

Universidade Estadual do Rio Grande do Sul
Bacharelado em Gestão Ambiental
Componente curricular: Microbiologia Ambiental
Aula 11

Professor Antônio Ruas

- 1. Créditos: 60**
- 2. Carga horária semanal: 4**
- 3. Semestre: 2°**
- 4. *Agrotóxicos***

- **Introdução.**

- A indústria de agrotóxicos no Brasil movimentava US\$ 2,0 bilhões por ano, o que coloca o país em 3º lugar no mundo (em 2002). As classes de agrotóxicos têm os herbicidas (51%), inseticidas (21%), fungicidas (18%), acaricidas (4%) e antibrotantes, reguladores de crescimento, óleos minerais e espalhantes adesivos (3%).

- A grande biomassa microbiana na superfície do solo influencia continuamente a estrutura e o metabolismo bioquímico dos agrotóxicos e interage com a ciclagem da matéria orgânica total. A fertilidade total dos ecossistemas depende quase que totalmente dos processos microbianos naturais como a fixação biológica de N_2 , mineralização das formas orgânicas de C, N, e P e transformação da matéria orgânica mediada pela biomassa microbiana.

-

- **Introdução.**

- Mesmo que o metabolismo do N e C não seja afetado, a estrutura da comunidade bacteriana no solo pode ser modificada pelo agrotóxico.

- Alguns grupos microbianos são capazes de utilizar o agrotóxico aplicado como fonte de energia e nutrientes, mas ele pode ser tóxico a outros organismos. A diversidade indica o quanto o ecossistema foi estressado.

- A seguir vamos revisar alguns exemplos de biorremediação de agrotóxicos.

-

- **Introdução.**

- Os agrotóxicos são em maioria transformados predominantemente por processos biológicos, por enzimas animais, vegetais e de microrganismos.

- Esta degradação resulta em formas mais simples, mas as moléculas podem permanecer se as condições de degradação forem desfavoráveis. As interações entre solo, xenobióticos e microrganismos são complexas.

- Os compostos aromáticos clorados são os principais poluentes ambientais, porque são frequentemente liberados em grandes quantidades, tóxicos e resistentes à biodegradação, acumulando-se no sedimento e na biota. São manufacturados como agrotóxicos e solventes.

-

• **Introdução.**

- Por exemplo temos as seguintes siglas e abreviações:
- POP: poluentes orgânicos persistentes;
- PCBs: bifenilas policloradas;
- PAHs: hidrocarbonetos policíclicos (da combustão do petróleo e eservativos de madeira);
- HCB ou BHC: hexaclorobenzeno;
- biofenilas policloradas;
- Xenobióticos: compostos químicos sintéticos;
- PCP: pentaclorofenol;
- TNT: trinitrotolueno

- **Introdução.**
- Por exemplo há as bifenilas policloradas (PCBs), agrotóxicos e pentaclorofenol (PCO). Os haloaromáticos são os piores. Sua toxicidade e recalcitrância relaciona-se com o número e localização dos substituintes halogênicos e das espécies haletos.
-
- No caso, o halogênio pode ser removido do núcleo aromático pela atividade enzimática hidrolítica, redutiva ou oxigenolítica, ou ainda após a clivagem do anel ocorrendo perda espontânea de um haleto por hidropolise ou B-eliminação.
- A maioria dos agrotóxicos contém compostos aromáticos e a degradação do núcleo aromático requer a abertura do anel. O benzeno é inerentemente estável e o núcleo aromático é preparado para a fissão do anel por meio da hidroxilação.

- **Introdução.**

- Outros compostos poluentes contêm nitrogênio e incluem as azo anilinas, herbicidas anilinas (exemplo: propanil), explosivo como o trinitrotolueno (TNT), e também os que contêm enxofre, podem causar poluição, sendo eles; alquilsulfonatos e arilsulfonatos, comercialmente vendidos como surfatantes e os alquilbenezenos sulfonatos usados em detergentes.
- Esses poluentes são biodegradáveis, podendo os microrganismos utilizarem o N ou o S como nutrientes (Weightman & Slater, 1988).
- Porque os microrganismos degradar os xenobióticos? Segundo os autores, numerosos compostos orgânicos já existem no solo e muitos xenobióticos são análogos a esses compostos naturais, sugerindo um ponto de partida para a biodegradação e para a evolução.

- **Introdução.**

- Os compostos naturais podem ser metabolizados sob condições ambientais oportunas.

- As enzimas envolvidas nesse metabolismo podem ter baixa especificidade de substrato e assim podem também atacar os análogos xenobióticos.

- Um exemplo excelente desse princípio é fornecido pelo fungo da podridão-branca, da espécie *Phanerochaeta chrysosporium*.

- O substrato natural para esse fungo é a madeira, a qual é uma coleção extremamente complexa de moléculas de alto peso molecular incluindo PAH's. O fungo degrada a lignina e tem potencial biotecnológico na produção de celulose (pouco usado).

• **Introdução.**

- O sistema degradador da lignina, presente nesse fungo não é específico e pode também degradar uma variedade de poluentes como: inseticidas clorados, PCB's, preservativos de madeiras e resíduos de explosivos.
- Os microrganismos degradadores de agrotóxicos são encontrados nos domínios eubactérias: Archaea, e Eukaria, tendo muitos tipos fisiológicos: aeróbios, anaeróbios (fermentativos, metanogênicos, redutores de enxofre), quimiolitotróficos, e organismos fotossintéticos. Os resíduos (de agrotóxicos) podem ser mineralizados por um simples microrganismo ou por conjuntos de microrganismos.

- **Introdução.**

- A biodegradação de um complexo de moléculas normalmente envolve o efeito interativo das comunidades mistas de microrganismos e conta com a versatilidade metabólica das bactérias e fungos.

- **Reações de degradação**

- O processo do metabolismo dos agrotóxicos inclui duas fases, normalmente conhecidas como Fase I e Fase II.
- As maiores reações envolvidas na Fase I são: oxidação, redução e hidrólise.
- Entre as reações representativas da oxidação estão a hidroxilação, dealquilação, deaminação e formação de sulfóxidos, enquanto as reações de redução incluem a azo-redução e adição de hidrogênio. Durante a Fase I, o composto químico pode adquirir grupos reativos tais como: OH, NH₂, COOH ou SH.

- **Introdução.**

- As reações da Fase II são reações sintéticas ou de conjugação.
- Um poluente ambiental pode combinar diretamente com uma substância endógena ou ser alterado pela Fase I e então sofrer conjugação.
- As substâncias endógenas comumente envolvidas com as reações de conjugação incluem: glicina, cisteína, glutadiona, ácido glicurônico, sulfatos e outros compostos solúveis em água.

Tabela 2. Relações entre compostos químicos e biodegradabilidade.

Hidrocarbonetos	
BTEX ⁽²⁾	A1, N2, AN2
Gasolina	A1, N3, AN2
Óleo de alto peso, PAH	A2, N4, AN4
Creosoto	A1, N2, AN4
Hidrocarbonetos Oxigenados	
Álcoois de baixo PM, cetonas, ésteres, éteres	A1, N5, AN3
Alifáticos Halogenados	
Altamente clorados	A4, A3, N5, AN2
Menos clorados	A2, A3, N5, AN2
Aromáticos Halogenados	
Altamente clorados	A4, A2, N5, AN2
Menos clorados	A2, A3, N2, AN2
PCB's	
Altamente clorados	A4, N5, AN2
Menos Clorados	A2, A1, N5, AN4
Nitroaromáticos	A2, N5, AN2

⁽¹⁾ As três entradas numeradas para cada composto fornecem informação sobre taxas de biodegradabilidade (1-5) sob condições aeróbicas (A), redutoras de nitrato (N) e outros anaeróbicas (AN). 1 = prontamente mineralizável como substrato para crescimento; 2 = biodegradável sob condições restritas; 3 = metabolizáveis parcialmente quando um segundo substrato está presente (co-metabolizável); 4 = resistente; 5 = informação insuficiente.

⁽²⁾ BTEX = benzeno, tolueno, etilbenzeno, xileno; PAH = hidrocarbonetos aromáticos policíclicos; PCB's = bifenilas policloradas.

Fonte: Madsen, 1998.

• Organoclorados

- Tecnologias que visam à remoção de poluentes organoclorados do meio ambiente, utilizando processos de separação e estabilização (adsorção em carvão ativado ou lavagem de solo) não fornecem solução permanente, apenas transferem o contaminante de um sistema para outro.
- A incineração do material contaminado pode ser outra solução desfavorável, pois além de demandar muito custo, pode produzir outros compostos químicos tão ou mais tóxicos que os originais.

• Organoclorados

- A biorremediação (utilização de organismos vivos para eliminação de compostos tóxicos) vem sendo muito estudada nos últimos anos porque, além de menos dispendiosa, pode resultar na mineralização ou na transformação dos contaminantes em produtos finais inócuos. Pela biorremediação, grandes volumes de solo, água ou sedimentos podem ser tratados pela estimulação dos microrganismos autóctones ou pela introdução de microrganismos com capacidade comprovada de degradar o poluente.
- Poluentes orgânicos persistentes – POPs, consistem num grupo de substâncias altamente persistentes no meio ambiente por serem recalcitrantes, não participando dos processos naturais de ciclagem dos nutrientes.

• Organoclorados

- De acordo com o Programa das Nações Unidas para o Meio Ambiente os POP são geralmente compostos orgânicos clorados aromáticos, poliaromáticos e acíclicos clorados, os quais são originados como produtos ou subprodutos industriais, utilizados como agrotóxicos, agentes bioestáticos ou biocidas para preservação de madeira e outros materiais.
- Durante a Convenção de Estocolmo, realizada em 2001, foi proposto um grupo de doze POP considerados altamente prejudiciais ao meio ambiente devido sua persistência aos processos naturais de degradação.
- Os doze sujos, como ficaram conhecidos, são: aldrin, endrin, dieldrin, clordano, DDT, toxafeno, mirex, heptacloro, hexaclorobenzeno, bifenilas poli-cloradas, dioxinas e furanos.

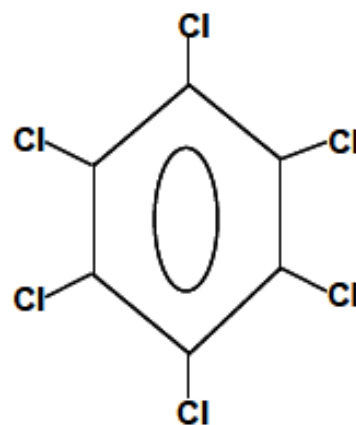
• Organoclorados

- No grupo dos agrotóxicos clorados, os compostos fontes de maior preocupação para a América do Sul são: aldrin, dieldrin, endrin, p,p,-DDT, p,p,DDE, p,p,-DDD, hexaclorociclohexanos (a-HCH, b-HCH, g-HCH e d-HCH), endossulfan, heptacloro de clordano.

- **Introdução.**

- O hexaclorobenzeno – HCB ou BHC foi fabricado pela primeira vez em 1933 pela reação entre o benzeno sob excesso de cloreto, catalisada por cloreto férrico. Também pode ser originado como resíduo da fabricação de tetracloreto de carbono e percloroetileno não sendo registrada sua ocorrência natural no meio ambiente.
- Esse composto já foi utilizado principalmente como fungicida para preservar sementes e grãos de cereais, como constituinte de preservativos de madeira e de fogos de artifício, na fabricação do alumínio, de corantes vinil policlorados e de borracha sintética para produção de pneus.
- A seguir, principais características químicas do HCB

Quadro 1: Características físico-químicas do hexaclorobenzeno



Fórmula.....	C ₆ Cl ₆
Peso molecular 0.....	284,78 g mol ⁻¹
Número de registro CAS.....	118-74-1
Solubilidade em água.....	0,0079 mg L ⁻¹ , 25°C
Ponto de fusão (°C).....	226 °C
Ponto de Ebulição (°C).....	323-326 °C
Pressão de vapor (mPa):.....	1,45 (mPa)
Volatilidade:.....	baixa
log Kow:.....	6,18 (pH 4,7)
Mobilidade:.....	baixa
Persistência.....	elevada
Limite aceitável em água para proteção da vida humana (EPA/USA).....	zero

Outros nomes

Amatin; Anticarie; Bunt-cure; Bunt-no-more; Co-op Hexa; HCB; Carbono clorado de Julin; No Bunt 40; No Bunt 80; Pentaclorofenil clorado; Perclorobenzeno; Sanocide; Sniociotox; 1,2,3,4,5,6-Hexaclorobenzeno; Benzeno hexaclorado; Hexa c.b.; Hexaclorobenzol; Fenil percloril; Smut-Go; Ceku C.B.; Esaclorobenzene; Granox nm; Rcra waste number U127; Saatbeizfungizid; Sanocid; UN 2729

- **HCB**

- As principais fontes de liberação de HCB no meio ambiente são fábricas de solventes clorados, a fabricação e aplicação de pesticidas contaminados por HCB e a incineração inadequada de resíduos contendo cloro (Toledo 2002).
- As disposições inadequadas dos resíduos oriundos de processos que utilizam HCB são potenciais fontes de contaminação do meio ambiente por HCB.
- A maior produção de HCB ocorreu entre as décadas de 70 e 80, atingindo cerca de 10.000 toneladas por ano entre 1978 a 1981.
- Por apresentar grande estabilidade química e não participar dos processos naturais de reciclagem pelos microrganismos o HCB é um poluente muito persistente no meio ambiente.

-

- **HCB**

- O HCB é biomagnificado na cadeia alimentar, estando presente no ar, em ambientes terrestres e aquáticos e, muito embora apresente baixa solubilidade em água, é muito encontrado em organismos filtradores marinhos e de águas doces, assim como em peixes, os quais sofrem grandemente por sua toxicidade
- A meta atual é banir do planeta sua utilização e as fontes de contaminação por HCB.

-

• HCB

Quadro 2: Decisões entre os países quanto ao uso de hexaclorobenzeno até o ano de 2000

Década	Utilização de hexaclorobenzeno entre os países	
	Restrição	Banido
1960	Argentina (1963)	Hungria (1968)
1970	Canadá (1976), Finlândia (1977)	Nova Zelândia (1972), Austrália (1972), Reino Unido (1975), União Européia (1978), Japão (1979)
1980	República Checa (1980), Polônia (1980), Suécia (1980), Estados Unidos (1984), Brasil (1985), Singapura (1985), Tunísia (1986), Noruega (1987)	Egito (1981), Alemanha ocidental (1984), Marrocos (1984), Equador (1985), Suíça (1986), União Soviética Socialista (1986), Panamá (1987)
1990	México (1991),	Nova Guiné (1990), Vietnam (1992), Paraguai (1993), Colômbia (1993), Islândia (1996), Turquia (1997), Bósnia Herzegovina (1997), Síria (1998), Eslovênia (1998), Jamaica (1999), Peru (1999)
2000		Argentina (2000), El Salvador (2000), Tailândia (2001), Jordânia (2001), Bolívia (2002), Chile (2002), Canadá (2003)
Data não disponível	Filipinas	Dinamarca, Camboja, Indonésia, Guatemala,
Ainda em uso	China e Rússia	

Adaptado de Barber et al. (2005)

- **HCB**

- No estado do Rio de Janeiro houve a contaminação de solo por hexaclorociclohexano, conhecido como Pó de Broca, em uma área conhecida como Cidade dos Meninos (antigo centro profissionalizante de jovens), que a partir de 1949 passou a sediar um centro de combate da malária, quando foi armazenada grande quantidade desse composto utilizado junto com outros clorados na produção de inseticida utilizado no combate do mosquito transmissor da malária, e como descrito por esse autor, a contaminação do solo na “Cidade dos Meninos” persiste até os dias atuais sem solução adequada.

- **Fungos basidiomicetos**
- A aplicação dos basidiomicetos lignocelulolíticos para biodegradação de substâncias químicas recalcitrantes vem sendo amplamente estudada.
- Esse interesse baseia-se na capacidade desses organismos em degradar diversas moléculas de poluentes orgânicos persistentes e outras substâncias tóxicas persistentes, como por exemplo: DDT, dioxinas (2,3,7,8 – tetraclorodibenzo-p-dioxina), hidrocarbonetos aromáticos (benzo- α -pireno), além de bifenilas policloradas, pentaclorofenol e **hexaclorobenzeno**.

-

- **Fungos basidiomicetos**
- Os fungos filamentosos apresentam uma série de características que os tornam interessantes para aplicação em sistemas de biorremediação. Eles são capazes de crescer sob as condições de estresse ambiental que limitam o crescimento bacteriano. E ainda, o modo de crescimento dos fungos – induzido quimiostaticamente em direção à fonte de carbono orgânico, através do alongamento e ramificação das hifas – permite a colonização de grandes áreas.
- O contato superficial com o contaminante é amplo, aumentando sua biodisponibilidade e, conseqüentemente, podendo ter sua biodegradação aumentada.
-

- **Fungos basidiomicetos**

- O crescente conhecimento dos mecanismos de degradação da lignina é que tem permitido aprofundar o conhecimento sobre a degradação de poluentes orgânicos persistentes.
- Grande parte das espécies de fungos basidiomicetos são degradadoras de madeira e podem ser divididas em dois grandes grupos: os fungos causadores de podridão branca e os causadores de podridão parda.
- Os primeiros são dotados de complexo enzimático que os tornam capazes de converter moléculas de celulose, hemicelulose e lignina em água e CO₂, além de deixar a madeira com aspecto esponjoso, fibroso ou laminado e com cor esbranquiçada, o que caracteriza o nome do grupo

- **Fungos basidiomicetos**

- Os fungos causadores de podridão parda, por sua vez, são
- responsáveis pela degradação da celulose e hemicelulose e deixam a madeira com aspecto amorfo e desintegrado ao final do processo de degradação, restando apenas moléculas de
- lignina modificada de coloração .

- Ao que parece, fungos basidiomicetos causadores de podridão branca são os únicos organismos capazes de converter lignina em CO₂.

- Devido à capacidade de converter lignina em CO₂ e água, os fungos basidiomicetos são muito utilizados em processos biotecnológicos.

-

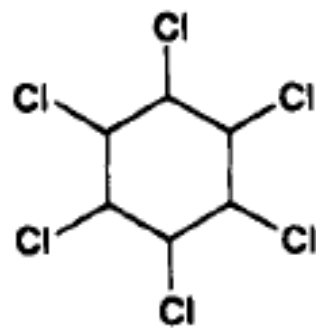
- **Fungos basidiomicetos**

- Como já mencionado, os resíduos agrícolas ou agroindustriais representam também um grave problema ambiental quanto à sua disposição final.
- No entanto, podem ser utilizados pelos fungos basidiomicetos como substratos na produção de cogumelos comestíveis e polissacarídeos para aplicação na indústria alimentícia, médica ou cosmética.
- Produtos finais da degradação do substrato podem ser utilizados ainda como fertilizantes em plantações, suplementos para ração de animais ou ainda serem reciclados e misturados a outros materiais orgânicos, para utilização em terra de cobertura de plantações de champignon.

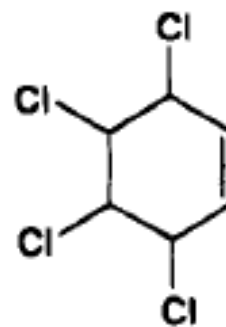
- **Fungos basidiomicetos**

- As três principais enzimas ligninolíticas envolvidas na degradação de xenobióticos são lignina peroxidase (Lip), lacases (LAC) e peroxidases dependentes do manganês (MnP).
- Entre as espécies de fungos estudadas para biodegradação de poluentes orgânicos encontramos:
 - *Bjerkandera adusta*, *Ceriporiopsis subvermispora*, *Inonotus dryophilus*, *Lentinula edodes*, *Phanerochaete sórdida*, *Phellinus badius*, *Pleurotus ostreatus*, *Polyporus pinsitus*, *Stereum hirsutum*, *Trametes hirsuta*, *T. versicolor*, *T. villosa*, *Peniophora cinerea*, *Psilocybe castanella*, *Lentinus crinitus*, capazes de degradar antraceno, pentaclorofenol, 3,4-dicloro anilina, dieldrin, fenantreno, creosoto, dibenzo-a-dioxina, dibenzofuranos policlorados, pireno, fluoreno, hexaclorobenzeno, além de outras espécies.

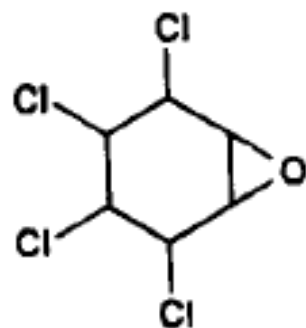
- Phanerochaetes chrysosporium e HCH
- A habilidade do fungo basidiomiceto *P. chrysosporium* de degradar compostos derivados de HCH ou HCB vem sendo investigada.
- No trabalho de Mougín e cols “Biotransformation of the Insecticide Lindane by- the White rot basidiomycete *Phanerochaete chrysosporium*” fica claro que o sistema de degradação de lignina (LDS) atua também sobre este composto e outros derivados, graças a enzimas como a lignina-peroxidase extra-celular e peroxidase dependente de manganês.



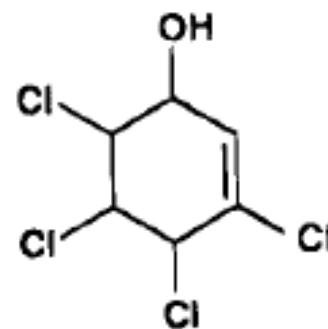
1



2



3



4

Fig. 1. Chemical structure of the chemicals cited in the text. 1, lindane (γ -HCH); 2, tetrachlorocyclohexene (TCCH); 3, tetrachlorocyclohexene epoxide (TCCE); 4, tetrachlorocyclohexenol (TCCOL).

- *Phanerochaete chrysosporium* e HCH
- A habilidade do fungo basidiomiceto *P. chrysosporium* de degradar compostos derivados de HCH ou HCB vem sendo investigada.
- No trabalho de Mougín e cols “Biotransformation of the Insecticide Lindane by- the White rot basidiomycete *Phanerochaete chrysosporium*” fica claro que o sistema de degradação de lignina (LDS) atua também sobre este composto e outros derivados, graças a enzimas como a lignina-peroxidase extra-celular e peroxidase dependente de manganês.
- Metabólitos polares e dióxido de carbono foram produzidos a partir do pesticida. Entre os metabólitos tetraclorociclohexano, tetraclorociclohexano epóxido e tetraclorociclohexanol.



- **Fungos basidiomicetos: exercício**
 - Escolher uma das espécies mencionadas e descrever:
 - i) Classificação;
 - li) Ciclo vital;
 - lii) Rota de produção energética.
- 