO<sub>2</sub> coated media. *Chemosphere*, **70**, 381–386.

Mafra, M.S.H., Cassol, P.C., Miquelluti, D.J., Ernani, P.R., Gatiboni, L.C., Ferreira, E.Z., Barros, M., Zalameña, J. and Grohskopf, M.A. (2011). Atributos químicos do solo e estado nutricional de videira Cabernet Sauvignon (*Vitis vinifera* L.) na Serra Catarinense. *Revista de Ciências Agroveterinárias*, **10 (1)**, 44–53.

Malavolta, E. (2006). *Manual de nutrição mineral de plantas*. (São Paulo: Editora Agronômica Ceres).

Manugistics Statgraphics Plus: version 5.1 for Windows. (2001). Rockville: Manugistics Group.

Martín, M.M.B., Pérez, J.A.S., López, J.L.C., Oller, I. and Rodríguez, S.M. (2009). Degradation of a four-pesticide mixture by combined photo-Fenton and biological oxidation. *Water Research*, **43**, 653 – 660.

Navarro, A., Tauler, R., Lacorte, S. and Barceló, D. (2010). Occurrence and transport of pesticides and alkylphenols in water samples along the Ebro river basin. *Journal of Hydrology*, **383 (1-2)**, 18–29.

Obregon, E.B. and Vargas, A. (2010). Chronic toxicity bioassay with populations of the crustacean *Artemia salina* exposed to the organophosphate diazinon. *Biological Research*, **43 (3)**, 357-362.

Omirou, M., Dalias, P., Costa, C., Papastefanou, C., Dados, A., Ehalotis, C. and Karpouzias, D.G. (2012). Exploring the potential of biobeds for the depuration of pesticide-contaminated wastewaters from the citrus production chain: Laboratory, column and field studies. *Environmental Pollution*, **166**, 31-39.

Phugare, S.S., Kalyani, D.C., Gaikwad, Y.B. and Jadhav, J.P. (2013). Microbial degradation of imidacloprid and toxicological analysis of its biodegradation metabolites in silkworm (*Bombyx mori*). *Chemical Engineering Journal*, **230**, 27–35.

Quintana, J., Martí, I. and Ventura, F. (2001). Monitoring of pesticides in drinking and related waters in NE Spain with a multiresidue SPE–GC–MS method including an estimation of the uncertainty of the analytical results. *Journal of Chromatography A*, **938 (1-2)**, 3–13.

Rao J. V., Kavitha, P., Jakka, N.M., Sridhar, V. and Usman, P.K. (2007). Toxicity of organophosphates on morphology and locomotor behavior in brine shrimp, *Artemia salina*. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, **53 (2002)**, 227–232.

Segura, C., Zaror, C., Mansilla, H.D. and Mondaca, M.A. (2008). Imidacloprid oxidation by photo-Fenton reaction. *Journal of Hazardous Materials*, **150 (3)**, 679–686.

Silva, F. C. (org.) (2009). *Manual de análises químicas de solos, plantas e fertilizantes*. (Brasília: Embrapa Comunicação para Transferência de Tecnologia).

Singh, N., Singh, S., Mukerjee, I., Gupta, S., Gajbhiye, V., Sharma, P., Goel, M. and Dureja, M., (2010). Metabolism of <sup>14</sup>C-azoxystrobin in water at different pH. *Journal of Environmental Science and Health, Part B: Pesticides, Food Contaminants, and Agricultural Wastes*, **45 (2)**, 123-127.

Sniegowski, K., Bers, K., Van Goetem, K., Ryckeboer, J., Jaeken, P.; Spanoghe, P. and Springael, D. (2011). Improvement of pesticide mineralization in on-farm biopurification system by bioaugmentation with pesticide-primed soil. *Fems Microbiology Ecology*, **76 (1)**, 64-73.

Sopeña, F. and Bending, G.D. (2013). Impacts of biochar on bioavailability of the fungicide azoxystrobin: A comparison of the effect on biodegradation rate and toxicity to the fungal community. *Chemosphere*, **91**, 1525–1533.

Vanhaecke, P., Persoone, G., Claus, C. and Sorgeloos, P. (1981). Proposal for a short term toxicity test with *Artemia nauplii*. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, **5 (3)**, 382-387.

## 4 CAPÍTULO II

### **Avaliação da biodegradação do inseticida imidacloprido em reator de bancada**

#### **RESUMO**

Na Região do Vale do São Francisco, no estado de Pernambuco, o manejo da uva requer a utilização de vários inseticidas para combate às pragas, dentre eles, destaca-se o imidacloprido. A utilização de inseticidas acarreta na geração de efluentes contaminados, provenientes das sobras da pulverização e águas de lavagens dos equipamentos destinados a essa atividade. Esses efluentes se não forem tratados corretamente podem contaminar os recursos naturais. O objetivo deste trabalho foi avaliar a biodegradação do inseticida imidacloprido, empregando reator de bancada combinando aeração e esterco caprino. O experimento foi conduzido em escala laboratorial com efluente sintético em reator biológico aerado. Utilizou-se um planejamento fatorial 2x2 considerando duas razões efluente/biomassa e dois tempos de detenção, com três repetições. As variáveis avaliadas foram nitrogênio total, oxigênio dissolvido, temperatura, carbono orgânico total, contagem de microrganismos e determinação de agrotóxicos no efluente sintético e no esterco caprino. A partir dos resultados obtidos, verificou-se que a biodegradação foi maior no esterco caprino quando comparado ao efluente sintético, atingindo neste um percentual de biodegradação de 40% com quinze dias de tratamento.

**Palavras chave:** Biodegradação, inseticida, efluente.

#### **Biodegradation of the evaluation of imidacloprid insecticide bench reactor**

#### **ABSTRACT**

In Region São Francisco Valley in the state of Pernambuco, the management of grape requires the use of various insecticides for pest control, among them, stands out the imidacloprid. The use of insecticides causes the contaminated effluents generation, derivative of washing water of the equipment for this activity and of

leftover of spraying. These effluents if not treated properly can contaminate natural resources. The aim of this study was to evaluate the biodegradation of imidacloprid insecticide, using the bench reactor, combining aeration and goat manure. The experiment was conducted in laboratory scale with synthetic sewage in aerated biological reactor. We used a 2x2 factorial design considering two reasons biomass/effluent and two detention times, with three replications. The variables evaluated were total nitrogen, dissolved oxygen, temperature, TOC, count of the microorganisms and determination of pesticides in the goat manure and into effluent. From the results, it was found that the biodegradation was greater in goat manure than the effluent, reaching a percentage of 40% with fifteen days of treatment.

**Keywords:** Biodegradation, insecticide, effluent.

## 1 INTRODUÇÃO

A utilização de agrotóxicos no controle de pragas e doenças acarreta na geração de alguns passivos ambientais, como por exemplo, os efluentes contaminados, provenientes das sobras da pulverização e águas de lavagens dos equipamentos destinados a essa atividade. Esses efluentes se não forem tratados corretamente podem contaminar os recursos naturais.

A literatura é vasta no que diz respeito à contaminação de águas superficiais e subterrâneas por agrotóxicos. Autores como Reilly et al. (2012) constataram a presença de pelo menos um fungicida em 75% das águas superficiais e 58% dos poços amostrados em áreas agrícolas dos Estados Unidos. Herrero-Hernández et al. (2013) encontraram resíduos de agrotóxicos em 64% das águas subterrâneas e 62% das águas superficiais analisadas, sendo o somatório de todos os compostos encontrados, superior ao limite previsto na legislação da União Europeia, para corpos hídricos destinados ao abastecimento.

Em âmbito nacional a situação não é diferente, várias pesquisas (BORTOLUZZI et al., 2006; FERNANDES NETO; SARCINELLI, 2009; MARCHESAN et al., 2010; SILVA et al., 2011; MOREIRA et al., 2012) constataram a presença de agrotóxicos em águas superficiais, subterrâneas e alarmantemente em águas pluviais.

O Vale do São Francisco, consagrado mundialmente como um dos principais polos viticultor do Brasil, utiliza uma diversidade de inseticidas para controlar pragas e doenças. Dentre eles, destaca-se o imidacloprido, que é amplamente utilizado no combate de pragas sugadoras, como por exemplo, tripes (*Selenothrips rubrocinctus* e *Frankliniella* sp.) e cochonilha (*Parthenolecanium persicae*).

Segundo a ANVISA (2007) o Imidacloprido é um inseticida sistêmico, de nome químico: 1-(6-chloro-3-pyridylmethyl)-N-nitroimidazolidin-2-ylideneamine, cuja fórmula bruta é  $C_9H_{10}ClN_5O_2$ , pertencente ao grupo químico neonicotinóide. O produto é medianamente tóxico, apresenta solubilidade relativamente elevada e estabilidade na água, criando significativas preocupações ambientais (SEGURA et al., 2008; TISLER et al., 2009; PATIL et al., 2014).

Os métodos de tratamento amplamente utilizados para degradar efluentes contaminados com agrotóxicos são incineração, ozonização, degradação fotocatalítica, processos oxidativos avançados, adsorção, fitorremediação e biodegradação (CARDEAL et al., 2011; HATTAB; GHALY, 2012).

Segundo Diez (2010) a biodegradação de agrotóxicos é bastante eficaz na remoção dessas substâncias do meio ambiente. Gogate et al. (2004) salientam em seus estudos, que o tratamento biológico de efluentes cotaminados com agrotóxicos, é uma alternativa econômica e ambientalmente sustentável.

Em se tratando de biodegradação do inseticida imidacloprido, Phugare et al. (2013) avaliaram a degradação desse agrotóxico por uma bactéria isolada *Klebsiella pneumoniae* estirpe BCH1. A bactéria foi capaz de degradar 78% da concentração inicial em um período de sete dias a uma temperatura de 30 °C.

Outro estudo nessa mesma perspectiva foi o de He et al. (2014), onde os autores estudaram a biodegradação de imidacloprido através de microrganismos modificados de *Trichoderma*. A comunidade modificada conseguiu atingir 95% de degradação do imidacloprido.

Dessa forma, o objetivo desse trabalho é avaliar a capacidade de um sistema biológico combinando aeração e esterco caprino para degradar o inseticida imidacloprido.

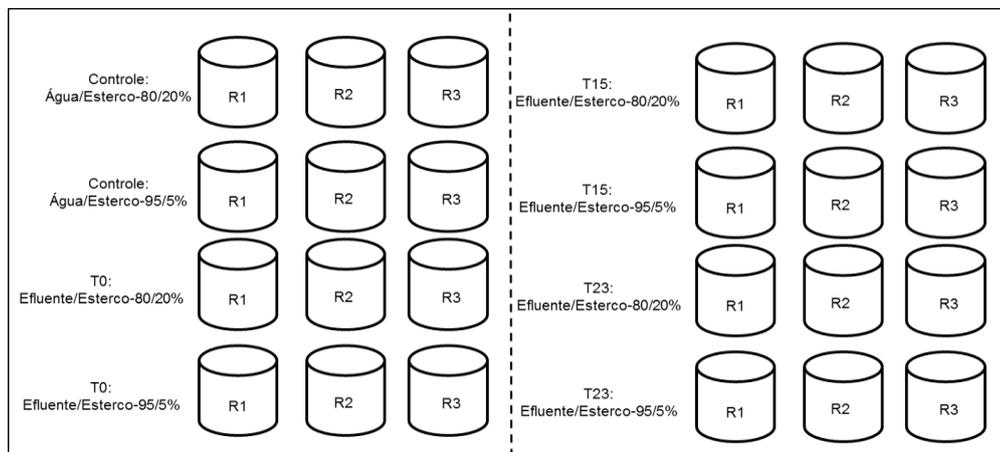
## 2 MATERIAIS E MÉTODOS

### 2.1 Montagem do experimento

O experimento foi conduzido em escala laboratorial utilizando efluente sintético com concentração equivalente a  $2,5 \text{ mg.L}^{-1}$ , preparado a partir de um produto comercial, que contém  $200 \text{ g/L}$  (20% m/v) de Imidacloprido e  $900 \text{ g/L}$  (90% m/v) de ingredientes inertes.

O delineamento experimental utilizado foi um planejamento fatorial  $2 \times 2$  com três repetições (Figura 1). As variáveis foram tempo de detenção e razão efluente/biomassa, cada uma com dois níveis (Tabela 1), produzindo quatro tratamentos. O mesmo delineamento foi utilizado para as amostras controle, compostas de água e esterco. O objetivo desse delineamento foi estudar a influência do tempo de detenção e da razão efluente/biomassa na biodegradação do imidacloprido. A escolha dos tempos de detenção e razões biomassa/efluente foram baseadas no sistema adotado pela Fazenda produtora de uva, mencionada anteriormente no Capítulo I.

Figura 1 - Esquema da disposição dos reatores no experimento.



Fonte - Próprio Autor.

Tabela 1 - Níveis das variáveis do planejamento fatorial 2x2.

Ensaio	Tempo de Detenção (Dias)	Razão efluente/biomassa (%)
1	- (15)	- (95/5)
2	+ (23)	- (95/5)
3	- (15)	+ (80/20)
4	+ (23)	+ (80/20)

Fonte - Próprio Autor.

Para simular os reatores, foram utilizados vasos plásticos com capacidade para 3 litros, preenchidos com 1,2 litros do efluente sintético e esterco caprino na respectiva proporção, conforme a Figura 1. O esterco foi previamente triturado, para uniformizar a amostra e aumentar a superfície de contato com o efluente. Esse sistema permaneceu sob aeração constante durante todo o experimento (Figura 2). A oxigenação do sistema se deu através de bombas de aeração para aquário.

Figura 2 - Montagem do experimento.



Fonte - Próprio Autor.

## 2.2 Coleta das amostras

As coletas das amostras de efluente e esterco nos reatores ocorreram no dia em que o experimento foi montado, após 15 e 23 dias de tratamento. Em cada

coleta, foi retirado todo o conteúdo dos reatores, em seguida as amostras foram encaminhadas para as análises laboratoriais.

## 2.3 Análises laboratoriais

### 2.3.1 Físico-química

Foram analisados as seguintes variáveis: Temperatura, Oxigênio Dissolvido, Nitrogênio Total e Carbono Orgânico Total, segundo metodologia do Standard Methods Analysis Water and Wastewater (APHA, 2012). Essas análises foram realizadas no Laboratório Agroambiental da Embrapa Semiárido.

### 2.3.2 Microbiológica

As análises microbiológicas no efluente foram realizadas apenas para quantificar os microrganismos, segundo metodologia do Standard Methods Analysis Water and Wastewater (APHA, 2012) com adaptações.

Nas análises microbiológicas foram utilizados três meios de cultura, NA (ágar nutriente); NA+P.A. (ágar nutriente com adição do produto comercial contendo imidacloprido, na mesma concentração do efluente ( $2,5 \text{ mg.L}^{-1}$ )); Pobre+P.A. (Yeast extract powder com ágar nutriente e 1% ( $2 \text{ g/L}$ ) do teor de imidacloprido existente na formulação do produto comercial). Na Tabela 2 costumam as finalidades dos respectivos meios de cultura.

Tabela 2 - Meios de cultura e seus objetivos.

Meio de Cultura	Objetivo
NA	Quantificar os microrganismos totais
NA+P.A.	Quantificar os microrganismos tolerantes ao agrotóxico
Pobre+P.A.	Estimular o crescimento de microrganismos degradadores, pois a única fonte de nutrientes nesse meio é o próprio agrotóxico

Fonte - Próprio Autor.

Na capela de fluxo laminar, procedeu-se a diluição em série das amostras em água destilada esterilizada, com fator de diluição de 1:10 até  $10^{-5}$ . Foram retiradas alíquotas de 0,1 mL das diluições  $10^{-4}$  e  $10^{-5}$  em triplicata, as quais foram distribuídas e espalhadas com auxílio de alça de Drigalski em placas de Petri, contendo os meios de cultura descritos. As placas foram, então, incubadas à 28 °C durante 7 dias em câmara de crescimento (BOD). Decorrido os sete dias, procedeu-se a contagem do número de colônias.

Todo esse procedimento foi realizado com todas as amostras de efluente nos diferentes tempos de detenção. Essas análises foram realizadas no Laboratório de Controle Biológico da Embrapa Semiárido.

### **2.3.3 Resíduos de Agrotóxicos**

As análises foram realizadas no Laboratório de Bioquímica da Universidade Federal do Vale do São Francisco – UNIVASF.

#### **2.3.3.1 Efluente**

As amostras foram inicialmente filtradas em membranas de 0,45 µm para remoção de partículas em suspensão e acidificadas com ácido sulfúrico P.A. Foram transferidos 10 mL da amostra para tubo falcon de 15 mL, adicionou-se 2 g de NaCl, seguido de agitação em Vortex por 1 min. Em seguida, adicionou-se 3 mL de diclorometano ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ ) da marca VETEC Química Fina, seguido de agitação em Vortex por 3 min. Após a extração as amostras foram centrifugadas a 3.500 rpm por 20 min. Uma alíquota de 500 µL do extrato sobrenadante foi retirada e transferida para um vial de 2 mL. O extrato foi totalmente evaporado sob fluxo de  $\text{N}_2$  e posteriormente, retomado em 1 mL de metanol.

Os extratos foram submetidos à análise cromatográfica utilizando um cromatógrafo líquido HPLC/UV-Vis modelo Alliance 2695 da marca Waters equipado com detector UV/Vis modelo 2489 da marca Waters. Na Tabela 3, estão descritas as condições analíticas de operação do HPLC/UV-Vis. A concentração de imidacloprido nas amostras analisadas foi expressa  $\text{mg.L}^{-1}$  de água. Os limites de detecção e quantificação do método foram de 11 e 34 µg/ L, respectivamente.

Tabela 3 - Parâmetros Cromatográficos utilizados na determinação do imidacloprido.

Coluna	Waters Sunfire™ C18 5 µm - 4,6x150 mm
Volume de injeção	10 µL
Temperatura do forno	30 °C
Temperatura da amostra	OFF
Fase móvel	Isocrático - 50% Água e 50% Metanol
Fluxo	0,6 mL/min
Detector	UV
Comprimento de onda	270 nm

Fonte - Próprio Autor.

### 2.3.3.2 Esterco

Analizou-se resíduos do agrotóxico imidacloprido no esterco caprino, utilizando o método QuEChERS (ANASTASSIADES et al., 2003) na etapa de extração.

Após a retirada de todo o efluente dos reatores, o esterco caprino foi colocado em um vidro de relógio e permaneceu à temperatura ambiente durante 48 horas, para remover toda a umidade. A amostra foi homogeneizada e foram retiradas 5 sub amostras (quintuplicata), cada uma, pesando 5 g, que foram colocadas em tubos falcon de 50 mL, adicionou-se 1 mL de água miliQ, 20 mL de acetonitrila (MeCN) e procedeu agitação vigorosa por 1 min. Na etapa seguinte, adicionou-se 1 pacote de Q-sep: QuEChERS Extraction Salts, contendo 4 g MgSO<sub>4</sub>, 1 g NaCl, 1 g TSCD e 0,5 g DHS, da marca Restek, repetiu-se a agitação vigorosa por 1 min, em seguida realizou-se a centrifugação a 3500 rpm por 10 min. De cada sub amostra foi retirado 1 mL do extrato e submetido a uma etapa de clean up, utilizando 150 mg MgSO<sub>4</sub> e 25 mg PSA, para melhorar sua qualidade. Os extratos foram submetidos à análise cromatográfica utilizando um cromatógrafo líquido HPLC/UV-Vis modelo Alliance 2695 da marca Waters, empregando a mesma condição cromatográfica do efluente.

## 2.4 Mapas de Especialização

Os mapas de espacialização da temperatura no interior dos reatores foram gerados a partir do interpolador conhecido como Krigagem ordinária, através do software SURFER versão 8.0.

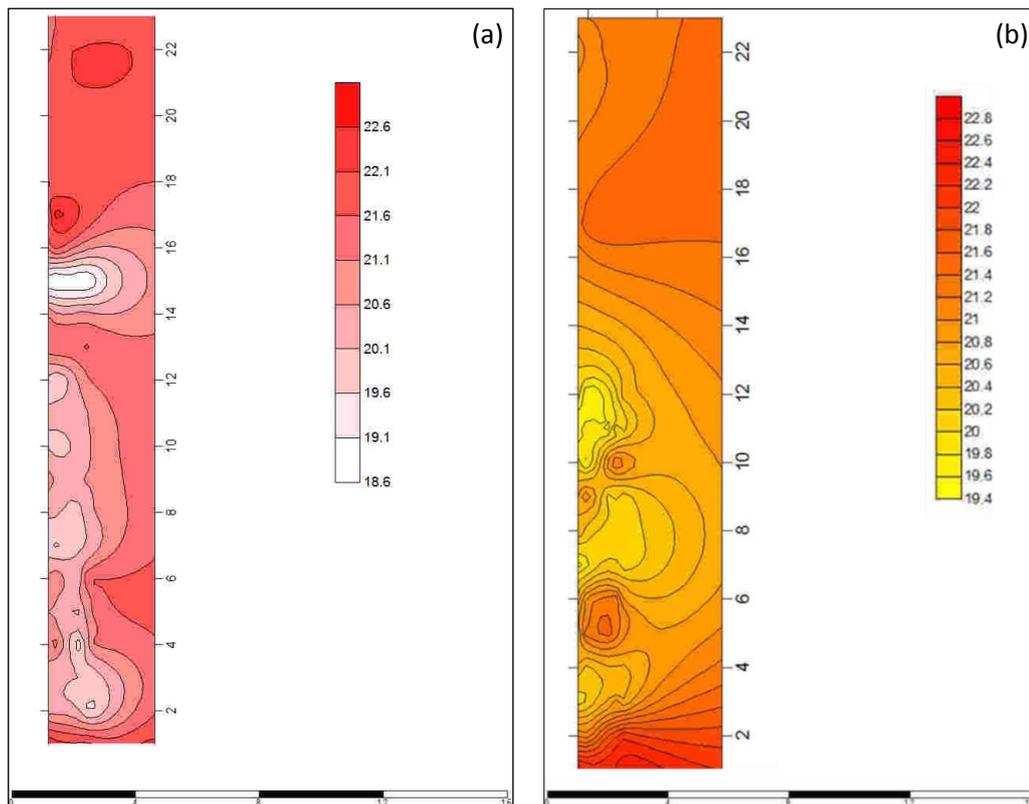
### 3 RESULTADOS E DISCUSSÕES

#### 3.1 Temperatura e Oxigênio dissolvido

A temperatura no interior dos reatores foi medida diariamente durante os 23 dias do experimento, os reatores com razão efluente/biomassa de 95/5 e 80/20 apresentaram temperatura média de 20,7 °C e 20,6 °C respectivamente.

A análise das Figuras 3(a) e 3(b) evidenciou que houve uma boa homogeneização da temperatura durante todo o experimento, garantindo praticamente a mesma condição de operação a todos os reatores.

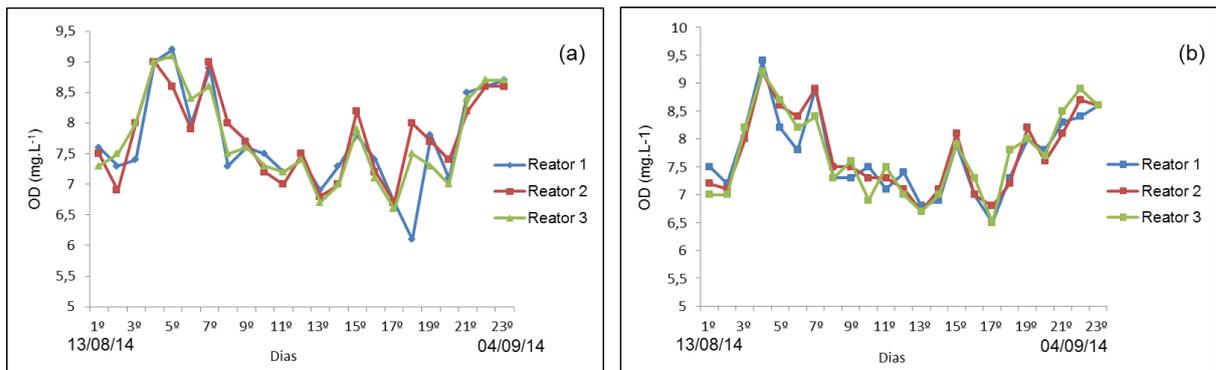
Figura 3 - Mapas de Krigagem para a variável temperatura (°C) no interior dos reatores com proporções 95/5 (a) e 80/20 (b) respectivamente.



Fonte - Próprio Autor.

Por ser um tratamento aeróbio, no qual o oxigênio é fundamental para a biodegradação, analisou-se o teor de oxigênio dissolvido (Figuras 4(a) e 4(b)) nos reatores. Esse parâmetro nas duas proporções do tratamento (95/5 e 80/20) apresentou uma média equivalente a  $7,8 \text{ mg.L}^{-1}$  durante os 23 dias do experimento.

Figura 4 - Variação dos teores de Oxigênio dissolvido ( $\text{mg.L}^{-1}$ ) nos três reatores com proporção efluente/biomassa 95/5 (a) e 80/20 (b) respectivamente.



Fonte - Próprio Autor.

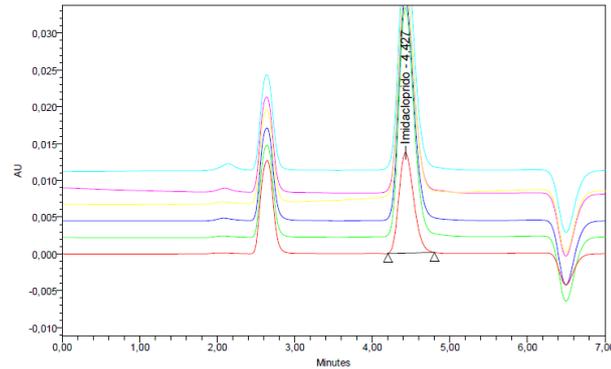
O teor de oxigênio dissolvido está de acordo com os trabalhos que utilizam sistemas de tratamento aerado. Jilanni et al. (2014) empregando lodos ativados para degradação do agrotóxico cipermetrina, obtiveram degradação de 88% em uma faixa de  $8\text{-}9 \text{ mg.L}^{-1}$  de oxigênio dissolvido.

Celis et al. (2008) também avaliaram a influência do teor de oxigênio dissolvido em reatores operando sob condições aeróbias e anaeróbias para biodegradação dos herbicidas isoproturon e 2,4-D. A biodegradação ocorreu mais rapidamente em condições aeróbicas com teor de oxigênio dissolvido superior a  $2,0 \text{ mg.L}^{-1}$ .

### 3.2 Biodegradação do Imidacloprido

Na Figura 5, encontra-se o cromatograma do efluente inicial contaminado com imidacloprido na concentração de  $2,5 \text{ mg.L}^{-1}$ . A metodologia para análise do imidacloprido permitiu atingir o LD de  $11 \mu\text{g/L}$  e foi obtida uma boa recuperação variando de 87 a 110%, também dentro faixa aceitável que segundo Ribani (2004) é de 70 a 120%.

Figura 5 - Cromatograma do efluente inicial contaminado com imidacloprido.

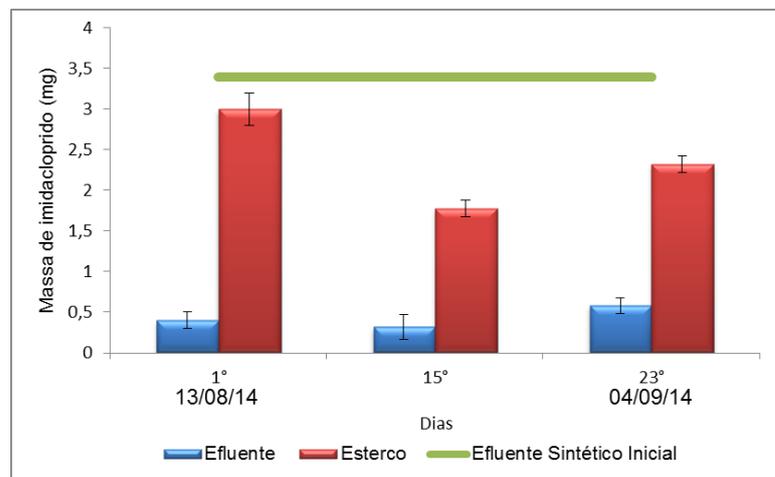


Fonte - Próprio Autor.

Os resultados das análises cromatográficas no efluente e no esterco demonstraram que houve biodegradação apenas na proporção 80/20. Verificou-se também que no tempo zero, aproximadamente 88% da massa inicial de imidacloprido ficou adsorvida ao esterco caprino. O que pode ter favorecido o processo de adsorção foi à constante de adsorção ao carbono orgânico -  $K_{oc}$  do inseticida, que é moderada, 225 mL/g.

Com quinze dias de experimento, na proporção 80/20 (Figura 6) verificou-se que em torno de 40% e 49,2% da massa de imidacloprido inicial tinham sido eliminadas do efluente e do esterco caprino respectivamente, baseado no fato de que esse composto não é volátil, pois possui uma baixa pressão de vapor ( $4,0 \times 10^{-7}$  mPa), a biodegradação foi o processo responsável por sua eliminação.

Figura 6 - Degradação do imidacloprido no efluente e esterco caprino, na proporção 80/20.



Fonte - Próprio Autor.

Nota-se que no vigésimo terceiro dia (Figura 6) houve um aumento na massa de imidacloprido nos reatores, este fato é justificado, pois como a região do Vale do São Francisco apresenta elevadas temperaturas e baixa umidade, a evaporação foi muito intensa durante o experimento, em 23 dias se perdeu aproximadamente 1 litro de água, o que fez com que o imidacloprido ficasse concentrado tanto no efluente quanto no esterco. Essa perda por evaporação não foi levada em consideração durante a execução do experimento.

Embora tenha sido realizado o planejamento fatorial 2x2, não foram realizados os cálculos estatísticos, por conta do problema da evaporação, que acabou mascarando os resultados com 23 dias de tratamento e impossibilitando o fechamento do balanço de massa nos reatores.

O acréscimo na massa de imidacloprido no 23º dia fez com que a taxa de biodegradação diminuísse para 25%, provavelmente devido ao aumento na concentração do inseticida ou acúmulo de produtos de degradação.

Esse resultado corrobora com os encontrados por Vischetti et al. (2008), onde os autores constataram que a taxa de degradação do inseticida clorpirifós diminuiu com o aumento da concentração deste agrotóxico no biomix. Para Tortella et al. (2012) o acúmulo de produtos de degradação no biomix pode inibir a atuação de bactérias degradadoras, devido a propriedades antimicrobiana dos metabólitos.

He et al. (2014) constataram percentuais de biodegradação do imidacloprido bem superiores aos encontrados nesta pesquisa, porém os autores utilizaram uma comunidade específica modificada do fungo *Trichoderma*, que foi capaz de degradar 95% da concentração inicial de imidacloprido. Vale ressaltar que o potencial do fungo *Trichoderma* para controle biológico e biorremediação foi anteriormente relatado por autores como Colla et al. (2008); Bourgina et al. (2011); Ding et al. (2011) e Machado et al. (2012).

Em contra partida, no reator 95/5, mesmo tendo sido constatado a presença de microrganismos, não apresentou biodegradação do imidacloprido. Dois fatores podem ter desfavorecido o processo de biodegradação no reator com proporção 95/5, o primeiro deles seria a baixa disponibilidade de nutrientes essenciais ao metabolismo microbiano, como N e COT e o segundo fator interveniente esta relacionado com a concentração do inseticida, que provavelmente tornou-se tóxica para a comunidade microbiana.

Estabelecendo uma correlação para os teores de N e COT (Tabela 4) nas duas proporções no mesmo tempo de detenção, com 15 dias, verificou-se que a disponibilidade desses nutrientes foi significativamente maior nos reatores com proporção 80/20. Provavelmente, essa oferta maior de nutrientes favoreceu o processo de biodegradação.

Tabela 4 – Teores de Nitrogênio e Carbono Orgânico nos reatores.

Razão efluente/biomassa	Reator	Parâmetros			
		Nitrogênio (mg/L)		COT (mg/L)	
		T0	T15	T0	T15
95/5	R1	31,5 ± 0,1	154,0 ± 1,5	1241 ± 12,0	1506 ± 17,8
	R2	28,0 ± 0,1	103,2 ± 1,2	1369 ± 10,5	1314 ± 15,0
	R3	28,0 ± 0,1	140,0 ± 1,3	1413 ± 11,1	1283 ± 16,7
80/20	R1	166,2 ± 0,5	813,2 ± 2,5	6209 ± 22,5	4510 ± 14,3
	R2	161,0 ± 0,3	824,3 ± 2,1	6132 ± 20,2	5026 ± 15,8
	R3	164,0 ± 0,2	775,3 ± 1,6	5955 ± 18,3	5358 ± 13,2

Fonte - Próprio Autor.

Omirou et al. (2012) afirmam que o aumento no teor de nutrientes no biomix, aumentou a atividade microbiana e a biodegradação de agrotóxicos, corroborando com os resultados encontrados nesta pesquisa.

Affam et al. (2014) também afirmam que os nutrientes orgânicos são considerados como fatores necessários ao crescimento dos microrganismos, pois atuam como precursores de material celular orgânico.

Uma redução na taxa de biodegradação associada a deficiência de nutrientes e/ou acúmulo de produtos de degradação dos agrotóxicos, também foram constatados por Affam et al. (2014) ao combinarem UV fenton com um tratamento biológico, para degradar efluentes contaminados com agrotóxicos.

Quando o efluente não dispõe de nutrientes, estes precisam ser adicionados para que ocorra o tratamento biológico (METCALF; EDDY, 2002). O nível de

degradação de compostos xenobióticos depende do tipo de substrato a ser degradado e da diversidade bacteriana (KONG et al., 2013).

Segundo Kumar e Philip (2006) a adição de uma fonte de carbono aumenta o potencial de biodegradação de compostos xenobióticos. Por conta disso, a biodegradação na proporção 95/5 não foi eficiente.

Castillo e Torstensson (2007) também encontraram uma correlação positiva entre o teor de nutrientes e a capacidade de degradação em biomix à base de turfa.

Com relação ao efeito tóxico que o composto original e seus metabólitos podem causar a comunidade microbiana, Stasinakis et al. (2009) constataram que elevadas concentrações de agrotóxicos no reator pode impedir o crescimento de microrganismos degradadores.

Em experimentos empregando tratamento biológico, o potencial de biodegradação de xenobióticos é afetado pela concentração inicial do respectivo agrotóxico (GRADY, 1985; KAWAI et al., 1998).

Um outro fator que pode ter desfavorecido o processo de biodegradação em ambas as proporções estudadas, foi a aclimação da comunidade microbiana. Nesse estudo não foi feita a aclimação da biomassa, pois o objetivo do trabalho foi propor uma alternativa de tratamento simples, condizente com a realidade dos produtores de uva do Vale do São Francisco.

Estudos anteriores constataram que a aclimação da biomassa, também conhecido como *start up*, potencializa a biodegradação de agrotóxicos (MANGAT; ELEFSINIOTIS, 1999; STASINAKIS et al., 2005).

Apesar de não ter realizado o *start up* da comunidade microbiana nesta pesquisa, constatou-se uma eficiência de degradação de 40% no efluente sintético e 59% no esterco caprino.

Segundo Celis et al. (2008) o *start up* da comunidade microbiana é fundamental para um melhor desempenho da biodegradação. Os trabalhos empregando biorreatores para degradar agrotóxicos, geralmente incorporam essa prática, para permitir o acúmulo de biomassa, minimizar quaisquer problemas devido a efeitos tóxicos e melhorar o funcionamento e a estabilidade dos biorreatores (TOMEI et al., 2004; HU et al., 2005; CELIS et al. 2008).

Mesmo não tendo realizado a fase de *start up* da comunidade microbiana no interior dos reatores, ficou claramente estabelecido que o processo de biodegradação foi mais acelerado no esterco caprino se comparado ao efluente sintético.

Uma abordagem semelhante foi seguida no estudo de Znad et al. (2006) onde os autores verificaram que a biodegradação do herbicida S-ethyl dipropylthiocarbamate (EPTC) foi de 35% nos biorreatores preenchidos com lodos ativados livremente suspenso, enquanto que nos preenchidos com uma camada imobilizada, operando sob as mesmas condições, a taxa de biodegradação foi de 72%.

Fazendo uma analogia aos tratamentos que utilizam Biobed's para degradar efluentes contaminados com agrotóxicos, autores como Fogg et al. (2003), Omirou et al. (2012) e Karanasios et al. (2013) também verificaram que a biodegradação dos agrotóxicos foi substancialmente mais rápida no biomix (uma mistura de solo agrícola, palha e turfa) do que na camada superficial do solo.

Estabelecendo uma correlação entre biodegradação e temperatura, verificou-se que no décimo quinto dia de tratamento na proporção 80/20 a temperatura média foi 20,6 °C (Figuras 3(a) e 3(b)) e constatou-se uma taxa de biodegradação do imidacloprido no efluente sintético, de aproximadamente 40%. Resultados semelhantes foram encontrados por Phugare et al. (2014), os autores relatam que, nessa mesma faixa de temperatura (20 °C) a biodegradação do imidacloprido foi de 30,4% em um período de sete dias.

Phugare et al. (2013) analisaram a degradação do imidacloprido por bactérias isoladas de *Klebsiella pneumoniae* strain BCH1 K e constataram que a temperatura influenciou significativamente a biodegradação. Os autores verificaram que as temperaturas de 10 e 20 °C, apresentaram simultaneamente os menores percentuais de degradação, cerca de 24,1 e 30,4, enquanto que em temperaturas elevadas de 40 e 50 °C, verificou-se 62,3% e 38,8% de degradação respectivamente.

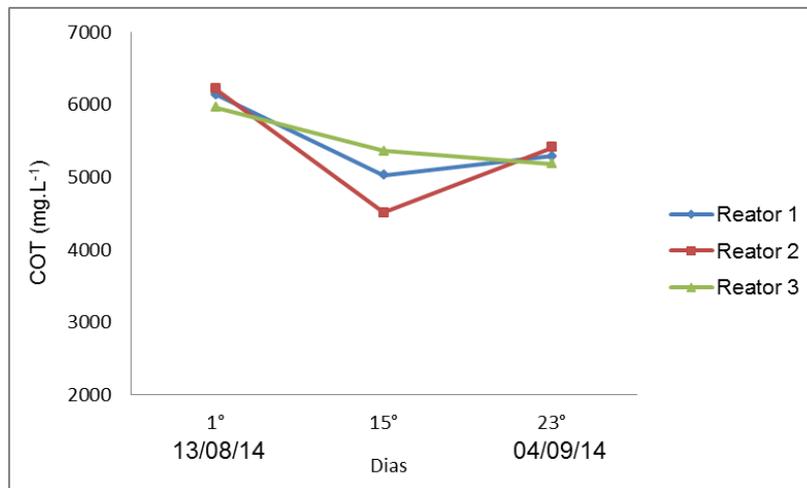
A otimização de parâmetros ambientais como temperatura é fundamental para o sucesso da biodegradação (PHUGARE et al., 2013). Estudos de otimização foram anteriormente desenvolvidos por Deshpande et al. (2004), para

biodegradação do inseticida organofosforado dimethoate empregando *Brevundimonas* sp. MCM B-427.

### 3.3 Carbono Orgânico Total – COT

Buscando avaliar a taxa de mineralização durante a biodegradação, realizou-se a análise de carbono orgânico – COT. Neste estudo, a análise do COT também foi usada como indicador para avaliar a degradação do imidacloprido. A Figura 7 mostra que durante quinze dias, período no qual ocorreu a maior taxa de biodegradação, houve redução do teor de COT nos reatores com proporção 80/20.

Figura 7 - Variação dos teores de COT (mg.L<sup>-1</sup>) nos três reatores com proporção efluente/ biomassa: 80/20.



Fonte - Próprio Autor.

A análise do COT também foi usada como indicador para avaliar a mineralização. Nos resultados apresentados na Tabela 5 pode-se observar para a proporção 80/20 uma taxa média de mineralização de 18,5% no período de quinze dias e 13,0% no período de 23 dias, já as taxas de degradação do imidacloprido foram de 38,2% e 24,9% respectivamente.

Tabela 5 – Comparação entre a degradação e a mineralização do COT nos diferentes tempos de detenção para a razão efluente/biomassa 80/20.

Tempo de detenção	T15	T23
Mineralização (%)	18,5	13
Degradação (%)	38,2	24,9

Fonte - Próprio Autor.

Patil et al. (2014) relataram resultados semelhantes, com mineralização de 15% do carbono orgânico, empregando ultra-som e aditivos químicos para degradar efluentes contaminados com imidacloprido.

Estes resultados evidenciam que o COT foi influenciado pela ação da biodegradação e que neste estudo a biodegradação foi mais rápida que a mineralização do COT, o que corrobora com a literatura, pois segundo Zambar et al. (2012), a taxa de mineralização é usualmente mais lenta que a taxa de degradação de agrotóxicos. Os mesmos autores realizaram um estudo da degradação fotocatalítica com  $\text{TiO}_2$ , onde a mineralização de COT do imidacloprido foi 19,1 % e a degradação 98,8%.

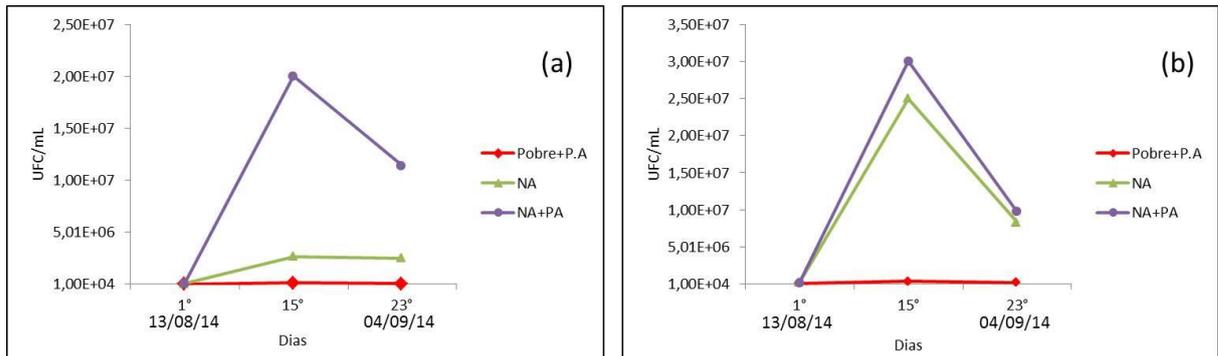
O estudo desenvolvido por Phillipidis (2009) também evidenciou que a mineralização foi mais lenta que a fotodegradação. No referido estudo, com 18 horas de oxidação fotocatalítica empregando  $\text{TiO}_2$ /eletrodo Ti para degradar imidacloprido, obtiveram mineralização do COT de 66% e degradação quase completa do agrotóxico.

### 3.4 Microbiológica

Com relação à análise microbiológica (Figuras 8(a) e 8(b)) nos 3 meios de cultura, foram encontrados entre  $10^4$  a  $10^7$  unidades formadoras de colônias – UFC nas amostras do efluente no decorrer de todo o tratamento, em ambas as proporções (95/5 e 80/20) estudadas.

Vale ressaltar que, nos reatores com proporção 80/20, a quantidade de UFC foi superior ( $10^3$ ) se comparado aos reatores com proporção 95/5, o que pode ter favorecido o processo de biodegradação.

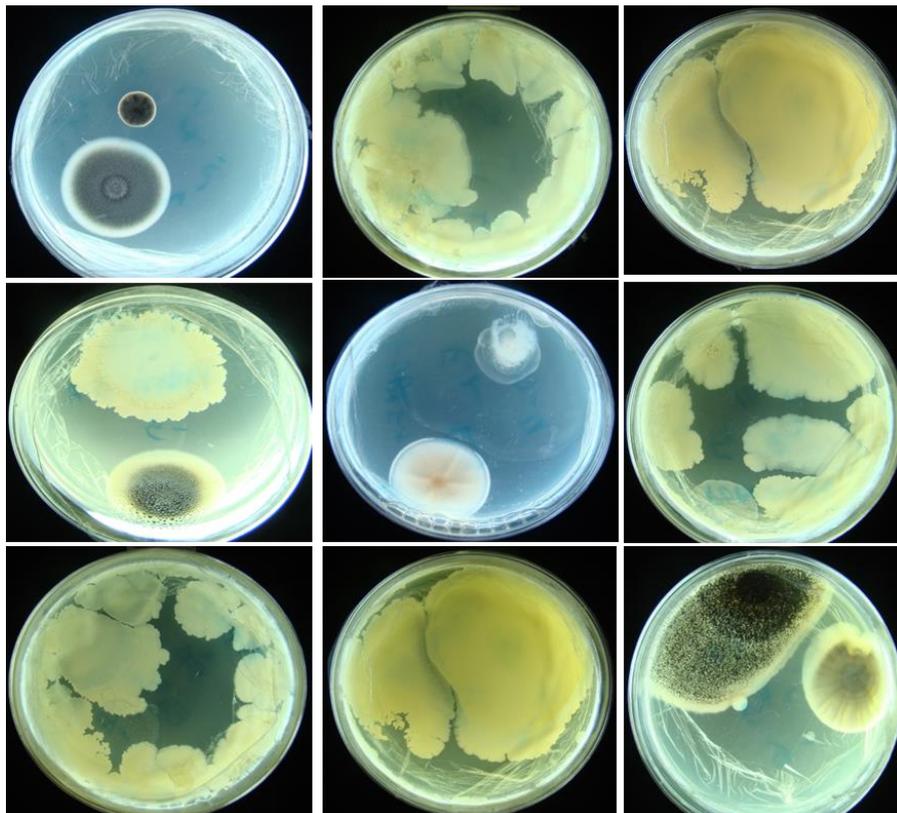
Figura 8 - Contagem de microrganismos (UFC/mL) nos três reatores com proporção efluente/ biomassa 95/5 (a) e 80/20 (b) respectivamente.



Fonte - Próprio Autor.

A análise microbiológica foi extremamente importante, pois o crescimento de microrganismos no meio Pobre+P.A. (pobre em nutrientes, com adição de 2 g/L de imidacloprido), comprovou que o esterco caprino possui microrganismos com potencial de biodegradação de agrotóxicos (Figura 9), haja vista que, neste meio de cultura a principal fonte de nutrientes é o próprio imidacloprido.

Figura 9 - Placas com meio de cultura Pobre+P.A.



Fonte: Próprio autor.

Anhalt et al. (2007) estudaram o potencial da bactéria de *Leifsonia* sp. para degradar o imidacloprido. Os autores relataram que essa bactéria foi capaz de degradar o imidacloprido (Ácido 6-cloronicotínico) dentro de três semanas.

De acordo com Silva et al. (2004), os resíduos de agrotóxicos podem ser mineralizados por uma comunidade microbiana e a taxa de crescimento microbiano está diretamente relacionada à concentração do agrotóxico e a diversidade do substrato. Segundo Johnsen et al. (2001), alguns microrganismos são capazes de utilizar o próprio agrotóxico como fonte de energia e nutrientes.

Resultados semelhantes onde os microrganismos utilizaram o próprio agrotóxico como única fonte de enxofre e carbono para o crescimento microbiano, foram também relatados por autores como Kwon et al. (2005); Hussain et al.(2007); Castillo et al. (2011).

Wolski et al. (2006) relataram que um isolado de *Pseudomonas* sp. foi capaz de utilizar o pentaclorofenol (PCP) como fonte de carbono e nitrogênio em meio mínimo para biodegradação desse composto.

Kasemodel et al. (2014) também constataram microrganismos capazes de utilizar os agrotóxicos dieldrin e PCP como fonte de carbono no processo de biodegradação.

#### **4 CONCLUSÕES**

O esterco caprino contém microrganismos com potencial de biodegradação e o tratamento na proporção 80/20 (efluente/biomassa) foi capaz de biodegradar aproximadamente 40% da concentração inicial de imidacloprido no efluente sintético, em um período de quinze dias. Esse percentual de biodegradação precisa ser melhorado, nesse sentido é fundamental estudar uma alternativa para aumentar a eficiência do tratamento, como por exemplo, iniciar com um tratamento químico.

Fazendo uma comparação nas taxas de biodegradação, constatou-se que o processo foi mais acelerado no esterco caprino se comprado ao efluente sintético, estando relacionado principalmente ao acúmulo de microrganismos na camada imobilizada de esterco, onde fica retida a maior quantidade de imidacloprido.

## REFERÊNCIAS

AFFAM, A.C.; CHAUDHURI, M.; KUTTY, S.R.M.; MUDA, K. Fenton and sequencing batch reactor treatment of chlorpyrifos, cypermethrin and chlorothalonil pesticide wastewater. **International Biodeterioration & Biodegradation**, v.93, p. 195-201, 2014.

Andrei, E. (Coord.). **Compêndio de defensivos agrícolas: guia prático de produtos fitossanitários para uso agrícola**. São Paulo: Andrei, 2013.

ANASTASSIADES, M.; LEHOTAY, S.J.; STAJNBAHER, D.; SCHENCK, F.J. Fast and easy multiresidue method employing acetonitrile extraction/partitioning and "dispersive solid-phase extraction" for the determination of pesticide residues in produce. **Journal of the Association of Official Analytical Chemists International**, v. 86, p. 412-431, 2003.

ANHALT, J.C.; MOORMAN, T.B.; KOSKINEN, W.C. Biodegradation of imidacloprid by an isolated soil microorganism. **Journal of Environmental Science and Health**, v. 42, n. 8, p. 509-514, 2007.

APHA – American Public Health Association. **Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater**, 22th edition. Washington: American water works association - water environment federation, 2012.

BHALERAO, T.S.; PURANIK, P.R. Biodegradation of organochlorine pesticide, endosulfan, by a fungal soil isolate, *Aspergillus niger*. **International Biodeterioration & Biodegradation**. v. 59, n. 4, p. 315-321, 2007.

BORTOLUZZI, E.C.; RHEINHEIMER, D.S.; GONÇALVES, C.S.; PELLEGRINI, J.B.R.; ZANELLA, R.; COPETTI, A.C.C. Contaminação de águas superficiais por agrotóxicos em função do uso do solo numa microbacia hidrográfica de Agudo, RS. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**. v.10, n.4, p.881-887, 2006.

BRASIL. ANVISA - Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Consulta Pública nº 01, de 29 de janeiro de 2007. Diário Oficial da União de 31/01/2007. Disponível em: <[http://www4.anvisa.gov.br/base/visadoc/CP/CP\[17410-1-0\].PDF](http://www4.anvisa.gov.br/base/visadoc/CP/CP[17410-1-0].PDF)>. Acesso em 05 de fev. de 2015.

CARDEAL, Z.L.; SOUZA, A.G.; AMORIM, L.C.A. Analytical methods for performing pesticide degradation studies in environmental sample. **In Pesticides – Formulations, Effects, Fate**. New York: In Tech Publishers, p. 595–618, 2011.

CASTILLO, J.M.; CASAS, J.; ROMERO, E. Isolation of an endosulfan-degrading bacterium from a coffee farm soil: Persistence and inhibitory effect on its biological functions. **Science of the Total Environment**, v. 412-413, p. 20–27, 2011.

CASTILLO, M.P.; TORSTENSSON, L. Effect of biobed composition, moisture and temperature on the degradation of pesticides. **Journal of Agricultural & Food Chemistry**. v.55, p. 5725-5733, 2007.

CELIS, E.; ELEFSINIOTIS, P.; SINGHAL, N. Biodegradation of agricultural herbicides in sequencing batch reactors under aerobic or anaerobic conditions. **Water Research**. v. 42, p. 3218 – 3224, 2008.

COLLA, L.M.; PRIMAZ, A.L.; LIMA, M.; BERTOLIN, T.E.; COSTA, J.A.V. Isolamento e seleção de fungos para birremediação a partir de solos contaminados com herbicidas triazínicos. **Revista Ciência e Agrotecnologia**, v. 32, n. 3, p. 809-813, 2008.

DESHPANDE, N.M.; SARNAIK, S.S.; PARANJPE, S.A.; KANEKAR, P.P. Optimization of dimethoate degradation by *Brevundimonas* sp. MCM B-427 using factorial design: studies on interactive effects of environmental factors. **World Journal of Microbiology & Biotechnology**. v. 20, p. 455–462, 2004.

DIEZ, M.C. Biological aspects involved in the degradation of organic pollutants. **Journal of soil science and plant nutrition**, v. 10, n. 3, p. 244-267, 2010.

FERNANDES NETO, M.L.; SARCINELLI, P.N. Agrotóxicos em água para consumo humano: uma abordagem de avaliação de risco e contribuição ao processo de atualização da legislação brasileira. **Revista Engenharia Sanitária Ambiental**. v.14, n.1, p. 69-78, 2009.

FOGG, P.; BOXALL, A.B.A.; WALKER, A.; JUKES, A.A. Pesticide degradation in a “biobed” composting substrate. **Pest Management Science**, v. 59, p. 527-537, 2003.

GOGATE, P.R.; PANDIT, A.B. A review of imperative technologies for wastewater treatment II: hybrid methods. **Advances in Environmental Research**, v. 8, p. 553–597, 2004.

GRADY Jr. C.P.L. Biodegradation: Its measurement and microbiological basis. **Biotechnology and Bioengineering**, v. 27, p. 660-674, 1985.

HAI, F.I.; MODIN, O.; YAMAMOTO, K.; FUKUSHI, K.; NAKAJIMA, F.; NGHIEM, L.D. Pesticide removal by a mixed culture of bacteria and white-rot fungi. **Journal of the Taiwan Institute of Chemical Engineers**, v. 43, p. 459-462, 2012.

HATTAB, M.T; GHALY, A.E. Disposal and Treatment Methods for Pesticide Containing Wastewaters: Critical Review and Comparative Analysis. **Journal of Environmental Protection**, v. 3, n. 5, p. 431-453, 2012.

HE, X.; WUBIE, A.J.; DIAO, Q.; LI, W.; XUE, F.; GUO, Z.; ZHOU, T.; XU, S. Biodegradation of neonicotinoid insecticide, imidacloprid by restriction enzyme mediated integration (REMI) generated *Trichoderma* mutants. **Chemosphere**, v. 112, p. 526-530, 2014.

HERRERO-HERNÁNDEZ, E. H.; ANDRADES, M.S.; MARTÍN, A. A.; JUAN, E. P.; CRUZ, M.S. R.; MARTÍN, M.J. S. Occurrence of pesticides and some of their degradation products in waters in a Spanish wine region. **Journal of Hydrology**, v. 486, p. 234–245, 2013.

HU, Z.; FERRAINA, R.A.; ERICSON, J.F.; MACKAY, A.A.; SMETS, B.F. Biomass characteristics in three sequencing batch reactors treating a wastewater containing synthetic organic chemicals. **Water Research**. v. 39, n. 4, p. 710–720, 2005.

HUSSAIN, S.; ARSHAD, M.; SALEEM, M.; KHALID, A. Biodegradation of  $\alpha$  and  $\beta$ -endosulfan by soil bacteria. **Biodegradation**. v. 18, n. 6, p. 731–740, 2007.

IUPAC - International Union of Pure and Applied Chemistry. Pesticide Properties DataBase (PPDB). Disponível em: <<http://sitem.herts.ac.uk/aeru/projects/ppdb/index>>. Acesso em: 18 de fevereiro de 2014.

JILANI, S.; KHAN, M. A. Treatment of toxic organics in industrial wastewater using activated sludge process. **International Journal of Environmental Research**, v. 8, n. 3, p. 719-726, 2014.

JOHNSEN, K.; JACOBSEN, C.S.; TORSVIK, V.; SORENSEN, J. Pesticide effects on bacterial diversity in agricultural soils – a review. **Biology and Fertility of Soils**. v. 33, p. 443–453, 2001.

KARANASIOS, E.C.; TSIROPOULOS, N.G.; KARPOUZAS, D.G. Quantitative and qualitative differences in the metabolism of pesticides in biobed substrates and soil. **Chemosphere**, v. 93, p. 20-28, 2013.

KASEMODEL, M.C.; PORTO, A.L.M.; NITSCHKE, M. Biodegradação bacteriana de compostos organoclorados. **Revista Química Nova**, v. XY, n. 00, p. 1-6, 2014.

KAWAIA, S.; KUROKAWA, Y.; HARINO, H.; FUKUSHIMA, M. Degradation of tributyltin by a bacterial strain isolated from polluted river water. **Environmental Pollution**. v. 102, p. 259 - 263, 1998.

KONG, L.; ZHU, S.; ZHU, L.; XIE, H.; SU, K.; YAN, T.; WANG, J.; WANG, J.; WANG, F.; SUN, F. Biodegradation of organochlorine pesticide endosulfan by bacterial strain *Alcaligenes faecalis* JBW4. **Journal of Environmental Sciences**, v. 25, n. 11, p. 2257-2264, 2013.

KUMAR, M.; PHILIP, L.; Bioremediation of endosulfan contaminated soil and water—Optimization of operating conditions in laboratory scale reactors. **Journal of Hazardous Materials**. v. 136, n. 2, p. 354–364, 2006.

KWON, G.S.; SOHN, H.Y.; SHIN, K.S.; KIM, E.; SEO, B.I. Biodegradation of the organochlorine insecticide, endosulfan, and the toxic metabolite, endosulfan sulfate, by *Klebsiella oxytoca* KE-8. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 67, n. 6, p. 845–850, 2005.

MACHADO, D.F.M.; PARZIANELLO, F.R.; SILVA, A.C.F.; ANTONIOLLI, Z.I. Trichoderma no Brasil: o fungo e o bioagente. **Revista de Ciências Agrárias**. v. 35, n. 26, p. 274-288, 2012.

MANGAT, S.S.; ELEFSINIOTIS, P. Biodegradation of the herbicide 2,4-dichlorophenoxyacetic acid (2,4-D) in sequencing batch reactors. **Water Research**, v. 33, n. 3, p. 861-867, 1999.

MARCHESAN, E.; SARTORI, G.M.S.; AVILA, L.A.; MACHADO, S.L.O.; ZANELLA, R.; PRIMEL, E.G.; MACEDO, V.R.M.; MARCHEZAN, M.G. Resíduos de agrotóxicos na água de rios da Depressão Central do Estado do Rio Grande do Sul, Brasil. **Revista Ciência Rural**, v.40, n.5, p.1053-1059, 2010.

METCALF AND EDDY. **Wastewater Engineering Treatment Disposal Reuse**. 4<sup>a</sup> ed. Washington: Tata McGraw-Hill, 2002.

MOREIRA, J.C.; PERES, F.; SIMÕES, A.C.; PIGNATI, W.A.; DORES, E.C.; VIEIRA, S.N.; STRÜSSMANN, C.; MOTT, T. Contaminação de águas superficiais e de chuva por agrotóxicos em uma região do estado do Mato Grosso. **Revista Ciência & Saúde Coletiva**, v. 17, n. 6, p. 1557-1568, 2012.

OMIROU, M.; DALIAS, P.; COSTA, C.; PAPASTEFANOU, C.; DADOS, A.; EHALIOTIS, C.; KARPOUZAS, D.G. Exploring the potential of biobeds for the depuration of pesticide-contaminated wastewaters from the citrus production chain: Laboratory, column and field studies. **Environmental Pollution**, v.166, p. 31-39, 2012.

PATIL, A.L.; PATIL, P.N.; GOGATE, P.R. Degradation of imidacloprid containing wastewaters using ultrasound based treatment strategies. **Ultrasonics Sonochemistry**, v. 21, p. 1350-4177, 2014.

PHILIPPIDIS, N.; SOTIROPOULOS, S.; EFSTATHIOU, A.; POULIOS, I. Photoelectrocatalytic degradation of the insecticide imidacloprid using TiO<sub>2</sub>/Ti electrodes. **Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry**. v. 204, p. 129–136, 2009.

PHUGARE, S.S.; KALYANI, D.C.; GAIKWAD, Y.B.; JADHAV, J.P. Microbial degradation of imidacloprid and toxicological analysis of its biodegradation metabolites in silkworm (*Bombyx mori*). **Chemical Engineering Journal**, v. 230, p. 27-35, 2013.

REILLY, T.J.; SMALLING, K.L.; ORLANDO, J.L.; KUIVILA, K.M. Occurrence of boscalid and other selected fungicides in surface water and groundwater in three targeted use areas in the United States. **Chemosphere**, v. 89, p. 228-234, 2012.

RIBANI, M. Validação em métodos cromatográficos e eletroforéticos. **Revista Química Nova**, v. 27, p. 771-780, 2004.

SILVA, C.M.M.S.; MELO, I.F.; FAY, E.F. Biotransformação de agrotóxicos e biorremediação. In: SILVA, C.M.M.S. e FAY, E.F. **Agrotóxicos e Ambiente**. Embrapa Informação Tecnológica: Brasília – DF, 2004.

SILVA, D.R.O.; AVILA, L.A.; AGOSTINETTO, D.; BUNDT, A.C.; PRIMEL, A.G.; CALDAS, S.S. Ocorrência de agrotóxicos em águas subterrâneas de áreas adjacentes a lavouras de arroz irrigado. **Revista Química Nova**, v. 34, n. 5, p. 748-752, 2011.

STASINAKISA, A. S.; KOTSIFA, S.; GATIDOU, G.; MAMAI, D. Diuron biodegradation in activated sludge batch reactors under aerobic and anoxic conditions. **Water Research**. v. 43, p. 1471–1479, 2009.

TOMEI, M.C.; ANNESINI, M.C.; BUSSOLETTI, S. 4-Nitrophenol biodegradation in a sequencing batch reactor: kinetic study and effect of filling time. **Water Research**. v. 38, n. 2, p. 375–384, 2004.

TORTELLA, G.R.; RUBILAR, O.; CASTILLO, M.D.P.; CEA, M.; MELLA-HERRERA, R.; DIEZ, M.C. Chlorpyrifos degradation in a biomixture of biobed at different maturity stages. **Chemosphere**. V. 88, p. 224–228, 2012.

TROLLI, Bruna Vallandro. Fotodegradação de Agrotóxicos Presentes em Efluente Líquido do Sistema FLOAT de Plantio de Mudas de Fumo. Santa Cruz do Sul: o autor, 2007. 101 f. Originalmente apresentada como dissertação de mestrado em Tecnologia Ambiental, Universidade de Santa Cruz do Sul, 2007.

VISCHETTI, C.; MONACI, E.; CARDINALI, A.; CASUCCI, C.; PERUCCI, P. The effect of initial concentration, co-application and repeated applications on pesticide degradation in a biobed mixture. **Chemosphere**. v. 72, p. 1739–1743, 2008.

WOLSKI, E.A.; MURIALDO, S.E.; GONZALEZ, J.F. Effect of pH and inoculum size on pentachlorophenol degradation by *Pseudomonas* sp. **Water SA**, v. 32, n. 1, p. 1-5, 2006.

WYSS, I.; BOUCHER, J.; MONTERO, A.; MARISON, I. Micro-encapsulated organic phase for enhanced bioremediation of hydrophobic organic pollutants. **Enzyme and Microbial Technology**. v. 40, n. 1, p. 25-31, 2006.

ZANBAR, R.; KOMEL, T.; FABJAN, J.; KRALJ, M.B.; TREBŠE, P. Photocatalytic degradation with immobilized TiO<sub>2</sub> of three selected neonicotinoid insecticides: Imidacloprid, thiamethoxam and clothianidin. **Chemosphere**, v. 89, p. 293-301, 2012.

ZNAD, H.; KASAHARA, N.; KAWASE, Y. Biological decomposition of herbicides (EPTC) by activated sludge in a slurry bioreactor. **Process Biochemistry**. v. 41, p. 1124–1128, 2006.

## 5 CONCLUSÃO GERAL

O sistema de tratamento biológico combinando aeração e esterco foi capaz de degradar completamente o fungicida ciproconazol após um período de trinta dias e, em menor proporção, o inseticida imidacloprido dentro de quinze dias. O efluente após o tratamento, atende às exigências nutricionais de um biofertilizante.

De acordo com os resultados analisados, foi possível afirmar que o esterco caprino contém microrganismos com potencial de biodegradação de agrotóxicos, embora, seja fundamental, analisar a eficiência desse tratamento com outros princípios ativos amplamente utilizados na viticultura, na Região do Vale do São Francisco.

Os testes de ecotoxicidade à *Artemia salina* indicaram que o tratamento biológico estudado, foi capaz de reduzir significativamente a toxicidade dos efluentes contaminados com agrotóxicos.

Os resultados obtidos com a realização desse estudo, são de grande valia tanto para o meio científico, quanto para os produtores de uva do Vale do São Francisco, pois além de comprovar que um tratamento biológico é capaz de degradar alguns agrotóxicos, possibilita o reuso do efluente.

Diante da crise hídrica enfrentada arduamente, a utilização de sistemas de tratamento de efluentes visando seu reuso na agricultura irrigada, que consome uma parcela significativa dos recursos hídricos, torna-se uma alternativa extremamente potencial de racionalização da água.

## 6 SUGESTÕES

Visando a continuidade e otimização da pesquisa, apresentam-se as seguintes sugestões:

- Investigar a biodegradação de outros princípios ativos utilizados na viticultura na Região do Vale do São Francisco, visando tratar esses efluentes para fins de reuso;
- Repetir o experimento de biodegradação em escala de bancada levando em consideração a questão da evaporação da água no interior dos reatores;
- Investigar alternativas para melhorar a eficiência do tratamento biológico, como por exemplo, combiná-lo com um tratamento químico;
- Isolar e identificar quais são os microrganismos presentes no esterco caprino com maior potencial de biodegradação, visando desenvolver experimentos utilizando apenas culturas puras desses microrganismos;
- Estudo estatístico e de otimização.

## REFERÊNCIAS

- ABRASCO – ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE SAÚDE COLETIVA. **Um alerta sobre os impactos dos agrotóxicos na saúde**. Parte 2 - Agrotóxicos, Saúde, Ambiente e Sustentabilidade (DOSSIÊ). AUGUSTO, L. G. S.; CARNEIRO, F. F.; PIGNATI, W.; RIGOTTO, R. M.; FRIEDRICH, K.; FARIA, N. M. X.; BÚRIGO, A. C.; FREITAS, V. M. T.; GUIDUCCI FILHO, E.. Rio de Janeiro: ABRASCO, 2012.
- AGRIANUAL, 2006. Anuário Brasileiro da Uva e Vinho. Santa Cruz do Sul. Editora Gazeta Santa Cruz, 128p., 2006.
- AGROFIT. **Relatório de Produtos Formulados**. Disponível em: <[http://agrofit.agricultura.gov.br/agrofit\\_cons/principal\\_agrofit\\_cons](http://agrofit.agricultura.gov.br/agrofit_cons/principal_agrofit_cons)>. Acesso em 06 set. 2013.
- ANDREI, E. (Coord.). **Compêndio de defensivos agrícolas: guia prático de produtos fitossanitários para uso agrícola**. 9. ed. rev. atual. São Paulo: Andrei, 2013.
- ANVISA - Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Consulta Pública nº 01, de 29 de janeiro de 2007**. Disponível em: <[http://www4.anvisa.gov.br/base/visadoc/CP/CP\[17410-1-0\].PDF](http://www4.anvisa.gov.br/base/visadoc/CP/CP[17410-1-0].PDF) >. Acesso em 05 de fev. de 2015.
- ANVISA - Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Consulta Pública nº 2, de 25 de janeiro de 2011**. Disponível em: <[http://portal.anvisa.gov.br/wps/wcm/connect/57c98b0047457f698b13df3fbc4c6735/cp\\_02\\_2011.pdf?MOD=AJPERES](http://portal.anvisa.gov.br/wps/wcm/connect/57c98b0047457f698b13df3fbc4c6735/cp_02_2011.pdf?MOD=AJPERES)>. Acesso em: 08 out.2014.
- ARAÚJO, G.J.F.; SILVA, M.M. Crescimento econômico no semiárido brasileiro: o caso do polo frutícola Petrolina/Juazeiro. **Revista Caminhos de Geografia**, v. 14, n. 46, p. 246-264, 2013.
- ARAÚJO, M.G.F.; CUNHA, W.R.; VENEZIANI, R.C.S. Estudo fitoquímico preliminar e bioensaio toxicológico frente a larvas de *Artemia salina* Leach. de extrato obtido de frutos de *Solanum lycocarpum* A. St.-Hill (*Solanaceae*). **Revista Ciências Farmacêuticas Básica Aplicada**, v. 31, n. 2, p. 205-209, 2010.
- ARIAS-ESTEVEZ, M.; LOPEZ-PERIAGO, E.; MARTINEZ-CARBALLO, M.; SIMAL-GANDARA, J.; MEJUTO, J.C.; GARCIA-RIO, L. The mobility and degradation of pesticides in soils and the pollution of groundwater resources. **Agric. Ecosyst. Environ**, v. 123, n. 4, p. 247-260, 2008.
- BAIRD, C. **Química Ambiental**. Editora Bookman, 2 ed., Porto Alegre, 2002.
- BARBOSA, Luiz Claudio de Almeida. **Os agrotóxicos, o homem e o meio ambiente**. Viçosa: UFV, p. 215, 2004.

BENTO, A.P. et al. Caracterização da microfauna em estação de tratamento de esgotos do tipo lodos ativados: um instrumento de avaliação e controle do processo. **Revista Engenharia Sanitária e Ambiental**, v. 10, n. 4, p. 329-338, 2005.

BRASIL. Decreto Federal n. 4.074/2002, de 04 de janeiro de 2002. Regulamenta a Lei no 7.802, de 11 de julho de 1989. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, Brasília, DF, 04 jan. 2002. Disponível em: <[http://www.planalto.gov.br/ccivil\\_03/decreto/2002/D4074.htm](http://www.planalto.gov.br/ccivil_03/decreto/2002/D4074.htm)>. Acesso em: 25 mai. 2014.

BRASIL. Lei nº 7.802, de 11 de julho de 1989. Dispõe sobre a pesquisa, a experimentação, a produção, a embalagem e rotulagem, o transporte, o armazenamento, a comercialização, a propaganda comercial, a utilização, a importação, a exportação, o destino final dos resíduos e embalagens. Disponível em: <[http://www.planalto.gov.br/ccivil\\_03/leis/l7802.htm](http://www.planalto.gov.br/ccivil_03/leis/l7802.htm)>. Acesso em: 22 dez. 2014.

BUSTOS-OBREGON, E.; VARGAS, A. Chronic toxicity bioassay with populations of the crustacean *Artemia salina* exposed to the organophosphate diazinon. **Biological Research**, v. 43, p. 357-362, 2010.

CARDEAL, Z.L.; SOUZA, A.G.; AMORIM, L.C.A. Analytical methods for performing pesticide degradation studies in environmental sample. **In Pesticides – Formulations, Effects, Fate**. New York: In Tech Publishers, p. 595–618, 2011.

CARTER, A. How pesticides get into water-and proposed reduction measures. **Pesticide Outlook**, v. 11, p.149-156, 2000.

CASTILLO, M.D.P.; TORTENSSON, L.; STENSTROM, J. Biobeds for environmental protection from pesticide use – a review. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, v. 56, p. 6206-6219, 2008.

CELIS, E.; ELEFSINIOTIS, P.; SINGHAL, N. Biodegradation of agricultural herbicides in sequencing batch reactors under aerobic or anaerobic conditions. **Water Research**. v. 42, p. 3218-3224, 2008.

CETESB, Companhia Ambiental do Estado de São Paulo. **Água do Mar: teste de toxicidade aguda com Artemia**. São Paulo, SP. L05.021, 1987.

CHENG, H.H. Pesticides in the soil environment. *In*: CHENG, H.H. **Pesticides in the soil environment: process, impacts and modeling**. Madison: Soil Science Society of America, p. 1-5, 1990.

CLAVER, A.; ORMAD, P.; RODRÍGUEZ, L.; OVELLEIRO, J.L. Study of the presence of pesticides in surface waters in the Ebro river basin (Spain). **Chemosphere**, v. 64, p. 1437–1443, 2006.

CONAMA - CONSELHO NACIONAL DO MEIO AMBIENTE. Resolução Nº 357. Dispõe sobre a classificação dos corpos de água e diretrizes ambientais para o seu

enquadramento, bem como estabelece as condições e padrões de lançamento de efluentes, e dá outras providências. Ministério do Meio Ambiente. 2005. 23 p.

DAVIES, P.S. **The biological basis of wastewater treatment**. Glasgow, UK:Strathkelvin Instrument Ltd, 2005.

DIEZ, M.C. Biological aspects involved in the degradation of organic pollutants. **Journal of soil science and plant nutrition**, v. 10, n. 3, p. 244-267, 2010.

Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária – EMBRAPA (2010). Disponível em: <[http://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/Uva/CultivodaVideira\\_2ed/Caracterizaca\\_social\\_da\\_%20videira.html](http://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/Uva/CultivodaVideira_2ed/Caracterizaca_social_da_%20videira.html)>. Acesso em 10 de fevereiro de 2014.

FERNANDES NETO, M.L.; SARCINELLI, P.N. Agrotóxicos em água para consumo humano: uma abordagem de avaliação de risco e contribuição ao processo de atualização da legislação brasileira. **Revista Engenharia Sanitária Ambiental**, v. 14, n. 1, p. 69-78, 2009.

FERRACINI, V.L., PESSOA, M.C.Y.P., SILVA, A.S., SPADOTTO, C.A. A análise de risco de contaminação das águas subterrâneas da região de Petrolina (PE) e Juazeiro (BA). **Revista de Ecotoxicologia e Meio Ambiente**, v. 11, p. 1-6, 2001.

FOGG, P., BOXALL, A.B.A., WALKER, A., JUKES, A.A. Pesticide degradation in a “biobed” composting substrate. **Pest Management Science**, v. 59, p. 527–537, 2003.

FORBES, V. E.; FORBES, T. L. **Ecotoxicology in theory and practice**. Londres: Chapman and Hall, 1994. 247 p. Disponível em: <<http://www.books.google.com.br>>. Acesso em: 23 jul. 2014.

FUNDACENTRO. **Prevenção de Acidentes no Trabalho com Agrotóxico: segurança e saúde no trabalho**, n. 3. São Paulo: Fundação Jorge Duprat Figueiredo de Segurança e Medicina do Trabalho, Ministério do Trabalho, 1998.

GEBLER, L.; PALHARES, J. C. P. **Gestão Ambiental na Agropecuária**. Brasília, DF. Embrapa Informação Tecnológica, 2007.

GEROLA, A.P.; ESTEVÃO, B.M.; CAETANO, W.; HIOKA, N.; TESSARO, A.L. Estudos quimiométricos da phea formulada em pluronics®: ação fotodinâmica sobre *Artemia salina*. **Revista Química Nova**, v. 36, n. 1, p. 97-101, 2013.

GEVAO B.; SEMPLE K.T.; JONES K.C. Bound pesticide residues in soils: a review. **Environment Pollution**, v. 108, p. 3–14, 2000.

GLEBER, L. Pontos de abastecimento de pulverizadores agrícolas: Uma revisão comparando modelos em uso. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v. 15, n. 11, p. 1180-1185, 2011.

GLEBER, L.; SAPADOTTO, C. Comportamento Ambiental dos herbicidas. In: VARGAS, L.; ROMAN, E.S. **Manual de manejo e controle das plantas daninhas**. Passo Fundo: Embrapa Trigo, 2008. P.39-71.

HATTAB, M.T.; GHALY, A.E. Disposal and Treatment Methods for Pesticide Containing Wastewaters: Critical Review and Comparative Analysis. **Journal of Environmental Protection**, v. 3, p. 431-453, 2012.

HERNÁNDEZ, E. H.; ANDRADES, M.S.; MARTÍN, A. A.; JUAN, E. P.; CRUZ, M.S. R.; MARTÍN, M.J. S. Occurrence of pesticides and some of their degradation products in waters in a Spanish wine region. **Journal of Hydrology**, v. 486, p. 234–245, 2013.

HERRERO-HERNÁNDEZ, E. H.; ANDRADES, M.S.; MARTÍN, A. A.; JUAN, E. P.; CRUZ, M.S. R.; MARTÍN, M.J. S. Occurrence of pesticides and some of their degradation products in waters in a Spanish wine region. **Journal of Hydrology**, v. 486, p. 234–245, 2013.

HILDEBRANDT, A., GUILLAMÓN, M., LACORTE, S., TAULER, R., BARCELO, D. Impact of pesticides used in agriculture and vineyards to surface and groundwater quality (north Spain). **Water Research**, v. 42, p. 3315–3326, 2008.

HINTERHOLZ, C.L.; ROSA, M.F.; LOBO, V.S.; BARICCATTI, R.A. Avaliação da aplicabilidade dos processos fotocatalítico e Fenton na degradação do herbicida bentazona. **Ambiência - Revista do Setor de Ciências Agrárias e Ambientais**, v.10, n. 1, p. 319 – 331, 2014.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. Banco de dados agregados. SIDRA. Produção agrícola municipal. [online]. Disponível em: <<http://www.ibge.gov.br/home/estatistica/economia/pam/2013/default.shtm>>. Acesso em: 07 fev. 2015.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. Malha Municipal Digital. [online] 2001. Acesso em: 10 de fevereiro de 2014.

INTERNATIONAL UNION OF PURE AND APPLIED CHEMISTRY. Pesticide Properties DataBase (PPDB). Disponível em: <<http://sitem.herts.ac.uk/aeru/projects/ppdb/index.htm>>. Acesso em: 18 de fevereiro de 2014.

JIN, Z.; PAN, Z.; YU, S.; LIN, C. Experimental study on pressurized activated sludge process for high concentration pesticide wastewater. **Journal Environmental Science**, v.22, p.1342-1347, 2010.

JOHNSEN, K.; JACOBSEN, C.S.; TORSVIK, V.; SORENSEN, J. Pesticide effects on bacterial diversity in agricultural soils – a review. **Biology and Fertility of Soils**. v. 33, p. 443-453, 2001.

KARANASIOS, E.C.; TSIROPOULOS, N.G.; KARPOUZAS, D.G. Quantitative and qualitative differences in the metabolism of pesticides in biobed substrates and soil. **Chemosphere**, v. 93, p. 20-28, 2013.

KATAYAMA, A.; MATSUMURA, F. Degradation of organochlorine pesticides particularly endosulfan, by *Trichoderma harzianus*. **Environmental and Toxicological Chemistry**, v. 12, p. 1059-105, 1993.

LAGALANTE, Anthony F. ; Greenbacker, P.W. Flow injection analysis of imidacloprid in natural waters and agricultural matrixes by photochemical dissociation, chemical reduction, and nitric oxide chemiluminescence detection. **Analytica Chimica Acta**, v. 590, p. 151–158, 2007.

Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Estatística. Disponível em: <[www.agricultura.gov.br](http://www.agricultura.gov.br)>. Acesso em: 20 de fevereiro de 2014.

MANGAT, S.S.; ELEFSINIOTIS, P. Biodegradation of the herbicide 2,4-dichlorophenoxyacetic acid (2,4-D) in sequencing batch reactors. **Water Research**, v. 33, n. 3, p. 861-867, 1999.

MARCHESAN, E.; SARTORI, G.M.S.; AVILA, L.A.; MACHADO, S.L.O.; ZANELLA, R.; PRIMEL, E.G.; MACEDO, V.R.M.; MARCHEZAN, M.G. Resíduos de agrotóxicos na água de rios da Depressão Central do Estado do Rio Grande do Sul, Brasil. **Revista Ciência Rural**, v.40, n.5, p.1053-1059, 2010.

MARINOZZI, M.; COPPOLA, L.; MONACI, E.; KARPOUZAS, D.G.; PAPADOPOULOU, E.; MENKISSOGLU-SPIROUDI, U.; VISCHETTI, C. The dissipation of three fungicides in a biobed organic substrate and their impact on the structure and activity of the microbial community. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 20, p. 2546–2555, 2013.

MAROCO, J. **Análise estatística – com utilização do SPSS**. Lisboa: Ed. Sílabo, 2003.

MARSS, T.C.; BALLANTYNE, B. **Pesticide Toxicology and International Regulation**. Chichester: Editora John Wiley, 2004.

MARTÍN, M.M.B.; PÉREZ, J.A.S.; LÓPEZ, J.L.C.; OLLER, I.; RODRÍGUEZ, S.M. Degradation of a four-pesticide mixture by combined photo-Fenton and biological oxidation. **Water Research**, v. 43, p. 653-660, 2009.

MARTÍN, M.M.B.; PÉREZ, J.A.S.; SÁNCHEZ, J.L.G.; OCA, L.M.; LÓPEZ, J.L.C.; OLLER, I., MALATO-RODRÍGUEZ, S. Degradation of alachlor and pyrimethanil by combined photo-Fenton and biological oxidation. **Journal of Hazardous Materials**, v. 155, p. 342–349, 2008.

Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento – MAPA (2012). Disponível em: <<http://www.agricultura.gov.br/vegetal/culturas/uva>>. Acesso em 10 de fevereiro de 2014.

MOREIRA, J.C.; PERES, F.; SIMÕES, A.C.; PIGNATI, W.A.; DORES, E.C.; VIEIRA, S.N.; STRÜSSMANN, C.; MOTT, T. Contaminação de águas superficiais e de chuva por agrotóxicos em uma região do estado do Mato Grosso. **Revista Ciência & Saúde Coletiva**, v. 17, n. 6, p. 1557-1568, 2012.

NAVARRO, A.; TAULER, R.; LACORTE, S.; BARCELÓ, D. Occurrence and transport of pesticides and alkylphenols in water samples along the Ebro river basin. **Journal of Hydrology**, v. 383, p. 18-29, 2010.

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

NUNES, B.S.; CARVALHO, F.D.; GUILHERMINO, L.M.; Van Stappen, G. Use of the genus *Artemia* in ecotoxicity testing. **Environmental Pollution**, v. 144, p. 453-462, 2006.

OLIVI, C.R.C.P.; BOTTA, C.M.R.; ESPINDOLA, E.L.G. A toxicidade em ambientes aquáticos: discussão e métodos de avaliação. **Revista Química Nova**, v. 31, n. 7, p. 1820-1830, 2008.

OMIROU, M.; DALIAS, P.; COSTA, C.; PAPASTEFANOU, C.; DADOS, A.; EHALIOTIS, C.; KARPOUZAS, D.G. Exploring the potential of biobeds for the depuration of pesticide-contaminated wastewaters from the citrus production chain: Laboratory, column and field studies. **Environmental Pollution**, v.166, p. 31-39, 2012.

Organização Pan-Americana da Saúde – Organização Mundial da Saúde (OPAS/OMS). Manual de Vigilância da Saúde de Populações Expostas a Agrotóxicos. Brasília, 1996. Disponível em: <[http://www.paho.org/bra/index.php?option=com\\_docman&task=doc\\_detail&segid=301&Itemid=614](http://www.paho.org/bra/index.php?option=com_docman&task=doc_detail&segid=301&Itemid=614)>. Acesso em 14 de Fevereiro de 2014.

ORMAD, P.; CORTES, S.; PUIG, A.; OVELLEIRO, J.L. Degradation of organochloride compounds by O<sub>3</sub> and O<sub>3</sub>/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. **Water Research**, v. 31, p. 2387-2391, 1997.

PATIL, A.L.; PATIL, P.N.; GOGATE, P.R. Degradation of imidacloprido containing wastewaters using ultrasound based treatment strategies. **Ultrasonics Sonochemistry**, v. 21, p. 1350-4177, 2014.

PELEGRINI, M.D.B.; GUIMARÃES, M.; VERÔNICA, J.P.; CASTRO, V.L.; JONSSON, C.M.; DAMIANE, C. Efeito de inseticidas usados na aquicultura sobre a atividade enzimática de organismos aquáticos bioindicadores. **5º Congresso Interinstitucional de Iniciação Científica – CIIC**, Campinas-SP, 2011.

PIMENTEL, M. F.; SILVA JÚNIOR, F. C. G.; SANTAELLA, S. T.; LOTUFO, L. V. C. O uso de *Artemia* sp. como organismo-teste para avaliação da toxicidade das águas

residuárias do beneficiamento da castanha de caju antes e após tratamento em reator biológico experimental. **Journal of the Brazilian Society of Ecotoxicology**, v. 6, n. 1, p. 15-22, 2011.

QUINTANA, J.; MARTÍ, I.; VENTURA, F. Monitoring of pesticides in drinking and related waters in NE Spain with a multiresidue SPE–GC–MS method including an estimation of the uncertainty of the analytical results. **Journal of Chromatograph**, v. 938, p. 3–13, 2001.

RAYMOND, J.; ROGERS, T.; SHONNARD, D.; KLINE, A. A review of structure-based biodegradation estimation methods. **Journal of Hazardous Materials**, v. 84, p. 189–215, 2001

RIBAS, P.P.; MATSUMURA, A.T.S. A Química dos Agrotóxicos: impactos sobre a saúde e o meio ambiente. **Revista Liberato**, v. 10, n. 14, p. 149-158, 2009.

ROFFIGNAC, de L.; CATTAN, P.; MAILLOUX, J.; HERZOG, D.; BELLEC, F.L. Efficiency of a bagasse substrate in a biological bed system for the degradation of glyphosate, malathion and lambda-cyhalotrin under tropical climate conditions. **Pest Management Science**, v.64, p.1303-1313, 2008.

SANT'ANNA JÚNIOR, G. L. Tratamento Biológico de Efluentes: fundamentos e aplicações. Rio de Janeiro: Interciência, 2010.

SAPADOTTO, C. A. Abordagem interdisciplinar na avaliação ambiental de agrotóxicos. **Revista NPI - Núcleo de Pesquisa Interdisciplinar FMR**. São Manuel, 9p, 2006.

SAPADOTTO, C.A; GOMES, M.A.F. Disponível em: <[http://www.agencia.cnptia.embrapa.br/gestor/agricultura\\_e\\_meio\\_ambiente/arvore/CONTAG01\\_40\\_210200792814.html](http://www.agencia.cnptia.embrapa.br/gestor/agricultura_e_meio_ambiente/arvore/CONTAG01_40_210200792814.html)>. Acesso em 26 de maio de 2014.

SAPADOTTO, C.A; GOMES, M.A.F; LUCHINI, L.C.; ANDRÉA, M. **Monitoramento do risco ambiental de agrotóxicos: princípios e recomendações**. Jaguariúna: Embrapa Meio Ambiente, 2004, 29 p. (Embrapa Meio Ambiente Documentos,42).

SEGURA, C.; ZAROR,C.; MANSILLA, H.D.; MONDACA, M.A. Imidacloprid oxidation by photo-Fenton reaction. **Journal of Hazardous Materials**, v. 150, p. 679-686, 2008.

SHAW, I.C.; CHADWICK, J. Principles of Environmental Toxicology. **Taylor & Francis: Philadelphia**, 1998.

SILVA, D.R.O.; AVILA, L.A.; AGOSTINETTO, D.; CAS BUNDT, A.; PRIMEL, E.G.; CALDAS, S.S. Ocorrência de agrotóxicos em águas subterrâneas de áreas adjacentes a lavouras de arroz irrigado. **Revista Química Nova**, v. 34, n. 5, 2011.

SILVA, M.M.S.; FAY, E.F. **Agrotóxicos e Ambiente**. Embrapa Informação Tecnológica. Brasília-DF, 480 p., 2004.

SNIEGOWSKI, K.; BERS, K.; VAN GOETEM, K.; RYCKEBOER, J.; JAEKEN, P.; SPANOGHE, P.; SPRINGAEL, D. Improvement of pesticide mineralization in on-farm biopurification system by bioaugmentation with pesticide-primed soil. **Fems Microbiology Ecology**, v.76, p.64-73, 2011.

SOARES, J.M.; LEÃO, P.C.Souza. **A Vitivinicultura no Semiárido Brasileiro**. Brasília, DF: Embrapa Informação Tecnológica; Petrolina-PE, 2009.

SOUZA, A.G.; CARDEALA, Z.L.; AUGUSTI, R. Electrospray Ionization Mass Spectrometry (ESI-MS) monitoring of the photolysis of diazinon in aqueous solution: Degradation route and toxicity of by-products against *Artemia salina*. **Journal of Environmental Science and Health, Part B: Pesticides, Food Contaminants, and Agricultural Wastes**, v. 48, n. 3, 2013.

SPLIID, N.H.; HELWEG, A.; HEINRICHSON, K. Lraching and degradation of 21 pesticides in a full-scale model biobed. **Chemosphere**, v. 65, p. 2223-2232, 2006.

STASINAKISA, A. S.; KOTSIFA, S.; GATIDOU, G.; MAMAIS, D. Diuron biodegradation in activated sludge batch reactors under aerobic and anoxic conditions. **Water Research**. v. 43, p. 1471–1479, 2009

TISLER, T.; JEMEC, A.; MOZETIC, B.; TREBSE, P. Hazard identification of imidacloprido to aquatic environment. **Chemosphere**, v. 76, n. 7, p. 907-914, 2009.

TANO, Z.J. Identity, Physical and Chemical Properties of Pesticides. *In*: STOYTICHEVA, M. (Ed.). **Pesticides in the Modern World – Trends in Pesticides Analysis**. InTech. p. 1-19, 2011.

TOMITA, R.; BEYRUTH, Z. Toxicologia de Agrotóxicos em Ambiente Aquático. **Biológico**, v.64, n.2, p.135-142, 2002.

TONIETTO, J. ; TEIXEIRA, A. H. C. Zonage climatique dès périodes viticoles de production dans l'année em zonage tropicale: application de la méthodologie du Système CCM Géoviticole. *In*: **Joint International Conference on Viticultural Zoning**, Cape Town, Siuth África, p.193-201, 2004.

TORSTENSSON, L. Experiences of biobeds in practical use in Sweden. **Pesticide Outlook** , v. 11, p. 206–212, 2000.

TORTELLA, G.R.; RUBILAR, O.; CASTILLO, M.d.P.; CEA, M.; MELLA-HERRERA, R.; DIEZ, M.C. Chlorpyrifos degradation in a biomixture of biobed at different maturity stages. **Chemosphere**, v. 88, p. 224–228, 2012.

TORTELLA, G.R.; RUBILAR, O.; STENSTRÖM, J.; CEA, M.; BRICEÑO, G.; QUIROZ, A.; DIEZ, M.C.; PARRA, L. Using volatile organic compounds to enhance atrazine biodegradation in a biobed system. **Biodegradation**, v. 24, p. 711–720, 2013.

VANHAECKE, P. et al.,. Proposal for a short term toxicity test with *Artemia nauplii*. **Ecotoxicology and environmental safety**, p. 382-387, 1981.

VEIGA, L. F. e VITAL, N., 2002, Teste de toxicidade aguda com o microcrustáceo *Artemia* sp. In: PIMENTEL, M. F.; SILVA JÚNIOR, F. C. G.; SANTAELLA, S. T.; LOTUFO, L. V. C. O uso de *Artemia* sp. como organismo-teste para avaliação da toxicidade das águas residuárias do beneficiamento da castanha de caju antes e após tratamento em reator biológico experimental. **Journal of the Brazilian Society of Ecotoxicology**, v. 6, n. 1, p. 15-22, 2011.

WENNEKER, M.; BELTMAN, W.H.; DE WERD, H.A.E.; VAN DE ZANDE, J.C. Identification and qualification of point sources of surface water contamination in fruit culture in the Netherlands. **Aspects of Applied Biology**, v.84, p.369-375, 2008.

ZNAD, H.; KASAHARA, N.; KAWASE, Y. Biological decomposition of herbicides (EPTC) by activated sludge in a slurry bioreactor. **Process Biochemistry**, v. 41, p. 1124–1128, 2006.