

AVALIAÇÃO DA BIODEGRADAÇÃO DO INSETICIDA IMIDACLOPRIDO EM REATOR DE BANCADA

Roberta Daniela da Silva Santos¹; Paula Tereza de Souza e Silva²; Carlos Tuao Gava²
Autor para correspondência: roberta_dani30@hotmail.com

¹Universidade Estadual Paulista -Júlio de Mesquita Filho; ²Embrapa Semiárido

RESUMO

Na Região do Vale do São Francisco, no estado de Pernambuco, o manejo da uva requer a utilização de 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. Para avaliar as melhores condições de biodegradação, utilizou-se um planejamento fatorial 2² verificando a influência da razão efluente/ biomassa e do tempo de detenção. As variáveis avaliadas foram nitrogênio total, oxigênio dissolvido, temperatura, carbono orgânico total, contagem de microrganismos e análise do imidacloprido no efluente e no esterco caprino. A partir dos resultados obtidos, verificou-se que os microrganismos presentes no esterco caprino foram promissores na biodegradação do imidacloprido, embora mais estudos precisam ser realizados para melhorar o percentual de degradação.

PALAVRAS-CHAVE: biodegradação; inseticida; efluentes

INTRODUÇÃO

A utilização de agrotóxicos no controle de pragas e doenças acarreta a geração de alguns passivos ambientais, os efluentes que geralmente são 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.

Existem na literatura métodos capazes de degradar os agrotóxicos presentes nos efluentes, destacando , ozonização, degradação fotocatalítica, processos oxidativos avançados, adsorção, fitorremediação e biodegradação (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.

OBJETIVOS DO TRABALHO

O objetivo desse trabalho é avaliar a capacidade de um sistema biológico combinando aeração e esterco caprino na degradação do inseticida imidacloprido.

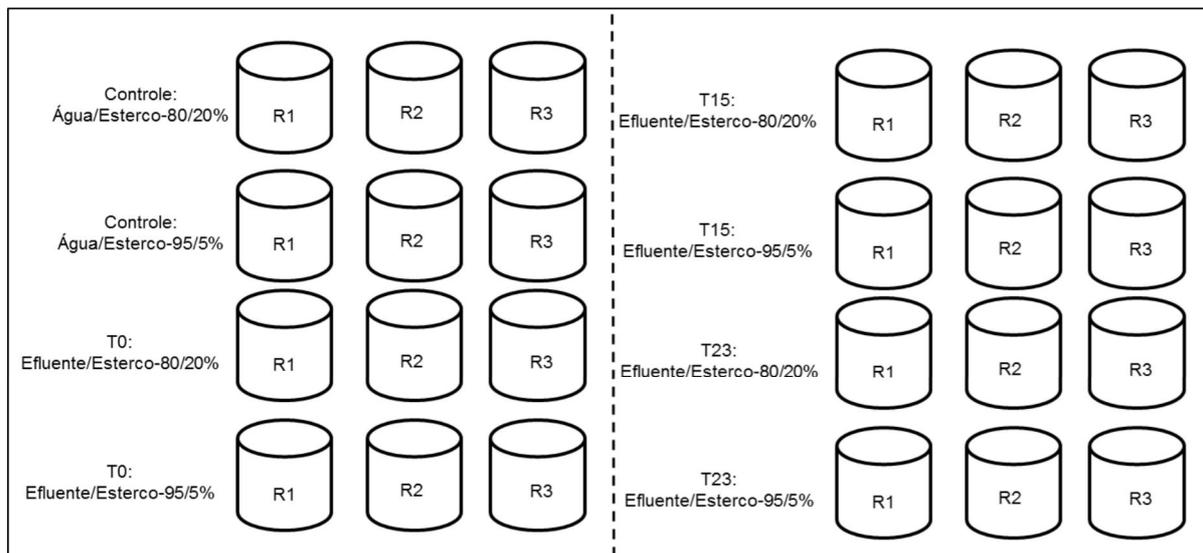
MATERIAIS E MÉTODOS

MONTAGEM DO EXPERIMENTO E COLETA DAS AMOSTRAS

O experimento foi conduzido em escala laboratorial utilizando efluente sintético com concentração equivalente a 2,5 mg.L⁻¹ de imidacloprido. O delineamento experimental utilizado foi um planejamento fatorial 2x2 com três repetições (Figura 1). As variáveis foram tempo de detenção (15 e 23 dias) e razão efluente/biomassa (95/5; 80/20), cada uma com dois níveis. O mesmo delineamento foi utilizado para as amostras controle, compostas de água e esterco. A escolha dos tempos de detenção e razões biomassa/efluente

foram baseadas nos sistemas de tratamento de efluentes adotados pelas Fazendas produtoras de uva, localizadas no Vale do São Francisco.

Figura 1: Esquema da disposição dos reatores no experimento.



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. 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. A oxigenação do sistema se deu através de bombas de aeração para aquário.

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.

ANÁLISES LABORATORIAIS

No efluente, as variáveis analisadas foram: 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. As análises microbiológicas no efluente foram realizadas apenas para quantificar os microrganismos.

Nas análises microbiológicas foram utilizados três meios de cultura, NA (ágar nutriente), visando quantificar os microrganismos totais; NA+P.A. (ágar nutriente com adição de 2,5 mg.L⁻¹ de imidacloprido) com o objetivo de quantificar os microrganismos tolerantes ao agrotóxico; e Pobre+P.A. (Yeast extract powder com ágar nutriente e 1% (2 g/L) do teor de imidacloprido existente na formulação do produto comercial), com o objetivo de estimular o crescimento de microrganismos degradadores, pois a única fonte de nutrientes nesse meio é o próprio agrotóxico.

Foram realizadas também análises de Resíduos de Agrotóxicos no efluente, através de 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. A concentração de imidacloprido nas amostras analisadas foi expressa mg.L⁻¹ de água. Os limites de detecção e quantificação do método foram de 11 e 34 µg/ L, respectivamente. Esse procedimento foi realizado no Laboratório de Bioquímica da Universidade Federal do Vale do São Francisco – UNIVASF.

No esterco caprino, também foi analisado resíduos de imidacloprido, utilizando o método QuEChERS na etapa de extração. A quantificação do imidacloprido foi realizada também pelo cromatógrafo líquido, empregando a mesma condição cromatográfica do efluente.

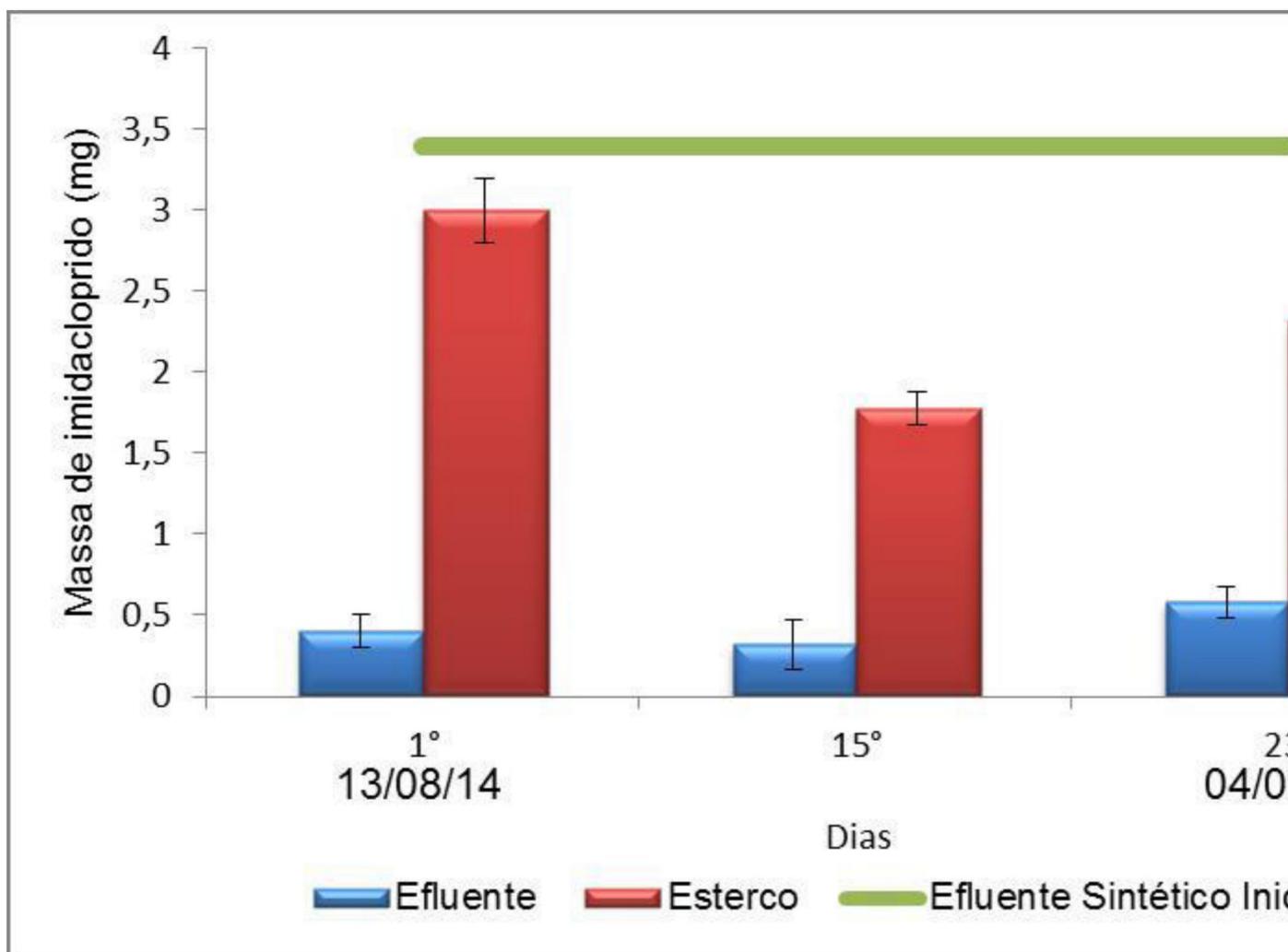
RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os reatores com razão efluente/biomassa de 95/5 e 80/20 apresentaram temperatura média de 20,7 °C e 20,6 °C respectivamente. Verificou-se que houve uma boa homogeneização da temperatura durante todo o experimento, garantindo praticamente a mesma condição de operação em todos os reatores.

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

Observando a figura 2, 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 2: Degradação do imidacloprido no efluente e esterco caprino, na proporção 80/20.



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.

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.

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 está 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 1) 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 1: 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

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 pelos mesmos autores, ao combinarem UV fenton com um tratamento biológico, para degradar efluentes contaminados com agrotóxicos. Por conta disso, a biodegradação na proporção 95/5 não foi eficiente.

Um outro fator que pode ter desfavorecido o processo de biodegradação em ambas as proporções estudadas, foi a aclimatação da comunidade microbiana. Nesse estudo não foi feita a aclimatação 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.

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. 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.

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 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.

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. Verificou-se 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.

A análise do COT também foi usada como indicador para avaliar a mineralização. Nos resultados apresentados na Tabela 2 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 40% e 24,9% respectivamente.

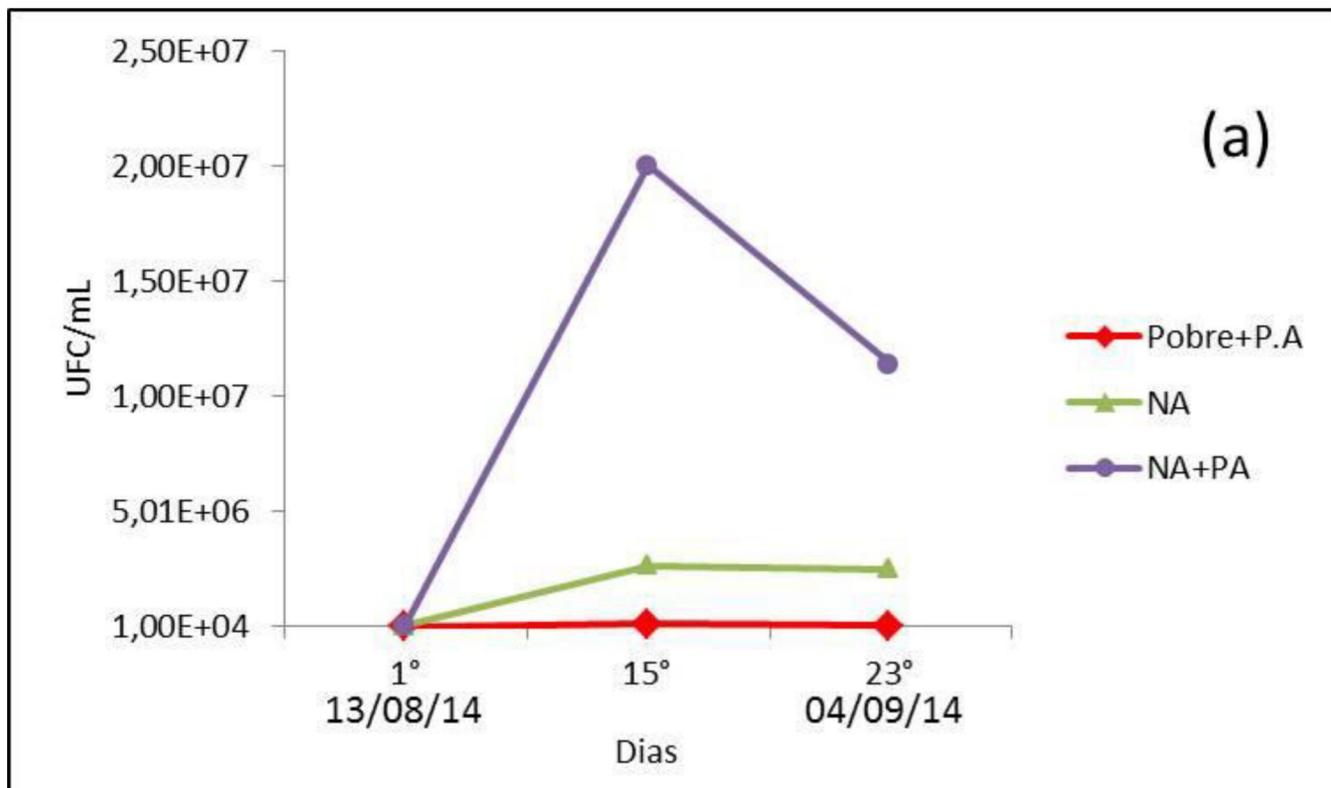
Tabela 2: Comparação entre a degradação e a mineralização do COT nos diferentes tempos de detenção para a razão efluente/biomassa 80/20.

Tempo de detenção	115	123
Mineralização (%)	18,5	13
Degradação (%)	40	24,9

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 TiO_2 , onde a mineralização de COT do imidacloprido foi 19,1 % e a degradação 98,8%.

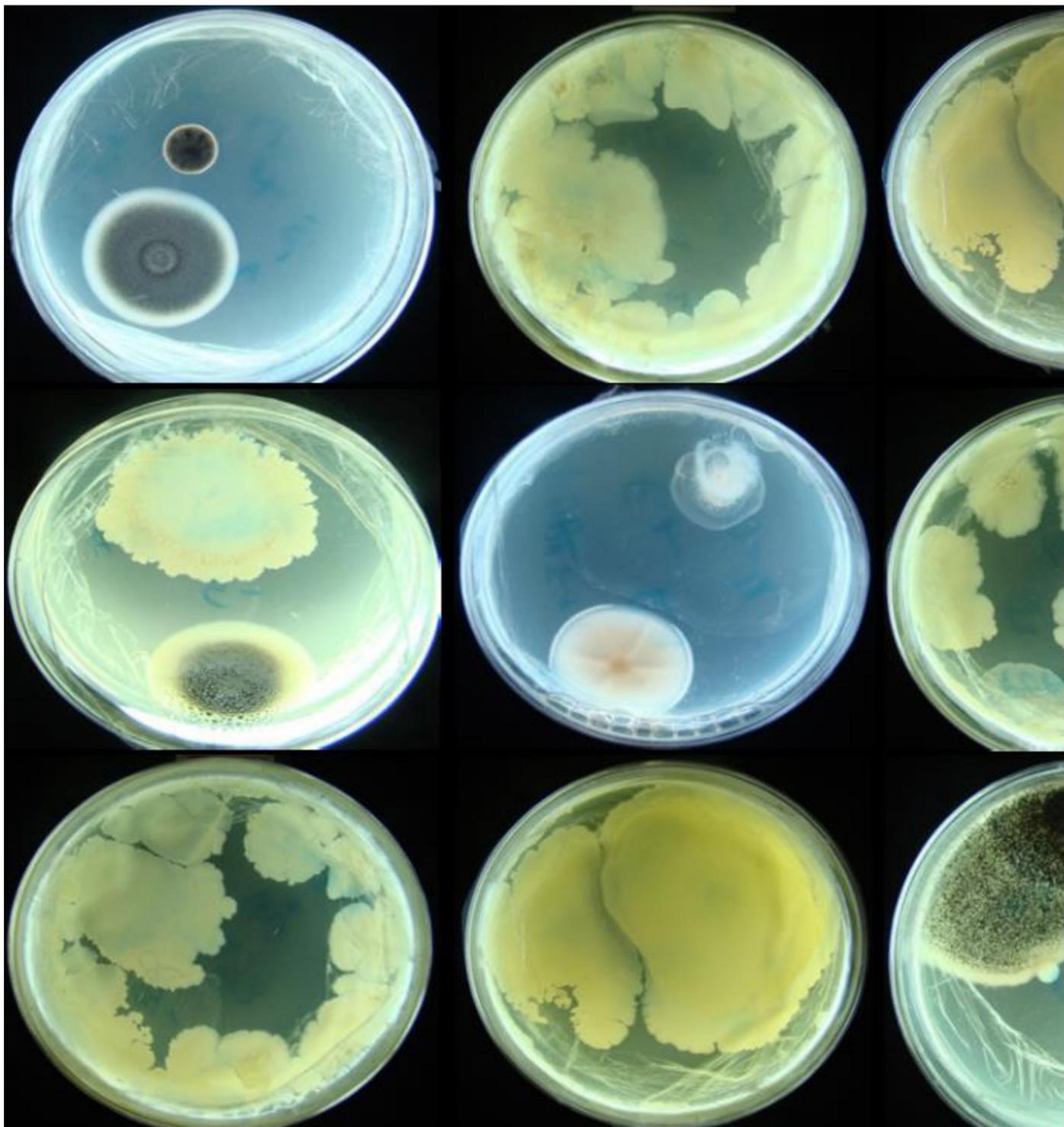
Com relação à análise microbiológica (Figuras 3a) e 3(b)) nos 3 meios de cultura, foram encontrados entre 104 a 107 unidades formadoras de colônias – UFC nas amostras do efluente no decorrer de todo o tratamento, em ambas as proporções (95/5 e 80/20) estudadas. Vale ressaltar que, nos reatores com proporção 80/20, a quantidade de UFC foi superior (103) se comparado aos reatores com proporção 95/5, o que pode ter favorecido o processo de biodegradação.

Figura 3: Contagem de microrganismos (UFC/mL) nos três reatores com proporção efluente/ biomassa 95/5 (a) e 80/20 (b) respectivamente.



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 4), haja vista que, neste meio de cultura a principal fonte de nutrientes é o próprio imidacloprido.

Figura 4- Placas com meio de cultura Pobre+P.A.



CONCLUSÃO

O esterco caprino contém microrganismos com potencial para biodegradação do imidacloprido no efluente. A melhor proporção estudada foi a 80/20 (efluente/biomassa), sendo capaz de biodegradar aproximadamente 40% da concentração inicial de imidacloprido no efluente sintético, em um período de quinze dias. Fazendo uma comparação nas taxas de biodegradação, constatou-se que o processo foi mais acelerado no esterco caprino com aproximadamente 50%. Isso pode estar relacionado principalmente ao acúmulo de microrganismos na camada imobilizada de esterco, onde fica retida a maior quantidade do agrotóxico.

APOIO

Facepe e CNPQ

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.

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.

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.

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.

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.

ZANBAR, R.; KOMEL, T.; FABJAN, J.; KRALJ, M.B.; TREBŠE, P. Photocatalytic degradation with immobilized TiO₂ of three selected neonicotinoid insecticides: Imidacloprid, thiamethoxam and clothianidin. *Chemosphere*, v. 89, p. 293-301, 2012.