

**UNIVERSIDADE TECNOLÓGICA FEDERAL DO PARANÁ
CAMPUS FRANCISCO BELTRÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA AMBIENTAL: ANÁLISE
E TECNOLOGIA AMBIENTAL**

NATHALIA MARCON TOLLER

BIODEGRADAÇÃO DE ATRAZINA ESTIMULADA POR *Saccharomyces cerevisiae* E PALHA DE MILHO

DISSERTAÇÃO

FRANCISCO BELTRÃO
2019

NATHALIA MARCON TOLLER

BIODEGRADAÇÃO DE ATRAZINA ESTIMULADA POR *Saccharomyces cerevisiae* E PALHA DE MILHO

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia Ambiental: Análise e Tecnologia Ambiental como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Engenharia Ambiental: Análise e Tecnologia Ambiental. Linha de Pesquisa: Tecnologia Ambiental.

Orientadora: Prof^ª. Dr^ª. Elisete Guimarães
Coorientadora: Prof^ª. Dr^ª. Claudia Eugênia Castro Bravo

FRANCISCO BELTRÃO
2019

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
Biblioteca UTFPR – Câmpus Francisco Beltrão

<p>T651b Toller, Nathalia Marcon Biodegradação de atrazina estimulada por <i>Saccharomyces cerevisiae</i> e palha de milho / Nathalia Marcon Toller. – Francisco Beltrão: [s.n.], 2019. 77 f. il.</p> <p>Orientador: Prof Dr^a. Elisete Guimarães. Coorientadora: Prof^a. Dr^a. Claudia Eugênia Castro Bravo. Dissertação (Mestrado) - Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Programa de Pós-Graduação em Engenharia Ambiental. Francisco Beltrão, 2019. Bibliografia: f. 69-75</p> <p>1. Biorremediação. 2. Produtos químicos agrícolas. 3. Solos. 4. Herbicidas. 5. Leveduras. I. Guimarães, Elisete, orient. II. Bravo, Claudia Eugênia Castro, coorient. III. Universidade Tecnológica Federal do Paraná. IV. Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Ambiental. V. Título.</p> <p style="text-align: right;">CDD: 628</p>



FOLHA DE APROVAÇÃO Nº 002

BIODEGRADAÇÃO DE ATRAZINA ESTIMULADA POR *Saccharomyces cerevisiae*

E PALHA DE MILHO

por

Nathalia Marcon Toller

Esta dissertação foi apresentada às catorze horas do dia vinte e dois de fevereiro de dois mil e dezenove como requisito parcial para a obtenção do título de MESTRE EM ENGENHARIA AMBIENTAL, com área de concentração em Meio Ambiente, linha de pesquisa em Tecnologia Ambiental, Programa de Pós-Graduação em Engenharia Ambiental: Análise e Tecnologia Ambiental. A candidata foi arguida pela Banca Examinadora composta pelos professores abaixo citados. Após deliberação, a Banca Examinadora considerou o trabalho aprovado.

Prof.^a Dr.^a Eli Danieli Marchesan - UNIPAR

Membro externo

Prof.^a Dr.^a Elisete Guimarães – UTFPR

Orientadora

Prof.^a Dr.^a Elisângela Düsman – UTFPR

Membro

Prof. Dr. Rodrigo Lingnau – UTFPR

Coordenador

A FOLHA DE APROVAÇÃO ASSINADA ENCONTRA-SE NA COORDENAÇÃO DO CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA AMBIENTAL: ANÁLISE E TECNOLOGIA AMBIENTAL

AGRADECIMENTOS

Primeiramente, agradeço a Deus pela vida.

Aos meus pais, irmãos, sobrinhos e avó pelo apoio em todos os momentos.

Ao Jhonatan por todos os anos de companheirismo, pelo carinho e apoio de sempre.

À Professora Elisete Guimarães pela orientação e amizade, dedicando tempo e compartilhando conhecimentos sempre com muita paciência.

À Professora Claudia Eugênia Castro Bravo pela coorientação com muita dedicação.

Aos técnicos do laboratório da UTFPR/FB e UTFPR/PB que sempre me auxiliaram durante os experimentos.

À Anaclara Prasniewski, Cíntia Boeira Batista Lafay e Márcio Barreto Rodrigues da UTFPR/PB pelo auxílio durante a realização dos experimentos.

Às professoras Sheila Regina Oro e Naimara Vieira do Prado pelo auxílio na parte estatística.

À professora Ellen Porto Pinto pelos meios de cultura cedidos.

À Suelen Berndt pelo auxílio no laboratório.

A todos os meus amigos, os quais não cito nomes, mas que moram em meu coração, pelo incentivo e momentos de distração.

Ao laboratório da Central Analítica do Instituto de Química da Universidade de São Paulo (IQ-USP) pela realização da análise elementar.

À querida Eliandra Machado (*in memoriam*) pela eterna amizade.

Aos colegas do mestrado, e, em especial, à Vitória e ao Marcos pelo companheirismo e conhecimentos compartilhados.

À Universidade Tecnológica Federal do Paraná, seu corpo docente e servidores que proporcionaram a concretização deste trabalho.

Por fim, a todos que de alguma forma estiveram presentes e colaboraram para concretização deste trabalho.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001.

RESUMO

Tendo em vista os vários problemas ambientais e de saúde que o uso crescente de agrotóxicos vem causando é necessário a otimização de técnicas que visem a sua rápida degradação. A atrazina (2-cloro-4-etilamino-6-isopropilamino-striazina) é um herbicida amplamente utilizado no controle de ervas daninhas, principalmente nas culturas de milho e cana-de-açúcar. Neste sentido, o presente trabalho objetiva estudar a degradação do herbicida atrazina utilizando a técnica de bioaumento, com biomassa de levedura residual da indústria cervejeira e adição de palha de milho em dois solos, um com histórico de utilização de atrazina e outro sem histórico. Outro fator a ser verificado é o tempo de degradação da atrazina em diferentes concentrações (dose recomendada - DR; triplo da DR e quádruplo da DR), dessa forma foi elaborado um planejamento fatorial com três fatores e dois níveis de variação e duas repetições no ponto central. Para determinar a quantidade de gás carbônico (CO₂) liberado durante os ensaios, o qual reflete a atividade da microbiota do solo responsável pela degradação de compostos orgânicos, foi utilizada a técnica da respiração basal do solo. Outra análise realizada foi a espectroscopia de infravermelho médio com transformada de Fourier (FTIR) a fim de verificar a mineralização do nitrogênio dos grupos amins. E, para verificar a degradação da atrazina ao longo do experimento (início, 7, 14 e 63 dias) realizou-se a análise de cromatografia gasosa acoplada ao espectrômetro de massas. O solo agrícola utilizado no experimento apresentou melhores resultados em comparação ao solo sem histórico de utilização de atrazina. Os níveis máximos de biomassa de levedura produziram melhores resultados em relação a variável resposta evolução de CO₂. Já o fator palha de milho atuou de maneira mais branda, indicando que maiores adições deste material podem estar relacionadas às características do solo e, proporcionam maior sorção da atrazina, com a conseqüente menor biodisponibilidade para os microrganismos degradantes. Em todos os ensaios realizados ocorreu a redução de mais de 55 % dos níveis de concentração de atrazina nos primeiros sete dias, sendo que, em oito dos ensaios, essa redução chegou a mais de 72 %. Assim, os resultados demonstraram que a biomassa de levedura associada à palha de milho tem potencial em estimular a degradação da atrazina no solo.

Palavras-chave: Biorremediação. Produtos químicos agrícolas. Solos. Herbicidas. Leveduras.

ABSTRACT

In view of the various environmental and health problems that the increasing use of pesticides is causing, it is necessary to optimize techniques that aim at their rapid degradation. Atrazine (2-chloro-4-ethylamino-6-isopropylamino-s-triazine) is a herbicide widely used in weed control, especially in maize and sugarcane crops. In this sense, the present work aims to study the degradation of atrazine herbicide using the bioaumento technique, residual yeast biomass from the brewing industry and addition of corn straw in two soils, one with atrazine utilization history and the other with no history. Another factor to be verified is the degradation time of atrazine in different concentrations (recommended dose - DR, triple of DR and quintuple of DR), so a factorial planning was elaborated with three factors and two levels of variation and two repetitions in the point central. To determine the amount of carbon dioxide (CO₂) released during the tests, which reflects the activity of the soil microorganism responsible for the degradation of organic compounds, the soil basal respiration technique was used. Another analysis was the Fourier Transform Infrared Spectroscopy (FTIR) in order to verify the nitrogen mineralization of the amine groups. And, to verify the degradation of atrazine throughout the experiment (beginning, 7, 14 and 63 days) the analysis of gas chromatography coupled to the mass spectrometer was carried out. The agricultural soil used in the experiment presented better results compared to the soil with no history of atrazine use. The maximum levels of yeast biomass produced better results in relation to the evolution variable of CO₂. On the other hand, the maize straw factor had a milder effect, indicating that higher additions of this material may be related to the soil characteristics and, therefore, provide greater sorption of atrazine, with consequent lower bioavailability for degrading microorganisms. In all the tests performed the reduction of more than 55% of the levels of atrazine concentration occurred in the first seven days, and in eight of the trials, this reduction reached more than 72%. Thus, the results demonstrated that yeast biomass associated with corn straw has the potential to stimulate the degradation of atrazine in the soil.

Key words: Bioremediation. Agricultural chemicals. Soil. Herbicides. Yeasts.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Estrutura da Atrazina	21
Figura 2 – Principal via de biodegradação da atrazina	23
Figura 3 – Toxicidade e efeitos prejudiciais da atrazina em humanos, plantas, animais e microrganismos	24
Figura 4 – Comparação do crescimento da levedura <i>Saccharomyces cerevisiae</i> em meio (a) YNB com glicose, (b) YNB com atrazina na dose recomendada em campo e (c) YNB com cinco vezes a dose de campo de atrazina	36
Figura 5 – Resultados acumulados dos ensaios de respiração basal para o (a) solo com histórico de utilização de atrazina e (b) solo sem histórico de utilização de atrazina	42
Figura 6 – Comportamento do fator biomassa de levedura em função da variável resposta em 24 horas para o solo com histórico de utilização de atrazina	45
Figura 7 – Comportamento do fator biomassa de levedura em função da variável resposta em 24 horas para o solo sem histórico de utilização de levedura	46
Figura 8 – Comportamento do fator palha de milho em função da variável resposta em 24 horas para o solo 2	46
Figura 9 – Curvas de contorno para a evolução de CO ₂ em função das concentrações de levedura e palha de milho em 24 horas de incubação	47
Figura 10 – Comportamento do fator biomassa de levedura em função da variável resposta no terceiro dia para o solo sem histórico de utilização de atrazina	48
Figura 11 – Comportamento do fator palha de milho em função da variável resposta no terceiro dia para o solo sem histórico de utilização de atrazina	48
Figura 12 – Comportamento do fator biomassa de levedura em função da variável resposta em 7 dias para o solo com histórico de utilização de atrazina	50
Figura 13 – Comportamento do fator biomassa de levedura em função da variável resposta em 7 dias para o solo sem histórico de utilização de atrazina	50
Figura 14 – Comportamento do fator palha de milho em função da variável resposta em 7 dias para o solo com histórico de utilização de atrazina	51
Figura 15 – Comportamento do fator palha de milho em função da variável resposta em 7 dias para o solo sem histórico de utilização de atrazina	51
Figura 16 – Curvas de contorno para a evolução de CO ₂ em função das concentrações de levedura e palha de milho em 7 dias de incubação	52

Figura 17 – Comportamento do fator dose de atrazina em função da variável resposta em 7 dias para o solo com histórico de utilização de atrazina	52
Figura 18 – Comportamento do fator resíduo de levedura em função da variável resposta em 16 dias	53
Figura 19 – Comportamento do fator palha de milho em função da variável resposta em 16 dias	54
Figura 20 – Comportamento do fator palha de milho em função da variável resposta em 49 dias	55
Figura 21 – Dendrograma para o solo com histórico de utilização de atrazina	56
Figura 22 – Dendrograma para o solo sem histórico de utilização de atrazina	57
Figura 23 – Espectro de FTIR de atrazina comercial (Atrazina Atanor 50 SC)	58
Figura 24 – Espectros de FTIR de k-200 (kerolita aquecida a 200 °C), atrazina e atrazina + K-200. Relação aproximada Atrazina/kerolita: 1/100	59
Figura 25 – Espectros na região do infravermelho médio (4.000 – 400cm ⁻¹) para o ensaio 1: (a) solo com histórico de utilização de atrazina e (b) solo sem histórico de utilização de atrazina	60
Figura 26 – Espectros na região do infravermelho médio (4.000 – 400cm ⁻¹) para o ensaio 2: (a) solo com histórico de utilização de atrazina e (b) solo sem histórico de utilização de atrazina	61
Figura 27 – Espectros na região do infravermelho médio (4.000 – 400cm ⁻¹) para o ensaio 3: (a) solo com histórico de utilização de atrazina e (b) solo sem histórico de utilização de atrazina	61
Figura 28 – Espectros na região do infravermelho médio (4.000 – 400cm ⁻¹) para o ensaio 4: (a) solo com histórico de utilização de atrazina e (b) solo sem histórico de utilização de atrazina	62
Figura 29 – Espectros na região do infravermelho médio (4.000 – 400cm ⁻¹) para o ensaio 5: (a) solo com histórico de utilização de atrazina e (b) solo sem histórico de utilização de atrazina	62
Figura 30 – Espectros na região do infravermelho médio (4.000 – 400cm ⁻¹) para o ensaio 6: (a) solo com histórico de utilização de atrazina e (b) solo sem histórico de utilização de atrazina	63
Figura 31 – Espectros na região do infravermelho médio (4.000 – 400cm ⁻¹) para o ensaio 7: (a) solo com histórico de utilização de atrazina e (b) solo sem histórico de utilização de atrazina	63

- Figura 32 – Espectros na região do infravermelho médio ($4.000 - 400\text{cm}^{-1}$) para o ensaio 8: (a) solo com histórico de utilização de atrazina e (b) solo sem histórico de utilização de atrazina 64
- Figura 33 – Espectros na região do infravermelho médio ($4.000 - 400\text{cm}^{-1}$) para o ensaio 9: (a) solo com histórico de utilização de atrazina e (b) solo sem histórico de utilização de atrazina 64
- Figura 34 – Espectros na região do infravermelho médio ($4.000 - 400\text{cm}^{-1}$) para o ensaio 10: (a) solo com histórico de utilização de atrazina e (b) solo sem histórico de utilização de atrazina 64
- Figura 35 – Concentração de atrazina ao longo do experimento para o solo com histórico de uso do herbicida 66

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Propriedades físico-químicas do herbicida atrazina	22
Tabela 2 – Composição química da palha de milho	28
Tabela 3 – Matriz do planejamento experimental 2^3 (3 fatores e 2 níveis de variação com duas repetições no ponto central).....	32
Tabela 4 – Atributos físicos e químicos dos solos utilizados no experimento	38
Tabela 5 – Caracterização por análise elementar dos solos e da palha de milho utilizados no experimento	40
Tabela 6 – Análise de variância para os ensaios de respiração basal do solo com histórico de utilização de atrazina em 24 horas de experimento	44
Tabela 7 – Análise de variância para os ensaios de respiração basal do solo sem histórico de utilização de atrazina em 24 horas de experimento	44
Tabela 8 – Teste de Tukey para os fatores significativos em 24 horas de experimento para ambos os solos	45
Tabela 9 – Análise de variância para os ensaios de respiração basal do solo sem histórico de utilização de atrazina no terceiro dia de experimento	47
Tabela 10 – Teste de Tukey para os ensaios de respiração basal do solo sem histórico de utilização de atrazina no terceiro dia de experimento	47
Tabela 11 – Análise de variância para os ensaios de respiração basal do solo com histórico de utilização de atrazina em 7 dias de experimento	49
Tabela 12 – Análise de variância para os ensaios de respiração basal do solo sem histórico de utilização de atrazina em 7 dias de experimento	49
Tabela 13 – Teste de Tukey para os ensaios de respiração basal do solo em 7 dias de experimento	49
Tabela 14 – Análise de variância para os ensaios de respiração basal do solo com histórico de utilização de atrazina em 16 dias de experimento	53
Tabela 15 – Teste de Tukey para os ensaios de respiração basal do solo em 16 dias de experimento	53
Tabela 16 – Análise de variância para os ensaios de respiração basal do solo sem histórico de utilização de atrazina em 49 dias de experimento	54
Tabela 17 – Teste de Tukey para os ensaios de respiração basal do solo em 1176 horas de experimento	54

Tabela 18 – Resultados dos ensaios de cromatografia gasosa do solo com histórico de utilização de atrazina.....	65
---	----

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	14
2 REVISÃO DE LITERATURA	16
2.1 O SOLO E SUA INTERAÇÃO COM AGROTÓXICOS	16
2.2 PROCESSOS DE DEGRADAÇÃO E TRANSPORTE DOS AGROTÓXICOS NO SOLO	18
2.3 BIORREMEDIAÇÃO	19
2.4 O HERBICIDA ATRAZINA	21
2.5 RESÍDUO DE LEVEDURA DA INDÚSTRIA CERVEJEIRA	25
2.6 SISTEMA DE PLANTIO DIRETO E A PALHA DO MILHO	27
3 OBJETIVOS	29
3.1 OBJETIVO GERAL	29
3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	29
4 MATERIAL E MÉTODOS	30
4.1 TESTE DE DEGRADAÇÃO	30
4.2 AMOSTRAGEM DE SOLO	30
4.3 CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA DAS AMOSTRAS DE SOLO	31
4.4 ANÁLISE ELEMENTAR - CHN	31
4.5 BIODEGRADAÇÃO DA ATRAZINA NO SOLO	31
4.5.1 Determinação da Respiração Basal do Solo	32
4.5.2 Espectroscopia de Infravermelho Médio com Transformada de Fourier	33
4.5.3 Cromatografia Gasosa Acoplada a Espectrometria de Massas	34
4.6 ANÁLISE ESTATÍSTICA	34
5 RESULTADOS E DISCUSSÕES	36
5.1 TESTE DE DEGRADAÇÃO	36
5.2 CARACTERIZAÇÃO FÍSICA E QUÍMICA DO SOLO	37
5.3 DETERMINAÇÃO DA COMPOSIÇÃO ELEMENTAR	39
5.4 DETERMINAÇÃO DA BIODEGRADAÇÃO DA ATRAZINA	41
5.4.1 Respiração Basal do Solo	41
5.4.2 Espectroscopia no infravermelho	57
5.4.3 Cromatografia gasosa	65

6 CONCLUSÃO	67
7 REFERÊNCIAS	69
APÊNDICE A – EVOLUÇÃO DE CO₂ DOS ENSAIOS DE RESPIRAÇÃO BASAL DO SOLO (ACUMULADO)	76
APÊNDICE B – ESPECTRO DE MASSA DA ATRAZINA (COMPARAÇÃO COM A BIBLIOTECA NIST)	77

1 INTRODUÇÃO

Atualmente, a busca pela maior produção de alimentos em áreas cada vez menores vem causando sérios impactos ambientais pela intensa utilização de agroquímicos, seja no controle pragas e doenças ou para fertilizar o solo. Devido as características de solubilidade, adsorção, deslocamento, persistência e toxicidade esses produtos químicos apresentam grande potencial em contaminar solos, águas superficiais e subterrâneas (BENEVIDES; MARINHO, 2015).

Desde 2008, o Brasil ocupa as primeiras posições no *ranking* mundial de países consumidores de agrotóxicos, circunstância essa que coloca em risco a saúde da população que pode ser exposta através da contaminação do meio ambiente, água e dos alimentos, além das atividades laborais com contato direto (BRASIL, 2016).

A atrazina é um dos herbicidas da classe das triazinas mais utilizados em função de seu amplo espectro para o controle de ervas daninhas de folhas largas, baixo custo e por apresentar efeito residual no solo (MANDELBAUM; ALLAN; WACKETT, 1995). Este herbicida é frequentemente utilizado nas culturas de milho, cana-de-açúcar, sorgo e em pastagens (BALCI et al., 2009).

Como característica, a atrazina é moderada a altamente solúvel em água e possui coeficiente de sorção de solo relativamente baixo, assim, após aplicada em terras cultiváveis pode ser transportada para águas subterrâneas ou para águas superficiais causando poluição destes ambientes (BOYD, 2000).

Sendo a atrazina um produto orgânico recalcitrante, a sua remoção e/ou degradação no ambiente não é fácil. Geralmente os processos biológicos são menos onerosos, porém requerem a presença de organismos com efetivo potencial de biotransformação ou bioadsorção além de condições que favoreçam este processo (CARMO et al., 2013).

A atrazina possui vários efeitos adversos seja as plantas não-alvo, vertebrados, invertebrados, fauna aquática, microrganismos e até mesmo ao homem, como é o caso de desregulação endócrina, efeitos adversos nos hepatócitos primários humanos e também formação de neuroblastomas humanos (SINGH et al., 2017).

Uma alternativa para transformar esses contaminantes do solo em produtos menos tóxicos ou completamente convertidos em matéria inorgânica, água, dióxido de carbono e amônia é a biorremediação, na qual são utilizados microrganismos a fim de acelerar esse processo (TONINI; REZENDE; GRATIVOL, 2010).

As técnicas de biorremediação são fundamentadas na biodegradação e, podem ser classificadas em função do local onde ocorre a remediação (in situ e ex situ), ou em função da modificação feita no ambiente contaminado (atenuação natural, bioestimulação e bioaumentação) (EPA, 2006).

A levedura *Saccharomyces cerevisiae* é um microrganismo não-patogênico muito utilizado na produção de vinho, cerveja e na panificação, para a produção de etanol e CO₂ a partir de açúcares fermentáveis (ZYL et al., 1989). Devido às suas capacidades metabólicas, esta levedura apresenta papel importante na biorremediação ambiental, além de apresentar baixa toxicidade e a biomassa de *S. cerevisiae* ser considerada um resíduo da indústria cervejeira (FERREIRA et al., 2010; JOHNSON, 2013).

Nesse sentido, o uso de técnicas que visem otimizar o processo de biodegradação dos agrotóxicos no solo é de suma importância. O presente trabalho teve como objetivo principal analisar a degradação de diferentes concentrações do herbicida atrazina em solo, utilizando a técnica de bioaumento com *S. cerevisiae* proveniente do processo de produção de cerveja e da inserção de palha de milho. Neste estudo foram utilizados dois diferentes tipos de solo, um com histórico de utilização de atrazina (microbiota adaptada) e outro sem histórico (microbiota não adaptada), para fins de comparação.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 O SOLO E SUA INTERAÇÃO COM AGROTÓXICOS

A crescente necessidade de fornecer alimento à população torna imprescindível a utilização dos agrotóxicos no controle de pragas e doenças (ROSA; FRACETO; MOSCHINI-CARLOS, 2012).

A contaminação ambiental causada pelo uso progressivo e indiscriminado de agrotóxicos tem causado preocupação quanto ao lançamento inadequado desses compostos no ambiente. Sendo os agrotóxicos tóxicos aos organismos vivos, devem ser tomadas precauções quanto a sua aplicação, formação de resíduos provenientes das mais diversas fontes e disposição final adequada, a fim de não comprometer os recursos naturais (PAPINI; ANDREA; LUCHINI, 2014).

De acordo com o Decreto nº 4.074, de 4 de janeiro de 2002, que regulamenta a Lei no 7.802, de 11 de julho de 1989, são definidos como agrotóxicos e afins:

Produtos e 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 plantadas, e de outros ecossistemas e 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, bem como as substâncias e produtos empregados como desfolhantes, dessecantes, estimuladores e inibidores de crescimento (BRASIL, 2002, p. 01).

Os agrotóxicos são classificados como micropoluentes e têm, cada vez mais, despertado interesse em relação às alterações ambientais causadas no solo, nos recursos hídricos, na atmosfera, nos alimentos e em organismos vivos. Os impactos ambientais causados pelo uso desses compostos podem ocorrer em decorrência da permanência de seus resíduos por mais tempo que o necessário para exercer sua atividade (PAPINI; ANDREA; LUCHINI, 2014).

Geralmente são compostos organossintéticos que apresentam em suas formulações um princípio ativo, o qual é responsável pela ação toxicológica, e um diluente, que dissolve e estabiliza o princípio ativo (ROSA; FRACETO; MOSCHINI-CARLOS, 2012).

De acordo com o grupo químico os pesticidas podem ser separados em iônicos e não iônicos. Os iônicos são subdivididos em catiônicos (ex. paraquat), básicos (ex. atrazina e simazina), ácidos (ex. 2-4-D), além de outros como glifosato, bromacil, ácido cacodílico etc. Os não iônicos são subdivididos em clorados (ex. DDT), fosforados (ex. paration),

dinitroanilinas (ex. benefin), carbanilatos (ex. chlorprophan), tiocarbamatos (ex. cycloste), anilidas (ex. alachlor), ureias (ex. diuron), metilcarbamatos (ex. zectran) e outros grupos como benzonitrilas, ésteres, acetamidas e carbotioatos (ROSA; FRACETO; MOSCHINI-CARLOS, 2012).

Os pesticidas iônicos, em especial os catiônicos, apresentam capacidade de unir-se à parte mineral do solo, já os não iônicos possuem maior afinidade pela matéria orgânica (ROSA; FRACETO; MOSCHINI-CARLOS, 2012).

O solo é atingido pelos agrotóxicos por aplicação direta através de pulverizações na parte aérea das culturas, e, indiretamente quando aplicados sobre as plantas ou por contaminação aérea (CORREIA; LANGENBACH, 2006).

O período em que o agrotóxico permanece no solo em forma dissolvida na água, vaporizado no ar, adsorvido ou ocluso nas partículas minerais e orgânicas do solo é chamado de persistência do agrotóxico (MOREIRA; SIQUEIRA, 2006).

A persistência dos agrotóxicos é determinada basicamente por três fatores principais, sendo eles a estrutura química e propriedade dos compostos, as características físicas, químicas e biológicas do solo e as condições ambientais. Os dois principais processos que determinam a persistência de um agrotóxico no ambiente dizem respeito à degradação do composto e sua adsorção nas partículas de solo (PAPINI; ANDREA; LUCHINI, 2014).

Os atributos do solo (textura, estrutura, teor de matéria orgânica, pH, capacidade de troca catiônica (CTC), conteúdo de água, relevo, comunidade microbiana e equilíbrio nutricional), as condições ambientais (umidade relativa do ar, temperatura, luminosidade, vento e chuvas), as propriedades físico-químicas das moléculas de herbicidas e a interação destes fatores, as formas de manejo da cultura, a tecnologia de aplicação dos herbicidas e a presença ou ausência de plantas são os principais fatores que conduzem o comportamento dos herbicidas no solo (CHRISTOFFOLETI et al., 2008).

Em função do amplo uso em áreas agrícolas e urbanas os pesticidas são os principais produtos encontrados em corpos hídricos superficiais e subterrâneos no mundo todo. Estes compreendem uma variedade de moléculas com diferentes propriedades que lhes conferem múltiplos graus de persistência ambiental, mobilidade e potencial tóxico, carcinogênico, mutagênico e teratogênico ou algum efeito endócrino a diversos organismos não alvos, inclusive o ser humano (ROSA; FRACETO; MOSCHINI-CARLOS, 2012).

Dessa forma, observa-se que o uso indiscriminado de agrotóxicos, aliado à ausência de critérios e conhecimento de sua ação e efeito, trazem problemas sérios ao meio ambiente e, conseqüentemente, à qualidade de vida do ser humano, sendo que a principal consequência é o

aumento dos riscos de contaminação de produtos da agropecuária com resíduos químicos prejudiciais à saúde (ROSA; FRACETO; MOSCHINI-CARLOS, 2012).

2.2 PROCESSOS DE DEGRADAÇÃO E TRANSPORTE DOS AGROTÓXICOS NO SOLO

Após serem aplicados no solo os agrotóxicos podem ser totalmente mineralizados ou convertidos em metabólitos através de processos físicos, químicos ou biológicos, dentre esses destaca-se a degradação biológica, onde os microrganismos presentes no solo possuem papel fundamental (CHRISTOFFOLETI et al., 2008). Ou ainda, os agrotóxicos podem migrar de um compartimento do ambiente para outro e atuando como fonte de contaminação do ar, águas subterrâneas etc. (MANDAL; SINGH; PURAKAYASTHA, 2017).

Assim, os agrotóxicos percorrem diversos caminhos no ambiente sofrendo processos de retenção (sorção, adsorção, absorção), de transformação (degradação química e biológica) e de transporte (deriva, volatilização, lixiviação e carreamento superficial), e também interações desses processos (CHOWDHURY et al., 2008; PAPINI; ANDREA; LUCHINI, 2014).

Posteriormente à aplicação do pesticida estes podem ser retidos às partículas argilosas e à fração orgânica do solo, como a matéria orgânica e biomassa, e bioacumulados em células, aumentando sua persistência no ambiente. Podem também ser dessorvidos e novamente liberados para o solo, ou serem submetidos a processos de dispersão como a volatilização e transporte por deriva, lixiviação ou transportados por escoamento superficial (ROSA; FRACETO; MOSCHINI-CARLOS, 2012). Os processos de retenção e degradação reduzem os problemas gerados pelos pesticidas enquanto a dispersão amplia os aspectos deletérios dos mesmos (ROSA; FRACETO; MOSCHINI-CARLOS, 2012).

A sorção é um fenômeno físico-químico reversível que acontece por meio de ligações químicas que ocorrem entre as moléculas de pesticidas com a fase sólida do solo e está diretamente relacionada com a fração coloidal do solo (quantidade e qualidade de MO e argila), que tem grande área superficial ativa, favorecendo a capacidade de troca catiônica (CTC), o que pode aumentar interação entre a molécula e o solo (ANDREU; PICÓ, 2004).

O metabolismo microbiano representa um dos principais caminhos de degradação para muitos agrotóxicos, sendo que os pouco solúveis e altamente clorados apresentam, geralmente, mais resistência ao ataque microbiano (HELLING; KEARNEY; ALEXANDER, 1971).

Os fatores climáticos e edáficos que favorecem o metabolismo microbiano são temperaturas quentes do solo, umidade adequada e a presença de matéria orgânica, e, os níveis

de umidade também desempenham um papel importante no controle da taxa e direção deste metabolismo (HELLING; KEARNEY; ALEXANDER, 1971).

A atuação dos microrganismos sobre a molécula tem sido apontada como o principal fator de degradação de agrotóxicos no solo e é causada principalmente por fungos e bactérias, que são os organismos mais abundantes nesse ambiente, mas também por outros microrganismos que utilizam o agrotóxico como fonte de alimento e energia para seus processos metabólicos (PAPINI; ANDREA; LUCHINI, 2014).

Uma das dificuldades para a remoção de resíduos de pesticidas do meio ambiente é o fato de que a persistência do pesticida no solo depende das características do solo, como: umidade, temperatura, aeração, pH e quantidade de matéria orgânica, que afetam o grau da degradação, e dos fatores climáticos tais como radiação, temperatura, umidade e oxigenação, em virtude da direta influência desses fatores sobre o crescimento e atividade microbianos (CARMO et al., 2013). É a associação destes fatores, juntamente com as características da molécula, que determinam o tempo de vida dos pesticidas no ambiente.

Portanto, o conceito de persistência dos agrotóxicos está cada vez mais associado à possibilidade de ataque desses compostos pela população microbiana. Esse ataque pode se dar diretamente, quando o agrotóxico serve como substrato de crescimento e energia, servindo como fonte de nutrientes e a população microbiana obtém energia para sua proliferação. Por outro lado, o agrotóxico pode ser cometabolizado, isto é, ocorre degradação desde que se supra o meio como uma fonte de energia, porque os microrganismos transformam o composto, mas não obtém energia no processo (PAPINI; ANDREA; LUCHINI, 2014).

Sabe-se atualmente que os processos de degradação de agrotóxicos no solo dependem, principalmente, da extensão pela qual o composto está disponível na solução do solo. Compostos menos solúveis ou altamente adsorvidos são mais persistentes, porque há menor concentração do composto disponível para a reação e para o ataque microbiano. Além disso, moléculas com ligações mais estáveis, como anéis aromáticos e com ligações carbonohalogênicos, são mais resistentes ao metabolismo (PAPINI; ANDREA; LUCHINI, 2014).

2.3 BIORREMEDIAÇÃO

A biorremediação é um conjunto de tecnologias que utilizam organismos vivos ou seus componentes (microrganismos, fungos, plantas ou enzimas) a fim de degradar ou transformar contaminantes perigosos em materiais como dióxido de carbono, água, sais

inorgânicos, biomassa microbiana e outros subprodutos que podem ser menos tóxicos do que os materiais originais (EPA, 2006; ROSA; FRACETO; MOSCHINI-CARLOS, 2012). A vantagem da biorremediação é ser uma tecnologia limpa, de baixo custo e que se utiliza apenas da capacidade fisiológica de alguns organismos para degradar compostos (DEON et al., 2012).

O sistema metabólico microbiano tem se mostrado o mais apto em biodegradar moléculas xenobióticas recalcitrantes visto que os microrganismos desempenham a tarefa de reciclar a maior parte das moléculas da biosfera, participando dos principais ciclos biogeoquímicos e representando, deste modo, o suporte de manutenção da vida na Terra (GAYLARDE; BELLINASSO; MANFIO, 2005).

Uma variedade de gêneros de bactérias e fungos com as mais diversas capacidades metabólicas podem ser utilizados na biorremediação, como por exemplo *Azospirillum*, *Enterobacter*, *Proteus*, *Klebsiella*, *Bacillus*, *Arthrobacter*, *Nocardia*, *Fusarium* etc. (ROSA; FRACETO; MOSCHINI-CARLOS, 2012).

As técnicas de biorremediação podem ser classificadas de acordo com o local onde acontece a biodegradação, quando a técnica é realizada no próprio local denomina-se *in situ* e *ex situ* quando o compartimento contaminado é removido para ser remediado fora do local de contaminação (BERTICELLI et al., 2016).

Outra forma de classificar os processos de biorremediação é em função do tipo de modificação que é realizado no ambiente contaminado, podendo haver somente o monitoramento da contaminação (atenuação natural) até a adição de nutrientes ou microrganismos (bioestimulação e bioaugmentação, respectivamente) (BERTICELLI et al., 2016).

Ainda existe a técnica de bioventilação quando há adição de gases estimulantes, como o O₂ e o CH₄, para aumentar a atividade microbiana decompositora. O landfarming, quando é aplicado e incorporado contaminantes ou rejeitos contaminados na superfície do solo não contaminado para promover a degradação. E, por fim, a compostagem, onde são utilizados microrganismos termofílicos aeróbios em pilhas construídas a fim de degradar o contaminante (ROSA; FRACETO; MOSCHINI-CARLOS, 2012).

As técnicas de biorremediação podem ser utilizadas isoladamente ou em conjunto e cada uma irá se adequar melhor ou pior ao sistema ao qual o solo está submetido (ROSA; FRACETO; MOSCHINI-CARLOS, 2012).

A atividade microbiana, geralmente, é maior quando é acrescentado material vegetal ao solo do que quando se adicionam apenas nutrientes. A adição de material vegetal demonstra também que a transformação microbiológica de um herbicida, por exemplo, pode estar

ocorrendo pelo processo conhecido como cometabolismo. Em outras palavras, a molécula é degradada sem que sejam aproveitados carbono e energia, oriundos de sua degradação, pelos microrganismos (PRATA; LAVORENTI, 2000).

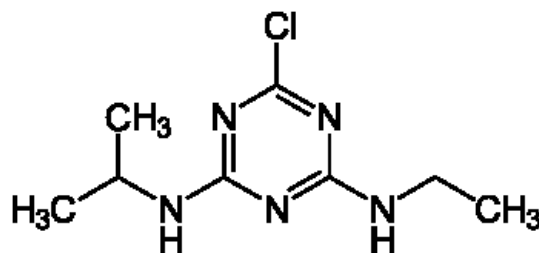
Recentemente tem-se notado ainda que múltiplas aplicações de determinados agrotóxicos podem ter como consequência uma degradação mais acentuada do composto em determinados solos e essa ocorrência está também diretamente relacionada com a atividade microbiana no solo. Esse fenômeno é chamado de degradação acelerada e depende do tipo de solo, da microbiota presente, do valor nutricional da molécula do agrotóxico, da disponibilidade e da toxicidade do composto aos microrganismos (PAPINI; ANDREA; LUCHINI, 2014).

2.4 O HERBICIDA ATRAZINA

A atrazina é um dos herbicidas mais utilizados no mundo principalmente nos países produtores de grãos, como Argentina, Estados Unidos e Brasil. Esse herbicida é utilizado para o controle de ervas daninhas de folhas largas principalmente nas culturas de milho e cana-de-açúcar (COLLA et al., 2008).

A atrazina pertence à classe das triazinas, recebendo o nome químico de 2-cloro-4-etilamina-6-isopropilamina-s-triazina (COLLA et al., 2008), ela possui uma simetria de sua estrutura aromática, que tem átomos de carbono e nitrogênio alternados em um anel benzênico de seis membros (BAIRD; CANN, 2011), sua fórmula estrutural é mostrada na Figura 1.

Figura 1 – Estrutura da Atrazina



Fonte: Javaroni, Landgraf e Rezende (1999).

É um composto polar, fracamente básico e sua estabilidade pode ser explicada pela configuração eletrônica de seu anel heterocíclico. É solúvel em alguns solventes orgânicos como éter, acetona, benzeno, clorofórmio, etanol e acetato de etila (MARCHESAN, 2016). As principais características da atrazina estão apresentadas na Tabela 1.

Tabela 1 – Propriedades físico-químicas do herbicida atrazina

Propriedade	Valores para atrazina
Fórmula química	$C_8H_{14}ClN_5$
Solubilidade em água a 25°C	33 mg L ⁻¹
Densidade	1,187 gcm ⁻³
Peso molecular	215,69 g mol ⁻¹
Pressão de vapor	3x10 ⁷ mmHg
Ponto de fusão	176 °C
Log K _{ow} a 25°C	2,68
pKa a 21°C	1,7
Constante da Lei de Henry	2,48x10 ⁻⁹ atm m ³ mol ⁻¹

Fonte: Rodrigues e Almeida (1995); Cohen et al. (1984).

Estudos de campo sobre a persistência da atrazina em solos mostraram meias-vidas muito variadas, alguns de cerca de 30 a 60 dias, enquanto outros relatam meias-vidas mais curtas de 8 dias. Em laboratório, meias-vidas muito mais curtas, de cerca de 5 a 20 dias foram relatadas, comparadas a outras de 120 dias. Esta variação tem relação direta à adsorção de atrazina à matéria orgânica e à vegetação, ao pH do solo e à história de tratamento com atrazina (POPOV et al., 2005). Em Latossolo, foi observada uma meia-vida entre 18 e 21 dias para a atrazina comercial e xerogel (TREZZI et al., 2013).

A elevada persistência da atrazina nos solo e sedimentos é devido a sua alta capacidade de adsorção em argilas e materiais carbonáceos. A atrazina é relativamente solúvel em água e o mecanismo de ação deste pesticida é bloquear a fotossíntese pela interrupção da reação de Hill da planta no estágio fotoquímico, causando clorose e necrose foliar (JAVARONI; LANDGRAF; REZENDE, 1999; BAIRD; CANN, 2011; MARCHESAN, 2016).

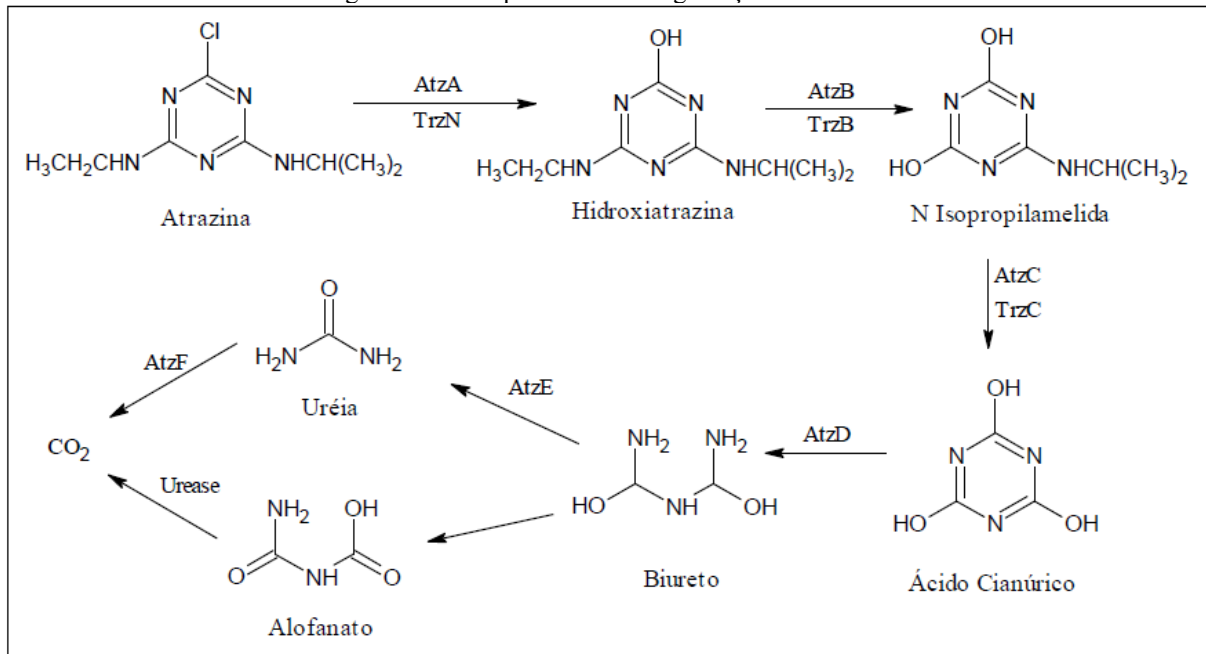
A afinidade da atrazina com os solos é diminuída em razão do baixo teor de matéria orgânica do mesmo, facilitando assim o processo de lixiviação e resultando em redução no tempo de ação do herbicida no controle de plantas daninhas e, assim, aumentando a contaminação das águas subterrâneas (MARCHESAN, 2016).

As principais vias de degradação da atrazina no meio ambiente são a dealquilação biológica, hidrólise química e hidrólise biológica. A quebra da ligação carbono-cloro leva a formação de hidroxiatrazina, entre eles a dietilhidroxiatrazina (DEHA) que é um dos principais produtos de degradação no solo e na água (COELHO; DI BERNARDO, 2012).

A biodegradação da atrazina, levando a formação de dióxido de carbono e amônia é composta por seis hidrólises sucessivas, iniciando pela descloração, duas desalquilações, uma clivagem do anel, uma desaminação do biureto e uma hidrólise do alofanato (UDIKOVIĆ-KOLIĆ; SCOTT; MARTIN-LAURENT, 2012). A Figura 2 apresenta a principal via de degradação biológica da atrazina, a qual acontece pela expressão do gene *atzA*, sendo possível

que ocorra a mineralização da atrazina através da bioaugmentação e bioestimulação da microbiota (SENE et al., 2010).

Figura 2 – Principal via de biodegradação da atrazina



Fonte: Javaroni, Landgraf e Rezende (1999); Sene et al. (2010).

A biodegradação da atrazina pode variar de acordo com o tipo de solo, microbiota presente e disponibilidade de nutrientes como carbono e nitrogênio, estando entre os processos mais efetivos de detoxificação dos herbicidas no ambiente. A degradação microbiana pode ser bastante expressiva para a inativação da atrazina como herbicida, porém seus metabólitos podem persistir por longo tempo no solo (MARCHESAN, 2016).

Os metabólitos mais comuns, resultantes da degradação da atrazina, são deetilatrazina, deisopropilatrazina, dietilhidroxiatrazina, hidroxiatrazina e didealkilatrazina, os quais podem apresentar variações de persistência e toxicidade (GRAYMORE; STAGNITTI; ALLINSON, 2001).

A atrazina pode induzir a seleção da população microbiana do solo, que tem capacidade de metabolizar o pesticida como fonte de energia (POPOV et al., 2005). Repetidas aplicações de um herbicida podem incrementar esta seleção gerando aceleração na sua degradação, reduzindo assim a meia-vida do composto e os efeitos pretendidos. A mineralização de atrazina aumenta com o uso frequente do herbicida, sendo considerada um mecanismo natural de biorremediação (MARCHESAN, 2016).

Algumas espécies microbianas isoladas de solo são capazes de metabolizar parcialmente os compostos triazínicos, tais como *Pseudomonas*, *Nocardia*, *Rhodococcus*

NI86/21, TE1 e B-30, *Aspergillus fumigatus* e *Rhizopus stolonifer* (BEHKI; KHAN, 1986, 1994).

Trabalhos mais recentes apresentam outras espécies e estirpes microbianas que também exibem potencial em metabolizar a atrazina é o caso *Arthrobacter* sp. (WANG; XIE, 2012), *Arthrobacter* sp. C3 (WANG et al., 2015), *Bacillus subtilis* estirpe HB-6 (WANG et al., 2014), *E. cloacae* estirpe JS08 (SOLOMON; KUMAR; SANTHI, 2013; SOLOMON et al., 2013), *Ensifer* sp. (MA et al., 2017), *Pseudomonas* sp. ZXY-1 (ZHAO et al., 2017) e *Xanthomonas* sp. ARB2 (SAWANGJIT, 2016).

A utilização intensiva de agrotóxicos intervém diretamente nos recursos naturais e apresenta potencial em alterar a composição de espécies, diminuir a diversidade, interferir nos padrões normais de sucessão e alterar cadeias alimentares inteiras (SINGH et al., 2017). Alguns dos efeitos negativos da atrazina estão apresentados na Figura 3.

Figura 3 – Toxicidade e efeitos prejudiciais da atrazina em humanos, plantas, animais e microrganismos

ROEDORES	HUMANOS	PLANTAS NÃO-ALVO E MICRORGANISMOS
<ul style="list-style-type: none"> • Inibição da liberação do hormônio liberador de gonadotrofina (GnRH) em ratas; • Alterações proliferativas nas glândulas mamárias em ratos fêmeas envelhecidas; • Indução de câncer e proliferação de cânceres pré-existentes dependentes de estrogênio; • Alteração no nível do hormônio hipofisário, como o hormônio folículo estimulante (FSH) e o hormônio luteinizante (LH) em ratas infantis. 	<ul style="list-style-type: none"> • Interrompe o controle hipotalâmico da função pituitária-ovariana; • Induz apoptose da linhagem celular de neuroblastoma humano SH-SY5Y; • Induz a expressão de aromatase dependente de SF-1 e disruptor endócrino; • Impacto celular em hepatócitos primários humanos e na linha de células estaminais hepáticas (células HepaRG). 	<ul style="list-style-type: none"> • Redução da população microbiana útil; • Estresse oxidativo; • Inibidores potentes da Plastoquinona (molécula de quinona isoprenóide envolvida na cadeia de transporte de elétrons nas reações de fotossíntese dependentes de luz); • Efeitos negativos em algas, fungos, leveduras e protozoários.

Fonte: Adaptado de Singh et al. (2017).

A atrazina foi um dos herbicidas mais tóxicos num estudo que comparou a toxicidade aguda de 40 herbicidas exercendo nove diferentes modos de ação sobre a alga verde *Raphidocelis subcapitata*, sendo que a fotossíntese foi o processo mais sensível aos herbicidas testados (MA et al., 2006).

Alguns estudos sugerem um potencial disruptor do desenvolvimento sexual normal em sapos machos levando a desmasculinização da laringe masculina e a produção de hermafroditas, sendo portanto considerado um fator nos declínios globais de anfíbios (HAYES et al., 2002).

Devido a sua atividade endócrina, a Agência de Proteção Ambiental Americana (USEPA) considera a atrazina como provável substância carcinogênica, porém ainda é difícil definir a relação segura entre a exposição por atrazina e certos tipos de câncer. Existem muitos estudos que associam a exposição à atrazina ao surgimento de alguns tipos de câncer, como de linfomas não-Hodgkin's, cânceres na bexiga e no pulmão, câncer de mama (ROSS et al., 2003; SIMPKINS et al., 2011).

Em mulheres, a exposição à atrazina pode levar ao aumento da irregularidade do ciclo menstrual, fases foliculares mais longas e diminuição dos biomarcadores endócrinos do ciclo menstrual dos ciclos ovulatórios inférteis (CRAGIN et al., 2011).

Outras consequências dessa exposição também foram relatadas como retardo do crescimento intrauterino, nascimentos pequenos para a idade gestacional, aborto espontâneo e redução da qualidade do sêmen (ARBUCKLE; LIN; MERY, 2001; MUNGER et al., 1997; SWAN, 2006; OCHOA-ACUÑA et al., 2009). Além disso, a atrazina também é conhecida pelos efeitos de desregulação endócrina (INOUE-CHOI et al., 2016).

A Portaria nº 2.914/2011 do Ministério da Saúde estabelece, para a atrazina, o valor máximo permitido de $2 \mu\text{g L}^{-1}$ como padrão de potabilidade e não faz referência aos metabólitos (BRASIL, 2011). Para ser considerado agente poluente, os valores de atrazina devem ser maiores $0,003 \text{ mg kg}^{-1}$ no solo, baseado na resolução do CONAMA nº 357/05.

De acordo com Traghetta et al. (1996), na década de 90, nos EUA e Europa, a atrazina atingiu níveis superiores ao permitido ($3,0 \mu\text{g L}^{-1}$ nos EUA; $0,5 \mu\text{g L}^{-1}$ na Europa) em aquíferos, sendo que na Alemanha seu uso está proibido desde 1991.

2.5 RESÍDUO DE LEVEDURA DA INDÚSTRIA CERVEJEIRA

De acordo com Decreto nº 6.871 de junho de 2009, a cerveja é uma bebida obtida através da fermentação alcoólica do mosto cervejeiro oriundo do malte de cevada e água potável, por ação da levedura e com adição de lúpulo. Ela é classificada de acordo com o extrato primitivo (cerveja leve, comum, extra e forte), quanto à cor (cerveja clara e escura), quanto ao teor alcoólico (cerveja sem álcool e com álcool), quanto à proporção de malte de cevada (cerveja puro malte, cerveja e cerveja com o nome do vegetal predominante) e quanto à fermentação (baixa e alta fermentação).

O malte da cevada e o lúpulo podem ser supridos pelos seus extratos, já parte da cevada pode ser substituída por outros cereais, principalmente o arroz, trigo, centeio, milho, sorgo e aveia (AQUARONE et al., 2001).

As leveduras utilizadas nas cervejarias são convencionalmente divididas em duas classes principais, de baixa fermentação e de alta fermentação. A cerveja também é dividida em duas categorias muito amplas de acordo com as quais a levedura é usada, respectivamente, lager e ale. A levedura lager conduz a fermentação em temperaturas baixas (inferiores a 12°C) com o fermento localizado no fundo dos fermentadores. Já as leveduras de alta fermentação, cerveja do tipo ale, a fermentação se dá em temperaturas superiores a 20°C, com o fermento na superfície do fermentador (OETTERER, 2006).

As etapas da produção da cerveja podem ser divididas em três fases, sendo elas produção do mosto que engloba os processos de moagem do malte, mosturação, filtração e cozimento, a segunda etapa é a fermentativa, abrangendo a fermentação e maturação, e por fim, a fase de acabamento que fazem parte as etapas de filtração, carbonatação e envase (OETTERER, 2006).

Durante a etapa da fermentação, a levedura converte açúcares em álcool, é nesta fase que a levedura se multiplica resultando num grande volume de biomassa ao final do processo. Nesta etapa não é apenas produzido o etanol e dióxido de carbono, mas também outros compostos como álcoois superiores, ácidos orgânicos, ésteres, aldeídos, cetonas, compostos de enxofre que desempenham um papel fundamental no perfil sensorial da cerveja (FERREIRA et al., 2010).

A biomassa de levedura é o segundo principal subproduto da indústria cervejeira, ficando atrás apenas dos grãos do malte. Durante a fermentação, a biomassa de levedura aumenta de três a seis vezes. Em uma fermentação típica de lager aproximadamente 2,6 kg de sólidos excedentes de levedura são produzidos por metro cúbico de cerveja produzida. A mesma biomassa pode ser reutilizada algumas vezes, cerca de quatro a seis vezes, porém existe uma limitação dessa prática em função de manter a qualidade da bebida (FERREIRA et al., 2010).

A levedura *S. cerevisiae* é um microrganismo aeróbio facultativo mais empregado na produção de cerveja, tendo uma boa tolerância ao estresse osmótico e ao etanol (BADOTTI et al., 2010). Em função de sua estrutura celular e organização funcional, também é um promissor organismo eucariótico unicelular para a avaliação toxicológica de xenobióticos, como herbicidas, por exemplo. Além disso, *S. cerevisiae* é um organismo eucariótico que é geralmente considerado seguro, proporcionando seu manuseio seguro em análises laboratoriais (ALVES-PEREIRA et al., 2015).

Alguns estudos apontam a levedura *S. cerevisiae* com potencial em remover vários tipos de corantes têxteis diazo (AKSU, 2003), a biomassa de *S. cerevisiae* também foi utilizada como adsorvente na remoção de chumbo (Pb^{2+}) (FERREIRA et al., 2007) além de possuir capacidade de bioacumular diversos metais como prata, cádmio, cobalto, cobre, urânio, zinco e tório (LEMOS et al., 2008).

Wu et al. (2018) utilizaram bionanomaterial magnético com *S. cerevisiae* para remover atrazina em solução aquosa e verificaram que a atrazina foi consumida como única fonte de carbono, indicando assim um grande potencial para biorremediação. Em outro trabalho, tanto a adsorção como a biodegradação por meio de um bionanocompósito magnético de *S. cerevisiae* e óxido de ferro contribuíram para a remoção da atrazina em solução aquosa (ZHU et al., 2018).

2.6 SISTEMA DE PLANTIO DIRETO E A PALHA DO MILHO

O sistema de plantio direto tem ganhado destaque nos últimos anos, isso se deve principalmente pelo fato de que as palhadas acumuladas propiciam ambientes favoráveis à recuperação e à manutenção da qualidade do solo (KLIEMANN; BRAZ; SILVEIRA, 2006).

Essa camada de material vegetal constitui reserva de nutrientes, aumenta a infiltração de água no solo, diminui a erosão e a evaporação edáfica, melhora a estrutura do solo e aumenta a sua CTC (OLIVEIRA et al., 1999). Além disso, a cobertura morta pode agir no controle das plantas daninhas, visto que solos com cobertura uniforme e espessa de resíduos apresentam infestação bastante inferior àqueles desprotegidos (RODRIGUES, 1993).

Primeiramente, a cobertura vegetal morta depositada sobre os solos submetidos ao plantio direto atua como uma barreira de retenção de herbicidas, reduzindo seu potencial de lixiviação. Uma segunda possibilidade é a intensificação da degradação do herbicida pela maior atividade microbiana em solos com maior quantidade de palha sobre a superfície (MARCHESAN, 2016).

A palha de milho é um importante resíduo agrícola e representa cerca de 10 % do peso da espiga do milho seca. Este material vegetal é constituído principalmente de carboidratos complexos como a celulose e hemicelulose e também de lignina, por isso é considerada uma fibra natural do tipo lignocelulósica (Tabela 2) (BISWAS et al., 2006; PAES; TEIXEIRA; MARTINS, 2008; REDDY; YANG, 2005).

Tabela 2 – Composição química da palha de milho

Componente	Palha de milho bruta (%)
Lignina Klason	19,00 ± 2,10
Lignina solúvel	1,70 ± 1,32
Celulose	32,24 ± 2,01
Hemicelulose A	29,39 ± 1,32
Hemicelulose B	10,47 ± 1,19

Fonte: Adaptado de Ribeiro (2013, p. 30).

A celulose é o composto mais abundante na palhada, sendo esta um polímero linear, com regiões amorfas e cristalinas, formado exclusivamente por moléculas de anidro-glicose. Já as hemiceluloses são compostas pelos açúcares glicose, manose e galactose (hexoses), como também por pentoses (xilose e arabinose), e ainda podem apresentar ácidos urônicos e desoxi-hexoses. Por fim, a lignina é uma macromolécula bastante complexa e é formada pela polimerização desidrogenativa de álcoois hidroxicinâmicos (p-cumarílico, coniferílico e sinapílico) (MASARIN, 2010).

A decomposição desses restos de culturas vegetais depende das características da própria palhada (como a relação C/N, teor de lignina e tamanho dos fragmentos) e das condições ambientais, que vão determinar a atividade dos organismos decompositores (HOLTZ, 1995).

3 OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GERAL

Verificar a degradação do herbicida atrazina através do bioaumento com *S. cerevisiae* e adição de palha de milho, além de comparar um solo com histórico de utilização de atrazina e outro sem histórico.

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Verificar o potencial de *S. cerevisiae* na degradação da atrazina;
- Avaliar o efeito de diferentes concentrações de levedura na degradação da atrazina no solo;
- Avaliar o efeito de diferentes concentrações de palha de milho na degradação da atrazina no solo;
- Avaliar o efeito de diferentes doses de atrazina no processo de biorremediação;
- Comparar a eficiência da biodegradação da atrazina em solo agrícola com microbiota adaptada e em solo com microbiota não adaptada;
- Caracterizar os dois tipos de solo utilizados no experimento;
- Avaliar o teor de atrazina nas amostras de solo antes e após o processo de biorremediação.

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 TESTE DE DEGRADAÇÃO

Para verificar a capacidade de degradação do herbicida atrazina pela levedura *S. cerevisiae* preparou-se 50,0 mL de meio de cultura líquido para leveduras YW (extrato de levedura 3,0 g, extrato de malte 3,0 g, peptona 5,0 g, glicose 10,0 g, ágar 15,0 g L⁻¹) e adicionou-se 5,0 mL da levedura residual de cervejaria (Fermentis S04). O meio de cultura foi incubado em agitador orbital a 28 °C e 150 rpm, durante 12 horas. Após o período de incubação, o inóculo a ser testado foi padronizado pela Escala de Mc Farland nº 0,5, com aproximadamente 1,5x10⁸ células mL⁻¹.

Após a padronização do inóculo, o mesmo foi deixado durante 24 horas a 25 °C para que toda a reserva de glicogênio fosse consumida. Então, foram inoculadas alíquotas de 5,0 µL do inóculo padronizado em placas de Petri com o meio de cultura Yeast Nitrogen Base (YNB) com atrazina nas doses 5,0 e 25,0 g L⁻¹ e YNB com glicose 0,5 mol L⁻¹ (controle) e incubados a 25 °C por 48 horas. Após o período de incubação, a capacidade de degradação da atrazina pela levedura foi avaliada observando-se a densidade celular através da comparação de crescimento entre as colônias nos meios de cultura com o herbicida atrazina e com glicose.

4.2 AMOSTRAGEM DE SOLO

As amostras de solo foram coletadas no município de Francisco Beltrão - PR. Foram utilizados dois solos no experimento, um solo agrícola com histórico de aplicações intensivas do herbicida atrazina na cultura de milho (26°00'31" S; 52°56'36" O) e outro solo não agrícola sem histórico de aplicações do herbicida atrazina (26°00'38" S; 52°56'26" O). As amostras foram coletadas a uma profundidade de 0 a 20 cm totalizando vinte subamostras para cada tipo de solo. Foram retiradas alíquotas de solo de cada subamostra, peneiradas em malha 2,0 mm e homogeneizadas, a fim de se obter uma amostra composta.

4.3 CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA DAS AMOSTRAS DE SOLO

A caracterização físico-química dos dois solos utilizados no experimento foi realizada segundo as metodologias descritas por EMBRAPA (1997) e Tedesco et al. (1995) no Laboratório de Solos e Central de Análises da UTFPR – Câmpus Pato Branco.

Os parâmetros analisados dos solos objeto deste estudo foram pH (CaCl_2), matéria orgânica, fósforo e potássio (Mehlich-1), capacidade de troca de cátions (CTC), cálcio, magnésio e alumínio ($\text{KCl } 1,0 \text{ mol L}^{-1}$), acidez trocável (solução SMP), soma de bases (SB), saturação por bases (V) e saturação por alumínio (Sat. Al), micronutrientes (ferro, cobre, zinco e manganês) e análise granulométrica do solo (areia, silte e argila).

4.4 ANÁLISE ELEMENTAR - CHN

A análise química para avaliação da composição elementar (carbono, hidrogênio e nitrogênio) das amostras de solo, palha e solo mais palha foram realizadas em duplicata a partir de 1,0 mg de amostra por combustão a 1000 °C. As medidas foram realizadas no equipamento Perkin Elmer, modelo 2400 CHN, no laboratório da Central Analítica do Instituto de Química da Universidade de São Paulo (IQ-USP).

4.5 BIODEGRADAÇÃO DA ATRAZINA NO SOLO

O planejamento experimental composto rotacional 2^3 com duas repetições no ponto central foi aplicado para determinar a influência do efeito e interações de diferentes concentrações do herbicida atrazina, palha de milho e levedura residual de cerveja na biorremediação do solo (Tabela 3).

Em todas as unidades experimentais, o solo foi contaminado com atrazina formulada comercialmente, Atrazina Atanor 50 SC, conforme a dose recomendada em campo, triplo da dose e cinco vezes a dose, para um volume de 100,0 g de solo. A biomassa de levedura utilizada é proveniente do processo de produção de cerveja artesanal, sendo empregada a levedura do fermento comercial Fermentis S04. A palha de milho utilizada foi recolhida da mesma área agrícola da coleta de solo, esta foi seca em estufa a aproximadamente 70 °C e triturada.

Tabela 3 – Matriz do planejamento experimental 2³ (3 fatores e 2 níveis de variação com duas repetições no ponto central)

Variável	Nível (-1)	Nível (0)	Nível (+1)
Palha de milho (g)	0	0,5	1,0
Levedura (mL)	0	5,0	10,0
Dose de atrazina (µL)	50,0	150,0	250,0

Ensaio	Variáveis		
	Palha de milho	Levedura	Dose atrazina
1	0	0	50,0
2	0	0	250,0
3	0	10,0	50,0
4	0	10,0	250,0
5	1,0	0	50,0
6	1,0	0	250,0
7	1,0	10,0	50,0
8	1,0	10,0	250,0
9	0,5	5,0	150,0
10	0,5	5,0	150,0

Fonte: Autoria própria (2018).

A determinação indireta da biodegradação da atrazina em todos os ensaios foi pelo método da respiração microbiana do solo descrito por Alef (1995). E, o método de quantificação direto para a degradação da atrazina foi através de cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massas (CG/MS) ao longo do experimento. Além disso, foi realizado o acompanhamento da mineralização do nitrogênio dos grupos amina pela espectroscopia de infravermelho médio com transformada de Fourier (FTIR).

4.5.1 Determinação da Respiração Basal do Solo

Os ensaios de respiração basal do solo foram conduzidos no laboratório de Físico-química da UTFPR - Câmpus Francisco Beltrão.

Para o método respirométrico utilizou-se frascos hermeticamente fechados com 100,0 g de solo úmido, previamente peneirado em malha de 2,0 mm, um frasco contendo 15,0 mL de NaOH 0,5 mol L⁻¹ padronizado e outro frasco contendo 10,0 mL de água destilada para manter a umidade. Também, foi preparado uma prova em branco sem adição de solo. Os frascos ficaram incubados à temperatura ambiente. Após o primeiro período de incubação foram retirados os frascos contendo NaOH e transferido para um erlenmeyer contendo 1,0 mL de BaCl₂ (50 %) e duas gotas de fenolftaleína, após foi titulado com HCl 0,5 mol L⁻¹ até o ponto de viragem (rosa para branco). O procedimento foi repetido diariamente nos oito primeiros dias, após esse período a cada três dias e finalmente a cada sete dias. O cálculo da respiração basal do solo (RBS) é obtido através da equação 1.

$$RBS = C-CO_2 \text{ mg kg}^{-1} \text{ h}^{-1} = \{[(b-a) \cdot N \cdot E \cdot 1.000] / g\} / h \quad \text{Equação 01}$$

Onde:

b: volume de HCl gasto na prova em branco;

a: volume de HCl gasto na amostra;

E: equivalente do carbono;

N: normalidade do HCl;

g: massa de solo seco; e

h: horas de incubação.

A respiração basal reflete a atividade da microbiota do solo responsável pela degradação de compostos orgânicos. A vantagem de medir o conteúdo de CO₂ produzido, ao invés de determinar a quantidade de O₂ consumido, está no fato do CO₂ refletir a atividade tanto dos microrganismos aeróbios quanto anaeróbios. Os resultados da respiração basal são expressos em $mg \text{ C-CO}_2 \text{ kg}^{-1} \text{ h}^{-1}$.

4.5.2 Espectroscopia de Infravermelho Médio com Transformada de Fourier

As análises de espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier (FTIR) foram realizadas em equipamento Perkin-Elmer modelo Frontier, no laboratório da Central de Análises da UTFPR - Câmpus Pato Branco.

Para isto, retirou-se as amostras das unidades experimentais no 1º e 63º dia de incubação e posteriormente cada uma foi seca e moída com auxílio de almofariz e pistilo e mantidas em dessecador até o momento das análises.

Os espectros de solo foram gerados no intervalo de 4000 a 400 cm^{-1} , com resolução espectral de 4 cm^{-1} , 64 scans e as pastilhas preparadas empregando-se 1 mg de amostra e 99 mg de KBr. O KBr foi seco previamente a 105 °C durante 3 horas e resfriado em dessecador por 24 horas.

Também foi gerado o espectro de FTIR para a atrazina comercial utilizada no experimento. Para isto, foi necessário a utilização do acessório UATR visto que a amostra, neste caso, estava em estado líquido.

4.5.3 Cromatografia Gasosa Acoplada a Espectrometria de Massas

As análises de cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massas (CG/MS) foram realizadas em equipamento Varian 210 MS, no laboratório da Central de Análises da UTFPR - Câmpus Pato Branco.

A cromatografia gasosa foi utilizada para a determinação da concentração de atrazina presente em cada amostra de cada ensaio. Para isto foram retiradas alíquotas de 10,0 g solo de cada unidade experimental no 1º dia de incubação (tempo zero), 7º dia, 14º dia e 63º dia (final do experimento). Todas as alíquotas retiradas das unidades experimentais foram acondicionadas em tubos tipo Falcon e mantidas congeladas até a extração e posterior realização da cromatografia.

Para a extração da amostra todos estes materiais foram ambientados com metanol grau HPLC. Retiraram-se as amostras de solo do freezer 24 horas antes da extração e as mesmas foram mantidas sob refrigeração até o momento do uso. Cada amostra foi pesada e para cada grama de solo adicionou-se metanol HPLC na proporção 2:1. As amostras então foram agitadas manualmente para completa homogeneização e depois centrifugadas por 10 minutos a 3.000 rpm. Em seguida, o sobrenadante foi filtrado com auxílio de funil com o papel filtro e proveta para armazenagem do conteúdo filtrado. Após, as amostras foram concentradas até um volume aproximado de 10,0 mL, utilizando-se rotaevaporador. Em seguida, as amostras foram filtradas novamente sendo que as paredes internas do balão foram “lavadas” com aproximadamente 2,0 mL de metanol HLPC para remover os resíduos da amostra, volume também empregado para completar 10,0 mL na proveta após a filtragem. O conteúdo resultante foi transferido para tubos tipo Falcon com capacidade para 15,0 mL e armazenados em embalagem livre de luminosidade e posteriormente armazenados em geladeira.

4.6 ANÁLISE ESTATÍSTICA

A fim de determinar qual tratamento foi o mais eficiente, os resultados da respiração basal do solo foram submetidos ao teste de análise de variância (ANOVA) e as médias comparadas pelo teste de médias de Tukey ao nível de 5,0 % de significância, utilizando o *software* Statistica 7.0.

Os dados de respiração basal também foram submetidos à análise de agrupamentos, a qual constitui uma metodologia numérica multivariada a fim de dividir o conjunto de

observações em grupos homogêneos. Para tanto, utilizou-se o cálculo de distância de Manhattan (City-block) e o método de ligação completa. Os dendrogramas foram feitos também com auxílio do *software* Statistica 7.0.

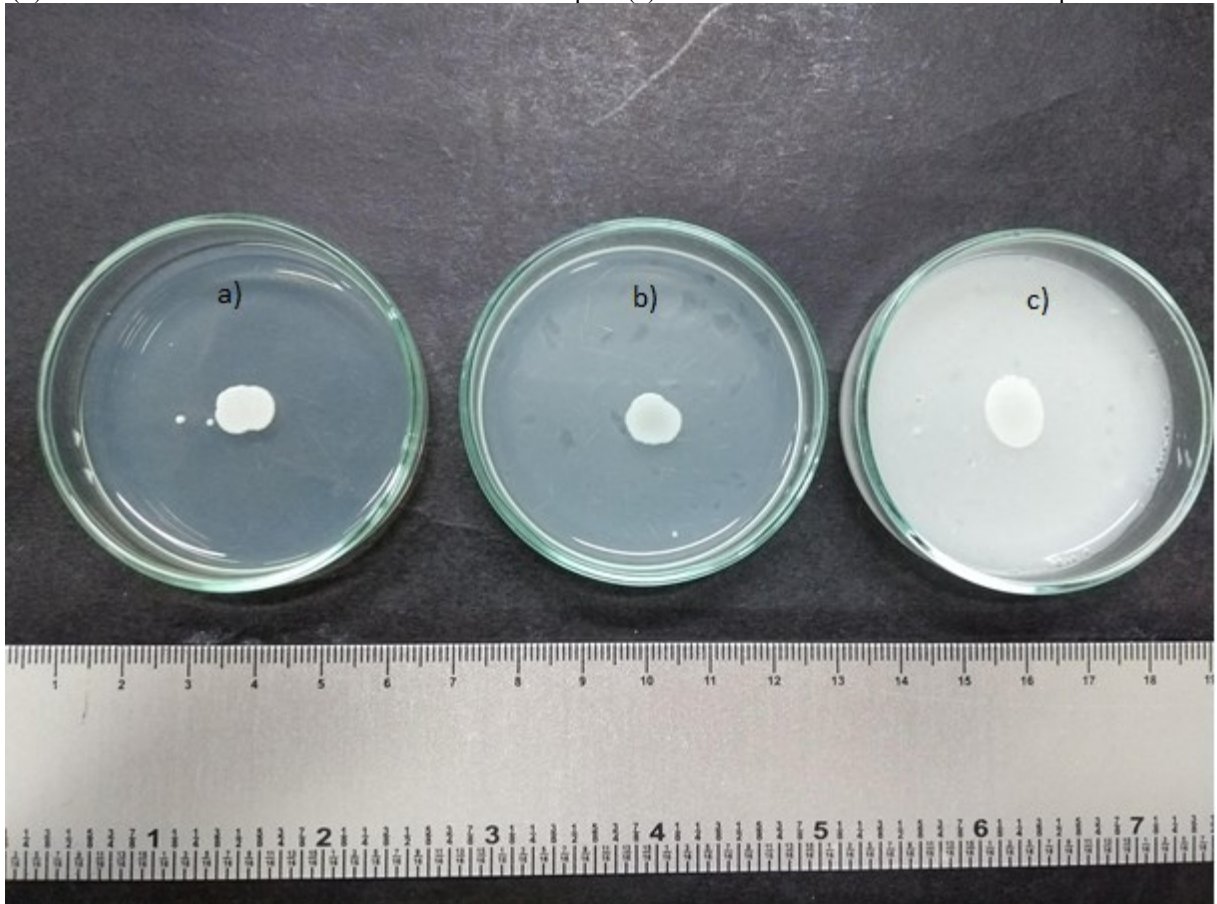
5 RESULTADOS E DISCUSSÕES

5.1 TESTE DE DEGRAÇÃO

Inicialmente avaliou-se o potencial de assimilação da atrazina pela levedura *S. cerevisiae*, proveniente do resíduo de levedura da indústria cervejeira. Para isto, utilizou-se o meio de cultura YNB (Yeast Nitrogen Base), o qual é isento de fonte de carbono, e por isso determina a capacidade das leveduras de assimilar carboidratos. Neste caso, utilizou-se como fonte de carbono a atrazina e também a glicose (controle).

A Figura 4 demonstra o crescimento da levedura em três diferentes meios de cultura. Na primeira placa temos o crescimento da levedura utilizando como fonte de carbono glicose 0,5 M, na segunda placa a fonte de carbono utilizada foi a atrazina 5,0 g L⁻¹ e, por fim, a última placa com atrazina na dose de 25,0 g L⁻¹.

Figura 4 – Comparação do crescimento da levedura *Saccharomyces cerevisiae* em meio (a) YNB com glicose, (b) YNB com atrazina na dose recomendada em campo e (c) YNB com cinco vezes a dose de campo de atrazina



Fonte: Autoria própria (2018).

A partir dos testes realizados, foi possível verificar que a presença da atrazina não prejudicou o crescimento da levedura e que a mesma assimilou atrazina, nas duas doses testadas, tanto quanto a glicose. Assim, a levedura residual do processo de produção de cerveja pode ser utilizada como potencial degradadora do herbicida atrazina.

5.2 CARACTERIZAÇÃO FÍSICA E QUÍMICA DO SOLO

Os solos utilizados nesta pesquisa podem ser classificados como Latossolo. O prefixo “Lat”, indica material muito alterado. Em geral, os Latossolos são solos de intemperização intensa chamados popularmente de solos velhos, sendo definidos pela presença de horizonte diagnóstico latossólico e características gerais como: argilas com predominância de óxidos de ferro, alumínio, silício e titânio, argilas de baixa atividade (baixa capacidade de troca catiônica), fortemente ácidos e baixa saturação de bases. Típicos das regiões equatoriais e tropicais, os Latossolos são de grande ocorrência no Brasil (EMBRAPA, 2006).

Os Latossolos apresentam normalmente baixa fertilidade, exceto quando originados de rochas mais ricas em minerais essenciais às plantas, acidez e teor de alumínio elevado, são em geral solos fortemente ácidos e com baixa saturação por bases. Possuem boas condições físicas para o uso agrícola, associadas a uma boa permeabilidade por serem solos bem estruturados e muito porosos. Porém, devido aos mesmos aspectos físicos, possuem baixa retenção de umidade, principalmente os de textura mais grosseira em climas mais secos (EMBRAPA, 2013).

A disponibilidade de nutrientes também é influenciada pelo valor do pH (medida da atividade de íons hidrogênio na solução do solo). A acidez é uma característica generalizada dos solos agrícolas brasileiros e causa principalmente a diminuição da disponibilidade dos cátions nutrientes (Ca, Mg, K) e aumento na solubilidade de cátions tóxicos (H, Al). A deficiência de Ca e a toxicidade de Al são as principais limitações químicas para o crescimento radicular (PAVAN; MIYAZAWA, 1996).

Os resultados da caracterização física e química dos solos utilizados neste trabalho estão apresentados na Tabela 4. O pH do solo com histórico de utilização de atrazina foi de 5,5 e o do sem histórico de 6,0. Nos processos de biodegradação, o valor ideal para este parâmetro é variável entre os microrganismos que compõem a comunidade degradadora, sendo que os fungos se desenvolvem melhor em solos ácidos (CHRISTOFFOLETI et al., 2008). De acordo com Moreira e Siqueira (2006), os valores considerados ideais para a biodegradação de

agrotóxicos estão entre 5,5 e 8,0, mostrando que os solos utilizados neste estudo atendem este parâmetro.

Tabela 4 – Atributos físicos e químicos dos solos utilizados no experimento

Parâmetro	Solo com histórico de uso de atrazina	Solo sem histórico de uso de atrazina
pH	5,5	6,0
Matéria orgânica (g dm ⁻³)	45,57	36,19
P (mg dm ⁻³)	57,33	241,27
K (mg dm ⁻³)	254,15	0,58
CTC (cmol _c dm ⁻³)	15,01	15,52
Ca (cmol _c dm ⁻³)	7,30	8,90
Mg (cmol _c dm ⁻³)	2,10	3,50
Al ⁺³ (cmol _c dm ⁻³)	0	0
H+Al (cmol _c dm ⁻³)	4,96	2,54
SB (cmol _c dm ⁻³)	10,05	12,98
V (%)	66,96	83,63
Sat. Al (%)	0	0
Fe (mg L ⁻¹)	0,806 ± 0,003	0,60 ± 0,130
Cu (mg L ⁻¹)	0,320 ± 0,004	1,60 ± 0,200
Zn (mg L ⁻¹)	-	0,93 ± 0,020
Mn (mg L ⁻¹)	20,96 ± 0,230	40,20 ± 1,230
Argila (%)	81,0	60,0
Areia (%)	4,30	8,60
Silte (%)	14,70	31,40

Fonte: Autoria própria (2018).

Nota: P = fósforo; K = potássio; CTC = capacidade de troca de cátions; Ca = cálcio; Mg = magnésio; Al⁺³ = alumínio; H+A l= acidez trocável; SB = soma de bases; V= saturação por bases; Sat. Al = saturação por alumínio; Fe = ferro; Cu = cobre; Zn = zinco; Mn = manganês.

A matéria orgânica é importante na formação da estrutura e estabilização de agregados do solo, melhora o crescimento dos sistemas radiculares das plantas e fornece condições adequadas de aeração e umidade. O teor de matéria orgânica para o solo com histórico de utilização de atrazina apresenta valor similar aos valores encontrados na literatura (BALENA, 2011). Já para o solo sem histórico de utilização de atrazina o teor de matéria orgânica encontra-se abaixo dos valores da literatura.

O parâmetro de saturação por bases é um excelente indicativo das condições gerais de fertilidade do solo, dessa forma, os solos podem ser divididos em solos férteis ou eutróficos (V % ≥ 50 %) e solos distróficos ou pouco férteis (V % < 50 %) (RONQUIM, 2010). A saturação por bases do solo com histórico de utilização de atrazina foi de 66,96 %, já para o solo sem histórico obteve-se um valor de 83,63 %, indicando que ambos os solos são férteis.

Estudos têm demonstrado que solos com elevada CTC, altos teores de argila e elevado conteúdo de matéria orgânica, são fatores importantes na adsorção de herbicidas nos solos, diminuindo a lixiviação, impedindo a contaminação de águas subterrâneas (PAVAN; MIYAZAWA, 1996). A CTC também é uma forma de quantificar as cargas negativas do solo

associadas à argila (grupos hidroxilas expostos) e MO (grupos carboxila – COOH e fenólicos Ar-OH).

A CTC com valores inferiores a 14 são considerados baixos, entre 14 e 19 médios, e acima de 19 altos (PAVAN; MIYAZAWA, 1996). Os valores da CTC para ambos os solos tiveram valores próximos de $15,00 \text{ cmol}_c \text{ dm}^{-3}$, sendo este considerado valor médio. Um solo com alta CTC apresenta maior capacidade de reter íons como cálcio, magnésio, amônio etc., nutrientes das plantas e também apresenta maior capacidade de retenção de água.

Os Latossolos que possuem elevada concentração de ferro são argilosos (mais de 50 % de argila) e apresentam capacidade de troca catiônica (CTC) considerada média.

Nos Latossolos desenvolvidos de basalto, a maior parte do fósforo se encontra fortemente adsorvida aos compostos de ferro tornando-se pouco disponível para as plantas. A concentração de P variou muito entre os dois solos. O solo com cultivo apresentou $57,33 \text{ mg/dm}^3$ e para o solo sem cultivo $241,27 \text{ mg/dm}^3$. A disponibilidade de P para as plantas pode aumentar com o aumento de compostos orgânicos no solo (SILVA et al., 2003).

Os teores de Mg e Ca são usados como indicadores do nível de fertilidade do solo. Em geral os solos do Paraná contêm mais Ca^{2+} do que Mg^{2+} devido principalmente à maior solubilidade do Mg^{2+} (mais lixiviado) e também pela quantidade de Magnésio no material de origem (PAVAN; MIYAZAWA, 1996).

A diferença na concentração de potássio (K) é ainda mais expressiva entre os dois tipos de solo. O solo com cultivo, que apresenta a maior concentração ($254,15 \text{ mg/dm}^3$), enquanto que o solo sem cultivo $0,58 \text{ mg/dm}^3$. Esse valor elevado de potássio, reflete as práticas de campo, visto que esse solo recebe frequentes adições de sais de potássio (KCl).

Em geral, a taxa de decomposição de resíduos orgânicos é inversamente proporcional ao conteúdo de argila, pois quando o teor de argila é mais elevado, há maior retenção dos compostos orgânicos aos colóides do solo, reduzindo sua disponibilidade ao ataque microbiano (CHRISTOFFOLETI et al., 2008). Os teores de argila encontrados, para ambos os solos, são considerados elevados.

5.3 DETERMINAÇÃO DA COMPOSIÇÃO ELEMENTAR

O carbono e o nitrogênio são os principais componentes da matéria orgânica do solo e os seus estoques variam em função das taxas de adição de resíduos vegetais e, ou, animais, e de perda, dentre elas, as decorrentes da erosão e da oxidação pelos microrganismos do solo. Todas

as determinações da composição elementar foram realizadas em duplicata e, os valores médios estão apresentados na Tabela 5.

Tabela 5 – Caracterização por análise elementar dos solos e da palha de milho utilizados no experimento

Amostra	% Carbono	% Hidrogênio	% Nitrogênio	H/C	C/N
1A	3,68	1,54	0,33	5,006	13,01
1B	3,76	1,57	0,30	5,011	14,70
1C	5,06	1,60	0,31	3,794	19,04
1D	42,21	5,73	0,82	1,628	60,05

Fonte: Autoria própria (2018).

Nota: 1A = Solo sem histórico de aplicação de atrazina; 1B = Solo com histórico de aplicação de atrazina; 1C = Solo com histórico de aplicação de atrazina + palha de milho; 1D = Palha de milho; H/C = razão atômica hidrogênio e carbono; C/N = razão atômica carbono e nitrogênio.

Os dados analíticos das amostras de solo 1A, 1B, 1C e da amostra de palha (1D), mostrados na Tabela 5, permitem observar que os valores encontrados de carbono para as amostras 1A e 1B estão mais elevados do que os dados encontrados na literatura para amostras de latossolo. Justifica-se, por que o sistema de cultivo é o plantio direto, onde os restos de cultura protegem o solo das reações de oxidação (CO_2), preservando mais o carbono e, consequentemente, a matéria orgânica. A amostra 1C (solo + palha + atrazina) apresentou um valor de carbono mais elevado, como era esperado, porque há o incremento de carbono proveniente da palha de milho e da atrazina.

Já para a amostra 1D (palha de milho), o teor de carbono encontrado foi 42,21 % e está abaixo dos valores da literatura (50 %), já o teor de nitrogênio encontrado foi 0,82 % e está acima do valor da literatura (0,75 %). No geral, o teor de carbono obtido por análise elementar, está de acordo com o teor de matéria orgânica obtido pelas análises químicas.

Os teores de hidrogênio e nitrogênio para as amostras 1A, 1B e 1C, estão em conformidade com os valores encontrados na literatura.

Observa-se na Tabela 5 também a razão atômica das amostras de solo e de palha. A razão atômica H/C é usada para avaliar a proporção de grupos alifáticos e aromáticos, sendo que baixa razão H/C é indicativo da existência de estruturas aromáticas (estruturas de mais difícil degradação), enquanto que valores superiores a 1, indicam a existência de estruturas mais alifáticas (estruturas com maior facilidade de degradação) (PEREIRA, 2004). A razão H/C encontrada para as amostras de solo (1A, 1B e 1C), foi bastante elevada, variando de 3,794 a 5,011, indicando estruturas mais alifáticas. Já a razão H/C para a amostra 1D é baixa (1,628), evidenciando a presença de compostos mais aromáticos, como se é esperado devido a composição da palha de milho, que é formada por celulose, hemicelulose e lignina (composto de difícil degradação).

A relação C/N é um índice clássico da atividade biótica do solo e diminui, em casos de aporte de material orgânico rico em C, ou aumenta, em casos de aporte de material orgânico rico em N com o grau de decomposição da MOS até estabilizar-se em valores próximos de 10 a 12 (PEREIRA, 2004).

A relação C/N é importante, pois, controla o balanço entre os processos de mineralização e imobilização de nitrogênio. Quanto maior a razão atômica C/N, mais lentamente o nitrogênio será mineralizado. O maior valor C/N encontrado foi para a amostra 1D (palha de milho), com esperado, sugerindo a lenta mineralização do nitrogênio.

5.4 DETERMINAÇÃO DA BIODEGRADAÇÃO DA ATRAZINA

5.4.1 Respiração Basal do Solo

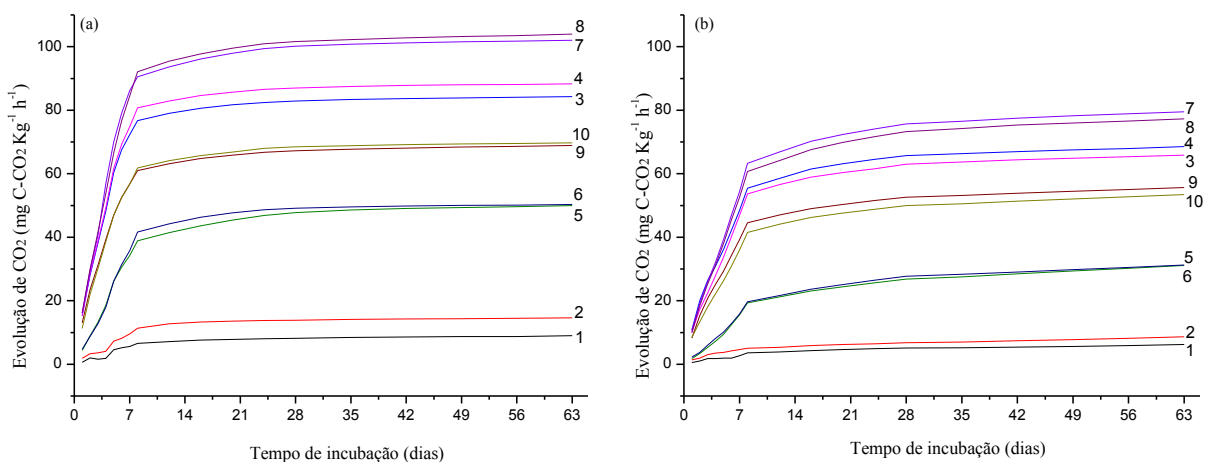
Ao longo do experimento foram feitas leituras de evolução de CO₂ em diferentes intervalos de tempo, durante 8 dias foram feitas leituras diárias e, após esse período, espaçou-se gradativamente até chegar a intervalos de 7 dias entre as leituras (Apêndice A). Os ensaios de respiração basal do solo retratam a liberação de CO₂ pela microbiota nativa do solo e pela biomassa de levedura adicionada como bioaumento em alguns tratamentos. De acordo com Fang et al (2015) a taxa de degradação da atrazina e suas relações potenciais com a estrutura da comunidade bacteriana do solo podem ser altamente dependentes dos tipos de solo.

A Figura 5 apresenta os gráficos de evolução de CO₂ acumulado ao longo do experimento para os dois tipos de solos utilizados. No geral, observa-se que o solo com histórico de utilização de atrazina obteve maiores valores de evolução de CO₂ comparado ao solo sem histórico de utilização de atrazina. Isto pode estar associado ao fato de a comunidade microbiana do solo com histórico de utilização de atrazina ser mais abundante e, também, estar adaptada a metabolização deste composto, visto que este solo recebe aplicações de atrazina regularmente. Em estudo sobre a degradação da atrazina, Leal et al. (2019) observaram uma maior mineralização de atrazina em solo agrícola em comparação com solo de vegetação nativa, o que pode ser devido às repetidas aplicações do herbicida fazendo com que a microbiota se adaptasse ao metabolismo da atrazina. Outra questão analisada no mesmo estudo foi a influência da palha, a qual foi responsável pela redução da mineralização da atrazina em até 30 % no solo agrícola (LEAL et al., 2019).

Os ensaios 7 (1,0 g de palha, 10,0 mL de levedura, dose recomendada de atrazina) e 8 (1,0 g de palha, 10,0 mL de levedura, quintuplo da DR de atrazina) obtiveram os maiores valores de liberação de CO₂ para ambos os solos, sendo que estes dois tratamentos foram os que utilizaram os maiores níveis de palha de milho e levedura. E, os menores valores de taxa respiratória foram para os ensaios 1 (sem palha, sem levedura, dose recomendada de atrazina) e 2 (sem palha, sem levedura, quintuplo da DR de atrazina), os quais não tinham adição de levedura e nem de palha.

Por conseguinte, os pontos centrais, ensaios 9 e 10 (0,5 g de palha, 5,0 mL de levedura, triplo da DR de atrazina), obtiveram valores intermediários e muito próximos, ambos localizados ao centro do gráfico.

Figura 5 – Resultados acumulados dos ensaios de respiração basal para o (a) solo com histórico de utilização de atrazina e (b) solo sem histórico de utilização de atrazina



Nota: 1 = sem palha, sem levedura, dose recomendada de atrazina; 2 = sem palha, sem levedura, quintuplo da DR de atrazina; 3 = sem palha, 10,0 mL de levedura, dose recomendada de atrazina; 4 = sem palha, 10,0 mL de levedura, quintuplo da DR de atrazina; 5 = 1,0 g de palha, sem levedura, dose recomendada de atrazina; 6 = 1,0 g de palha, sem levedura, quintuplo da DR de atrazina; 7 = 1,0 g de palha, 10,0 mL de levedura, dose recomendada de atrazina; 8 = 1,0 g de palha, 10,0 mL de levedura, quintuplo da DR de atrazina; 9 = 0,5 g de palha, 5,0 mL de levedura, triplo da DR de atrazina; 10 = 0,5 g de palha, 5,0 mL de levedura, triplo da DR de atrazina.

Fonte: Autoria própria (2018).

Em estudo sobre a influência do biocarvão sobre a comunidade microbiana de dois diferentes solos contaminados com atrazina e paraquat, Sam, Asuming-Brempong e Nartey (2017) notaram um aumento significativo na taxa de respiração do experimento tratado com 10 vezes a dose de atrazina recomendada. Neste estudo, para o solo com histórico de utilização de atrazina, houve um ligeiro aumento da liberação de CO₂ para os tratamentos com a maior dose do herbicida, quando os fatores biomassa de levedura e palha de milho não variaram.

Chelinho et al. (2010) obtiveram bons resultados em estudos ecotoxicológicos utilizando bioaugmentação com *Pseudomonas* sp. ADP combinada com bioestimulação com

citrato para biorremediação de atrazina na dose recomendada, 10 e 20 vezes a dose recomendada, alcançando efetiva desintoxicação do solo em 10 dias.

Houot; Barriuso; Bergheaud, (1998), utilizaram um composto de resíduos sólidos urbanos e uma palha compostada na biorremediação de solo contaminado com atrazina, ao final do experimento, a presença dos dois tipos de aditivos orgânicos apresentou menor desempenho na mineralização da atrazina e aumentou a formação de resíduos não extraíveis da atrazina. O composto de resíduos sólidos urbanos acelerou a sorção de atrazina, e assim, reduziu sua biodisponibilidade para os microrganismos degradantes, enquanto a palha compostada foi correlacionada com a formação de hidroxiatrazina.

Os resultados da respiração basal do solo mostram que, a adição da palha de milho aumentou as taxas de liberação de CO₂ quando associada à inoculação de resíduo de levedura (ensaios 7 e 8). Os ensaios com apenas adição da palha de milho (ensaios 5 e 6) foram melhores que os ensaios 1 e 2 (sem palha e sem levedura) e inferiores em relação aos tratamentos só com resíduo de levedura (ensaios 3 e 4). De acordo com Moorman et al. (2001) a adição de vários compostos orgânicos, como talos de milho, esterco e turfa melhorou a remoção de atrazina em solos contaminados.

Nota-se também que a partir do oitavo dia de incubação os resultados de evolução de CO₂ de ambos os solos começam a estabilizar, indicando um período de menor atividade microbiana, onde a liberação de CO₂ é mais lenta.

Para todos os tratamentos, o solo sem histórico de utilização de atrazina apresentou uma evolução de CO₂ menor do que o solo com histórico, para o ensaio 1 houve uma redução de 30,67 %, para o ensaio 2 foi de 40,42 %, para o ensaio 3 foi de 18,71 %, para o ensaio 4 foi de 25,44 %, para o ensaio 5 foi de 37,79 %, para o ensaio 6 foi de 37,87 %, para o ensaio 7 foi de 22,07 %, para o ensaio 8 foi de 25,66 %, para o ensaio 9 foi de 19,20 % e para o ensaio 10 foi de 23,30 %.

Assim, o desempenho do solo com histórico de utilização de atrazina foi superior em todos os tratamentos em relação ao solo sem histórico. As maiores diferenças encontradas foram para o ensaio 2 (sem palha, sem levedura, quádruplo da DR de atrazina) seguido dos ensaios 6 (1,0 g de palha, sem levedura, quádruplo da DR de atrazina), 5 (1,0 g de palha, sem levedura, dose recomendada de atrazina) e 1 (sem palha, sem levedura, dose recomendada de atrazina). Nota-se que estes ensaios não tiveram adição de levedura e, deste modo, foram os que apresentaram as maiores diferenças da evolução de CO₂ entre os dois tipos de solos utilizados.

Os resultados da evolução de CO₂ evidenciaram que os ensaios com adição de biomassa de levedura e de palha de milho apresentaram maior atividade microbiana, sugerindo

assim maior degradação do herbicida atrazina. O que pode ser confirmado pelo estudo de Zhu et al. (2018) sobre a remoção de atrazina com um bionanocompósito magnético de *S. cerevisiae* e óxido de ferro, onde foi possível verificar que o bionanocompósito foi eficiente na remoção de atrazina em solução aquosa, mesmo quando as leveduras estavam inativadas, indicando que houve a adsorção do herbicida pelas leveduras. Este material também apresentou potencial para reutilização, com bons resultados na remoção da atrazina.

Através da ANOVA, para o solo com histórico de utilização de atrazina, nota-se que dois dos fatores (biomassa de levedura e palha de milho) apresentaram P-valor menores que o nível de significância considerado ($\alpha=0,05$) para o tempo de 24 horas (Tabela 6). Desta forma, estas duas variáveis são ditas significativas em relação ao comportamento da variável resposta (evolução de CO₂). Assim, pode-se dizer que diferentes níveis destes dois fatores promovem alteração no valor da variável resposta, ao nível de confiança de 95,0 %.

Tabela 6 – Análise de variância para os ensaios de respiração basal do solo com histórico de utilização de atrazina em 24 horas de experimento

Fonte de variação (FV)	Graus de liberdade (GL)	Soma dos Quadrados (SQ)	Quadrados médios (QM)	F calculado	p-valor	
Palha de milho (g)	1	8,3252	8,3252	8,2877	0,034635	**
Biomassa de levedura (mL)	1	330,7446	330,7446	329,2542	0,000009	**
Dose de atrazina (μ L)	1	0,3746	0,3746	0,3729	0,568114	
Erro	5	5,0226	1,0045		0,034635	

** Resultados significativos ao nível de confiança de 95,0 %.

Fonte: Autoria própria (2018).

Já para o solo sem histórico de uso de atrazina, também para o tempo de 24 horas de incubação, nota-se que apenas o fator biomassa de levedura apresentou P-valor menor que o nível de significância considerado ($\alpha=0,05$) (Tabela 7). Desta forma, esta variável é significativa em relação ao comportamento da variável resposta (evolução de CO₂). Assim, diferentes níveis deste fator promovem alteração no valor da variável resposta, ao nível de confiança de 95,0 %.

Tabela 7 – Análise de variância para os ensaios de respiração basal do solo sem histórico de utilização de atrazina em 24 horas de experimento

Fonte de variação (FV)	Graus de liberdade (GL)	Soma dos Quadrados (SQ)	Quadrados médios (QM)	F calculado	p-valor	
Palha de milho (g)	1	0,3556	0,3556	1,0302	0,356678	
Biomassa de levedura (mL)	1	156,8027	156,8027	454,3269	0,000004	**
Dose de atrazina (μ L)	1	0,0016	0,0016	0,0046	0,948674	
Erro	5	1,7257	0,3451			

** Resultados significativos ao nível de confiança de 95,0 %.

Fonte: Autoria própria (2018).

A fim de verificar qual o nível dos fatores significativos, para ambos os solos, apresentou melhores resultados em relação à variável resposta os mesmos foram submetidos ao teste de Tukey, conforme Tabela 8.

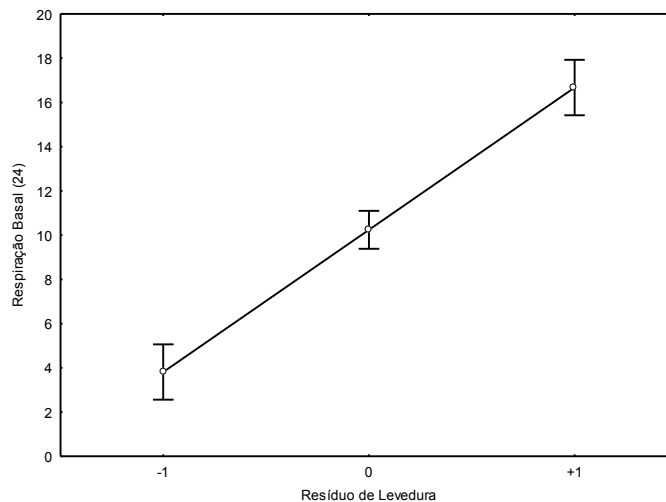
Tabela 8 – Teste de Tukey para os fatores significativos em 24 horas de experimento para ambos os solos

Biomassa de levedura (mL)	Solo com histórico	Solo sem histórico
0	2,87489 a	1,48980 a
5,0	12,11781 b	8,32038 b
10,0	15,73460 c	10,34425 c
Palha de milho (g)	Solo com histórico	Solo sem histórico
0	8,28462 a	-
0,5	12,11781 b	-
1,0	10,32487 ab	-

Fonte: Autoria própria (2018).

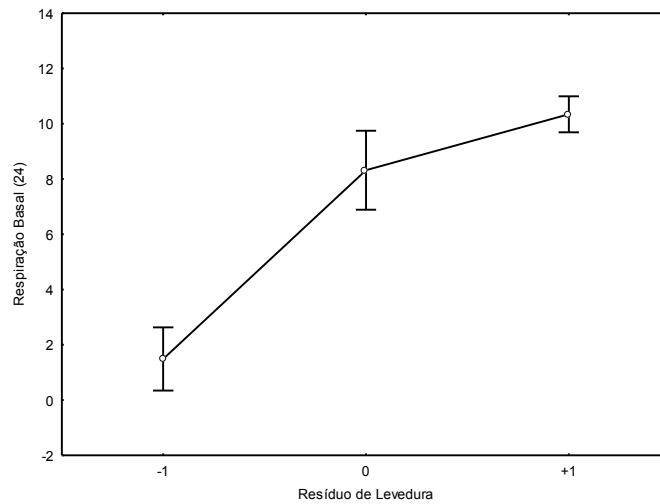
Assim, temos que para o fator biomassa de levedura as maiores taxas de evolução de CO₂ foram obtidas quando utilizada a maior quantidade de levedura em ambos os solos, para 24 de incubação (Figuras 6 e 7).

Figura 6 – Comportamento do fator biomassa de levedura em função da variável resposta em 24 horas para o solo com histórico de utilização de atrazina



Fonte: Autoria própria (2018).

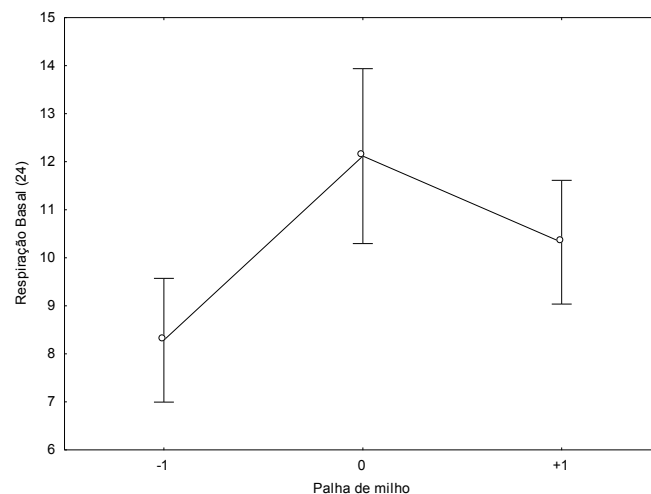
Figura 7 – Comportamento do fator biomassa de levedura em função da variável resposta em 24 horas para o solo sem histórico de utilização de levedura



Fonte: A autoria própria (2018).

O fator palha de milho, que foi significativo apenas no solo com histórico de utilização de atrazina, obteve maiores taxas de evolução de CO_2 quando utilizado o nível intermediário (0,5 g) de palha de milho, em 24 horas de experimento (Figura 8).

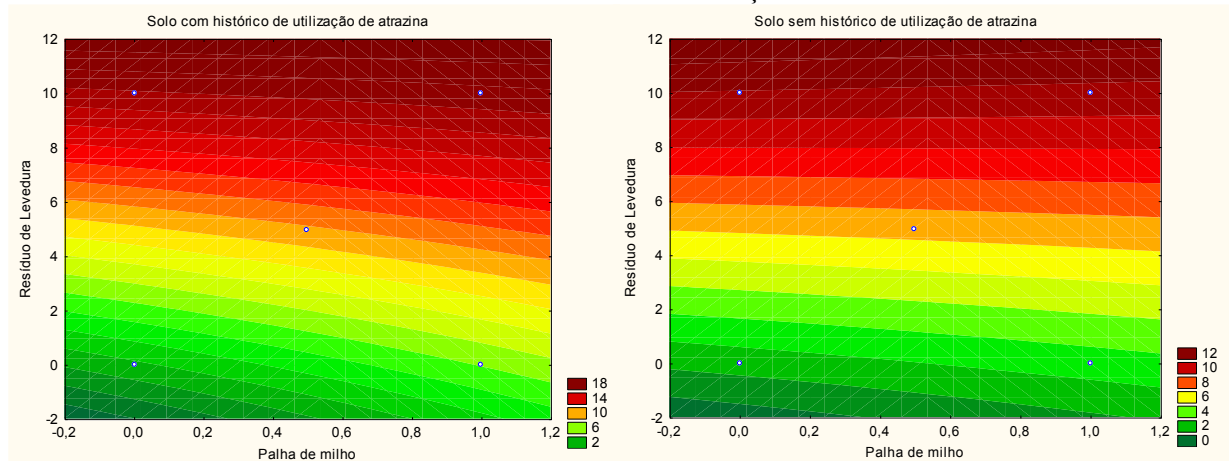
Figura 8 – Comportamento do fator palha de milho em função da variável resposta em 24 horas para o solo 2



Fonte: A autoria própria (2018).

A Figura 9 apresenta o gráfico de superfície de resposta em relação à concentração de levedura e à concentração de palha de milho para o atributo evolução de CO_2 , com a concentração de atrazina fixa no triplo da DR. Observa-se que, para ambos os solos, no início do experimento (24 horas) as taxas de evolução de CO_2 são influenciadas principalmente pela concentração de levedura, e que as concentrações de palha de milho não produzem grandes diferenças na variável resposta.

Figura 9 – Curvas de contorno para a evolução de CO₂ em função das concentrações de levedura e palha de milho em 24 horas de incubação



Fonte: Autoria própria (2019)

Para o solo sem histórico de uso de atrazina após três dias de incubação o fator palha de milho também passa a ser significativo, ao nível de 5,0 %, juntamente com a biomassa de levedura (Tabela 9).

Tabela 9 – Análise de variância para os ensaios de respiração basal do solo sem histórico de utilização de atrazina no terceiro dia de experimento

Fonte de variação (FV)	Graus de liberdade (GL)	Soma dos Quadrados (SQ)	Quadrados médios (QM)	F calculado	p-valor	
Palha de milho (g)	1	2,72344	2,72344	11,6736	0,018906	**
Biomassa de levedura (mL)	1	46,27260	46,27260	198,3403	0,000032	**
Dose de atrazina (µL)	1	0,07939	0,07939	0,3403	0,584989	
Erro	5	1,16650	0,23330			

** Resultados significativos ao nível de confiança de 95,0 %.

Fonte: Autoria própria (2018).

A Tabela 10 apresenta quais níveis de cada um dos fatores significativos produz uma maior evolução de CO₂. As médias dos fatores biomassa de levedura e palha de milho diferiram para os níveis sem adição e não apresentaram diferenças entre os níveis intermediário e máximo.

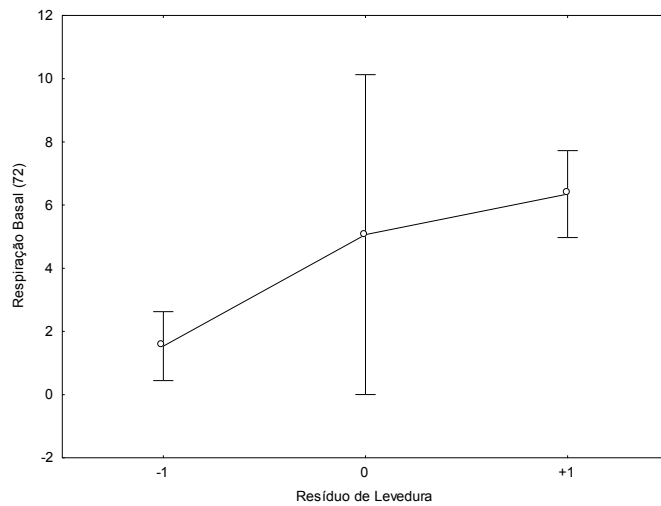
Tabela 10 – Teste de Tukey para os ensaios de respiração basal do solo sem histórico de utilização de atrazina no terceiro dia de experimento

Biomassa de levedura (mL)	Solo sem histórico
0	1,536930 a
5,0	5,066176 b
10,0	6,346950 b
Palha de milho (g)	Solo sem histórico
0	3,358476 a
0,5	5,066176 b
1,0	4,525404 b

Fonte: Autoria própria (2018).

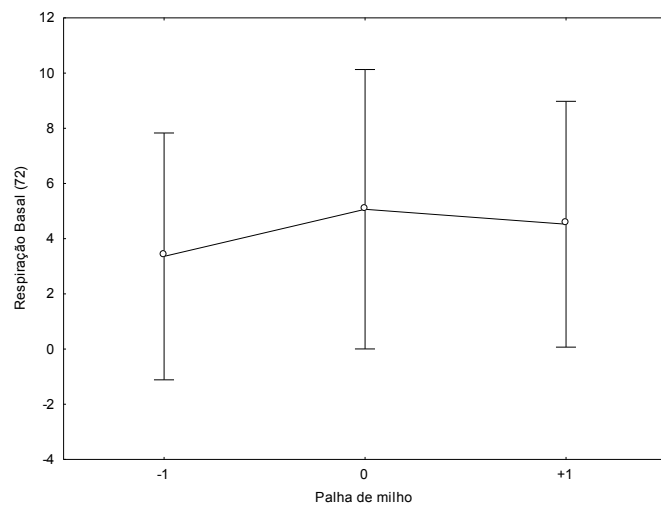
Os melhores resultados de evolução de CO₂ foram obtidos quanto maior a adição de biomassa de levedura, e para a palha de milho os melhores resultados foram para a dose intermediária (Figuras 10 e 11).

Figura 10 – Comportamento do fator biomassa de levedura em função da variável resposta no terceiro dia para o solo sem histórico de utilização de atrazina



Fonte: Autoria própria (2018).

Figura 11 – Comportamento do fator palha de milho em função da variável resposta no terceiro dia para o solo sem histórico de utilização de atrazina



Fonte: Autoria própria (2018).

Após sete dias de incubação os três fatores (biomassa de levedura, palha de milho e dose de atrazina) foram significativos, ao nível de 5,0 %, para o solo com histórico de utilização de atrazina (Tabela 11).

Tabela 11 – Análise de variância para os ensaios de respiração basal do solo com histórico de utilização de atrazina em 7 dias de experimento

Fonte de variação (FV)	Graus de liberdade (GL)	Soma dos Quadrados (SQ)	Quadrados médios (QM)	F calculado	p-valor	
Palha de milho (g)	1	15,17003	15,17003	220,1190	0,000025	**
Biomassa de levedura (mL)	1	29,53603	29,53603	428,5714	0,000005	**
Dose de atrazina (µL)	1	1,18144	1,18144	17,1429	0,008994	**
Erro	5	0,34459	0,06892			

** Resultados significativos ao nível de confiança de 95,0 %.

Fonte: Autoria própria (2018).

Já para o solo sem histórico apenas os fatores biomassa de levedura e palha de milho apresentaram significância, ao nível de 5%, no sétimo dia de incubação (Tabela 12).

Tabela 12 – Análise de variância para os ensaios de respiração basal do solo sem histórico de utilização de atrazina em 7 dias de experimento

Fonte de variação (FV)	Graus de liberdade (GL)	Soma dos Quadrados (SQ)	Quadrados médios (QM)	F calculado	p-valor	
Palha de milho (g)	1	5,08073	5,08073	15,1351	0,011520	**
Biomassa de levedura (mL)	1	50,18522	50,18522	149,4981	0,000065	**
Dose de atrazina (µL)	1	0,00648	0,00648	0,0193	0,894918	
Erro	5	1,67846	0,33569			

** Resultados significativos ao nível de confiança de 95,0 %.

Fonte: Autoria própria (2018).

De acordo com o teste de Tukey é possível verificar quais níveis, de cada um dos fatores significativos, produzem uma maior evolução de CO₂ para ambos os solos (Tabela 13). Para o solo com histórico de utilização de atrazina, as médias dos fatores biomassa de levedura e palha de milho diferiram para os três níveis, já o fator dose de atrazina teve médias distintas apenas para dose mínima e máxima. Já o solo sem histórico de utilização de atrazina, para o fator biomassa de levedura, todas as médias diferiram entre si indicando que maiores doses de levedura produzem maiores incrementos na evolução de CO₂. E, para a palha de milho, a menor dose (0,0 g) diferiu da maior dose (1,0 g).

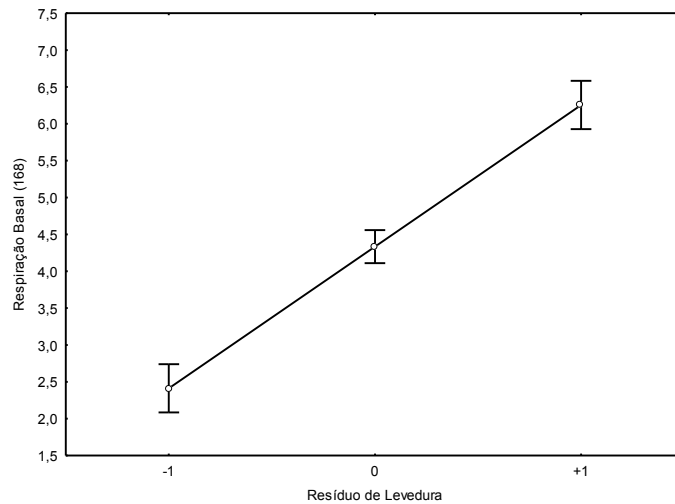
Tabela 13 – Teste de Tukey para os ensaios de respiração basal do solo em 7 dias de experimento

Biomassa de levedura (mL)	Solo com histórico	Solo sem histórico
0	2,465872 a	1,850008 a
5,0	4,227209 b	5,066176 b
10,0	6,308789 c	6,859260 c
Palha de milho (g)	Solo com histórico	Solo sem histórico
0	3,010285 a	3,557708 a
0,5	4,227209 b	5,066176 ab
1,0	5,764376 c	5,151561 b
Dose de atrazina (µL)	Solo com histórico	Solo sem histórico
0,5	4,003039 a	-
1,5	4,227209 ab	-
2,5	4,771622 b	-

Fonte: Autoria própria (2018).

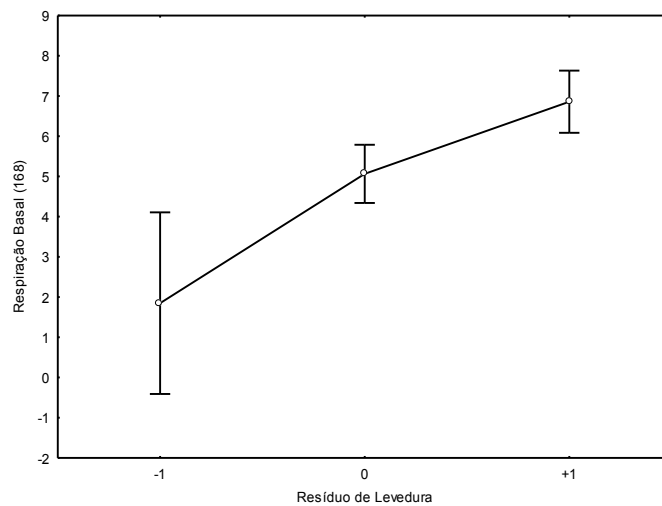
O resíduo de levedura foi melhor na maior dose (10 mL) e diminuiu a taxa de evolução de CO₂ quando não utilizado (0,0 mL), para ambos os solos, em 7 dias de experimento (Figuras 12 e 13).

Figura 12 – Comportamento do fator biomassa de levedura em função da variável resposta em 7 dias para o solo com histórico de utilização de atrazina



Fonte: Autoria própria (2018).

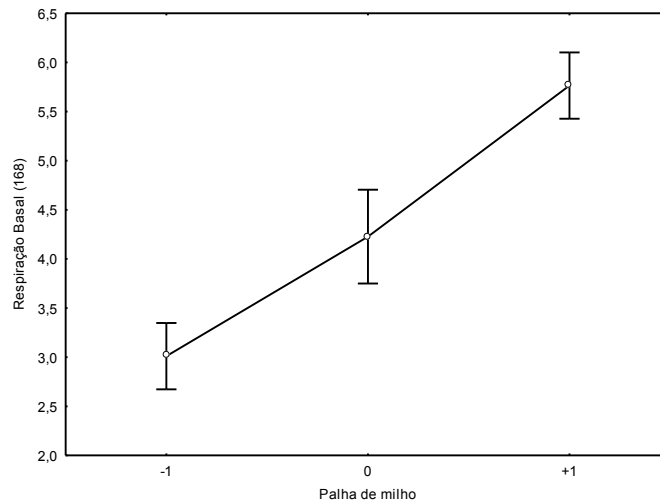
Figura 13 – Comportamento do fator biomassa de levedura em função da variável resposta em 7 dias para o solo sem histórico de utilização de atrazina



Fonte: Autoria própria (2018).

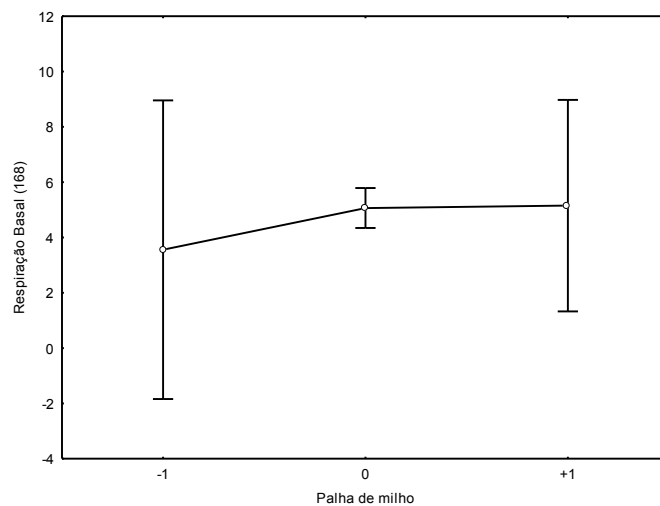
Para o fator palha de milho, obteve-se melhores resultados na maior dose (1,0 g) e piores resultados quando não utilizada a palha, para o solo com histórico de uso de atrazina (Figura 14). Já para o solo sem histórico de uso de atrazina, este fator apresentou médias semelhantes entre os níveis de adição (Figura 15).

Figura 14 – Comportamento do fator palha de milho em função da variável resposta em 7 dias para o solo com histórico de utilização de atrazina



Fonte: Autoria própria (2018).

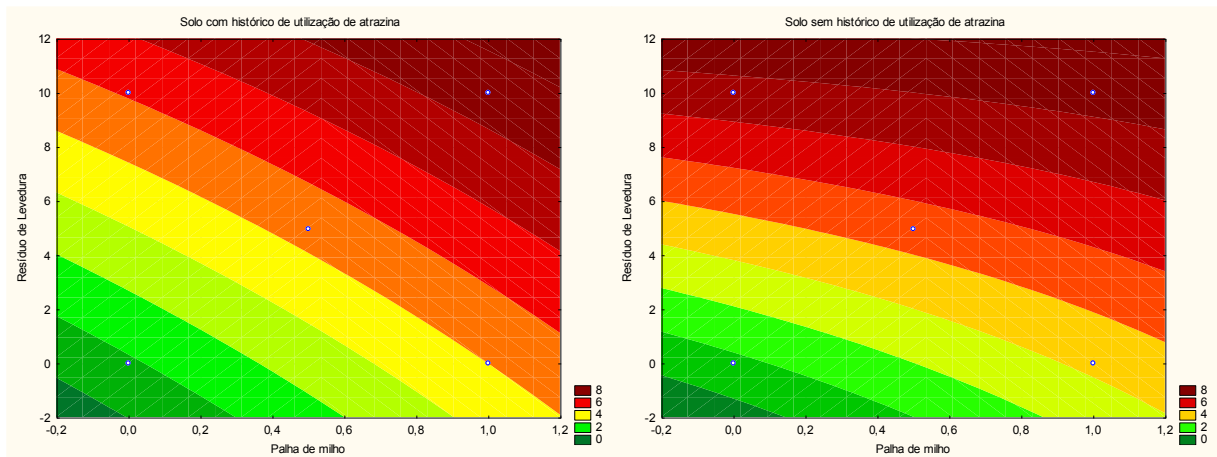
Figura 15 – Comportamento do fator palha de milho em função da variável resposta em 7 dias para o solo sem histórico de utilização de atrazina



Fonte: Autoria própria (2018).

A Figura 16 apresenta o gráfico de superfície de resposta em relação à concentração de levedura e à concentração de palha de milho para o atributo evolução de CO_2 , com a concentração de atrazina fixa no triplo da DR. Neste momento, com sete dias de incubação, as maiores concentrações de levedura e de palha de milho produzem as melhores respostas de evolução de CO_2 e conseqüente degradação da atrazina presente no experimento.

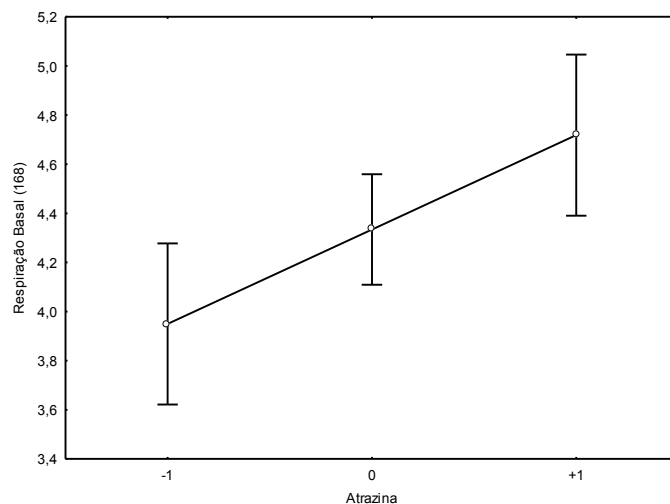
Figura 16 – Curvas de contorno para a evolução de CO₂ em função das concentrações de levedura e palha de milho em 7 dias de incubação



Fonte: Autoria própria (2019).

O fator dose de atrazina foi significativo apenas para o solo com histórico de uso de atrazina, assim, quando aplicada a dose de $2,5 \mu\text{L g}^{-1}$ de solo (cinco vezes a dose recomendada em campo) obteve-se os maiores resultados de evolução de CO₂, e os piores na dose recomendada em campo ($0,5 \mu\text{L g}^{-1}$ de solo) (Figura 17).

Figura 17 – Comportamento do fator dose de atrazina em função da variável resposta em 7 dias para o solo com histórico de utilização de atrazina



Fonte: Autoria própria (2018).

O cenário para o solo sem histórico de utilização de atrazina permaneceu o mesmo até os 49 dias de incubação do experimento, onde somente a palha foi significativa.

Em contrapartida, o solo com histórico de uso de atrazina, apresentou significância do fator biomassa de levedura seguido do fator palha de milho aos 16 dias de incubação (Tabela 14).

Tabela 14 – Análise de variância para os ensaios de respiração basal do solo com histórico de utilização de atrazina em 16 dias de experimento

Fonte de variação (FV)	Graus de liberdade (GL)	Soma dos Quadrados (SQ)	Quadrados médios (QM)	F calculado	p-valor	
Palha de milho (g)	1	2,594817	2,594817	33,34291	0,002190	**
Biomassa de levedura (mL)	1	1,020484	1,020484	13,11303	0,015200	**
Dose de atrazina (µL)	1	0,000745	0,000745	0,00958	0,925838	
Erro	5	0,389111	0,077822			

** Resultados significativos ao nível de confiança de 95,0 %.

Fonte: Aatoria própria (2018).

De acordo com o teste de Tukey as médias diferiram nos níveis extremos (sem adição e na dose máxima), conforme Tabela 15.

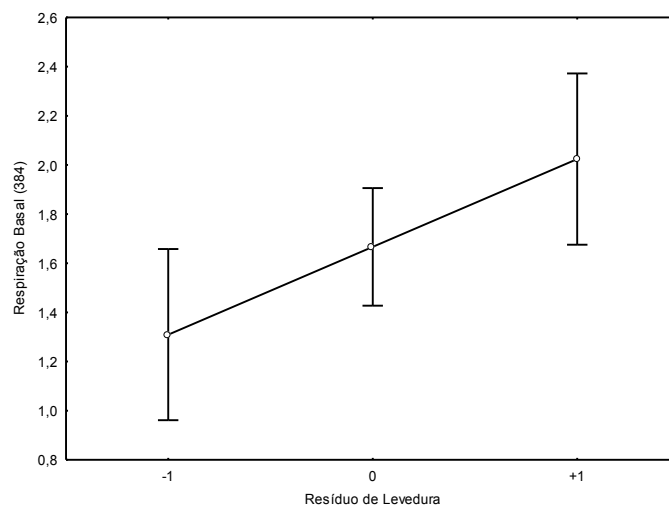
Tabela 15 – Teste de Tukey para os ensaios de respiração basal do solo em 16 dias de experimento

Biomassa de levedura (mL)	Solo com histórico
0	1,322443 a
5,0	1,640988 ab
10,0	2,036755 b
Palha de milho (g)	Solo com histórico
0	1,110080 a
0,5	1,640988 ab
1,0	2,249118 b

Fonte: Aatoria própria (2018).

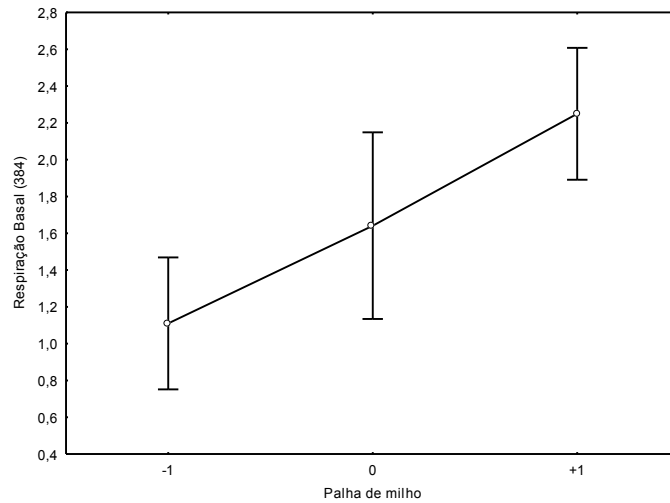
Os melhores resultados de evolução de CO₂ foram obtidos nos níveis máximos de adição de biomassa de levedura e de palha de milho. E os resultados mais baixos quando não adicionados para ambos os fatores (Figuras 18 e 19).

Figura 18 – Comportamento do fator resíduo de levedura em função da variável resposta em 16 dias



Fonte: Aatoria própria (2018).

Figura 19 – Comportamento do fator palha de milho em função da variável resposta em 16 dias



Fonte: Autoria própria (2018).

A partir dos 49 dias de incubação, nenhum dos fatores apresentou significância ao nível de 5,0 %, mantendo-se este padrão até o final do experimento, para o solo com histórico de utilização de atrazina. Porém, o solo sem histórico de utilização de atrazina apresentou significância do fator palha de milho aos 49 dias de incubação (Tabela 16).

Tabela 16 – Análise de variância para os ensaios de respiração basal do solo sem histórico de utilização de atrazina em 49 dias de experimento

Fonte de variação (FV)	Graus de liberdade (GL)	Soma dos Quadrados (SQ)	Quadrados médios (QM)	F calculado	p-valor	
Palha de milho (g)	1	0,245552	0,245552	14,03597	0,013342	**
Biomassa de levedura (mL)	1	0,008716	0,008716	0,49823	0,511799	
Dose de atrazina (µL)	1	0,002527	0,002527	0,14446	0,719499	
Erro	5	0,087472	0,017494			

** Resultados significativos ao nível de confiança de 95,0 %.

Fonte: Autoria própria (2018).

Através do teste de Tukey é possível verificar que, para o fator palha de milho, apenas as doses extremas apresentaram diferenças (Tabela 17).

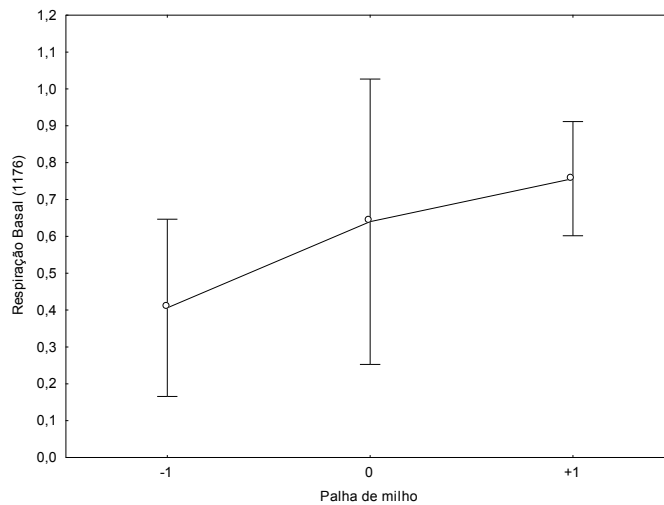
Tabela 17 – Teste de Tukey para os ensaios de respiração basal do solo em 1176 horas de experimento

Palha de milho (g)	Solo sem histórico
0	0,406254 a
0,5	0,639850 ab
1,0	0,756648 b

Fonte: Autoria própria (2018).

Para o fator palha de milho as maiores taxas de evolução de CO₂ foram obtidas quando utilizada a maior quantidade de palha, em 49 dias de experimento (Figura 20). E, a partir deste momento nenhum fator apresentou significância.

Figura 20 – Comportamento do fator palha de milho em função da variável resposta em 49 dias



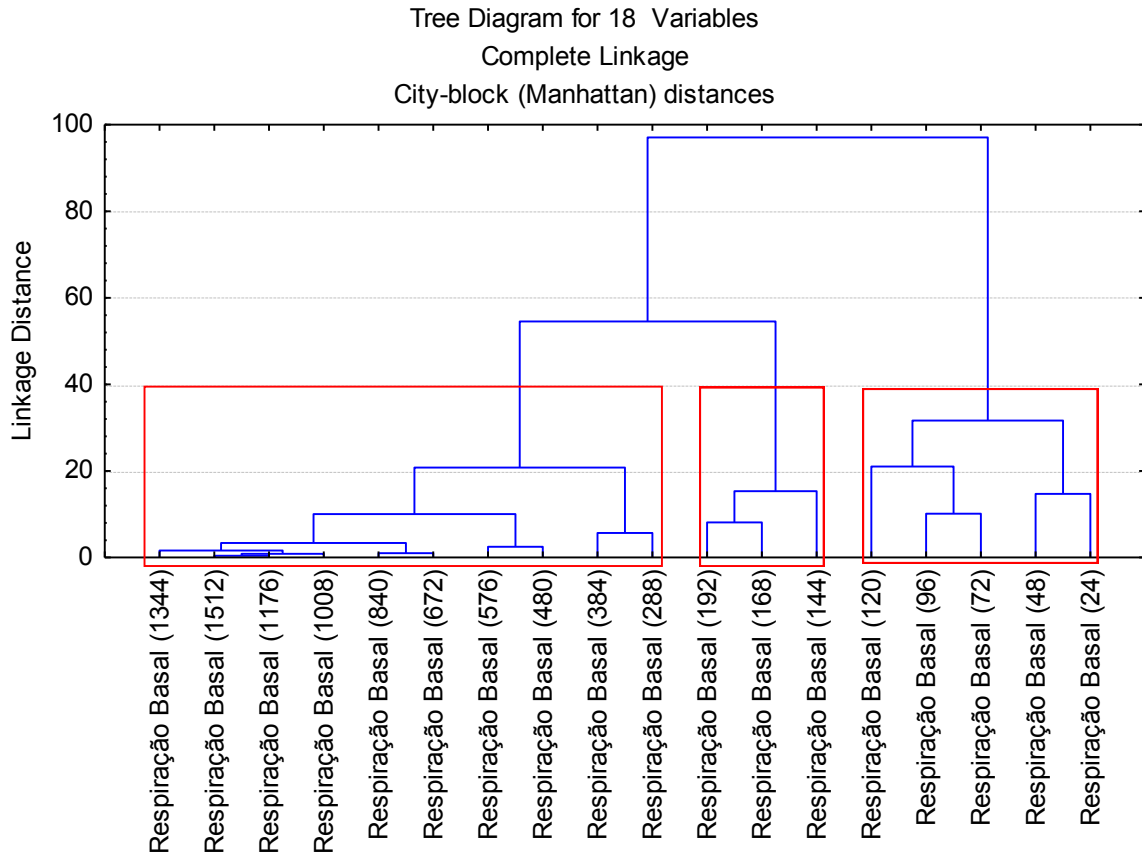
Fonte: Autoria própria (2018).

Assim, para ambos os solos, o fator biomassa de levedura seguido do fator palha de milho foram os mais significativos ao longo de todo o experimento. E, os níveis máximos de biomassa de levedura produziram melhores resultados em relação a variável resposta, o que evidencia que maiores quantidades de biomassa de levedura produzem maiores incrementos na degradação da atrazina. Já o fator palha de milho atuou de maneira mais branda, indicando que adições maiores deste material podem produzir maiores efeitos nas características do solo e proporcionar maior sorção da atrazina e conseqüente menor biodisponibilidade para os microrganismos degradantes.

Wu et al. (2018) utilizaram bionanomaterial magnético com *S. cerevisiae* para remover atrazina em solução aquosa e verificaram que a atrazina foi consumida como única fonte de carbono, indicando assim um grande potencial para biorremediação.

Através da análise de agrupamentos podemos classificar elementos em grupos de acordo com suas similaridades. Para cada tipo de solo observa-se uma forma diferente de formação de grupos de acordo com o tempo de incubação. Para o solo com histórico de utilização de atrazina obtemos uma divisão em três grupos distintos. O primeiro grupo é formado por 24, 48, 72, 96 e 120 horas. O segundo grupo é formado por 144, 168 e 192 horas. O terceiro grupo é formado por 288, 384, 480, 576 672, 840, 1008, 1176, 1512 e 1344 horas (Figura 21).

Figura 21 – Dendrograma para o solo com histórico de utilização de atrazina

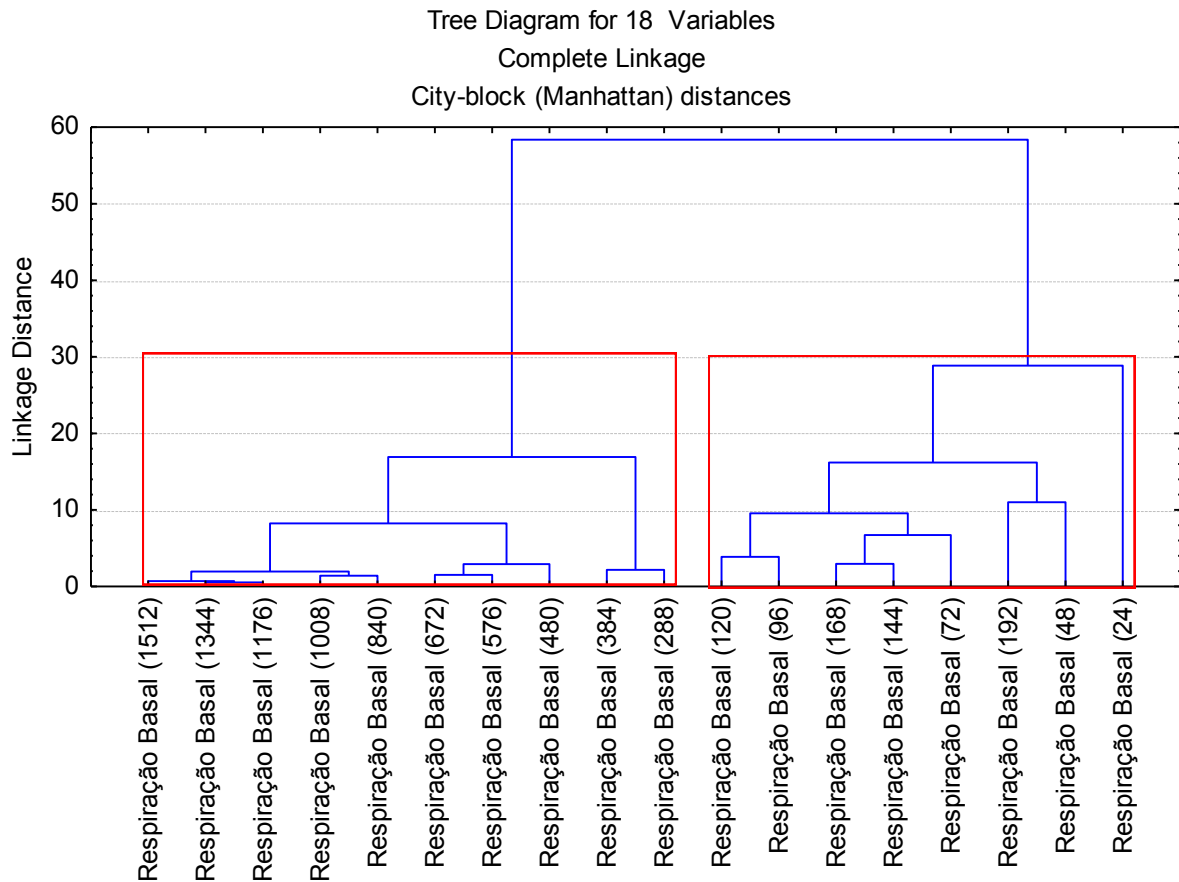


Fonte: Autoria própria (2018).

Nota-se que o primeiro grupo representa os cinco primeiros dias de incubação, caracterizando um período de maior intensidade na atividade microbiana. O segundo grupo compreende do 6º ao 8º dia de incubação onde a atividade microbiana e, conseqüente liberação de CO₂ desaceleram. E, por fim, o terceiro grupo que compreende do 12º até o 63º dia de incubação, este período é caracterizado pela atividade microbiana mais lenta.

Já o solo sem histórico de utilização de atrazina formou dois grupos distintos. O primeiro grupo compreende do 1º ao 8º dia de incubação. E o segundo do 12º até o 63º dia de incubação (Figura 22). O primeiro grupo formado abrange os oito primeiros dias de incubação, onde a atividade microbiana e conseqüente liberação de CO₂ foram mais intensos, já o outro agrupa a segunda fase da atividade microbiana, caracterizada pela liberação mais lenta de CO₂.

Figura 22 – Dendrograma para o solo sem histórico de utilização de atrazina



Dessa forma, através da formação dos grupos por similaridade, verifica-se que o processo de biorremediação ocorreu de forma mais intensa até o oitavo dia de incubação. Assim, pode-se dizer que, em laboratório, a degradação da atrazina ocorre principalmente durante esse período inicial.

5.4.2 Espectroscopia no infravermelho

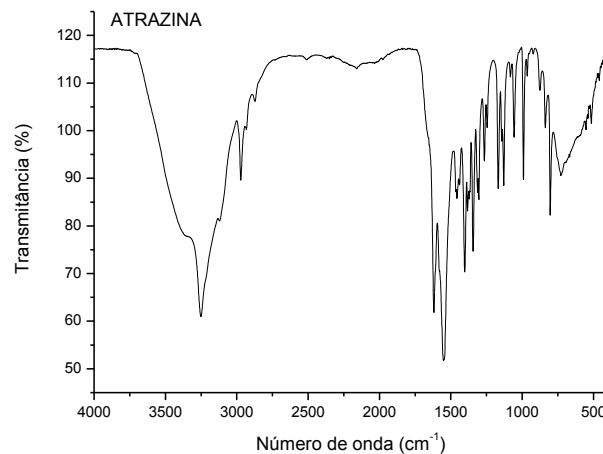
Os espectros de infravermelho fornecem informações qualitativas, mas é possível obter determinações semiquantitativas de grupos funcionais. Índices relacionados com a hidrofobicidade (IH) são obtidos por meio da relação entre grupos polares e apolares (os grupos – CH₃) em cadeias alquílicas, são mais recalcitrantes, enquanto os grupos C-O de polissacarídeos são mais suscetíveis à oxidação. Dessa forma, o IH de moléculas orgânicas fornece uma ideia de sua resistência à degradação (FREIXO; CANELLA; MACHADO, 2002).

A espectroscopia no infravermelho, fornece evidências da presença de vários grupos funcionais na estrutura orgânica devido à interação das moléculas ou átomos com a radiação eletromagnética em um processo de vibração molecular. As posições das bandas no espectro podem ser apresentadas em número de ondas, utilizando a unidade centímetro inverso ($400 - 4000 \text{ cm}^{-1}$) ou em micrômetros ($2,5 - 16 \text{ }\mu\text{m}$) (BALENA, 2011).

O FTIR foi realizado para verificar a mineralização do nitrogênio dos grupos amins (NH_2), assim, caso realmente ocorra a degradação da atrazina, os grupos amino (NH_2) serão convertidos em amônia (NH_3). A espectrofotometria no infravermelho também pode acompanhar a mineralização do carbono da matéria orgânica em dióxido de carbono (CO_2), com intuito também de verificar a degradação da molécula do herbicida.

A Figura 23 apresenta o espectro de FTIR da atrazina comercial que foi obtido com auxílio do acessório UATR na Central de Análises da UTFPR – Câmpus Pato Branco.

Figura 23 – Espectro de FTIR de atrazina comercial (Atrazina Atanor 50 SC)

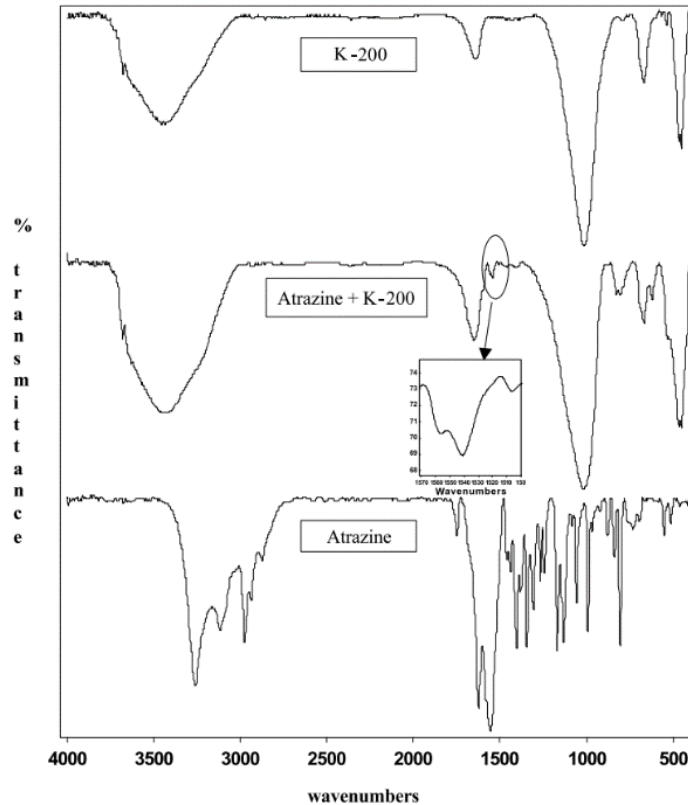


Fonte: Autoria própria (2018).

As principais bandas de absorção identificadas no espectro da atrazina comercial são na região de 3500 cm^{-1} (estiramento de N–H dos grupos amina), na região de 2970 cm^{-1} , referente ao estiramento de C–H de alifáticos e a banda 1620 e 1500 cm^{-1} atribuída ao estiramento C = N (ÁVILA et al., 2009).

A Figura 24 apresenta o espectro de FTIR da atrazina encontrado na literatura. O espectro de FTIR da atrazina comercial utilizada no experimento apresentou bandas muito semelhantes com as encontradas na literatura.

Figura 24 – Espectros de FTIR de k-200 (kerolita aquecida a 200 °C), atrazina e atrazina + K-200. Relação aproximada Atrazina/kerolita: 1/100



Fonte: González-Pradas et al. (2003, p. 635).

As Figuras 25 a 34 apresentam os espectros no Infravermelho com Transformada de Fourier para os 10 ensaios realizados para o solo com histórico e o sem histórico de utilização de atrazina. Os espectros de FTIR, apresentaram comportamento semelhante no 1º dia e 63ª dia, para ambos os solos.

Tanto para o solo com histórico de utilização de atrazina quanto para o solo sem histórico, os espectros dos 10 ensaios apresentaram a inflexão em 3.695 e 3.625 cm^{-1} , atribuída ao grupo OH^- de hidroxilas de argilas (caulinita), e as bandas típicas da gibbsita que ocorrem em 3.530 e 3.440 cm^{-1} (NICOLINI et al., 2009). Essas bandas tiveram aumento na intensidade de absorção do 1º para o 63º dia, para alguns ensaios, indicando que ocorreu a decomposição de parte da matéria orgânica, permanecendo, maior teor de matéria inorgânica.

A banda localizada em 1.640 cm^{-1} é atribuída ao estiramento antissimétrico $\nu_{\text{as}}(\text{C}=\text{O})$ de íons carboxilatos, sugerindo a desprotonação do hidrogênio dos grupos carboxílicos (COOH), influenciando no aumento da acidez do solo (pH 5,5) (BALENA, 2011). Os íons carboxilatos são responsáveis pela complexão de metais com a matéria orgânica. Tanto para o solo com histórico de utilização de atrazina quanto o solo sem histórico, as bandas (1.000 , 916 , 800 , 690 , 540 e 470 cm^{-1}) são absorções características de impurezas minerais (caulinita, gibbsita e goetita) e quartzo (MARTINELLI et al., 2014). Essas bandas tiveram elevado

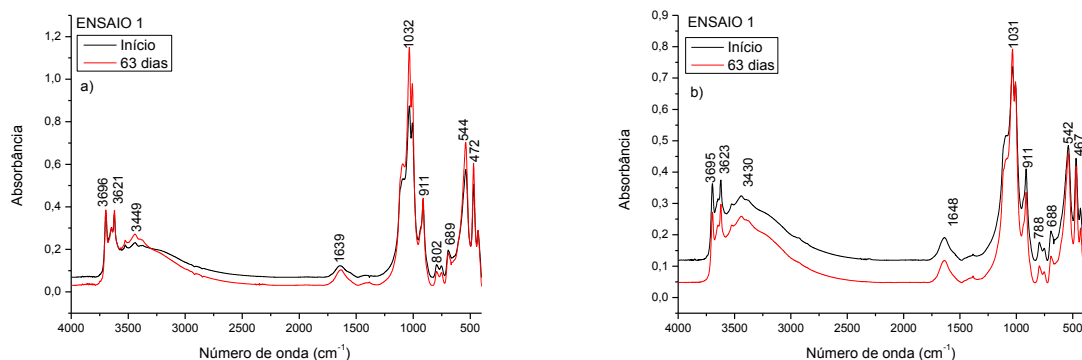
aumento na intensidade, possivelmente indicando a decomposição da matéria orgânica, restando mais matéria inorgânica após 63 dias de experimento.

Uma mudança frequentemente observada ocorre na região próxima a 1.030 cm^{-1} , relativa à absorção de C-O de polissacarídeos, cuja banda tende a diminuir de intensidade, quanto mais humificada for a matéria orgânica (MELO; ALLEONI, 2009).

Em alguns espectros, para as amostras de solo sem histórico de utilização de atrazina, é possível verificar uma pequena absorção em 1.380 cm^{-1} , a qual é atribuída aos grupos nitratos (NO_3^-), sugerindo a mineralização do nitrogênio, essa banda aparece apenas para amostras do 63º dia.

Os espectros de FTIR para o ensaio 1 (sem palha, sem levedura, dose recomendada de atrazina) de ambos os solos, tiveram pequena variação na intensidade das bandas, quando se compara as amostras do 1º e 63ª dia, e está em concordância com os valores da respiração basal, possivelmente em razão da lenta degradação, visto que não há levedura nessas amostras (Figura 25).

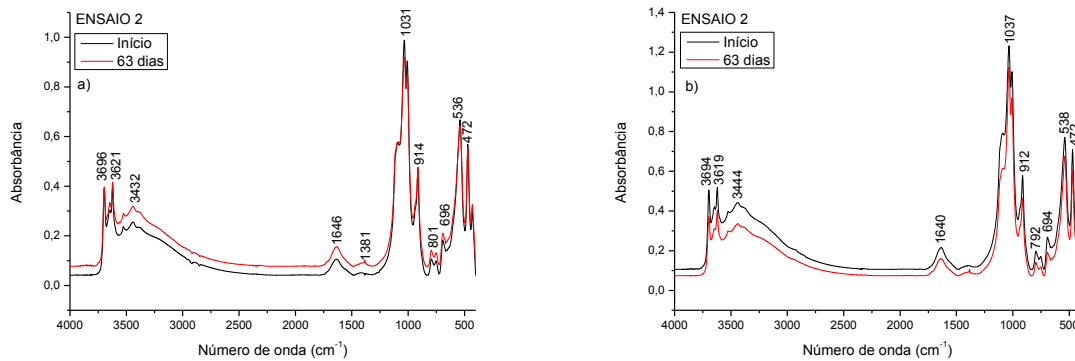
Figura 25 – Espectros na região do infravermelho médio ($4.000 - 400\text{cm}^{-1}$) para o ensaio 1: (a) solo com histórico de utilização de atrazina e (b) solo sem histórico de utilização de atrazina



Fonte: Autoria própria (2018).

Na Figura 26, os espectros de FTIR para o ensaio 2 (sem palha, sem levedura, quintuplo da DR de atrazina), de ambos os solos, mostram pequena variação na intensidade das bandas, quando se compara as amostras do 1º e 63ª dia, em razão da ausência de levedura a degradação ocorre de maneira lenta, e está em concordância com os valores da respiração basal.

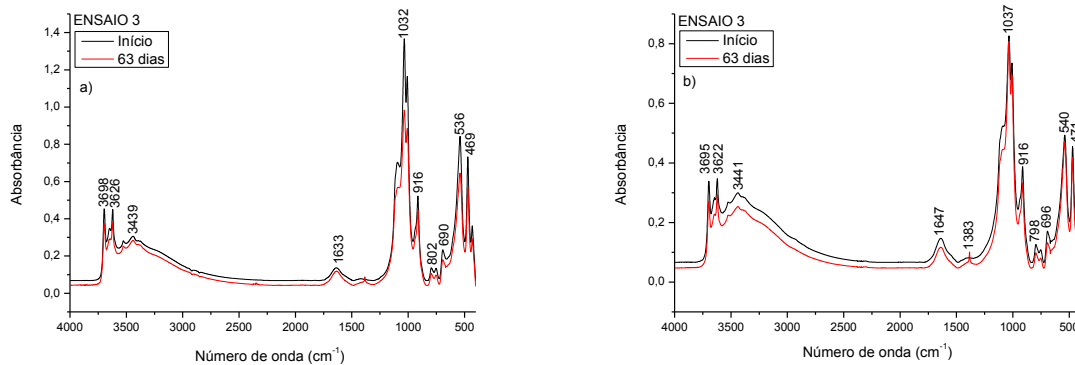
Figura 26 – Espectros na região do infravermelho médio (4.000 – 400 cm^{-1}) para o ensaio 2: (a) solo com histórico de utilização de atrazina e (b) solo sem histórico de utilização de atrazina



Fonte: Autoria própria (2018).

Os Espectros de FTIR para o ensaio 3 (sem palha, 10,0 mL de levedura, dose recomendada de atrazina) mostram pequena alteração nas bandas em especial para o solo com histórico de utilização de atrazina, onde se observa leve diminuição na intensidade da banda em 1.030 cm^{-1} . É possível indicar que a matéria orgânica se encontra mais humificada, resultante da degradação microbiana. Para o solo sem histórico de utilização de atrazina as intensidades das bandas não sofreram variação (Figura 27).

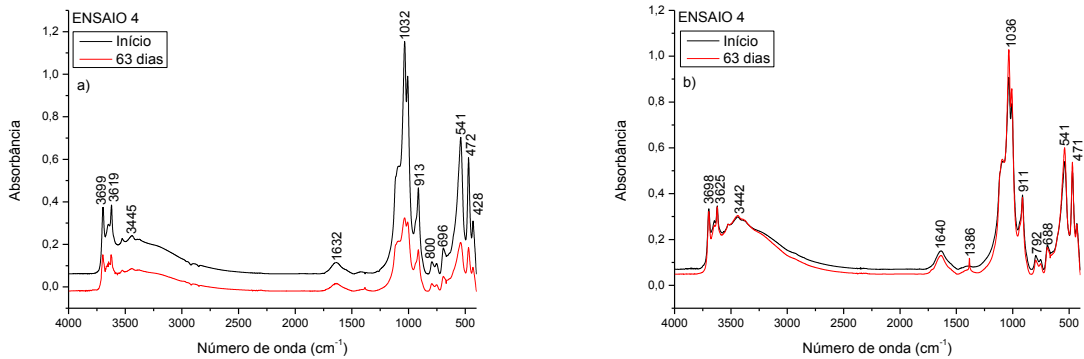
Figura 27 – Espectros na região do infravermelho médio (4.000 – 400 cm^{-1}) para o ensaio 3: (a) solo com histórico de utilização de atrazina e (b) solo sem histórico de utilização de atrazina



Fonte: Autoria própria (2018).

O Espectro de FTIR para o ensaio 4 (sem palha, 10,0 mL de levedura, quintuplo da DR de atrazina) do solo com histórico de utilização de atrazina, mostra um decréscimo na intensidade da banda em 1.030 cm^{-1} (atribuída ao grupo C-O de polissacarídeos), do 1º para o 63º dia, pode ser indicando matéria orgânica mais humificada. Para o solo sem histórico de utilização de atrazina observa-se um aumento na intensidade da banda de polissacarídeos, sinalizando a atividade metabólica das leveduras (Figura 28).

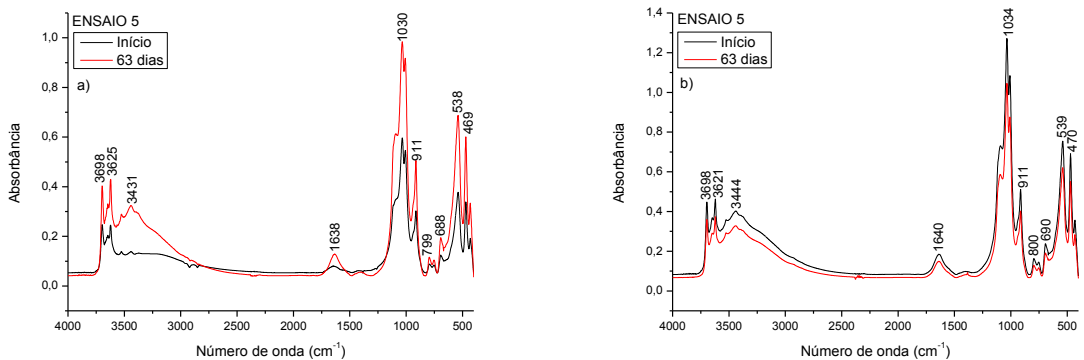
Figura 28 – Espectros na região do infravermelho médio (4.000 – 400 cm^{-1}) para o ensaio 4: (a) solo com histórico de utilização de atrazina e (b) solo sem histórico de utilização de atrazina



Fonte: Autoria própria (2018).

O Espectro de FTIR para o ensaio 5 (1,0 g de palha, sem levedura, dose recomendada de atrazina) do solo com histórico de utilização de atrazina, mostra elevação na intensidade da banda em 1.030 cm^{-1} (grupo C-O de polissacarídeos). Embora esse ensaio não contenha leveduras a degradação da matéria orgânica continua ocorrendo, e está de acordo com os valores encontrados para a respiração basal. Já para a amostra de solo sem histórico de aplicação de atrazina, observa-se leve diminuição da banda em 1030 cm^{-1} (grupo C-O de polissacarídeos), sugerindo a ocorrência de cometabolismo (Figura 29).

Figura 29 – Espectros na região do infravermelho médio (4.000 – 400 cm^{-1}) para o ensaio 5: (a) solo com histórico de utilização de atrazina e (b) solo sem histórico de utilização de atrazina

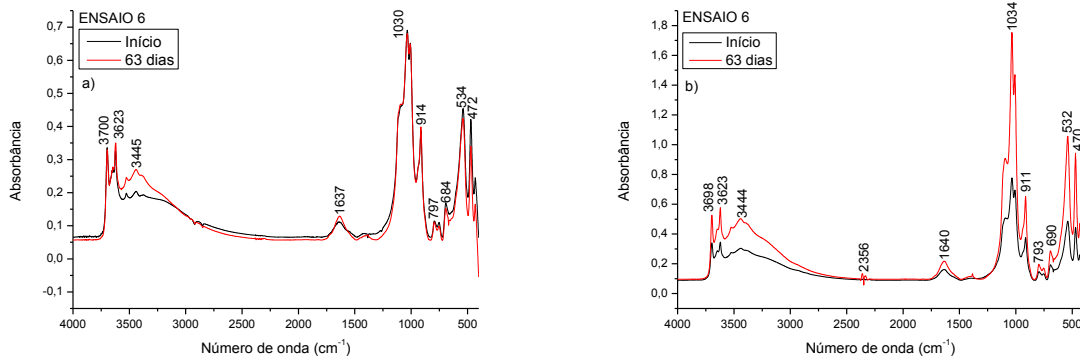


Fonte: Autoria própria (2018).

O Espectro de FTIR para o ensaio 6 (1,0 g de palha, sem levedura, quántuplo da DR de atrazina) do solo com histórico de utilização de atrazina, não sofreu variação significativa na intensidade na banda em 1.030 cm^{-1} (C-O polissacarídeos), no entanto observa-se um leve aumento na intensidade em 3.695 e 3.625 cm^{-1} (OH⁻ de caulinitas) e, em 3.410 cm^{-1} (gibsitita), sugerindo elevação no teor de matéria inorgânica. Para o solo sem histórico de uso de atrazina

observa-se leve aumento na banda de polissacarídeos, mesmo sem a presença da levedura a matéria orgânica está sendo decomposta (Figura 30).

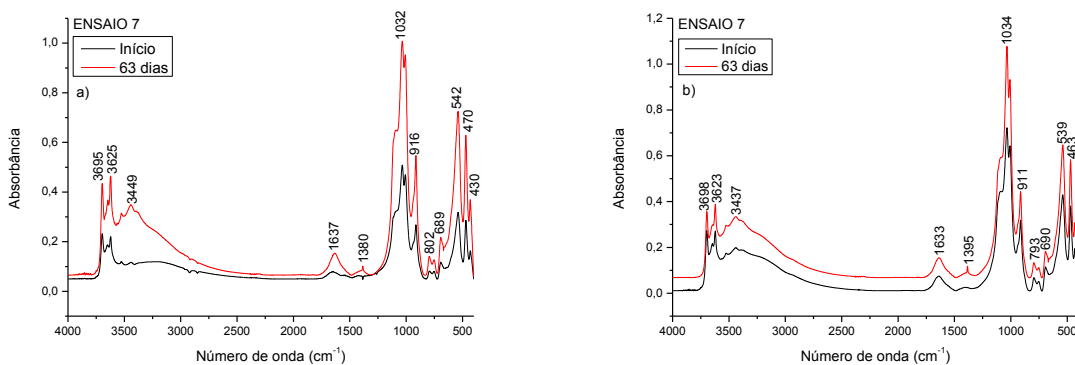
Figura 30 – Espectros na região do infravermelho médio (4.000 – 400 cm^{-1}) para o ensaio 6: (a) solo com histórico de utilização de atrazina e (b) solo sem histórico de utilização de atrazina



Fonte: Autoria própria (2018).

Nos espectros de FTIR para o ensaio 7 (1,0 g de palha, 10,0 mL de levedura, dose recomendada de atrazina), para os dois tipos de solo, a banda em 1.030 cm^{-1} (C-O de polissacarídeos) teve a sua intensidade aumentada quando se compara o 1º dia com 63ª dia, sinalizando para atividade metabólica da levedura (Figura 31).

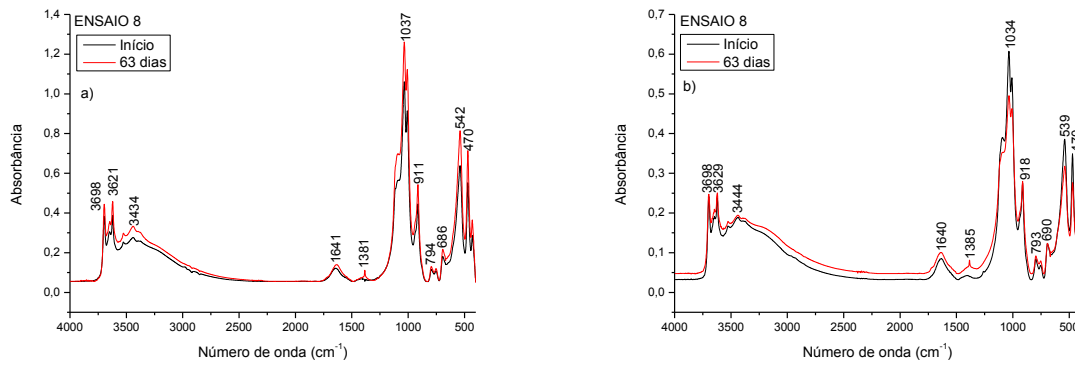
Figura 31 – Espectros na região do infravermelho médio (4.000 – 400 cm^{-1}) para o ensaio 7: (a) solo com histórico de utilização de atrazina e (b) solo sem histórico de utilização de atrazina



Fonte: Autoria própria (2018).

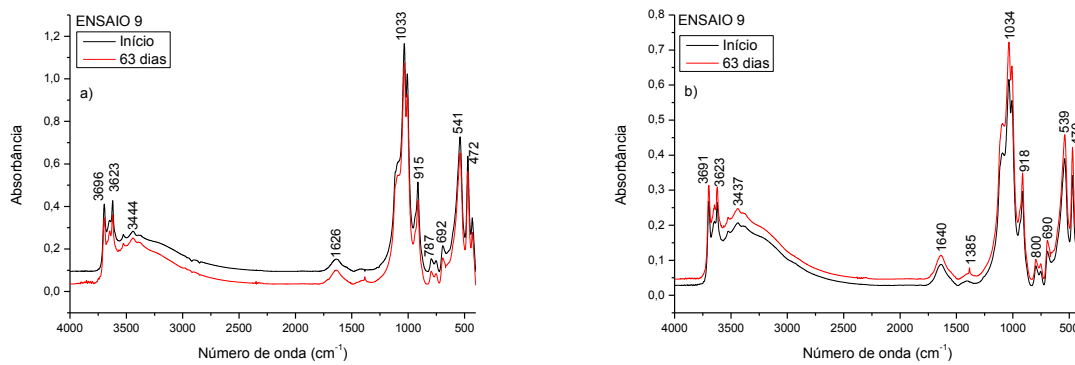
Para os ensaios 8 (1,0 g de palha, 10,0 mL de levedura, quántuplo da DR de atrazina), 9 e 10 (0,5 g de palha, 5,0 mL de levedura, triplo da DR de atrazina) (Figuras 32, 33 e 34), há pequenas variações na intensidade das bandas em 1.030 cm^{-1} (C-O de polissacarídeos), no entanto, observa-se um aumento na intensidade em 3.695 e 3.625 cm^{-1} (OH- de caulinitas) e em 3.449 cm^{-1} (gibsitita), sugerindo elevação no teor de matéria inorgânica, confirmado pelo alto teor de argilas (Tabela 4).

Figura 32 – Espectros na região do infravermelho médio (4.000 – 400 cm^{-1}) para o ensaio 8: (a) solo com histórico de utilização de atrazina e (b) solo sem histórico de utilização de atrazina



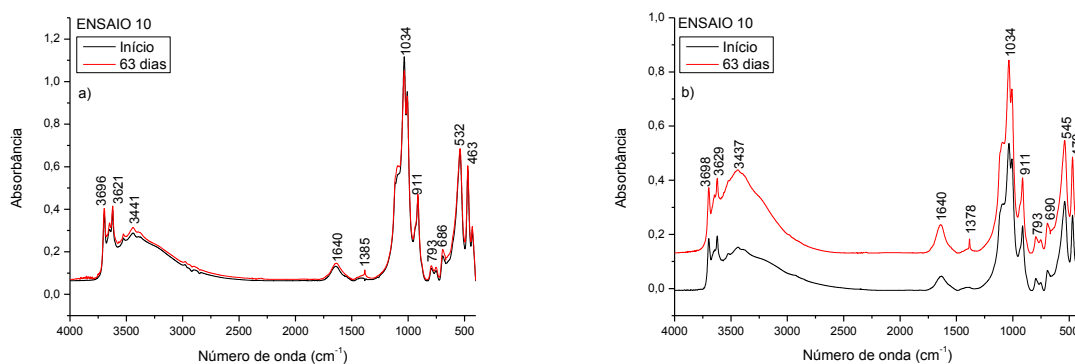
Fonte: Autoria própria (2018).

Figura 33 – Espectros na região do infravermelho médio (4.000 – 400 cm^{-1}) para o ensaio 9: (a) solo com histórico de utilização de atrazina e (b) solo sem histórico de utilização de atrazina



Fonte: Autoria própria (2018).

Figura 34 – Espectros na região do infravermelho médio (4.000 – 400 cm^{-1}) para o ensaio 10: (a) solo com histórico de utilização de atrazina e (b) solo sem histórico de utilização de atrazina



Fonte: Autoria própria (2018).

5.4.3 Cromatografia gasosa

A atrazina foi identificada por comparação dos espectros de massas do banco de dados da biblioteca NIST (National Institute of Standards and Technology) (Apêndice B). As análises de CG-MS do solo com histórico de utilização de atrazina apresentam a concentração do herbicida ao longo do experimento (Tabela 18).

Tabela 18 – Resultados dos ensaios de cromatografia gasosa do solo com histórico de utilização de atrazina

Ensaio	Concentração de atrazina (mg L ⁻¹)			
	Tempo inicial	7 dias	14 dias	63 dias
1	38,45758	2,971846	n.d	n.d
2	308,0726	82,8706	n.d	n.d
3	54,2264	14,80745	n.d	n.d
4	234,8937	104,5012	n.d	n.d
5	29,82405	9,820793	n.d	n.d
6	384,6226	92,98362	7,281062	1,540906
7	48,87961	10,39512	n.d	n.d
8	351,4275	79,40595	n.d	n.d
9	269,1188	61,56771	6,546	n.d
10	252,3574	47,30647	n.d	n.d

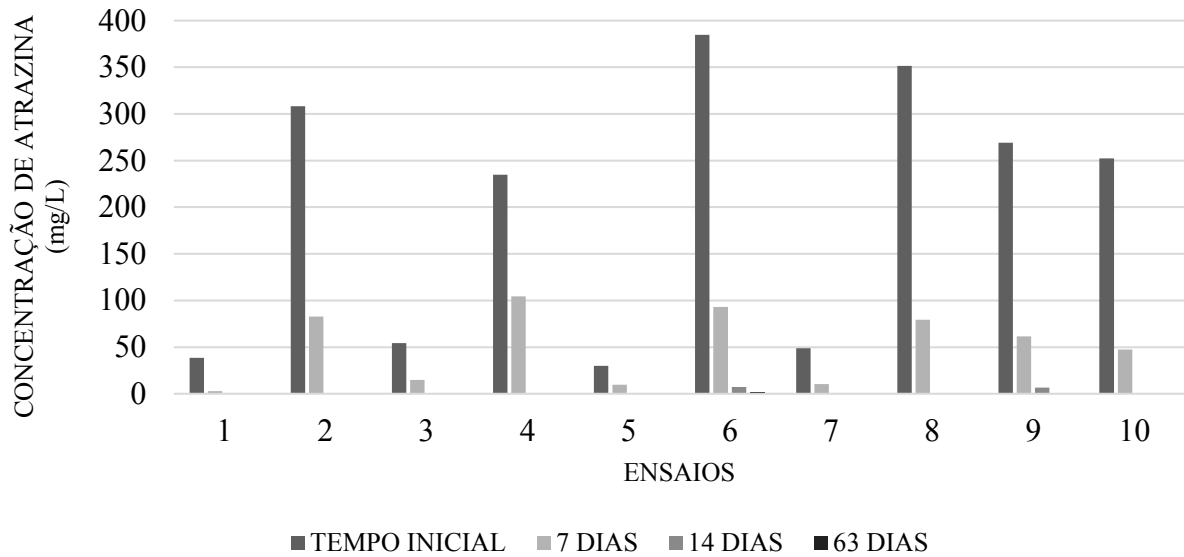
Fonte: Autoria própria (2018).

Nota: n.d = não detectado.

Em todos os experimentos obteve-se uma redução de mais de 55 % dos níveis de atrazina nos primeiros 7 dias, sendo que, em 8 dos ensaios, essa redução chegou a mais de 72 %. Aos 14 dias nota-se que foram detectadas doses de atrazina apenas para os ensaios 6 (1,0 g de palha, sem levedura, quántuplo da DR de atrazina) e 9 (0,5 g de palha, 5,0 mL de levedura, triplo da DR de atrazina), e após 63 dias apenas o ensaio 6 ainda apresentou traços do herbicida.

Observa-se que em todos os ensaios há uma diminuição considerável da concentração de atrazina já nos primeiros 7 dias (Figura 35). Isso se deve a maior atividade da comunidade microbiana presente no solo e também da adição de biomassa de levedura em alguns tratamentos.

Figura 35 – Concentração de atrazina ao longo do experimento para o solo com histórico de uso do herbicida



Fonte: Autoria própria (2018).

A concentração da atrazina foi totalmente consumida pelas leveduras e comunidade microbiana nativa de cada solo, não sendo mais detectada no 14º dia, para 8 ensaios, restando apenas pequena concentração para os ensaios 6 (7,281 mg L⁻¹) e 9 (6,546 mg L⁻¹) até o 14º dia. O ensaio 6 foi o único a apresentar atrazina até o 63º dia, visto que este continha a maior dose de atrazina e ausência de biomassa de levedura. Outra questão é que este tratamento também exibiu a maior concentração inicial do herbicida detectada por cromatografia, isso se deve a resíduos de atrazina presentes no solo utilizado.

Para o solo sem histórico de utilização de atrazina não foi possível determinar a concentração através de CG-MS visto que o equipamento utilizado apresentou defeito em meio as análises, inviabilizando a sua execução.

6 CONCLUSÃO

Os resultados obtidos do planejamento experimental fatorial mostraram que a quantidade de CO₂ liberada foi influenciada pela quantidade de biomassa de levedura utilizada, seguido da adição de palha de milho. Com relação às doses de atrazina utilizadas no experimento, não houve significativas interferências no processo de degradação, visto da boa tolerância da levedura e também da comunidade microbiana nativa do solo. Dessa forma, a interação entre a liberação de CO₂ e a concentração de biomassa pode apresentar efeitos equivalentes; com isso, observou-se que maiores quantidades de CO₂ foram liberadas com concentrações maiores de biomassa, indicando o consumo de carbono da atrazina e, conseqüente, degradação da mesma.

A adição da palha de milho melhorou as características do solo e o conseqüente potencial de sorção da atrazina, a qual pode estar ligada à menor biodisponibilidade para os microrganismos degradantes. Foi possível verificar que a adição de resíduos orgânicos (palha de milho) estimulou o crescimento e a atividade da população microbiana em função da presença de energia e carbono.

O solo com histórico de utilização de atrazina apresentou maiores taxas de evolução de CO₂ quando comparado ao solo sem histórico de utilização de atrazina, o que pode ser atribuído à adaptação da microbiota presente no solo agrícola ao herbicida.

O teor de carbono obtido por análise elementar, está de acordo com o teor de matéria orgânica obtida através das análises químicas. As características físicas do solo (argila) estão em concordância com as bandas de argilas (caulinita e gibbsita) verificadas por espectroscopia no infravermelho.

As análises de FTIR apresentaram correlação positiva com os dados obtidos na respiração basal, confirmando a degradação da matéria orgânica das amostras. Os espectros de FTIR mostraram o aumento da intensidade da banda de polissacarídeos e também da elevação das bandas de argilas (caulinita e gibbsita).

Também os espectros de FTIR, para alguns ensaios, mostraram que para o 63º dia apareceu uma pequena inflexão em 1.380 cm⁻¹, que pode ser atribuída ao grupo nitrato (NO₃⁻), sugerindo a mineralização do nitrogênio presente na atrazina.

A cromatografia gasosa sugere alta atividade metabólica da levedura até o sétimo dia do experimento. A concentração da atrazina foi totalmente consumida pelas leveduras e comunidade microbiana nativa de cada solo, não sendo mais detectada no 14º dia, para 8 ensaios, restando apenas pequena concentração para os ensaios 6 e 9 até o 14º dia. Para o ensaio

6, ainda existia pequena concentração de atrazina até 63º dia, como esperado, considerando que este continha a maior dose de atrazina e ausência de biomassa de levedura.

Foi possível verificar que, em condições laboratoriais, o declínio da concentração de atrazina ao longo do experimento foi acentuado nos primeiros sete dias. Assim, sugere-se que a biorremediação com *S. cerevisiae* tem potencial em elevar as taxas de degradação desse herbicida no solo.

O estudo conjunto de diferentes técnicas (físico-químicas, análise elementar, cromatográficas e espectroscópicas), correlacionou positivamente os dados obtidos, durante o processo de biorremediação da atrazina pela adição de *S. cerevisiae* e palha de milho.

Sugere-se para estudos posteriores a investigação da utilização de *S. cerevisiae* para biorremediação de outros tipos de agrotóxicos e demais poluentes recalcitrantes, bem como, o desenvolvimento de técnicas que permitam aplicações em larga escala dos processos de remediação de ambientes contaminados.

7 REFERÊNCIAS

- AKSU, Z. Reactive dye bioaccumulation by *Saccharomyces cerevisiae*. **Process Biochemistry**, v. 38, p. 1437–1444, 2003.
- ALEF, K. **Estimation of soil respiration**. In: ALEF, K.; NANNIPIERI, P. (Eds.). *Methods in soil microbiology and biochemistry*. New York: Academic, 1995. p. 464-470.
- ALVES-PEREIRA, I. et al. Effects of atrazine, isoproturon and diuron on glutathione metabolism of *Saccharomyces cerevisiae*. **Green Processing and Synthesis**, v. 4, p. 141–145, 2015.
- ANDREU, V.; PICÓ, Y. Determination of pesticides and their degradation products in soil : critical review and comparison of methods. **Trends in Analytical Chemistry**, v. 23, n. 10, p. 772–789, 2004.
- AQUARONE, E.; BORZANI, W.; SCHMIDELL, W.; LIMA, U. A. **Biotecnologia industrial**. São Paulo, SP: E. Blücher, 2001. 4 v.
- ARBUCKLE, T. E.; LIN, Z.; MERY, L. S. An exploratory analysis of the effect of pesticide exposure on the risk of spontaneous abortion in an ontario farm population. **Environmental Health Perspectives**, v. 109, n. 8, p. 851–857, 2001.
- ÁVILA, L. G. DE et al. Formulações de atrazina em xerogéis: síntese e caracterização. **Química Nova**, v. 32, n. 7, p. 1727–1733, 2009.
- BADOTTI, F. et al. Caracterização bioquímica e molecular de linhagens de *Saccharomyces cerevisiae* isoladas de fermentações artesanais de caldo de cana e melado para a produção de cachaça em Florianópolis-SC. **Brazilian Journal of Food Technology**, v. 13, n. 3, p. 205–213, 2010.
- BAIRD, C.; CANN, M. **Química ambiental**. 4. ed. Porto Alegre, RS: Bookman, 2011. xi, 844 p.
- BALCI, B. et al. Degradation of atrazine in aqueous medium by electrocatalytically generated hydroxyl radicals. A kinetic and mechanistic study. **Water Research**, v. 43, n. 7, p. 1924–1934, 2009.
- BALENA, S. P. **Correlação de análises físico-químicas e espectroscópicas de laboratório com dados obtidos em campo por espectrorradiômetro**. 2011. 105 f. Tese (Programa de Pós-Graduação em Química), Universidade Federal do Paraná. Curitiba, 2011.
- BEHKI, R. M.; KHAN, S. U. Degradation of atrazine by *Pseudomonas*: N-dealkylation and dehalogenation of atrazine and its metabolites. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 34, p. 746–749, 1986.
- BEHKI, R. M.; KHAN, S. U. Degradation of atrazine , propazine , and simazine by *Rhodococcus*. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 42, p. 1237–1241, 1994.

BENEVIDES, J. A. J.; MARINHO, G. Degradação de pesticidas por fungos - uma revisão. **Holos**, v. 2, p. 110–129, 2015.

BERTICELLI, R. et al. Compostagem como alternativa de biorremediação de áreas contaminadas. **Revista CIATEC – UPF**, v. 8, n. 1, p. 12–28, 2016.

BISWAS, A. et al. Process for obtaining cellulose acetate from agricultural by-products. **Carbohydrate Polymers**, v. 64, p. 134–137, 2006.

BOYD, R. A. Herbicides and herbicide degradates in shallow groundwater and the Cedar River near a municipal well field, Cedar Rapids, Iowa. **Science of the Total Environment**, v. 248, n. 2–3, p. 241–253, 2000.

BRASIL. Decreto nº 4.074, 04 de janeiro de 2002. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 08 jan. 2002. Disponível em: <http://www.planalto.gov.br/ccivil_03/decreto/2002/d4074.htm>. Acesso em: 30 nov 2017.

———. Decreto nº 6.871, de 4 de junho de 2009. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 05 jun. 2009. Disponível em: <http://www.planalto.gov.br/ccivil_03/_Ato2007-2010/2009/Decreto/D6871.htm>. Acesso em: 28 abr. 2018.

———. **Sistema Brasileiro de Classificação de Solos**. 2. ed. Brasília, DF, 2006. 286 p.

———. **Sistema Brasileiro de Classificação de Solos**. 3. ed. Brasília, DF, 2013.

CARMO, D. A. DO et al. Comportamento ambiental e toxicidade dos herbicidas atrazina e simazina. **Revista Ambiente & Água**, v. 8, n. 1, p. 133–143, 2013.

CHELINHO, S. et al. Cleanup of atrazine-contaminated soils: ecotoxicological study on the efficacy of a bioremediation tool with *Pseudomonas* sp. ADP. **Journal of Soils and Sediments**, v. 10, n. 3, p. 568–578, 2010.

CHOWDHURY, A. et al. Impact of pesticides on soil microbiological parameters and possible bioremediation strategies. **Indian Journal of Microbiology**, v. 48, n. 1, p. 114–127, 2008.

CHRISTOFFOLETI, P. J. et al. **Comportamento dos herbicidas aplicados ao solo na cultura da cana-de-açúcar**. 1. ed. Piracicaba: 2008, 2008.

COELHO, E. R. C.; DI BERNARDO, L. Removal of atrazine and metabolites through slow filtration by sand and granular activated carbon. **Engenharia Sanitaria e Ambiental**, p. 269–276, 2012.

COHEN, S. Z. et al. Potential pesticide contamination of groundwater from agricultural uses. **Treatment and Disposal of Pesticide Wastes**, p. 297–325, 1984.

COLLA, L. M. et al. Isolamento e seleção de fungos para biorremediação a partir de solo contaminado com herbicidas triazinicos. **Ciência e Agrotecnologia**, n. July 2016, p. 809–813, 2008.

CONSELHO NACIONAL DO MEIO AMBIENTE - CONAMA. Resolução nº 357, de 17 de março de 2005. Disponível em:
<<http://www2.mma.gov.br/port/conama/legiabre.cfm?codlegi=459>> Acesso em: 08 jun. 2018.

CORREIA, F. V.; LANGENBACH, T. Dinâmica da distribuição e degradação de atrazina em argissolo vermelho-amarelo sob condições de clima tropical úmido. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 30, p. 183–192, 2006.

CRAGIN, L. A. et al. Menstrual cycle characteristics and reproductive hormone levels in women exposed to atrazine in drinking water. **Environmental Research**, v. 111, n. 8, p. 1293–1301, 2011.

DEON, M. C. et al. Biorremediação de solos contaminados com resíduos oleosos através de bioaugmentação e atenuação natural. **Semina: Ciências Exatas e Tecnológicas**, v. 33, p. 73–82, 2012.

EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA - EMBRAPA. Centro Nacional de Pesquisas de Solos. **Manual de métodos de análise de solo**. 2.ed. Rio de Janeiro, 1997. 212 p.

EPA. In Situ and Ex Situ Biodegradation Technologies for Remediation of Contaminated Sites. **EPA Engineering Issue**, 2006.

FANG, H. et al. Exploring bacterial community structure and function associated with atrazine biodegradation in repeatedly treated soils. **Journal of Hazardous Materials**, v. 286, p. 457–465, 2015.

FERREIRA, I. M. P. L. V. O. et al. Brewer's *Saccharomyces* yeast biomass: characteristics and potential applications. **Trends in Food Science and Technology**, v. 21, n. 2, p. 77–84, 2010.

FERREIRA, J. M. et al. Estudo do equilíbrio e cinética da biossorção do Pb^{2+} por *Saccharomyces cerevisiae*. **Química Nova**, v. 30, n. 5, p. 1188–1193, 2007.

GAYLARDE, C. C.; BELLINASSO, M. D. L.; MANFIO, G. P. Aspectos biológicos e técnicos da biorremediação de xenobióticos. **Biotecnologia Ciência & Desenvolvimento**, v. 34, p. 36–43, 2005.

GONZÁLEZ-PRADAS, E. et al. Adsorption of atrazine from aqueous solution on heat treated kerolites. **Chemosphere**, v. 51, p. 85–93, 2003.

GRAYMORE, M.; STAGNITTI, F.; ALLINSON, G. Impacts of atrazine in aquatic ecosystems. **Environment International**, v. 26, n. 7–8, p. 483–495, 2001.

HAYES, T. B. et al. Hermaphroditic, demasculinized frogs after exposure to the herbicide atrazine at low ecologically relevant doses. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 99, p. 5476–5480, 2002.

HELLING, C. S.; KEARNEY, P. C.; ALEXANDER, M. Behavior of pesticides in soils. **Advances in Agronomy**, v. 23, n. C, p. 147–240, 1971.

- HOLTZ, G. P. **Dinâmica da decomposição da palhada e a distribuição do carbono, nitrogênio e fósforo numa rotação de culturas sob plantio direto na região de Carambeí/PR.** 1995. 129f. Dissertação (Mestrado em Agronomia), Universidade Federal do Paraná. Curitiba, 1995.
- HOUOT, S.; BARRIUSO, E.; BERGHEAUD, V. Modifications to atrazine degradation pathways in a loamy soil after addition of organic amendments. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 30, n. 14, p. 2147–2157, 1998.
- INOUE-CHOI, M. et al. Atrazine in public water supplies and risk of ovarian cancer among postmenopausal women in the Iowa Women’s Health Study. **Occupational and Environmental Medicine**, v. 73, p. 582–587, 2016.
- JAVARONI, R. D. C. A.; LANDGRAF, M. D.; REZENDE, M. O. O. Comportamento dos herbicidas atrazina e alaclor aplicados em solo preparado para o cultivo de cana-de-açúcar. **Química Nova**, v. 22, n. 1, p. 58–64, 1999.
- JOHNSON, E. A. Biotechnology of non- *Saccharomyces* yeasts — the ascomycetes. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 97, n. 2, p. 503–517, 2013.
- KLIEMANN, H. J.; BRAZ, A. J. P. B.; SILVEIRA, P. M. DA. Taxas de decomposição de resíduos de espécies de cobertura em latossolo vermelho distroférico. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, v. 36, n. 1, p. 21–28, 2006.
- LEAL, D. P. B. et al. Atrazine degradation patterns: the role of straw cover and herbicide application history. **Scientia Agricola**, v. 76, n. 1, p. 63–71, 2019.
- LEMOS, J. L. S. et al. **Revisão acerca da utilização de microrganismos na biorremediação de rejeitos industriais contendo metais pesados.** Rio de Janeiro: CETEM/MCT, 2008. 65 p.
- MA, J. et al. Toxicity assessment of 40 herbicides to the green alga *Raphidocelis subcapitata*. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 63, p. 456–462, 2006.
- MA, L. et al. Rapid biodegradation of atrazine by *Ensifer* sp. strain and its degradation genes. **International Biodeterioration & Biodegradation**, v. 116, p. 133–140, 2017.
- MANDAL, A.; SINGH, N.; PURAKAYASTHA, T. J. Characterization of pesticide sorption behaviour of slow pyrolysis biochars as low cost adsorbent for atrazine and imidacloprid removal. **Science of the Total Environment**, v. 577, p. 376–385, 2017.
- MANDELBAUM, R. T.; ALLAN, D. L.; WACKETT, L. P. Isolation and characterization of a *Pseudomonas* sp. that mineralizes the s-triazine herbicide atrazine. **Applied and environmental microbiology**, v. 61, n. 4, p. 1451–1457, 1995.
- MARCHESAN, E. D. **Destino no ambiente e comportamento agrônomo de atrazina em resposta a doses e níveis de palha de espécies de cobertura de solo.** 2011. 110f. Tese (Doutorado em Agronomia) – Programa de Pós-Graduação em Agronomia (Área de Concentração: Produção vegetal), Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Pato Branco, 2016.

- MARTINELLI, A. C. et al. Avaliação da lixiviação do cádmio e níquel provenientes da degradação de baterias níquel-cádmio em uma coluna de solo. **Química Nova**, v. 37, n. 3, p. 465-472, 2014.
- MASARIN, F. **Estudo da degradação de lignina iniciada por metabólitos extracelulares extraídos de cultivos de Ceriporiopsis subvermispora**. [s.l.] Universidade de São Paulo, 2010.
- MELO, V. F.; ALLEONI, L. R. F. **Química e Mineralogia do solo**. Viçosa, MG: SBCS, 2009.
- MOORMAN, T. B. et al. Organic amendments to enhance herbicide biodegradation in contaminated soils. **Biology and Fertility of Soils**, v. 33, n. 6, p. 541–545, 2001.
- MUNGER, R. et al. Intrauterine growth retardation in iowa communities with herbicide-contaminated drinking water supplies. **Environmental Health Perspectives**, v. 105, n. 3, p. 308–314, 1997.
- NICOLINI, P. K. et al. Dehydrated halloysite intercalated mechanochemically with urea :Thermal behavior and structural aspects. **Journal of Colloid And Interface Science**, v. 338, p. 474–479, 2009.
- OCHOA-ACUÑA, H. et al. Drinking-water herbicide exposure in indiana and prevalence of small-for-gestational-age and preterm delivery. **Environmental Health Perspectives**, v. 117, n. 10, p. 1619–1625, 2009.
- OLIVEIRA, M. W. DE et al. Decomposição e liberação de nutrientes da palhada de cana-de-açúcar em campo. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 34, n. 12, p. 2359–2362, 1999.
- PAES, M. C. D.; TEIXEIRA, F. F.; MARTINS, I. S. **Composição química da palha de milho com qualidade para artesanato**. 2008. In: CONGRESSO NACIONAL DE MILHO E SORGO, 27.; SIMPOSIO BRASILEIRO SOBRE A LAGARTA-DO-CARTUCHO, SPODOPTERA FRUGIPERDA, 3.; WORKSHOP SOBRE MANEJO E ETIOLOGIA DA MANCHA BRANCA DO MILHO, 2008, Londrina. Agroenergia, produção de alimentos e mudanças climáticas: desafios para milho e sorgo: trabalhos e palestras. [Londrina]: IAPAR; [Sete Lagoas]: Embrapa Milho e Sorgo, 2008.
- PAPINI, S.; ANDREA, M. M.; LUCHINI, L. C. **Segurança ambiental no controle químico de pragas e vetores**. 1 ed. São Paulo: Editora Atheneu, 2014. 290 p.
- PAVAN, M. A.; MIYAZWA, M. **Análise Química de Solos: parâmetros para interpretação**. Londrina-PR: IAPAR, 1996.
- PEREIRA, B. F. **Novas abordagens no preparo e na caracterização de substâncias húmicas**. 2004. 224 f. Tese (Doutorado em Química) - Curso de Pós Graduação em Química, Setor de Ciências Exatas, Universidade Federal do Paraná. Curitiba, 2004.
- POPOV, V. H. et al. Atrazine degradation in soils: the role of microbial communities, atrazine application history, and soil carbon. **Australian Journal of Soil Research**, v. 43, n. January, p. 861–871, 2005.

PRATA, F.; LAVORENTI, A. Comportamento de herbicidas no solo: influência da matéria orgânica. **Revista Biociência**, n. 62, p. 17–22, 2000.

REDDY, N.; YANG, Y. Biofibers from agricultural byproducts for industrial applications. **Trends in Biotechnology**, v. 23, n. 1, 2005.

RIBEIRO, E. A. M. **Síntese , caracterização e aplicação de membranas de acetato de celulose a partir da reciclagem da palha de milho em processo de ultrafiltração**. 2013. 79 f. Dissertação (Programa de Pós-Graduação em Química), Universidade Federal de Uberlândia. Uberlândia, 2013.

RODRIGUES, B. N. Influência da cobertura morta no comportamento dos herbicidas imazaquin e clomazone. **Planta Daninha**, v. 11, n. 1/2, p. 21–28, 1993.

RODRIGUES, B. N.; ALMEIDA, F. S. **Guia de herbicidas**. 3 ed. Londrina: IAPAR, 1995. 696 p.

ROSA, A. H.; FRACETO, L. F.; MOSCHINI-CARLOS, V. **Meio ambiente e sustentabilidade**. Porto Alegre, RS: Bookman, 2012. 412 p.

ROSS, A. J. DE et al. Integrative assessment of multiple pesticides as risk factors for non-Hodgkin's lymphoma among men. **Occupational and Environmental Medicine**, v. 60, n. 9, p. 01–09, 2003.

SAM, A. T.; ASUMING-BREMPPONG, S.; NARTEY, E. K. Microbial activity and metabolic quotient of microbes in soils amended with biochar and contaminated with atrazine and paraquat. **Acta Agriculturae Scandinavica Section B: Soil and Plant Science**, v. 67, n. 6, p. 492–509, 2017.

SAWANGJIT, S. Isolation and characterization of atrazine-degrading *Xanthomonas* sp. ARB2 and its use in bioremediation of contaminated soils. **International Journal of Environmental Science and Development**, v. 7, n. 5, p. 351–354, 2016.

SENE, L. et al. New aspects on atrazine biodegradation. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v. 53, n. 2, p. 487–496, 2010.

SILVA, M. A. DA et al. Frações de fósforo em Latossolos. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 38, n. 10, p. 1197–1207, 2003.

SIMPKINS, J. W. et al. Atrazine and breast cancer: a framework assessment of the toxicological and epidemiological evidence. **Toxicological Sciences**, v. 123, n. 2, p. 441–459, 2011.

SINGH, S. et al. Toxicity, degradation and analysis of the herbicide atrazine. **Environmental Chemistry Letters**, v. 16, n. 1, p. 211–237, 2017.

SOLOMON, D. R. J.; KUMAR, A.; SANTHI, V. S. Atrazine biodegradation efficiency , metabolite detection , and trzD gene expression by enrichment bacterial cultures from agricultural soil. **Biomedicine and Biotechnology**, v. 14, n. 12, p. 1162–1172, 2013.

SOLOMON, K. R. et al. Ecological risk assessment of atrazine in North American surface waters. **Environmental Toxicology and Chemistry**, v. 32, n. 1, p. 10–11, 2013.

SWAN, S. H. Semen quality in fertile US men in relation to geographical area and pesticide exposure. **international Journal of Andrology**, v. 29, p. 62–68, 2006.

TONINI, R. M. C. W.; REZENDE, C. E. DE; GRATIVOL, A. D. Degradação e biorremediação de compostos do petróleo por bactérias: Revisão. **Oecologia Australis**, v. 14, n. 4, p. 1010–1020, 2010.

TRAGHETTA, D. G.; VAZ, C. M. P.; MACHADO, S. A. S. et al., 1996. **Mecanismos de sorção da atrazina em solos: estudos espectroscópicos e polarográficos**. Comunicado Técnico EMBRAPA. n. 14, pp.1-7.

TREZZI, M. M. et al. Atrazine persistence applied as commercial and xerogel formulations in oxisol. **Planta Daninha**, v. 31, n. 3, p. 667–675, 2013.

UDIKOVIĆ-KOLIĆ, N.; SCOTT, C.; MARTIN-LAURENT, F. Evolution of atrazine-degrading capabilities in the environment. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 96, n. 5, p. 1175–1189, 2012.

WANG, H. et al. Biodegradation of atrazine by *Arthrobacter* sp. C3 , isolated from the herbicide-contaminated corn field. **International Journal of Environmental Science and Technology**, v. 13, n. 1, p. 257–262, 2015.

WANG, J. et al. Isolation and characterization of atrazine mineralizing *Bacillus subtilis* Strain HB-6. **PLOS ONE**, v. 9, n. 9, p. 1–9, 2014.

WANG, Q.; XIE, S. Isolation and characterization of a high-efficiency soil atrazine-degrading *Arthrobacter* sp. strain. **International Biodeterioration & Biodegradation**, v. 71, p. 61–66, 2012.

ZHAO, X. et al. *Pseudomonas* sp. ZXY-1, a newly isolated and highly efficient atrazine-degrading bacterium, and optimization of biodegradation using response surface methodology. **Journal of Environmental Sciences**, v. 54, p. 1–8, 2017.

ZHU, C. et al. Preparation, performances and mechanisms of magnetic *Saccharomyces cerevisiae* bionanocomposites for atrazine removal. **Chemosphere**, v. 200, p. 380–387, 2018.

ZYL, C. VAN et al. D-Xylose Utilization by *Saccharomyces cerevisiae*. **Journal of General Microbiology**, v. 135, p. 2791–2798, 1989.

APÊNDICE A – Evolução de CO₂ dos ensaios de respiração basal do solo (acumulado)

Horas	Respiração basal do solo (mg C-CO ₂ kg ⁻¹ h ⁻¹)																			
	Ensaio																			
	1		2		3		4		5		6		7		8		9		10	
	Solo 1	Solo 2	Solo 1	Solo 2	Solo 1	Solo 2	Solo 1	Solo 2	Solo 1	Solo 2	Solo 1	Solo 2	Solo 1	Solo 2	Solo 1	Solo 2	Solo 1	Solo 2	Solo 1	Solo 2
24	0,62	0,56	1,85	1,35	15,33	10,79	15,33	10,12	4,33	1,80	4,70	2,25	16,07	10,57	16,20	9,89	12,98	8,21	11,25	8,43
48	1,98	1,01	3,34	1,91	28,07	20,01	28,56	17,32	8,90	3,37	8,78	3,71	29,55	19,00	29,92	18,44	23,49	15,29	22,01	13,38
72	1,61	1,81	3,59	3,05	38,21	26,39	38,70	22,44	13,23	5,31	12,74	5,99	40,68	26,06	41,55	25,27	31,16	20,76	30,17	18,05
96	1,85	1,81	4,08	3,51	48,22	30,94	49,34	28,02	18,55	7,24	17,93	8,15	56,88	32,21	53,79	31,30	39,32	25,20	38,58	22,26
120	4,58	1,92	7,30	3,73	60,34	36,18	61,70	33,71	26,21	9,41	26,09	10,09	69,99	39,27	66,52	38,02	46,99	29,29	46,86	26,36
144	5,19	1,92	8,16	4,19	67,51	42,21	69,24	40,20	30,54	12,48	31,41	12,82	79,01	47,01	76,66	45,54	52,55	34,30	52,43	30,91
168	5,58	2,72	9,57	4,64	72,25	48,48	74,75	46,92	34,26	15,55	35,76	15,89	86,19	54,41	84,48	52,59	56,78	39,31	56,66	36,04
192	6,55	3,59	11,38	5,02	76,72	55,46	80,75	53,65	38,86	19,30	41,62	19,64	90,51	63,27	92,15	60,71	60,96	44,55	61,82	41,53
288	7,11	3,84	12,71	5,30	79,02	58,52	82,91	56,56	41,44	21,17	44,24	21,60	93,65	66,83	95,43	64,14	63,13	46,96	64,08	44,08
384	7,61	4,25	13,29	5,85	80,64	61,44	84,65	58,92	43,60	23,06	46,28	23,63	96,12	70,22	97,74	67,60	64,79	48,98	65,70	46,21
480	7,85	4,63	13,60	6,19	81,72	63,12	85,65	60,33	45,42	24,36	47,67	25,10	97,93	72,38	99,52	69,83	65,87	50,32	66,82	47,62
576	8,03	4,91	13,78	6,40	82,41	64,49	86,54	61,53	46,84	25,63	48,67	26,44	99,36	74,10	100,90	71,65	66,75	51,55	68,02	48,82
672	8,15	5,08	13,86	6,81	82,87	65,69	86,96	62,97	47,77	26,83	49,10	27,71	100,13	75,67	101,60	73,23	67,25	52,58	68,48	49,95
840	8,47	5,16	14,10	6,95	83,39	66,30	87,48	63,72	48,58	27,52	49,55	28,32	100,74	76,55	102,25	74,26	67,71	53,15	68,83	50,54
1008	8,60	5,42	14,24	7,38	83,64	66,95	87,79	64,39	49,03	28,45	49,83	29,05	101,22	77,48	102,78	75,32	68,02	53,88	69,13	51,35
1176	8,72	5,63	14,34	7,76	83,86	67,50	88,01	64,88	49,33	29,35	50,00	29,76	101,51	78,23	103,22	75,99	68,40	54,49	69,35	52,02
1344	8,72	5,85	14,45	8,17	84,06	67,92	88,11	65,33	49,60	30,18	50,10	30,51	101,73	78,88	103,50	76,60	68,57	55,06	69,49	52,71
1512	9,00	6,24	14,57	8,68	84,28	68,51	88,32	65,85	49,96	31,08	50,28	31,24	102,05	79,53	103,97	77,29	68,85	55,63	69,68	53,44

Fonte: Autoria própria (2018).

Nota: Solo 1 = solo com histórico de utilização de atrazina; Solo 2 = solo sem histórico de utilização de atrazina.

APÊNDICE B – Espectro de massa da atrazina (comparação com a biblioteca NIST)

