

Estudo da biodegradação anaeróbia do herbicida 2,4-d sob diferentes condições de oxirredução

Study of anaerobic biodegradation of herbicide 2,4-d under different redox conditions

Estudio de la biodegradación anaerobia del herbicida 2,4-d bajo diferentes condiciones de oxireducción

Recebido: 04/04/2022 | Revisado: 15/04/2022 | Aceito: 21/04/2022 | Publicado: 25/04/2022

Gabriela Vaz Lobo Barros

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-0188-3178>
Universidade Federal de Alfenas, Brasil
gabrielvazlobo.unifal@gmail.com

Bruna Del Busso Zampieri

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9467-6823>
Universidade Federal de Alfenas, Brasil
brunadbzampieri@gmail.com

Tális Pereira Matias

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3565-0295>
Universidade Federal de Alfenas, Brasil
talismatias12@gmail.com

Gian Paulo Giovanni Freschi

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-8153-3543>
Universidade Federal de Alfenas, Brasil
gian.freschi@unifal-mg.edu.br

Adriano Barbosa

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-8525-447X>
Universidade Federal de Alfenas, Brasil
adriano.barbosa@unifal-mg.edu.br

Leonardo Henrique Soares Damasceno

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-4614-0570>
Universidade Federal de Alfenas, Brasil
leonardo@damasceno.eng.br

Gunther Brucha

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-0768-5773>
Universidade Federal de Alfenas, Brasil
gunther.brucha@unifal-mg.edu.br

Resumo

O Brasil é um dos países que mais utiliza herbicidas no mundo. Seu uso indiscriminado gera efeitos adversos ao meio ambiente e a saúde. O ácido 2,4-Diclorofenoxiacético está entre os 3 princípios ativos de pesticida mais utilizados no Brasil e é empregado em diversas lavouras. Pode ser encontrado em solos superficiais e profundos, sedimentos de rios, lagos, mares, águas fluviais e subterrâneas. O processo aeróbio de biodegradação deste herbicida é conhecido e bem relatado na literatura científica, entretanto pouco se sabe sobre o processo anaeróbio de degradação deste composto. Este trabalho se propõe a aprofundar os estudos relacionados a degradação anaeróbia do 2,4-D. Dessa maneira, o presente estudo teve como objetivo a analisar a degradação do 2,4-D em diferentes condições de oxirredução. Para isso, foram realizados ensaios de enriquecimento das comunidades microbianas anaeróbias metanogênicas, sulfatorredutoras e desnitrificantes, na presença de 2,4-D, utilizando como inóculo o sedimento coletado no reservatório de Itaipú. Os resultados dos ensaios apontam que houve variação de remoção do 2,4-D entre os diferentes meios de oxirredução, sendo 9,26%, para a condição desnitrificantes, 63,33%, para a condição sulfetogênica e 100% no meio para a condição metanogênica. Portanto, o meio metanogênico foi o que apresentou melhores condições para a remediação do herbicida 2,4-D nas condições estudadas. Os resultados apresentados podem contribuir para análise mais completa do comportamento deste composto no meio ambiente, ajudando no desenvolvimento de processos de biorremediação mais eficientes.

Palavras-chave: Sedimento; Pesticidas; Poluição.

Abstract

Brazil is one of the countries that most use herbicides in the world. Its indiscriminate use generates adverse effects on the environment and health. 2,4-Dichlorophenoxyacetic acid is among the 3 most used active ingredients in pesticide in Brazil and can be used in several crops. It can be found in surface and deep soils, sediments of rivers, lakes, seas

and groundwater. Bioremediation is a technique that can be efficient to reduce the presence of this residue in the soil by treating polluted areas. Many studies have shown the efficiency of anaerobic degradation of 2,4-D through the metabolism of methanogenic, sulfate-reducing or denitrifying microorganisms. Thus, the present study aimed to analyze the degradation of 2,4-D under different oxidation-reduction conditions. Anaerobic degradation tests were carried out under different conditions, methanogenic, denitrifying and sulfetogenic, using the sediment collected in the Itaipú reservoir. The test results show that there was a variation in the removal of 2,4-D between the different oxidation-reduction media, being 9.26% for the denitrifying condition, 63.33% for the sulfetogenic condition and 100% between the methanogenic conditions. Therefore, the methanogenic medium was the one that presented the best conditions for the remediation of the 2,4-D herbicide under the conditions studied. The results presented may contribute to a more complete analysis of the behavior of this compound in the environment, helping to develop more efficient bioremediation processes.

Keywords: Sediment; Pesticides; Pollution.

Resumen

Brasil es uno de los países que más utiliza herbicidas en el mundo. Su uso indiscriminado genera efectos adversos sobre el medio ambiente y la salud. El ácido 2,4-diclorofenoxiacético se encuentra entre los 3 principios activos plaguicidas más utilizados en Brasil y se utiliza en varios cultivos. Se puede encontrar en suelos superficiales y profundos, sedimentos de ríos, lagos, mares, ríos y aguas subterráneas. La biorremediación es una técnica que puede ser eficiente para reducir la presencia de este residuo en el suelo mediante el tratamiento de áreas contaminadas. Numerosos estudios han demostrado la eficacia de la degradación anaeróbica del 2,4-D a través del metabolismo de microorganismos metanogénicos, sulfatoredutores o desnitrificantes. Por lo tanto, el presente estudio tuvo como objetivo analizar la degradación de 2,4-D en diferentes condiciones de oxidación-reducción. Se realizaron pruebas de degradación anaeróbica en diferentes condiciones, metanogénica, desnitrificante y sulfetogénica, utilizando el sedimento recolectado en el embalse de Itaipú. Los resultados de las pruebas muestran que hubo una variación en la remoción de 2,4-D entre los diferentes medios de oxidación-reducción, siendo 9.26% para la condición desnitrificante, 63.33% para la condición sulfetogénica y 100% entre la condición metanogénica. Por tanto, el medio metanogénico presentó las mejores condiciones para la remediación del herbicida 2,4-D en las condiciones estudiadas. Los resultados presentados pueden contribuir a un análisis más completo del comportamiento de este compuesto en el medio ambiente, ayudando a desarrollar procesos de biorremediación más eficientes.

Palabras clave: Sedimentos; Pesticidas; Contaminación.

1. Introdução

Os agrotóxicos são uma eficiente tecnologia utilizada na agricultura, possuem a capacidade de potencializar a produção e manter a integridade das plantações, além de reduzir custos com mão de obra (Candioto et al., 2013). Dados recentes sobre o consumo e uso de agrotóxicos no Brasil evidenciam o amplo uso dessas substâncias na agricultura nacional (Neves et al., 2020).

Os herbicidas são compostos orgânicos, quimicamente sintetizados, utilizados para controle de plantas daninhas. Ambientalmente, são classificados como micropoluentes (Javaroni et al., 1998). Dentre eles, destaca o ácido 2,4-diclorofenoxiacético.

O ácido 2,4-diclorofenoxiacético (2,4-D) está entre os 3 princípios ativos de pesticida mais utilizados no Brasil e é empregado principalmente no controle de ervas daninhas de folhas largas em cultivo de cereais, cana-de-açúcar e pastagens (Barbosa et al., 2015).

Muitos resíduos de agrotóxicos, incluindo o 2,4-D, permanecem no ambiente após aplicação. São capazes de fixar-se no solo e, além disso, possuem a capacidade de percolação, podendo atingir o lençol freático e a hidrologia local. Desta forma, informações sobre a degradação do herbicida 2,4-D são importantes para lidar com a problemática que envolve este composto (Vieira et al., 2017).

A biorremediação é uma técnica que pode ser eficiente para diminuir a presença desse resíduo no solo tratando áreas poluídas (Azubuike et al., 2016). A degradação do 2,4-D no ambiente pode ser aeróbia ou anaeróbia. Muitos estudos têm mostrado a eficiência da degradação anaeróbia do 2,4-D através do metabolismo de microrganismos metanogénicos, redutores de sulfato ou ferro (Yang et al. 2017; Roblez-Gonzalez et al., 2006; Wu et al., 2009; Brucha et al., 2021).

Como este herbicida possui alta capacidade de percolação, este chega com facilidade a ambientes anóxicos no solo,

onde há uma carência de oxigênio disponível. Nestes ambientes, há uma predominância de microrganismos anaeróbios. Visando trabalhar com condições mais próximas da realidade, o estudo foi feito com microrganismos anaeróbios.

A degradação microbiana é considerada a principal via na decomposição de 2,4-D no solo. O mecanismo mais importante da degradação bacteriana envolve a remoção da cadeia lateral de ácido acético para produzir 2,4-diclorofenol (DCP). Posteriormente, ocorre a clivagem do anel aromático, produzindo ácidos alifáticos, tais como succinato (Ghassemi et al., 1981).

A biodegradação do 2,4-D é conduzida tanto por fatores bióticos quanto por fatores abióticos. A tipologia dos microrganismos envolvidos, as condições ambientais (temperatura e pH) e os constituintes do ambiente, são elementos que afetam o processo de biodegradação (Guedes, 2010). Na remoção de matéria orgânica, processos biológicos são os mais vantajosos economicamente. O 2,4-D é passível de degradação tanto em meio aeróbio, quanto anaeróbio. Contudo, devido ao seu comportamento ambiental e por se mostrar mais crítico em meio anóxico, devido à alta persistência nesta condição, é de maior relevância o estudo das possíveis rotas de degradação sob essa circunstância, por efeito do potencial risco ambiental. Assim, o desenvolvimento de tecnologias no âmbito da biorremediação que sejam eficientes em remediar ambientes anóxicos contaminados pelo 2,4-D é de extrema relevância para preservação ambiental e, por conseguinte, a manutenção da saúde humana (Brucha et al., 2021).

A busca de soluções para remoção dos micropoluentes é um desafio atual e para futuras gerações (Batalha, 2009). Neste contexto, o presente trabalho teve como objetivo analisar o comportamento do herbicida 2,4-D, diante da biodegradação em diferentes condições de oxirredução.

2. Metodologia

2.1 Área de Estudo

O presente estudo foi realizado na Bacia hidrográfica do Paraná 3 (BP3) por ser uma região de extenso plantio de milho e soja, além de ser uma área onde usa-se uma intensa quantidade de pesticidas, dentre eles o 2,4-D. Neste contexto, assumiu-se que a região apresenta características ideais para compor a área de estudo. A BP3 está localizada na mesorregião Oeste do Paraná, entre as latitudes 24° 01' S e 25° 35' S e as longitudes 53° 26' O e 54° 37' O, com área de aproximadamente 8000 km² englobando 28 municípios, delimitada ao norte pela bacia do rio Piquiri e ao sul pela bacia do rio Iguaçú (PBHP3,2014).

Figura 1. Pontos de Coleta, na Bacia Hidrográfica do Paraná 3.



Fonte: Autores.

2.2 Coleta de amostras

As amostras de sedimento que foram utilizadas como inóculo, nos ensaios de enriquecimento da comunidade microbiana anaeróbia metanogênicas e nos ensaios de degradação anaeróbia do 2,4-D, foram coletadas no dia 18 de Novembro de 2020, em três diferentes pontos no reservatório de Itaipú, na sub Bacia Hidrográfica Sanga Memória, com duas subcamadas cada, sendo, P1 (25°12'08.5''S e 54°18'21.1''O), coletados em 2 subcamadas de 16 cm e 6 cm, P2 (25°13'33.1''S e 54°14'43.5''O), coletados em 2 subcamadas de 18 cm e 10 cm, e por fim, P3 (25°13'49.2''S e 54°13'42.0''O), coletados em 2 subcamadas de 30 cm e 20 cm. A metodologia da coleta seguiu o mesmo padrão da pesquisa publicada por Matias et al. (2019), que estudou a biodegradação anaeróbia da atrazina em diferentes condições de oxirredução.

2.3 Ensaios de enriquecimento e degradação do 2,4-D em diferentes condições anaeróbias

Os ensaios de enriquecimento das comunidades microbianas anaeróbias metanogênicas, sulfatorredutoras e desnitrificantes, na presença do 2,4-D (1 mg/L) foram realizados utilizando meios de cultivo anaeróbios próprios para cada comunidade microbiana desejada (Deursen, 2016), acrescidos de fonte de carbono lactato e acetato (10 mM cada). Amostras dos enriquecimentos do microorganismos desnitrificantes, sulfetogênicos e metanogênicos foram utilizadas como inóculo para ensaios de degradação anaeróbia nas distintas condições de oxirredução, utilizando o meio específico para cada condição descrito acima, fontes de carbono acetato e lactato (10 mM cada) e 2,4-D (1 mg/L). Os ensaios foram realizados em frasco reatores de 300 ml, sob anaerobiose, assepsia e fluxo de Nitrogênio e mantidos a 30 °C e agitação em 130 rpm. Para cada uma das 3 condições de oxirredução (desnitrificantes, sulfetogênicos e metanogênicos) foram feitos 5 reatores: 3 bióticos, contendo o 2,4-D (1 mg/L) e lactato e acetato (10 mM cada) como fonte de carbono; 1 abiótico, com adição de azida 1M (NaN₃) e cloreto de mercúrio 1M (HgCl₂) para inativação microbiana, e 1 controle sem adição de 2,4-D.

As atividades metabólicas dos reatores foram monitoradas semanalmente. Para os reatores desnitrificantes, foi monitorado o consumo de nitrato segundo a metodologia de Cataldo, (1975). Os reatores sulfetogênicos foram monitorados através da detecção de sulfato. O monitoramento dos reatores metanogênicos foi dado a partir da quantificação da produção de metano, utilizando o equipamento Cromatógrafo Gasoso Shimadzu GC-2014 com Detector de Condutividade Técnica (TCD) e coluna HP-PLOT/Q (30 m x 0,53 mm x 40 µm de espessura de filme). O consumo da matéria orgânica foi monitorado através da determinação de DQO, descritas no Standard Methods 5520.

A quantificação do 2,4D e dos intermediários metabólitos 2,4-DCP, 2-CP, 4-CP e fenol foi realizada através do HPLC UV (Agilent 1220 Infinity LC) e detecção a 230 nm. Foi utilizada uma coluna cromatográfica Zorbax Eclipse Plus C18 (250×4.6 mm, 5 µm). As separações cromatográficas foram realizadas em temperatura de 30 °C. A fase móvel foi constituída por A (0,01% de ácido fórmico em água, v/v) e B (0,1% ácido fórmico em acetonitrila, v/v) com fluxo de 0,8 ml/min em uma eluição gradiente, com as seguintes etapas: (1) 5 min com 75% solvente A (0,1% ácido fórmico em água) e 25% solvente B (0,1% ácido fórmico em acetonitrila); (2) 8 min com 40% fase móvel A e 60% fase móvel B; (3) 2 min com 75% A e 25% B.

As análises e dados foram processados pelo software EZChrom Agilent OpenLAB Chromatography Data System Software (CDS). O limite de quantificação foi 0,1 mg/l para todos os compostos e o limite de detecção foi de 0,05mg/l para o 2,4 D e seus intermediários. Quanto à DQO, sempre que a matéria orgânica era consumida, acrescentava a mesma porção inicial de fonte de carbono para cada meio. Cada vez que era adicionado fonte de carbono ao meio, nomeava-se uma nova etapa. A primeira etapa perdurou por 19 dias, a segunda por 49 e a última por 90 dias de operação. No meio desnitrificante, sempre que a concentração de nitrato do meio estava baixa, era acrescentado nitrato ao meio em uma concentração igual a inicial, seguindo sempre o protocolo de Dursen, (2016). A primeira etapa foi durante 17 dias de operação, a segunda até o dia 29 e a terceira até o final dos 90 dias. Já no meio sulfetogênico, sempre que a concentração de sulfato do meio estava baixa, era acrescentado sulfato ao meio, em uma concentração igual a inicial.

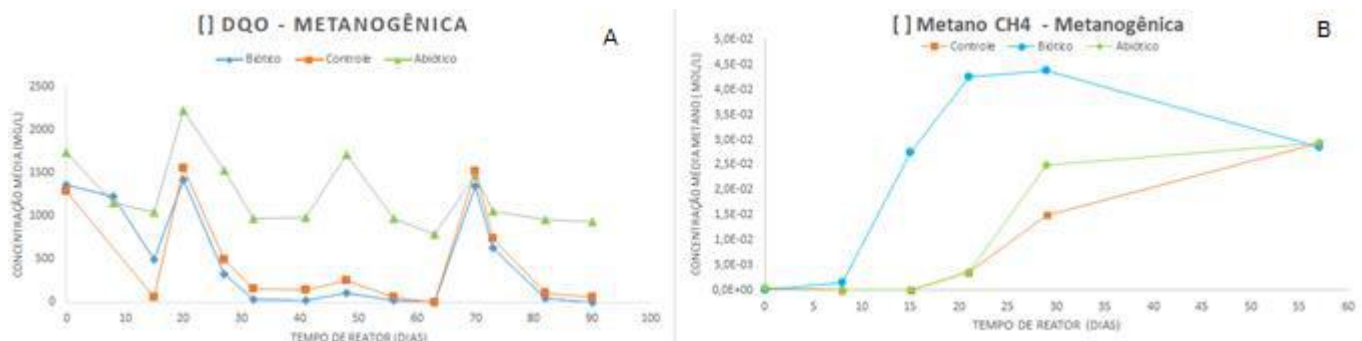
3. Resultados e Discussão

3.1 Ensaio metanogênicos

A Figura 2 apresenta a concentração de DQO e a produção de metano, no ensaio de enriquecimento microbiano metanogênico. O monitoramento dos reatores metanogênicos apontaram para uma ativação da população metanogênica, na presença de 2,4-D. Os dados de quantificação da matéria orgânica (DQO) demonstraram um consumo de 90 % com produção de 0,0437 mol/L de metano, no 30º dia de ensaio. Os reatores controles (sem 2,4-D) demonstraram uma maior velocidade de degradação da matéria orgânica, conforme pode ser visualizado na figura 2. Esses resultados apontam para uma maior lag nos ensaios contendo 2,4-D, para uma adaptação da população microbiana a presença do composto.

A produção de metano foi observada em todos os reatores, assim confirma-se a ativação dos microorganismos metanogênicos por meio da metodologia empregada.

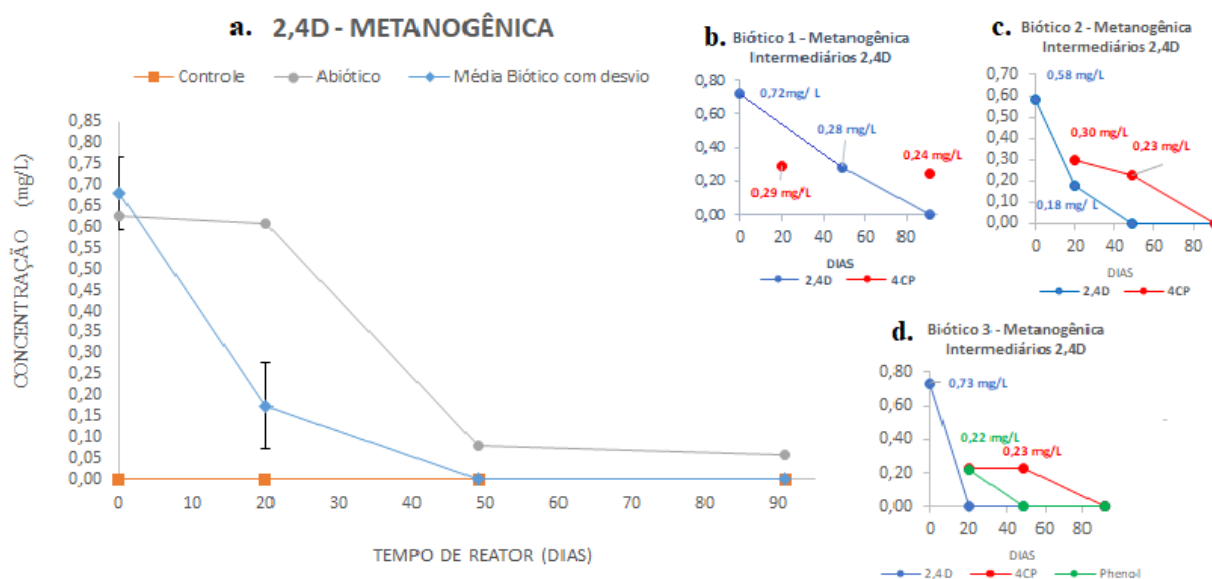
Figura 2. Gráfico A representa a Demanda Química de Oxigênio, o Gráfico B representa a concentração de metano, na condição metanogênica.



Fonte: Autores.

De acordo com os resultados, pode-se observar que houve consumo de matéria orgânica no meio e em ambas as etapas a DQO foi mais rápida no meio biótico e no controle, em relação ao meio abiótico. Os resultados do ensaio abiótico indicam que as concentrações de azida sódica e cloreto de mercúrio adicionados para inativação microbiana não foram suficientes, inviabilizando o controle abiótico.

Figura 3. Consumo do 2,4-D, nos reatores anaeróbios, sob condições metanogênicas (a) e Concentrações dos intermediários nos meios bióticos (b), (c), e (d).



Fonte: Autores.

Nos ensaios de degradação do 2,4-D, os frascos-reatores sob condições metanogênicas apresentaram degradação acentuada do composto em estudo, 2,4-D. No dia 20 do ensaio, os reatores bióticos apresentavam 75% de degradação, enquanto que nos frascos abióticos não foi detectada degradação do composto. Nessa fase foi detectado 0,27 (+/- 0,03) mg/L do metabólito 4-CP nos frascos bióticos. O intermediário fenol foi detectado em somente um dos ensaios da triplicata na concentração de 0,22 mg/L, e este composto não foi mais detectado nos outros dias de ensaio, como pode ser observado na figura 3. No dia 50 do experimento não se detectou-se mais o 2,4-D nos reatores bióticos.

Os reatores denominados abióticos apresentaram atividade de consumo da matéria orgânica e degradação do 2,4-D a partir do dia 20 do ensaio. Isso aponta para uma não inativação dos microrganismos pelo acréscimo da azida sódica e do cloreto de mercúrio (1 M cada).

A degradação anaeróbia através de condições metanogênicas tem sido extensivamente estudada nos últimos anos e se apresenta com uma via eficiente de degradação de clorofenóis (Aurora & Bae, 2014; Nicholson et al., 1992). Takeuchi et al. (2000) reportou a desalogenação e transformação de 19 isômeros de clorofenóis sob condições anaeróbias. O sedimento de água doce foi capaz de mineralizar 2,4-D em CO₂ e metano via 4CP, fenol e benzoato. O estudo de Yang et al. (2017) demonstrou a degradação do 2,4-D em condições metanogênicas usando acetato como fonte de carbono. Foi observado que a adição de acetato promoveu uma degradação 5 vezes mais rápida do que nos meios sem adição de acetato. *Dechloromonas* e *Pseudomonas* foram os microrganismos degradadores predominantes.

Importante ressaltar que no presente trabalho em condições metanogênicas, foi detectado a presença de concentrações traços dos intermediários originados do 2,4-D, consolidando mais uma vez que além da degradação do mesmo, também foi constatado a sua rota de degradação ocorrida. Como exposto nos gráficos complementares na figura 3, a partir da segunda fase de amostragens analisadas, foi reconhecido o 4CP nos três frascos-reatores que compõem a triplicata dessa condição, sendo que em um dos frascos bióticos foi detectado o composto fenol, este já compreendido como elemento originado na fase final de degradação do 2,4-D por essa rota.

Brucha et al. (2021) estudaram a degradação anaeróbia do 2,4-D, sob condições metanogênicas e acetato e lactato como fonte de carbono. Foi utilizado solo superficial e profundo coletado em área de plantio da Amazônia como inóculo. Os

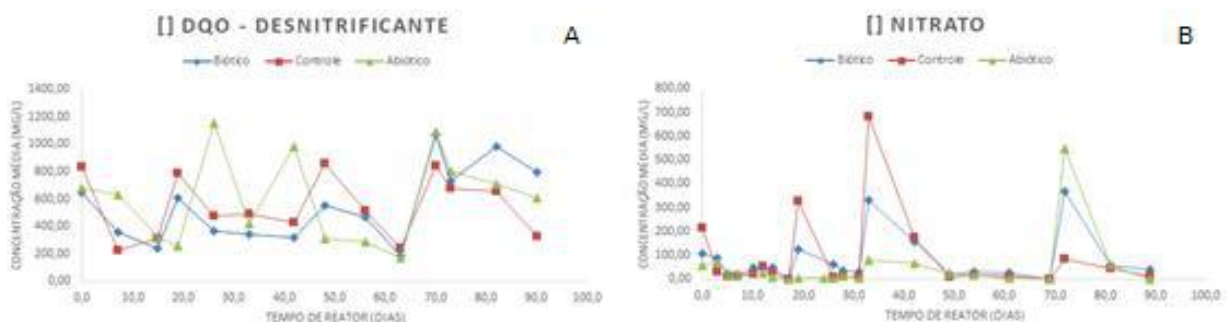
resultados apontaram para a degradação do 2,4-D (1mg/L) em condições metanogênicas, com formação dos intermediários metabólitos 2,4 DCP, 4CP e fenol. Os resultados alcançados pelo presente trabalho vão de encontro ao levantado por Brucha et al. (2021), comprovando que o 4 CP e o fenol são metabólitos encontrados na via 2,4-D – 2,4-DCP, 4-CP e fenol. Brucha et al. (2021), associaram a degradação aos processos co-metabolismo, mas não descartaram a possibilidade de desalogenadores estarem atuando na descloração da molécula 2,4-DCP, levando a fenol. O presente trabalho não analisou a diversidade microbiana durante a degradação do 2,4-D. Entretanto a presença dos metabólitos encontrados corrobora com o processo de desalogenação do composto 2,4-DCP. Assim, conclui-se pelos resultados levantados que o meio metanogênico apresenta condições para a remediação do herbicida 2,4-D.

3.2 Ensaios desnitrificantes

De acordo com os resultados de enriquecimento dos microrganismos desnitrificantes, pode-se observar que houve consumo médio de 55 % da matéria orgânica e foi possível observar que houve consumo total do nitrato acrescentado, em todos os reatores, durante todas as etapas de operação, indicando a ativação da comunidade desnitrificante (Figura 4).

Como no ensaio metanogênico, os reatores abióticos tiveram atividade microbiana, como pode ser observado pelo consumo de matéria orgânica e nitrato, comprovando que as concentrações dos inativantes microbianos não foram suficientes para a inativação total da biomassa.

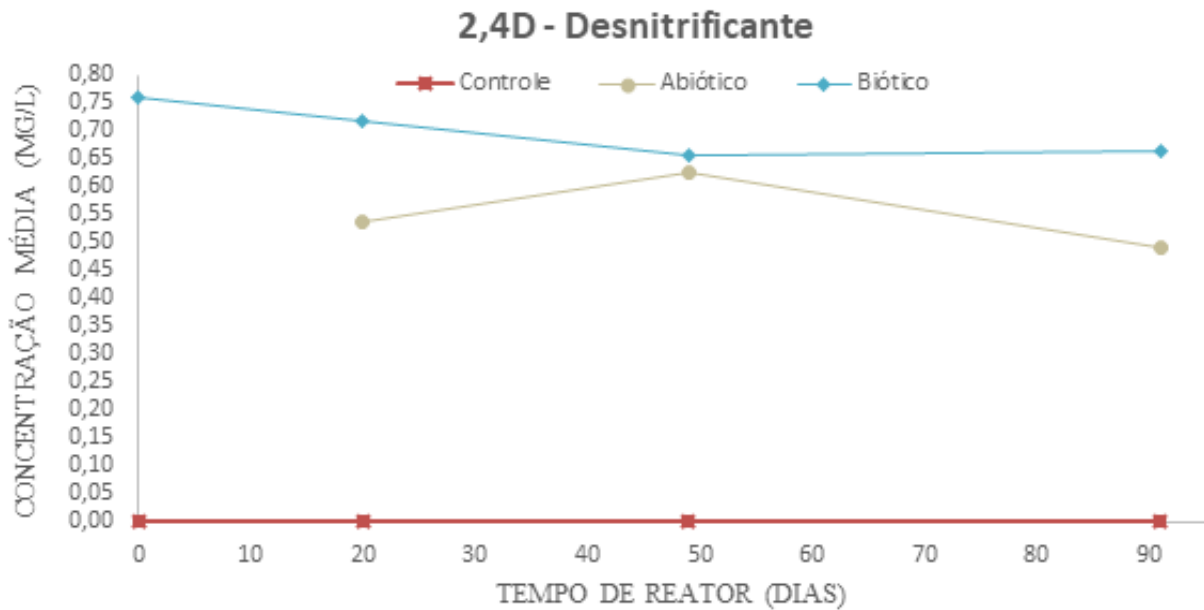
Figura 4. O Gráfico A Representa a Demanda Química de Oxigênio e o Gráfico B a Concentração de Nitrato, na Condição Desnitrificante.



Fonte: Autores.

Os ensaios sob condições desnitrificantes, apontou para uma pequena taxa de degradação do 2,4-D, com média de 13,16%, como mostra a Figura 5.

Figura 5. Remoção do 2,4-D nos reatores anaeróbios sob condições desnitrificantes.



Fonte: Autores.

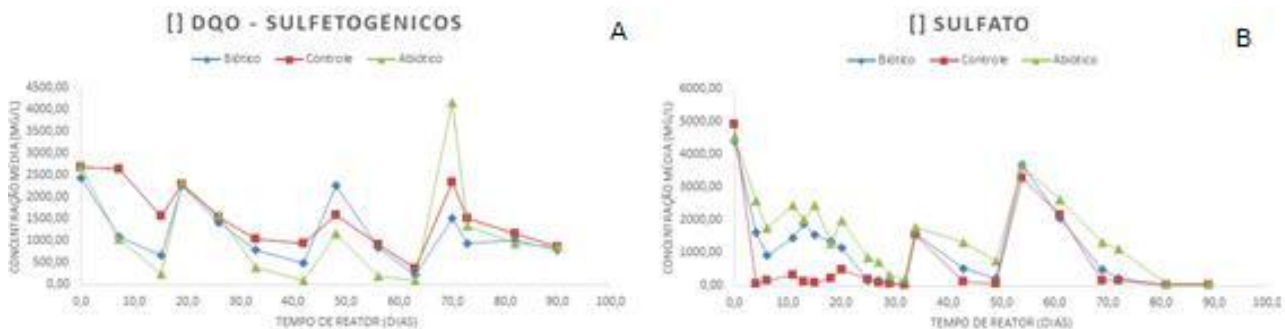
Alguns estudos demonstram que condições desnitrificantes favorecem a degradação anaeróbia e a descloração redutiva de clofenóis, como o 2,4-D (Aurora e Bae, 2014). Sob condições desnitrificantes, a degradação do 2 CP foi estudada em culturas de enriquecimento derivadas de amostras de lodo ativado (Bae et al., 2002). A presença de nitrato foi essencial como aceptor de elétrons para a mineralização de 2 CP em CO₂.

Os frascos-reatores sob condições desnitrificantes, apesar de também apresentarem queda da concentração inicial do composto 2,4-D, a eficácia é visivelmente menor que a degradação verificada sob condições metanogênicas, tendo atingido em média 13-16% no meio biótico e no meio abiótico 9,26%, como mostra a Figura 5. Outro fator interessante, foi que nesta condição não foram detectadas concentração dos intermediários do 2,4-D.

3.3 Ensaio Sulfetogênico

A Figura 6 apresenta a concentração de DQO, em todas as amostras no meio sulfetogênico, em todas as etapas deste reator. A primeira etapa constitui 33 dias de operação, a segunda 54 e a terceira, 90 dias.

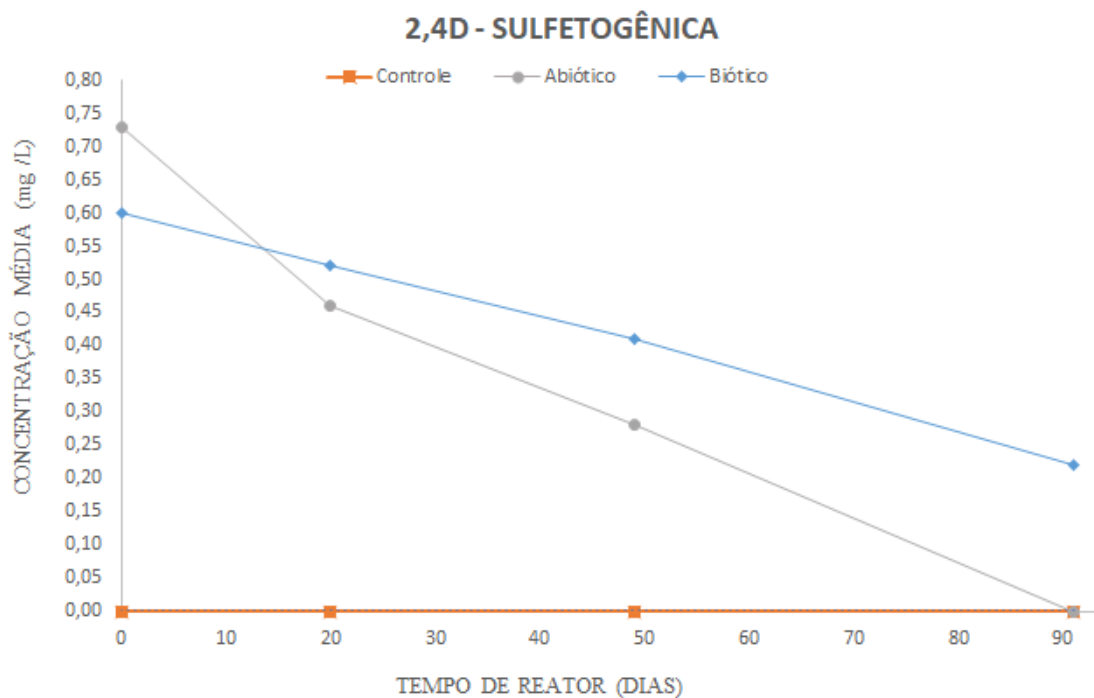
Figura 6. O Gráfico A Representa a Demanda Química de Oxigênio e o Gráfico B a Concentração de Sulfato, na Condição Sulfetogênica.



Fonte: Autores.

De acordo com os resultados, pode-se observar que houve consumo de matéria orgânica no meio sulfetogênico, assim como a redução do sulfato, durante os 90 dias de operação, em todos os reatores. Esses resultados confirmam o enriquecimento da comunidade sulfetogênica proveniente do reservatório de Itaipú e uma não inativação dos microrganismos presentes no ensaio abiótico.

Figura 7. Consumo do 2,4-D nos reatores anaeróbios sob condições sulfetogênicas.



Fonte: Autores.

A mineralização de clorofenóis está associada à redução de sulfato (Hagglblom & Young, 1990). Hagglblom & Young (1990) desenvolveram um consórcio redutor de sulfato mineralizante de clorofenóis em sedimentos estuarinos, onde foi mantido o 2CP, 3CP ou 4CP como a única fonte de carbono e energia por vários anos. Seus experimentos utilizando um consórcio utilizando 4CP revelaram que a mineralização de 4CP em CO₂ foi acoplada à redução de sulfato, e que a depleção de 4CP não ocorreu na ausência de sulfato. Nesta reação, sulfato, tiosulfato ou sulfito foram usados como aceptores de elétrons. A associação da redução de sulfato com mineralização de clorofenóis também foi observado na degradação de 2CP ou 4CP por culturas de enriquecimento redutoras de sulfato derivadas do sedimento do Rio Hudson (Hägglblom et al., 1993).

No presente estudo observou-se uma degradação de 63,33% do 2,4-D nos ensaios bióticos, entretanto nenhum metabólito intermediário analisado estava presente. O reator denominado abiótico, não estava com os microrganismos inativados, uma vez que houve consumo da matéria orgânica e redução de sulfato.

4. Conclusão

O 2,4D pode sofrer diferentes tipos de processos de degradação, dependendo do meio de oxirredução que foi introduzido. Esses processos também dependem de condições ambientais específicas, condições físico-químicas do ambiente, além de características intrínsecas deste herbicida.

O reator abiótico apresentou variações de concentração em todos os meios de oxirredução (metanogênico, sulfetogênico e nitrificante), o que conclui que houve atividade microbiana nesses reatores e que elas não foram inativadas na

presença de azida sódica e cloreto de prata, nas concentrações utilizadas.

É considerada relevante, na remoção de 2,4-D, os diferentes meios de oxirredução estudados, uma vez que, para cada meio houve concentrações diferentes de remoção. O meio metanogênico foi o que apresentou maior eficiência de remoção do composto estudado, com formação de intermediários metabólitos, indicando a rota 2,4-D, 4 DCP, 4DCP e fenol.

Estes resultados podem contribuir para análise mais completa do comportamento deste composto no meio ambiente. Assim, este trabalho é uma oportunidade para futuras pesquisas que podem ser desenvolvidas nessa área, e ressalta a importância destas informações para a tomada de decisão pelos órgãos públicos e para projetos de biorremediação de áreas contaminadas com 2,4-D.

Agradecimentos

Agradecemos ao Programa de Pós-Graduação em Ciências e Engenharia Ambiental (PPGCEA) da Universidade Federal de Alfenas (UNIFAL-MG), a ITAIPU BINACIONAL e a Fundação Parque Tecnológico de Itaipu (FPTI) pela coleta da amostra e pelo financiamento da pesquisa. Também agradecemos à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) – Código de Financiamento 001.

Referências

- Almeida, L. D., & Guimarães, E. C. (2017). Space Distribution Of The Ctc And The Relationship Macronutrients In A Red-Yellow Latosol Cultivated With Coffee. *Agronomic Culture*, 625–639.
- Amarante Júnior, O.P., Santos, T.C.R., & Nunes, G.S. (2003). Breve Revisão de Métodos de Determinação de Resíduos do Herbicida Ácido 2,4-Diclorofenoxiacético (2,4-D). *Quim. Nova*, 26 (2), 223-229.
- Anderson, W. P. (1996). *Weed Science: Principles and Applications*. 3 ed. St. Paul, MN: West Publishing. 193–197.
- APHA, AWW, WEF. *Standard methods for the examination of water and wastewater*. 22th. Edition. American Public Health Association, Washington, DC., 2012.
- Arora, P.K., & Bae, H. (2014). Bacterial degradation of chlorophenols and their derivatives. *Microb Cell Fact* 13, 31. <https://doi.org/10.1186/1475-2859-13-31>
- Azubuikwe, C.C., Chikere, C.B., & Okpokwasili, G.C. (2016). Bioremediation techniques—classification based on site of application: principles, advantages, limitations and prospects. *World J Microbiol Biotechnol* 32(11):180
- Bae, H.S., Yamagishi, T., & Suwa, Y. (2002). Evidence for degradation of 2-chlorophenol by enrichment cultures under denitrifying conditions. *Microbiology*, 148: 221-227.
- Barbosa AMC, Solano MLM, & Umbuzeiro GA (2015). *Pesticides in Drinking Water – the Brazilian monitoring program*. *Front. Public Health*, 3: 246.
- Barbosa, D.B.P. (2013). *Degradação de Atrazina em Solo sob Plantio Direto Aplicada em Formulações de Liberação Controlada*. Tese de doutorado. Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre.
- Batalha, E.B.H.L. (2009) *Água Potável: O Imperativo da Atualização*. CEPIS/OPS, p.1-10.
- Belluck, D.A., Benjamin, S.L., & Dawson, T. (1991). Groundwater contamination by atrazine and its metabolites: risk assessment, policy, and legal implications. In: SOMASUNDARAM, L., COATS, J.R. (Ed.). *Pesticide transformation products: fate and significance in the environment*. Washington: American Chemical Society, p 254-273.
- Bouquard, C., Ouazzani, J., Prome, J.C., Briand, I.M., & Siat, P.P. (1997). *Dechlorination of Atrazine by a Rhizobium sp. Isolate*. *American Society for Microbiology*, vol. 63, n° 3, p. 862–866.
- Braga, B., Hespagnol, I., Conejo, J. G. L., Mierzwa, J. C., Barros, M.T.L., Spencer, M., Porto, M., Nucci, N., Juliano, N., & Eiger, S. *Introdução à Engenharia Ambiental*. p.6, 2005.
- Brasil. MMA - IBAMA – Instituto Brasileiro do Meio Ambiente. <http://www.ibama.gov.br/agrotoxicos/relatorios-de-comercializacao-de-agrotoxicos>.
- Breitenstein, A., Saano, A., Salkinoja-Salonen, M., Andreesen, JR, & Lechner, U. (2001) Analysis of a 2,4,6-trichlorophenol-dehalogenating enrichment culture and isolation of the dehalogenating member *Desulfotobacterium frap-* *Microbiol.*, 51, 365e371 (2001).
- Brucha, G, Aldas-Vargas, A, Ross, Z, Peng, P, Atashgahi, S, Smidt, H, & Langenhoff, Sutton, N.B. 2,4-Dichlorophenoxyacetic acid degradation in methanogenic mixed cultures obtained from Brazilian Amazonian soil samples. *Biodegradation* (2021) 32:419–433 <https://doi.org/10.1007/s10532-021-09940-3> (0123456789(),-volV() 0123458697(),-volIV)

- Campos, M.M.C. (2009) Estudo da Remoção e Toxicidade dos Pesticidas Atrazina e Oxifluorfem pela Cianobactéria *Microcystis novacekii*. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) – Faculdade de Farmácia da Universidade Federal de Minas.
- Candiotto, L. Z. P., Schimitz, L. A., Cichoski, P., Meira, R. A., Meira, S. G., & Dambros, T. C. (2013). *Agricultura orgânica em oito município da região sudoeste do Paraná*. Editora Unioeste: Francisco Beltrão, 2013.
- Cataldo, D.A., Haroon, M., Schrader, L.E., & Youngs, V.L (1975). Rapid colorimetric determination of nitrate in plant tissue by nitration of salicylic acid. *Communications in Soil Science and Plant Analysis*, v.6, p.71-80.
- Chan, K. H., & Chu, W. (2005). Atrazine removal by catalytic oxidation processes with or without UV irradiation Part II: an analysis of the reaction mechanisms using LC/ESI-tandem mass spectrometry. *Applied Catalysis B: Environmental*, v. 58, p. 165 – 174.
- Christiansen, N., & Ahring, B.K. (1996). *Desulfitobacterium Hafniense* sp. anaerobic, reductively dechlorinating bacterium, Int. 442e448.
- Crafts, A.S. (1961). The chlorophenoxy herbicides. In: Crafts, A. S. *The chemistry and mode of action of herbicides*. Interscience Publishers, New York and London. Chapter 6. 52-70.
- Douglass, J. F., Radosevich, M., & Tuovinen, O.H. (2015) Mineralization of atrazine in the river water intake and sediments of a constructed flow-through wetland. *Ecological Engineering*, 72, 35–39.
- Deursen, M. V. (2016). Biodegradation of a pesticide mixture under different redox conditions. Sub-department of environmental technology, p.59.
- Egler, M. (2002). *Utilizando a Comunidade de Macroinvertebrados Bentônicos na Avaliação da Degradação de Ecossistemas de Rios em Áreas Agrícolas*. Escola Nacional de Saúde Pública, FIOCRUZ, Dissertação de Mestrado, Rio de Janeiro, 2002.
- Ghassemi, M., L. Fargo, P., Painter, S., Quinlivan, R., Scofield & A. Takata. (1981). *Environmental Fates and Impacts of Major Forest Use Pesticides*. EPA. Office of Pesticides and Toxic Substances. pp. 101-148.
- Guedes, S. F. (2010). *Estudo da Biodegradação do Ácido 2,4-diclorofenoxiacético, um Herbicida Selectivo Amplamente Utilizado na Agricultura, por uma Estirpe de Penicillium*. Dissertação (Mestrado em Tecnologia e Segurança Alimentar)- Faculdade de Ciências e Tecnologia da Universidade Nova de Lisboa, Monte da Caparica, Distrito de Setúbal, Portugal.
- Hägglom, M. (1990). Mechanisms of bacterial degradation and transformation of chlorinated monoaromatic compounds. *J Basic Microbiol*, 30, 115–141
- Hägglom, M.M., Rivera, M.D., & Young L.Y. (1993). Influence of alternative electron acceptors on the anaerobic biodegradability of chlorinated phenols and benzoic acids. *Appl Environ Microbiol.*, 59 (4): 1162-116.
- Javaroni, R.C.A, Landgraf, M.D., & Rezende, M.O. (1998). Comportamento dos Herbicidas Atrazina e Alaclor em Solo Preparado para o Cultivo de Cana-de-Açúcar. *Química Nova*, p. 58-64.
- La Cecilia, D., & Maggi, F. (2016). Kinetics of atrazine, deisopropylatrazine, and deethylatrazine soil biodecomposers. *Journal of Environmental Management*, v. 183, n. September, p. 673–686.
- Lee, Y., Lee, C., & Yoon, J. (2003). High Temperature Dependence of 2,4-Dichlorophenoxyacetic Acid Degradation by Fe³⁺/H₂O₂ System. *Chemosphere*, 51, 963-971.
- Li, Z., Suzuki, D., Zhang, C., Yoshida, N., Yang, S., & Katayama, A. (2013). Involvement of Dehalobacter strains in the anaerobic dechlorination of 2, 4, 6-trichlorophenol. *Journal of bioscience and bioengineering*, 116(5), 602-609.
- Matias, T. P., Braga, J. K., & Brucha, G. (2019). Anaerobic biodegradation of atrazine under different redox conditions. *International Journal of Advanced Engineering Research and Science (IJAERS)*, 6(10), 227-236. Doi: 10.22161/ijaers.610.35
- Neves, P.D.M., Mendonça, M. R., Bellini, M., & Possas, I.B. (2020). Intoxicação por agrotóxicos agrícolas no estado de Goiás, Brasil, de 2005-2015: análise dos registros nos sistemas oficiais de informação. *Ciênc. saúde coletiva* 25 (7). <https://doi.org/10.1590/1413-81232020257.09562018>
- Nicholson, D.K., Woods, S.L., Istok, J.D., & Peek, D.C. (1992). Reductive dechlorination of chlorophenols by a pentachlorophenolacclimated methanogenic consortium. *Appl Environ Microbiol.*, 58, 2280-2286.
- Pignati, W. A., Lima, F.A.N.S., Lara, S.S., CORREA, M.L.M., Barbosa, J. R., Leão, L.H.C., & Pignatti, M. G. (2017). Distribuição espacial do uso de agrotóxicos no Brasil: uma ferramenta para a Vigilância em Saúde. *Ciência & Saúde Coletiva*, 22 (10), 3281-3293. <http://dx.doi.org/10.1590/1413-812320172210.17742017>.
- Rodrigues, M. V. N., & Serra, G. E. *Determinação de resíduos de 2,4D em amostras vegetais*. Pesticidas R. Téc. Cient., Curitiba, 6,99-104.
- Robles-Gonzalez, I., Rios-Leal, E., Ferrera-Cerrato, R., EsparzaGarcia, F., Rinderknecht-Seijas, N., & Poggi-Varaldo, H.M. (2006) Bioremediation of a mineral soil with high contents of clay and organic matter contaminated with herbicide 2, 4-dichlorophenoxyacetic acid using slurry bioreactors: effect of electron acceptor and supplementation with an organic carbon source. *Process Biochem* 41(9):1951–1960.
- Takeuchi, R., Suwa, Y., Yamagishi, T., & Yonezawa, Y. (2000). Anaerobic transformation of chlorophenols in methanogenic sludge unexposed to chlorophenols. *Chemosphere*, 41: 1457-1462.
- Vieira, M. G., Steinke, G., Arias, J. L. O., Primel, E. G., & Cabrera, L. C. C. (2017). Avaliação da Contaminação por Agrotóxicos em Mananciais de Municípios da Região Sudoeste do Paraná. *Rev. Virtual de Química*.
- Villemur R, Lanthier M, Beaudet R, & Lépine F (2006) The *Desulfitobacterium* genus. *FEEMS Microbiol Rev* 30:706–733.

Walker, D. C., & Martin, J. P. (1975). Microbial decomposition of ring 14C-atrazine, cyanuric acid, and 2-chloro-4,6-diamino-s-triazine. *Journal of Environmental Quality*, Madison, 4, 134-139.

Wu CY, Zhuang L, Zhou SG, Li FB, & Li XM (2009) Fe (III)- enhanced anaerobic transformation of 2, 4-dichlorophenoxyacetic acid by an iron-reducing bacterium *Comamonas koreensis* CY01. *FEMS Microbiol Ecol* 71(1):106–113

Xi, Y., Mallavarapu, M., & Naidu, R. (2010) Adsorption of the herbicide 2,4-D on organo-palygorskite. *Applied Clay Science*, 49, 255-261.

Yang, Z., Xu, X., Dai, M., Wang, L., Shi, X., & Guo, R (2017). Rapid degradation of 2, 4-dichlorophenoxyacetic acid facilitated by acetate under methanogenic condition. *Bioresour Technol*, 232:146–151.