

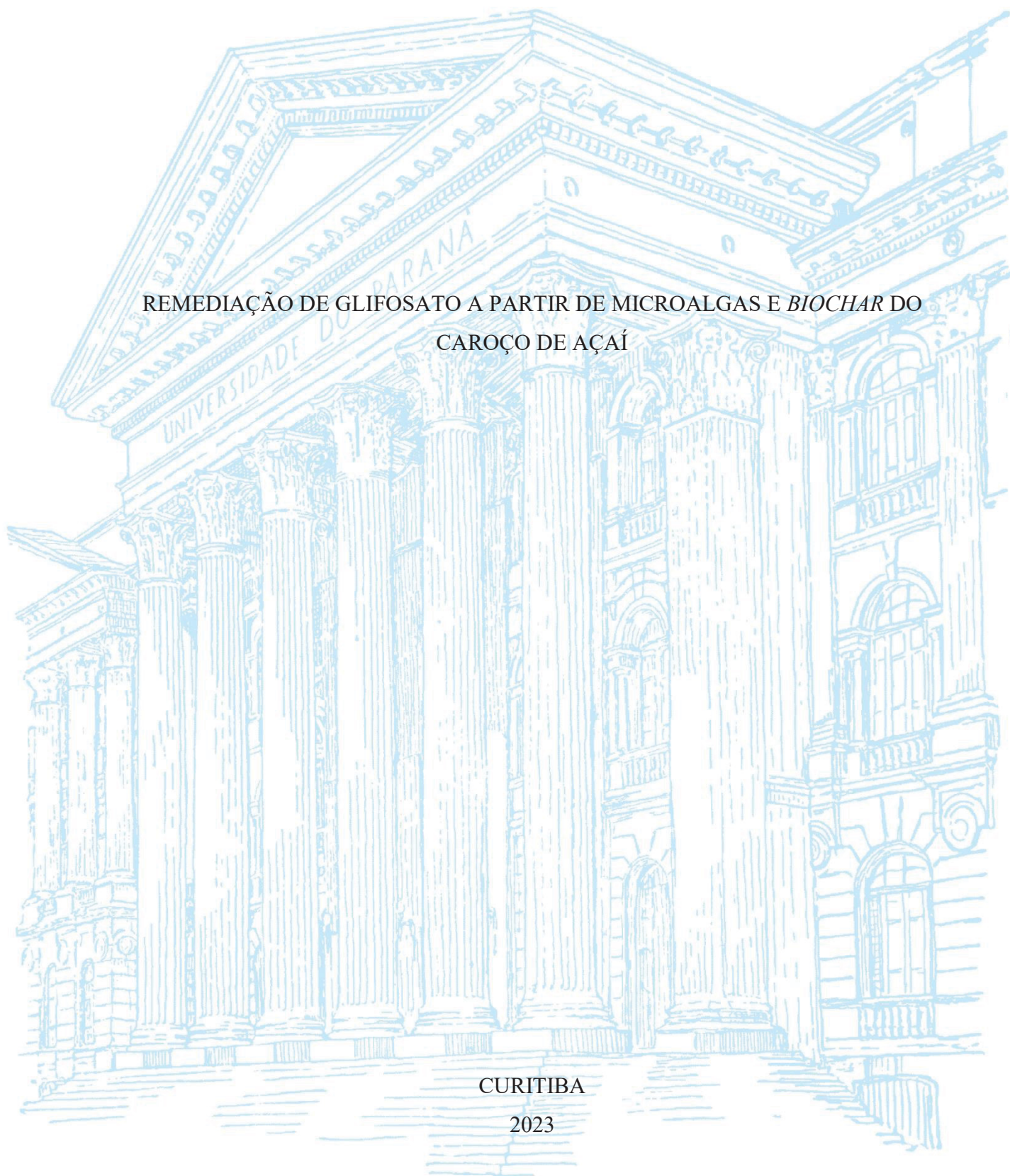
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ

MUNISE ZAPAROLI

REMEDIAÇÃO DE GLIFOSATO A PARTIR DE MICROALGAS E *BIOCHAR* DO
CAROÇO DE AÇAÍ

CURITIBA

2023



MUNISE ZAPAROLI

REMEDIAÇÃO DE GLIFOSATO A PARTIR DE MICROALGAS E *BIOCHAR* DO
CAROÇO DE AÇAÍ

Tese apresentada ao curso de Pós-Graduação em Engenharia de Bioprocessos e Biotecnologia, Setor de Tecnologia, Universidade Federal do Paraná, como requisito parcial à obtenção do título de Doutora em Engenharia de Bioprocessos e Biotecnologia.

Orientador: Prof. Dr. Jorge Alberto Vieira Costa

CURITIBA

2023

DADOS INTERNACIONAIS DE CATALOGAÇÃO NA PUBLICAÇÃO (CIP)
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ
SISTEMA DE BIBLIOTECAS – BIBLIOTECA CIÊNCIA E TECNOLOGIA

Zaparoli, Munise

Remediação de glifosato a partir de microalgas e biochar do caroço de
açai. / Munise Zaparoli . – Curitiba, 2023.

1 recurso on-line : PDF.

Tese (Doutorado) - Universidade Federal do Paraná, Setor de
Tecnologia, Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Bioprocessos
e Biotecnologia.

Orientador: Prof. Dr. Jorge Alberto Vieira Costa

1. Produtos químicos agrícolas (Agrotóxicos). 2. Absorção. 3.
Biorremediação. 4. Microalgas. I. Costa, Jorge Alberto Vieira. II.
Universidade Federal do Paraná. Programa de Pós-Graduação em
Engenharia de Bioprocessos e Biotecnologia. III. Título.

Bibliotecária: Roseny Rivelini Morciani CRB-9/1585

TERMO DE APROVAÇÃO

Os membros da Banca Examinadora designada pelo Colegiado do Programa de Pós-Graduação ENGENHARIA DE BIOPROCESSOS E BIOTECNOLOGIA da Universidade Federal do Paraná foram convocados para realizar a arguição da tese de Doutorado de **MUNISE ZAPAROLI** intitulada: **Remediação de glifosato a partir de microalgas e biochar do caroço de açaí**, sob orientação do Prof. Dr. JORGE ALBERTO VIEIRA COSTA, que após terem inquirido a aluna e realizada a avaliação do trabalho, são de parecer pela sua APROVAÇÃO no rito de defesa.

A outorga do título de doutora está sujeita à homologação pelo colegiado, ao atendimento de todas as indicações e correções solicitadas pela banca e ao pleno atendimento das demandas regimentais do Programa de Pós-Graduação.

CURITIBA, 08 de Agosto de 2023.

Assinatura Eletrônica

24/08/2023 12:38:10.0

JORGE ALBERTO VIEIRA COSTA
Presidente da Banca Examinadora

Assinatura Eletrônica

14/08/2023 13:32:22.0

LUCIANE MARIA COLLA

Avaliador Externo (UNIVERSIDADE DE PASSO FUNDO)

Assinatura Eletrônica

15/08/2023 15:57:20.0

ELISANGELA MARTHA RADMANN

Avaliador Externo (UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE)

Assinatura Eletrônica

06/09/2023 12:24:56.0

CARLOS RICARDO SOCCOL

Avaliador Interno (UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ)

Assinatura Eletrônica

14/08/2023 14:10:07.0

MICHELE GREQUE DE MORAIS

Avaliador Externo (UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE)

Dedico este trabalho a primeira mulher pesquisadora
a alertar sobre os perigos dos agrotóxicos
no mundo, Rachel Carson!

AGRADECIMENTOS

Gostaria de expressar meus sinceros agradecimentos a todos aqueles que contribuíram diretamente ou indiretamente para a conclusão deste trabalho de doutorado. Este é um momento de muita gratidão e reconhecimento pelas pessoas que compartilharam vivências dentro e fora da universidade e que foram fundamentais para minha trajetória acadêmica, principalmente nestes últimos 4 anos.

Aos meus pais, em primeiro lugar, gostaria de expressar minha imensa gratidão, cujo amor, encorajamento e apoio proporcionaram a base sólida para alcançar meus objetivos. Mesmo longe de casa nunca deixaram de estar presentes nos momentos mais importantes, comemorando a cada pequena conquista. Amo muito vocês, obrigada por acreditarem que eu poderia chegar até aqui.

A minha irmã, pelo apoio constante e motivação, os quais foram verdadeiramente inspiradores. Nos momentos em que tudo parecia difícil demais, você esteve ao meu lado, oferecendo palavras de encorajamento e o abraço acolhedor que eu precisava. Sua capacidade de compreender minhas dificuldades e me incentivar foi essencial para que eu chegasse até aqui. Te amo para além desta vida.

Ao meu orientador Prof. Jorge, pela orientação e cuidado, os quais foram vitais para o meu crescimento como pesquisadora. Sua orientação mesmo que virtualmente durante os desafios impostos pela pandemia demonstraram seu compromisso em garantir o bem-estar de toda a equipe. Sou profundamente grata pela paciência, apoio e confiança depositados em mim ao longo deste percurso acadêmico. Também sou grata por todas as oportunidades durante o período de doutoramento, em especial, por me permitir vivenciar o projeto de extensão CVT Bailique. Além é claro, de me proporcionar desenvolver um projeto relacionado a área de pesquisa pela qual sou apaixonada.

Não posso deixar de reconhecer e agradecer a toda a equipe do Laboratório de Engenharia Bioquímica, assim como do Laboratório de Microbiologia e Bioquímica da Universidade Federal do Rio Grande, pelos recursos, conhecimentos e apoio prestados ao longo desta pesquisa. A colaboração e a troca de ideias com todos os colegas foram fundamentais e contribuíram significativamente para a qualidade dos resultados apresentados neste trabalho. Agradeço em especial aos técnicos de laboratório, Andrei e Adriano, pela ajuda constante, principalmente durante a pandemia. Agradeço também aos pós-doutorandos, Bruna, Thaisa, Juliana, Luiza e Gabriel pela colaboração com as correções da tese, desenvolvimento da pesquisa e por auxiliarem no desenvolvimento de outros projetos durante estes 4 anos.

Agradeço também a Profa. Michele por colaborar com o desenvolvimento desta pesquisa, por todo o auxílio nas correções dos artigos e por me permitir participar de outros projetos desenvolvidos no laboratório. Ao meu iniciante científico, Arthur, por toda ajuda durante a realização desta pesquisa, pelo cuidado com as práticas e pela disponibilidade, mesmo aos finais de semana. Muito obrigada!

A todos meus amigos do LEB e MIBI, pelos cafezinhos regados de sorrisos de todos os dias, por compartilharam o mate, as idas ao RU e as vivências, por também escutarem e mediar as tantas situações das quais passei durante este período de doutoramento. Agradeço também pelas caronas e por serem muito mais do que colegas. Eu amo muito todos vocês, obrigada por tanto!

Por fim, expresso minha gratidão a todos os professores e funcionários da Universidade Federal do Rio Grande, em especial ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia e Ciência de Alimentos, onde realizei a pesquisa prática. Agradeço também a Universidade Federal do Paraná, ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Bioprocessos e Biotecnologia pela disponibilidade em resolver todas as situações com eficiência e praticidade. Agradeço também a todos os colegas, amigos e familiares que de alguma forma, contribuíram durante este período, mesmo que com uma palavra de afeto. Cada conversa, conselho e incentivo foram importantes durante este período. Agradeço também a CAPES e MCTI pelo apoio financeiro, essencial para o desenvolvimento da pesquisa. Ao Prof. Renato Zanella e Robert A. Burrow da Universidade Federal de Santa Maria, ao CEME-SUL e ao Andrei V. Igansi, pela contribuição em análises.

Mais uma vez, agradeço a todos que estiveram ao meu lado durante o período de doutoramento. A presença e apoio de todos foram fundamentais para obtenção deste título. Jamais esquecerei a importância de cada um de vocês em minha vida.

Muito obrigada!

*“But man is a part of nature,
and his war against nature
is inevitably a war against himself”
Rachel Carson*

RESUMO

A produção de alimentos impulsionada pelo crescimento da população tornou a agricultura dependente do uso de agrotóxicos. Esse crescimento foi simultâneo a poluição dos recursos hídricos, principalmente devido ao uso intensivo e por vezes inadequado dos pesticidas. O glifosato é o herbicida mais utilizado no mundo, logo, faz-se necessário desenvolver tecnologias para minimizar os impactos negativos deste agrotóxico. O *biochar* e as microalgas apresentam potencial para remoção deste poluente. Com isso, o objetivo deste trabalho foi avaliar a capacidade de remediação do glifosato utilizando adsorvente de caroço de açaí e a biodegradação do herbicida por *Synechococcus nidulans* LEB 115 e *Scenedesmus obliquus* LEB 117. O *biochar* do caroço de açaí foi obtido por pirólise (1 h e 700 °C). Os adsorventes produzidos (*biochar* de caroço de açaí e *biochar* do caroço de açaí com Fe) foram analisados na remoção de glifosato. Ensaio de adsorção em batelada foram realizados para investigar o efeito do pH (3,0 a 9,0), dosagem de adsorvente (0,25 a 10 g L⁻¹), concentração de glifosato (0 a 220 mg L⁻¹), tempo de contato (0 a 90 min) e temperatura (25 a 45 °C) sobre a capacidade de adsorção, cinética, parâmetros isotérmicos e termodinâmicos. A reutilização do *biochar* foi avaliada por 5 ciclos. Cultivos microalgais também foram testados quanto a capacidade de remoção de glifosato. *S. nidulans* LEB 115 e *S. obliquus* LEB 117 foram analisadas com 4, 8 e 12 mg L⁻¹ de glifosato em meio BG-11 por 15 d. Além disso, consórcios microalgais foram realizados com adição de 4 mg L⁻¹ de glifosato. Ao final do cultivo, a biomassa foi coletada para determinação da composição bioquímica e o sobrenadante foi utilizado para determinação residual de glifosato e ácido aminometilfosfônico (AMPA). O *biochar* impregnado com ferro apresentou maior eficiência de adsorção (87,9%) em relação ao adsorvente puro, sendo reutilizado com boa eficiência por até 5 ciclos. O modelo de pseudo-primeira ordem foi mais apropriado para descrever a cinética de adsorção. As isothermas de equilíbrio de adsorção foram melhor ajustadas ao modelo de Langmuir. A capacidade máxima de adsorção foi 96 mg g⁻¹ (25 °C). O estudo termodinâmico foi espontâneo, favorável e exotérmico. Os cultivos microalgais demonstraram resistência em até 12 mg L⁻¹ de glifosato, com produção máxima de biomassa de *S. nidulans* LEB 115 (0,68 g L⁻¹) e *S. obliquus* LEB 117 (1,11 g L⁻¹). Entretanto, maiores eficiências de biodegradação ocorreram em 4 mg L⁻¹ de glifosato (35,3% para *S. nidulans* LEB 115 e 28,5% para *S. obliquus* LEB 117). *S. obliquus* LEB 117 apresentou menor produção de AMPA (0,01 mg L⁻¹) e maior potencial para ser utilizada na produção de biocombustíveis (41,2% carboidratos e 21,0% lipídios). A utilização de consórcios não influenciou nos processos de biodegradação. Dessa forma, os resultados deste estudo indicam que *S. obliquus* LEB 117 pode crescer utilizando glifosato como fonte de nutriente, realizando a biorremediação e sendo fonte sustentável para a produção de biocombustíveis e outros bioprodutos, sem gerar poluição secundária pela formação de AMPA.

Palavras-chave: Adsorção. Agrotóxicos. *Euterpe oleracea* Mart. Biorremediação. *Scenedesmus obliquus*. *Synechococcus nidulans*.

ABSTRACT

The production of food driven by population growth has made agriculture dependent on pesticide use. This growth has occurred simultaneously with water resource pollution, mainly due to the intensive and sometimes inappropriate use of pesticides. Glyphosate is the most widely used herbicide in the world, hence the need to develop technologies to minimize its negative impacts. Biochar and microalgae have the potential for removing this pollutant. Therefore, the objective of this work was to evaluate the remediation capacity of glyphosate using açai seed biochar as an adsorbent and the herbicide biodegradation by *Synechococcus nidulans* LEB 115 and *Scenedesmus obliquus* LEB 117. The açai seed biochar was obtained by pyrolysis (1 h and 700 °C). The produced adsorbents (açai seed biochar and açai seed biochar with Fe) were analyzed for glyphosate removal. Batch adsorption assays were performed to investigate the effect of pH (3.0 to 9.0), adsorbent dosage (0.25 to 10 g L⁻¹), glyphosate concentration (0 to 220 mg L⁻¹), contact time (0 to 90 min), and temperature (25 to 45 °C) on adsorption capacity, kinetics, isotherm, and thermodynamic parameters. Biochar reusability was evaluated for up to 5 cycles. Microalgal cultures were also tested for glyphosate removal capacity. *S. nidulans* LEB 115 and *S. obliquus* LEB 117 were analyzed with 4, 8, and 12 mg L⁻¹ of glyphosate in BG-11 medium for 15 days. Additionally, microalgal consortia were conducted with the addition of 4 mg L⁻¹ glyphosate. At the end of the cultivation, biomass was collected for biochemical composition determination, and the supernatant was used for residual glyphosate and aminomethylphosphonic acid (AMPA) determination. Iron-impregnated biochar showed higher adsorption efficiency (87.9%) compared to the pure adsorbent and was efficiently reused for up to 5 cycles. The pseudo-first order model was more appropriate to describe the adsorption kinetics. The adsorption equilibrium isotherms were best fitted by the Langmuir model, with a maximum adsorption capacity of 96 mg g⁻¹ (25 °C). The thermodynamic study indicated a spontaneous, favorable, and exothermic process. Microalgal cultures showed resistance up to 12 mg L⁻¹ of glyphosate, with the maximum biomass production for *S. nidulans* LEB 115 (0.68 g L⁻¹) and *S. obliquus* LEB 117 (1.11 g L⁻¹). However, higher biodegradation efficiencies occurred at 4 mg L⁻¹ of glyphosate (35.3% for *S. nidulans* LEB 115 and 28.5% for *S. obliquus* LEB 117). *S. obliquus* LEB 117 exhibited lower AMPA production (0.01 mg L⁻¹) and greater potential for use in biofuel production (41.2% carbohydrates and 21.0% lipids). The use of consortia did not influence the biodegradation processes. Thus, the results of this study indicate that *S. obliquus* LEB 117 can grow using glyphosate as a nutrient source, performing bioremediation and being a sustainable source for biofuel production, without generating secondary pollution through AMPA formation.

Keywords: Adsorption. Bioremediation. *Euterpe oleracea* Mart. Pesticides. *Scenedesmus obliquus*. *Synechococcus nidulans*.

LISTA DE FIGURAS

CAPÍTULO II

FIGURA 1- ESTRUTURA QUÍMICA DO GLIFOSATO.....	24
FIGURA 2- POSSÍVEIS MECANISMOS ENVOLVIDOS NA ADSORÇÃO DE GLIFOSATO EM <i>BIOCHAR</i>	35
FIGURA 3- MICROGRAFIAS DE <i>Scenedesmus obliquus</i> LEB 117 (A) E <i>Synechococcus nidulans</i> LEB 117 (B)	39
FIGURA 4- MECANISMOS DE BIORREMEDIAÇÃO DE POLUENTES POR MICROALGAS.....	42
FIGURA 5- VIAS DE BIODEGRADAÇÃO DE GLIFOSATO POR MICRO-ORGANISMOS.....	43

CAPÍTULO III

CAPÍTULO DE LIVRO

FIGURA 1- DESTINO AMBIENTAL DE PESTICIDAS APÓS APLICAÇÃO NA AGRICULTURA	53
FIGURA 2- REMOÇÃO DE PESTICIDAS POR MICROALGAS E POSSÍVEIS ALTERNATIVAS PARA VALORIZAÇÃO DA BIOMASSA.....	66

ARTIGO I

FIGURA 1- IMAGENS DE MEV (A, B), ESPECTROS DE FTIR (C) E PH_{PCZ} (D) PARA <i>BIOCHAR</i> DE CAROÇO DE AÇAÍ E <i>BIOCHAR</i> DE CAROÇO DE AÇAÍ COM Fe	84
FIGURA 2- ISOTERMA DE ADSORÇÃO-DESSORÇÃO DE N_2 PARA <i>BIOCHAR</i> DE CAROÇO DE AÇAÍ (A) E <i>BIOCHAR</i> DE CAROÇO DE AÇAÍ COM Fe (B).....	87
FIGURA 3- REMOÇÃO (%) E CAPACIDADE DE ADSORÇÃO (mg g^{-1}) DO GLIFOSATO NO <i>BIOCHAR</i> DE CAROÇO DE AÇAÍ COM Fe, EM RELAÇÃO A DOSAGEM DO ADSORVENTE (g L^{-1}) E VARIAÇÃO DO pH	88
FIGURA 4- CINÉTICA DE EQUILÍBRIO DO <i>BIOCHAR</i> DE CAROÇO DE AÇAÍ COM Fe UTILIZANDO DIFERENTES CONCENTRAÇÕES DE GLIFOSATO	90
FIGURA 5- ISOTERMAS DE EQUILÍBRIO DE ADSORÇÃO DE GLIFOSATO EM <i>BIOCHAR</i> DE CAROÇO DE AÇAÍ COM Fe.....	93
FIGURA 6- ESTUDO DA REUTILIZAÇÃO DO <i>BIOCHAR</i> DE CAROÇO DE AÇAÍ COM Fe.....	97

ARTIGO II

FIGURA 1- CURVAS DE CRESCIMENTO DE <i>S. nidulans</i> LEB 115 (A) E <i>S. obliquus</i> LEB 117 (B) SUBMETIDAS A DIFERENTES CONCENTRAÇÕES DE GLIFOSATO (0 A 12 mg L ⁻¹).....	111
FIGURA 2- ATIVIDADE FOTOSSINTÉTICA AO LONGO DO CULTIVO PARA AS MICROALGAS EXPOSTAS A DIFERENTES CONCENTRAÇÕES DE GLIFOSATO (0 a 12 mg L ⁻¹)	114
FIGURA 3- BIODEGRADAÇÃO DE GLIFOSATO (A) E FORMAÇÃO DE AMPA (B) POR <i>S. nidulans</i> LEB 115 E <i>S. obliquus</i> LEB 117	115
FIGURA 4- CONTEÚDO DE CARBOIDRATOS, LIPÍDIOS E PROTEÍNAS (%) PARA A <i>S. nidulans</i> LEB 115 (A) E <i>S. obliquus</i> LEB 117(B) EXPOSTAS A DIFERENTES CONCENTRAÇÕES DE GLIFOSATO	119

ARTIGO III

FIGURA 1- OBSERVAÇÕES MICROSCÓPICAS (AUMENTO DE 50 x) DAS CÉLULAS MICROALGAIS EM CULTURA AXÊNICA DE <i>S. nidulans</i> LEB 115 (A) E <i>S. obliquus</i> LEB 117 (B) E CONSÓRCIO DAS DUAS MICROALGAS (C).....	132
FIGURA 2- BIODEGRADAÇÃO DE GLIFOSATO (A) E PRODUÇÃO DE AMPA (B) PARA OS CULTIVOS EM CONDIÇÕES AXÊNICAS E EM CONSÓRCIOS.....	137
FIGURA 3- COMPOSIÇÃO BIOQUÍMICA DOS CULTIVOS EM CONDIÇÕES AXÊNICAS E EM CONSÓRCIO	140

LISTA DE TABELAS

CAPÍTULO III

CAPÍTULO DE LIVRO

TABELA 1- MECANISMOS ENVOLVIDOS NA BIORREMEDIAÇÃO DE PESTICIDAS DE MICROALGAS.	55
---	----

ARTIGO I

TABELA 1- PARÂMETROS CINÉTICOS DA ADSORÇÃO DE GLIFOSATO EM DIFERENTES CONCENTRAÇÕES	91
TABELA 2- CONSTANTES DE TAXA DE DIFUSÃO DO MODELO WEBER-MORRIS EM DIFERENTES CONCENTRAÇÕES DE ADSORBATO	93
TABELA 3- ISOTERMAS DE ADSORÇÃO PARA REMOÇÃO DE GLIFOSATO	94
TABELA 4- PARÂMETROS TERMODINÂMICOS DA ADSORÇÃO DE GLIFOSATO NO <i>BIOCHAR</i> DE CAROÇO DE AÇAÍ COM Fe.....	95

ARTIGO II

TABELA 1- CONCENTRAÇÃO MÁXIMA DE BIOMASSA ($X_{\text{máx}}$), VELOCIDADE ESPECÍFICA MÁXIMA DE CRESCIMENTO ($\mu_{\text{máx}}$), TEMPO DE GERAÇÃO (tg) E PRODUTIVIDADE DE BIOMASSA (P_{biomassa}) PARA <i>S. nidulans</i> LEB 115 E <i>S. obliquus</i> LEB 117.....	112
---	-----

ARTIGO III

TABELA 1- ATIVIDADE FOTOSSINTÉTICA, CONCENTRAÇÃO MÁXIMA DE BIOMASSA ($X_{\text{máx}}$), VELOCIDADE ESPECÍFICA MÁXIMA DE CRESCIMENTO ($\mu_{\text{máx}}$) E PRODUTIVIDADE MÁXIMA ($P_{\text{máx}}$) PARA OS CULTIVOS AXÊNICOS E EM CONSÓRCIOS COM AS MICROALGAS DE <i>S. obliquus</i> LEB 117 E <i>S. nidulans</i> LEB 115.....	133
--	-----

LISTA DE QUADROS

CAPÍTULO II

QUADRO 1- APLICAÇÃO DE <i>BIOCHAR</i> PROVENIENTE DE DIFERENTES MATÉRIAS-PRIMAS E CONDIÇÕES DE PIRÓLISE PARA O TRATAMENTO DE CONTAMINANTES EM MEIO AQUOSO	29
QUADRO 2- APLICAÇÃO DE <i>BIOCHAR</i> PROVENIENTE DE DIFERENTES MATÉRIAS-PRIMAS PARA O TRATAMENTO DE GLIFOSATO.....	38

SUMÁRIO

CAPÍTULO I	18
1 INTRODUÇÃO	19
1.1 HISTÓRICO DA LINHA DE PESQUISA	20
2 OBJETIVOS	22
2.1 OBJETIVO GERAL.....	22
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	22
 CAPÍTULO II.....	 23
3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	24
3.1 GLIFOSATO	24
3.2 PRODUÇÃO E APLICAÇÃO DE <i>BIOCHAR</i> DO CAROÇO DE AÇAÍ.....	26
3.2.1 Caroço de açaí como matéria-prima para produção de <i>biochar</i> a partir de pirólise.....	26
3.2.2 Adsorção	29
3.2.3 Cinética de adsorção	30
3.2.4 Isoterma de adsorção	31
3.2.5 Termodinâmica de adsorção	33
3.2.6 Aplicação do <i>biochar</i> na adsorção de glifosato.....	34
3.3 BIORREMEDIAÇÃO DE GLIFOSATO A PARTIR DE MICROALGAS	39
3.3.1 Microalgas	39
3.3.2 Biorremediação por microalgas.....	40
3.3.3 Consórcios microalgais aplicados a biorremediação	44
 CAPÍTULO III	 45
4 DESENVOLVIMENTO DA TESE.....	46
 CAPÍTULO DE LIVRO	 48
1 INTRODUÇÃO	50
2 CONTAMINAÇÃO POR AGROTÓXICOS.....	51
3 DESTINO AMBIENTAL DOS AGROTÓXICOS.....	52
4 BIORREMEDIAÇÃO DE AGROTÓXICOS POR MICROALGAS	53
4.1 BIOADSORÇÃO	57
4.2 BIOACUMULAÇÃO.....	58

4.3 BIODEGRADAÇÃO	58
4.4 FOTODEGRADAÇÃO E VOLATILIZAÇÃO	59
5 PRINCIPAIS FATORES ENVOLVIDOS NA BIORREMEDIAÇÃO DE PESTICIDAS POR MICROALGAS.....	59
6 TÉCNICAS UTILIZADAS PARA AUMENTAR A REMOÇÃO DE AGROTÓXICOS DA ÁGUA.....	62
6.1 CONSÓRCIOS ENTRE MICRO-ORGANISMOS	62
6.2 CULTIVO MICROALGAL IMOBILIZADO	63
7 DESAFIOS E TENDÊNCIAS FUTURAS	64
8 CONCLUSÕES E PERSPECTIVAS FUTURAS.....	67
REFERÊNCIAS	67
 ARTIGO I.....	 74
1 INTRODUÇÃO	76
2 MATERIAL E MÉTODOS.....	77
2.1 MATERIAL	77
2.2 PREPARAÇÃO DO <i>BIOCHAR</i> DE CAROÇO DE AÇAÍ.....	78
2.3 PREPARAÇÃO DO <i>BIOCHAR</i> DE CAROÇO DE AÇAÍ COM Fe.....	78
2.4 CARACTERIZAÇÃO DOS ADSORVENTES.....	79
2.5 DETERMINAÇÃO DE GLIFOSATO E CURVA DE CALIBRAÇÃO	79
2.6 ENSAIOS DE ADSORÇÃO	80
2.7 MODELOS CINÉTICOS	80
2.8 MODELOS ISOTÉRMICOS E PARÂMETROS TERMODINÂMICOS	81
2.9 ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	83
2.10 RECICLABILIDADE DO ADSORVENTE.....	83
3 RESULTADOS E DISCUSSÃO	83
3.1 CARACTERIZAÇÃO DOS ADSORVENTES.....	83
3.2 ADSORÇÃO DO <i>BIOCHAR</i> DE CAROÇO DE AÇAÍ E <i>BIOCHAR</i> DE CAROÇO DE AÇAÍ COM Fe	87
3.3 EFEITO DO pH E DA MASSA DE ADSORVENTE NA ADSORÇÃO DE GLIFOSATO.....	87
3.4 CINÉTICA DE ADSORÇÃO DE GLIFOSATO.....	89
3.5 MODELOS ISOTÉRMICOS E PARÂMETROS TERMODINÂMICOS	93
3.6 RECICLABILIDADE DO <i>BIOCHAR</i> DE CAROÇO DE AÇAÍ COM Fe	96

4 CONCLUSÕES.....	97
REFERÊNCIAS	98

ARTIGO II	104
1 INTRODUÇÃO	106
2. MATERIAL E MÉTODOS	108
2.1 MICRO-ORGANISMOS E CONDIÇÕES DE CULTIVO	108
2.2 PREPARO DA SOLUÇÃO ESTOQUE E DETERMINAÇÃO DO GLIFOSATO	108
2.3 PARÂMETROS CINÉTICOS, ATIVIDADE FOTOSSINTÉTICA E COMPOSIÇÃO DAS MACROMOLÉCULAS	109
2.4 ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	110
3 RESULTADOS E DISCUSSÃO	110
3.1 INFLUÊNCIA DO GLIFOSATO SOBRE O CRESCIMENTO E ATIVIDADE FOTOSSINTÉTICA DAS MICROALGAS	110
3.2 BIODEGRADAÇÃO DE GLIFOSATO POR <i>S. nidulans</i> LEB 115 E <i>S. obliquus</i> LEB 117.....	115
3.3 INFLUÊNCIA DO GLIFOSATO SOBRE A COMPOSIÇÃO BIOQUÍMICA DAS MICROALGAS.....	118
4 CONCLUSÕES.....	120
REFERÊNCIAS	120

ARTIGO III	125
1 INTRODUÇÃO	127
2 MATERIAL E MÉTODOS	129
2.1 MICRO-ORGANISMOS E CONDIÇÕES DE CULTIVO	129
2.2 PREPARO DA SOLUÇÃO ESTOQUE E DETERMINAÇÃO DO GLIFOSATO	130
2.3 PARÂMETROS CINÉTICOS, ATIVIDADE FOTOSSINTÉTICA E COMPOSIÇÃO DAS MACROMOLÉCULAS	130
2.4 ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	131
3 RESULTADOS E DISCUSSÃO	131
3.1 INFLUÊNCIA DO GLIFOSATO E DOS CONSÓRCIOS MICROALGAIS SOBRE OS PARÂMETROS CINÉTICOS	131
3.2 BIODEGRADAÇÃO DE GLIFOSATO A PARTIR DE CULTURAS AXÊNICAS OU EM CONSÓRCIOS MICROALGAIS	136

3.3 COMPOSIÇÃO BIOQUÍMICA	139
4 CONCLUSÃO.....	140
REFERÊNCIAS	141
CAPÍTULO IV.....	147
5 CONCLUSÕES GERAIS	148
6 RESÍDUOS GERADOS E DESTINO	149
7 SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS	150
CAPÍTULO V	151
REFERÊNCIAS	152
APÊNDICES	172

CAPÍTULO I

1 INTRODUÇÃO

A poluição causada pela agricultura é uma preocupação crescente em países em desenvolvimento como o Brasil. Isso ocorre, principalmente porque a utilização de agrotóxicos tem demonstrado ser uma prática bastante comum para aumentar a produção de alimentos no setor agrícola. A introdução de novos agrotóxicos e formulações com maiores eficiências impulsionam maiores produções e consumo destes produtos químicos em todo o mundo (LIMA et al., 2022; RAJAK et al., 2023; RAMAKRISHNAN et al., 2019).

A aplicação inadequada e o uso frequente destes pesticidas podem causar problemas ambientais em função de suas características tóxicas e persistentes no ambiente (NIE et al., 2020). Embora os agrotóxicos contribuam positivamente para manter a produção anual de alimentos, o uso intensivo destes produtos químicos vem acompanhado de sérios problemas relacionados à degradação ambiental e aos riscos à saúde humana. Isso ocorre uma vez que o aumento da utilização de pesticidas está proporcionalmente ligado à contaminação dos solos, do ar e dos recursos hídricos (MEFTAUL et al., 2020; PANDEY et al., 2019).

A maioria dos contaminantes presentes em menores concentrações nos corpos hídricos não são tratados em estações de tratamento de águas e efluentes. Logo, a contaminação da água destes recursos torna-se uma grande preocupação, pois além de apresentar efeitos tóxicos diretos, os poluentes ainda podem acumular-se na cadeia alimentar, causando efeitos indiretos a longo prazo (AVILA et al., 2021; SUTHERLAND; RALPH, 2019).

A busca por métodos sustentáveis e eficientes para o tratamento de contaminantes em águas e efluentes tem sido amplamente desenvolvida. As técnicas baseadas em biorremediação, nas quais a descontaminação ocorre por meio de plantas ou micro-organismos, têm se mostrado alternativas aos métodos tradicionais e apresentam boa aceitabilidade e eficiência (MORAIS et al., 2022). Nesse contexto, as microalgas podem oferecer um meio sustentável aos processos de biorremediação de compostos orgânicos como o glifosato, pois esses micro-organismos toleram diversas condições de cultivo, adaptando seu metabolismo e degradando ou tornando os contaminantes menos tóxicos (BORELLA et al., 2023; PANDEY et al., 2019). A utilização de microalgas ainda garante outros benefícios como fixação de dióxido de carbono (CO₂) e produção simultânea de biocombustíveis, uma vez que boa parte dos contaminantes confere um ambiente de estresse favorecendo a síntese de compostos como carboidratos ou lipídios (REMPEL et al., 2021; ZAPAROLI et al., 2020).

Embora a biorremediação seja uma prática bastante comum, as abordagens utilizadas enfrentam diversas limitações quanto à ausência de valores de referência para aplicações em

biorremediação de agrotóxicos, especialmente em pesquisas com microalgas. Poucos estudos objetivando o rastreamento de espécies tolerantes ao glifosato foram realizados até o momento, bem como do uso de estratégias de consórcios microalgais sendo utilizados para processos de biorremediação de herbicidas (LIN et al., 2023).

Além da contaminação gerada pelo uso de agrotóxicos, dos resíduos do processamento da *Euterpe oleracea* Mart. (Açaí) são gerados anualmente cerca de 1,4 milhão de toneladas de caroço de açaí. O descarte incorreto destes resíduos constitui uma segunda problemática, principalmente em função dos riscos de contaminação ambiental, tais como eutrofização, além de favorecer a proliferação de vetores de doenças, como roedores e mosquitos (JORGE et al., 2022; SATO et al., 2019). Uma alternativa sustentável para contornar esta problemática é a produção de *biochar*, material produzido a partir da pirólise, rico em carbono e com alto potencial de adsorção de contaminantes como os agrotóxicos. Os resíduos da extração de açaí são eficientes adsorventes, sendo capazes de tratar diversos contaminantes orgânicos e inorgânicos, além de sua utilização visando aumentar a fertilidade de solos agrícolas (PEREIRA et al., 2021; VARJANI; KUMAR; RENE, 2019). Além disso, o *biochar* possibilita um tratamento rápido e eficiente das águas contaminadas, permitindo reutilização do adsorvente após processos de dessorção e recuperação, reduzindo os custos do tratamento (COSTA et al., 2023; PESSÔA et al., 2019).

Neste contexto, este estudo corrobora com a linha de pesquisa em remediação e biorremediação. Essas tecnologias têm como objetivo a criação de sistemas sustentáveis de tratamento de glifosato em matrizes aquosas, utilizando processos físicos, químicos e biológicos. Além de reduzir os níveis de CO₂ atmosférico, a pesquisa também visa realizar o gerenciamento dos caroços de açaí e tratar águas residuais contaminadas com glifosato. Com isso, essas abordagens contribuem para a sustentabilidade ambiental, oferecendo soluções eficientes e ecologicamente responsáveis.

1.1 HISTÓRICO DA LINHA DE PESQUISA

Desde 1996, o Laboratório de Engenharia Bioquímica (LEB) da Universidade Federal do Rio Grande (FURG) tem se dedicado ao cultivo e aplicação de microalgas, conduzindo pesquisas inovadoras nessa área. O grupo de pesquisa é composto por docentes, técnicos, pós-doutorandos, doutorandos, mestrandos e estudantes de iniciação científica. As pesquisas desenvolvidas no LEB abrangem principalmente a área de bioprocessos e biotecnologia, explorando diversas aplicações práticas no desenvolvimento de alimentos e na área ambiental.

O grupo tem se destacado na área ambiental pelo desenvolvimento de projetos relacionados ao cultivo de microalgas, oferecendo soluções inovadoras e ecologicamente corretas para diversas questões ambientais. As pesquisas abrangem ampla gama de problemáticas, permitindo enfrentar desafios como a redução das emissões de gases do efeito estufa (DEAMICI; SANTOS; COSTA, 2019; DUARTE; FANKA; COSTA, 2020; MORAIS et al., 2021; VAZ; COSTA; MORAIS, 2019), produção de biocombustíveis renováveis (BEZERRA et al., 2023; MARGARITES; FREITAS; COSTA, 2014), tratamento de efluentes (COSTA; CRUZ; ROSA, 2021; MOREIRA et al., 2023), água para uso potável (LOPES, 2021) e a promoção da segurança alimentar sustentável (FREITAS et al., 2019; PATERNINA et al., 2022). Os trabalhos desenvolvidos pelo grupo refletem o compromisso com a sustentabilidade e contribuem para obtenção de abordagens mais conscientes em relação ao meio ambiente.

No ano de 2015, deu-se início o projeto de extensão intitulado “Centro de Vocação Tecnológica das Agrobiodiversidades Bailique”, financiado pelo Ministério da Ciência, Tecnologia e Inovações (MCTI). O projeto coordenado pelo Prof. Jorge Alberto Vieira Costa, tem por objetivo principal promover a valorização e o desenvolvimento sustentável da região do Arquipélago do Bailique/Amapá-Brasil, por meio de ações tecnológicas e inovadoras, agregando valor à cadeia produtiva do açaí e atuando na formação de recursos humanos. O projeto representa colaboração entre as instituições de ensino, pesquisa e a comunidade local, fortalecendo a preservação ambiental e o desenvolvimento socioeconômico da região (BRASIL, 2020). As pesquisas do grupo foram inicialmente focadas no desenvolvimento de alimentos enriquecidos com açaí. Posteriormente, em 2017, o grupo voltou suas atenções ao caroço do açaí, desenvolvendo novos produtos visando solucionar problemas relacionados a gestão ambiental deste resíduo. Com isso, isolantes termoacústicos foram produzidos em trabalho de conclusão de curso, além de outros trabalhos referentes a dissertações de mestrado, que envolvem o desenvolvimento de *biochar* para aplicação no tratamento de água para uso potável (IZAGUIRREZ, 2021), bem como a produção de nanocelulose a partir do caroço do açaí (CENTENO, 2021).

Nesse contexto, o presente estudo buscou integrar as duas linhas de pesquisa da equipe do LEB, por meio do desenvolvimento de tecnologias de biorremediação e remediação de glifosato utilizando microalgas e *biochar* derivado do caroço de açaí.

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Avaliar a capacidade de remediação do glifosato utilizando adsorvente derivado do caroço de açaí, bem como investigar a biodegradação do herbicida por *S. nidulans* LEB 115 e *S. obliquus* LEB 117.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- a) Produzir e caracterizar o *biochar* do caroço de açaí e o *biochar* de caroço de açaí com Fe e identificar o adsorvente com maior capacidade e eficiência de adsorção de glifosato;
- b) Analisar o pH, a concentração do adsorvente, o adsorvato, a temperatura, os parâmetros cinéticos, isotérmicos e termodinâmicos da adsorção de glifosato por *biochar* de caroço de açaí com Fe;
- c) Avaliar o potencial de reciclabilidade do *biochar* de caroço de açaí com Fe;
- d) Avaliar a capacidade de biodegradação de diferentes concentrações de glifosato em cultivos axênicos e em consórcios de *S. nidulans* LEB 115 e *S. obliquus* LEB 117;
- e) Avaliar os efeitos do herbicida sobre os parâmetros cinéticos e composição bioquímica das microalgas em cultivos axênicos e consórcios;
- f) Verificar a produção de ácido aminometilfosfônico (AMPA) nos ensaios de biorremediação de glifosato.

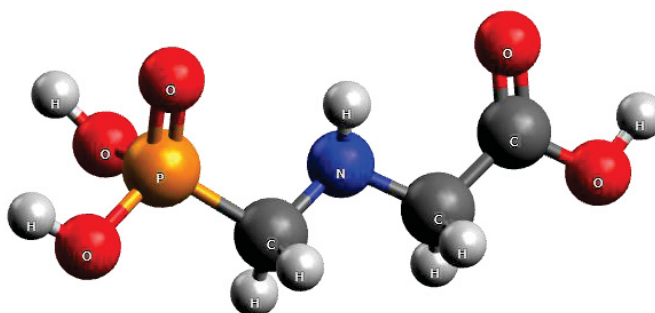
CAPÍTULO II

3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1 GLIFOSATO

O glifosato ($C_3H_8NO_5P$), denominado N-(fosfonometil)glicina pela União Internacional de Química Pura e Aplicada (IUPAC), é um herbicida organofosforado, pós-emergente, sistêmico e não seletivo utilizado no controle de plantas daninhas. O herbicida de amplo espectro possui três grupos funcionais (carboxilato, amino e fosfonato), atuando no nível foliar, a partir da inibição da enzima 5-enolpiruvilshiquimato-3-fosfato sintase (EPSPS), presente na síntese de aminoácidos aromáticos essenciais em plantas e em alguns micro-organismos (IORI et al., 2020; IUMMATO et al., 2019). A estrutura química do glifosato pode ser observada na FIGURA 1.

FIGURA 1- ESTRUTURA QUÍMICA DO GLIFOSATO



FONTE: Diel et al. (2021).

O glifosato é utilizado na agricultura, em pomares, bosques, áreas urbanas e recursos hídricos para eliminar plantas invasoras. A frequência, intensidade e a superfície de terras pulverizadas com este herbicida têm aumentado constantemente, especialmente depois da introdução das culturas geneticamente modificadas em 1996 (VAN BRUGGEN et al., 2018). Por este motivo, os resíduos de glifosato e do ácido aminometilfosfônico (AMPA), principal metabólito do glifosato, vêm sendo detectados com frequência nos recursos hídricos (BAI; OGBOURNE, 2016).

Na agricultura convencional, os pesticidas atingem o solo por aplicação direta ou indireta. Dessa forma, nem todo o herbicida pulverizado é absorvido pelas plantas, parte permanece disponível na matriz do solo, onde passa por diferentes processos físico-químicos e biológicos, delimitando o destino final no ambiente. Os processos de adsorção no ambiente são

dependentes das características do solo como o pH, textura, conteúdo de carbono orgânico, dentre outros (MORAES; ROSSI, 2010; PEÑA; DELGADO-MORENO; RODRÍGUEZ-LIÉBANA, 2019).

Embora o glifosato possua alta adsorção nas partículas do solo, principalmente na matéria orgânica, argila e nos óxidos de ferro e alumínio, foi comprovado que em determinadas condições climáticas, parte das partículas do solo são transportadas para os recursos hídricos em forma de sedimentos. Nessas condições, o glifosato pode ser degradado em AMPA e continuar sofrendo degradação microbiana (GALLI; MONTEZUMA, 2005; ROMERO; MOLINA; JUÁREZ, 2011). Outros fatores como lixiviação e escoamento superficial podem acarretar a contaminação dos recursos hídricos por glifosato (BORELLA et al., 2023). O glifosato é altamente solúvel em água (12 mg L^{-1} a 25°C) (AMARANTE JUNIOR; SANTOS, 2001) e possui baixa volatilidade (MARIA et al., 2020).

O herbicida foi detectado em águas naturais do estado do Paraná, Brasil, na concentração de $1,48 \text{ mg L}^{-1}$ (TZASKOS et al., 2012). Em outro estudo, realizado na região sudeste do Brasil, concentrações de glifosato na faixa de $0,5$ e $8,7 \text{ mg L}^{-1}$ foram detectadas em 80% das fontes de água potável amostradas pelo estudo (LIMA et al. 2022). Em ambos os casos, valores superiores aos permitidos pela legislação brasileira foram registrados. A resolução 357/2005 do Conselho Nacional de Meio Ambiente (BRASIL, 2005), que dispõe sobre a classificação dos corpos de água, permite concentração de glifosato para classe I e II de água doce de $65 \text{ } \mu\text{g L}^{-1}$ e $280 \text{ } \mu\text{g L}^{-1}$, respectivamente. Já valores de até $500 \text{ } \mu\text{g L}^{-1}$ são permitidos para água potável, segundo Ministério da Saúde do Brasil (2017). Estes valores estão acima dos permitidos pela Diretiva Européia de Água Potável 98/83/EC, onde a concentração máxima é de $0,1 \text{ } \mu\text{g L}^{-1}$ (AVILA et al., 2021).

Apesar da presença comprovada de glifosato nos corpos hídricos em concentrações acima das permitidas pelas legislações vigentes, a avaliação de sua ecotoxicidade permanece uma questão controversa para a comunidade científica (BAI; OGBOURNE, 2016). Alguns defendem que o herbicida é ecologicamente correto, não causando efeitos negativos a organismos não alvos, mesmo quando usado para o controle de ervas daninhas aquáticas. No entanto, várias evidências rejeitam fortemente essa hipótese (LU et al., 2020), como as correlações entre o aumento do uso de glifosato e doenças humanas, que incluem riscos de câncer, danos aos rins, transtorno do déficit de atenção com hiperatividade, autismo, doença de Alzheimer, Parkinson, abortos involuntários, doenças respiratórias e dermatológicas (MEFTAUL et al., 2020; VAN BRUGGEN et al., 2018). Além disso, o aumento da poluição

ambiental por pesticidas nos sistemas aquáticos pode ainda levar a significativa redução da fixação de CO₂ (ESPERANZA et al., 2016).

Estudos de exposição agrícola do glifosato, realizados principalmente nos EUA, Canadá e Suécia, e evidências de câncer (presença de tumores) em animais de laboratório (camundongos) conduziram à reclassificação do herbicida pela Organização Mundial de Saúde em 2015, definindo-o como provavelmente cancerígeno para humanos (IARC, 2015; PEILLEX; PELLETIER, 2020).

As formulações a base de glifosato (ingrediente ativo) são constituídas por inúmeros compostos, muitas vezes considerados “inertes” podendo modificar o nível de toxicidade do herbicida. Os surfactantes utilizados como co-adjuvantes junto ao glifosato são responsáveis por aumentar a mobilidade do agrotóxico, atingindo organismos não-alvo (ANNETT; HABIBI; HONTELA, 2014). Os herbicidas a base de glifosato como o Roundup® e o surfactante polioxietileno amina (POEA), utilizado para aumentar a eficiência deste herbicida, apresentam toxicidades mais altas que o glifosato de qualidade técnica, para diversos organismos aquáticos, como microalgas, bactérias, protozoários e crustáceos (VAN BRUGGEN et al., 2018).

O tempo de meia vida é um parâmetro importante, pois atua como indicativo da persistência da molécula no ambiente, representando o tempo necessário para que a concentração da substância seja reduzida pela metade do seu valor inicial em um determinado meio. Muitas vezes, o tempo de meia vida é difícil de ser determinado, principalmente em função das formulações comerciais, as quais correspondem a uma mistura de vários ingredientes, que nem sempre tem suas informações completamente disponibilizadas pelos fabricantes (MARIA et al., 2020). Para o glifosato e AMPA, o tempo de meia vida pode variar conforme o solo e as características físico-químicas, podendo durar de dias a meses (0,8-151 d e 10-98 d, respectivamente) (BAI; OGBOURNE, 2016).

3.2 PRODUÇÃO E APLICAÇÃO DE *BIOCHAR* DO CAROÇO DE AÇAÍ

3.2.1 Caroço de açaí como matéria-prima para produção de *biochar* a partir de pirólise

O açaí (*Euterpe oleracea* Mart.) é uma espécie geralmente encontrada nas florestas tropicais da América do Sul. No Brasil é encontrado principalmente na região Norte e Nordeste, com maior produção no estado do Pará. O beneficiamento do açaí é de extrema importância para a economia local dos extrativistas (PESSÔA et al., 2019). A produção da fruta aumentou 89% entre 2010 e 2020, chegando a mais de 1,7 milhão de toneladas. Em 2020 a

comercialização gerou mais de US\$ 800 milhões para a economia brasileira (JORGE; SILVA; BRIGAGÃO, 2022).

O caroço do açaí é rico em celulose, hemicelulose e lignina, sendo o principal resíduo gerado no processamento da fruta, representando 85% da composição. Estima-se que a geração deste resíduo corresponda a 1,3 milhão de toneladas por ano, causando danos ao meio ambiente e a comunidade local quando destinados incorretamente (ALVES et al., 2020; PESSÔA et al., 2019). Uma alternativa ecológica para a gestão dos resíduos do processamento do açaí é a produção de *biochar* (DIAS et al., 2019; RAMIREZ et al., 2022).

O *biochar* obtido a partir da pirólise da biomassa vegetal, contém alto teor de carbono, porosidade e área superficial, além dos grupos funcionais, estrutura aromática e composição mineralógica, adequados para os processos de adsorção de poluentes orgânicos e inorgânicos (LIU et al., 2018; VARJANI; KUMAR; RENE, 2019). O processo de carbonização é responsável pela decomposição de parte da biomassa. No entanto, grande parte do conteúdo de carbono é retido (WEBER; QUICKER, 2018).

Existe uma diversidade de processos de conversão térmica para a formação de *biochar*, como a pirólise, torrefação, gaseificação e carbonização. Destes métodos, a pirólise apresenta vantagens como menores custos e maiores eficiências, sendo a mais utilizada nos estudos de produção do composto (VARJANI; KUMAR; RENE, 2019). O processo de pirólise ocorre a partir da decomposição térmica da biomassa na presença de elevadas temperaturas e ausência total ou parcial de oxigênio. As condições do processo como tempo de residência e temperatura são dependentes do material a ser formado, podendo ser gasosos, líquidos ou sólidos (MORAIS et al., 2022; OSMAN et al., 2023). As técnicas podem ser divididas em pirólise lenta, com taxa de aquecimento de 5 a 7 °C min⁻¹ e temperaturas de 100 a 1000 °C, onde ocorrem maiores produções de *biochar*, ou pirólise rápida com taxas de aquecimento de 300 a 800 °C min⁻¹ e temperaturas de 300 a 1000 °C (VARJANI; KUMAR; RENE, 2019). Para a produção do *biochar* é indicada a pirólise lenta, ou seja, obtenção de material sólido carbonáceo, obtido a partir da liberação do vapor da água e dos materiais voláteis, com taxas de aquecimento baixas e tempos de residência longos (1 ou 2 h) (WEBER; QUICKER, 2018).

Os compostos da matéria-prima como celulose, hemicelulose e lignina são degradados em temperaturas que variam de 200 a 900 °C. A hemicelulose, composta principalmente por polissacarídeos possui estrutura ramificada sendo mais facilmente decomposta (220-315 °C). A celulose também formada por polissacarídeos é mais estável, decompondo-se em temperaturas de 280 a 400 °C. Já a lignina tem estruturas mais complexas e decompõe-se em temperaturas que podem variar de 200 a 900 °C. A ampla faixa de temperatura de decomposição

ocorre em função dos diferentes grupos funcionais, os quais apresentam estabilidades térmicas diferenciadas. A partir do processo de carbonização ocorre mudança na composição química em relação a matéria-prima utilizada na pirólise, principalmente em função do desprendimento dos grupos funcionais formados especialmente por oxigênio e hidrogênio e aumento do conteúdo de carbono (WEBER; QUICKER, 2018).

O *biochar* obtido a partir dos processos de pirólise possui grande variedade de aplicações, entre elas destaca-se o potencial uso como fertilizante de solos, remoção de contaminantes orgânicos e inorgânicos ou suporte catalítico (MORAIS et al., 2022). Dentre estes, o uso do *biochar* como adsorvente de contaminantes como agrotóxicos recebe atenção, principalmente em função de eficiência e praticidade da utilização e reutilização em processos de adsorção. O QUADRO 1 demonstra a relação de alguns estudos, apresentando as condições de produção de *biochar* a partir de diferentes matérias-primas para a adsorção de contaminantes em matriz aquosa.

O potencial de adsorção do *biochar* depende de vários fatores, principalmente a composição da matéria-prima utilizada e as condições da pirólise (temperatura, taxa de aquecimento e tempo de residência). A temperatura, por exemplo, é responsável por alterar a porosidade, conteúdo de carbono orgânico, pH e a hidrofobicidade do *biochar*. Geralmente, estruturas mais porosas e com maior área superficial resultam em maiores eficiências de remoção dos contaminantes. As propriedades dos pesticidas, condições ambientais e o tempo de tratamento também podem ter influências significativas nestes processos (LIU et al., 2018; VARJANI; KUMAR; RENE, 2019; YAVARI; MALAKAHMAD; SAPARI, 2015).

A porosidade do *biochar* pode ser alterada pela saída dos gases voláteis durante a pirólise e pela área superficial da biomassa. Esta característica está associada a retenção de água e também a capacidade de troca catiônica. Os poros podem ser classificados em macroporos (1.000 a 0,05 μm), mesoporos (0,05 a 0,002 μm) e microporos (0,05 a 0,0001 μm). O *biochar* geralmente apresentam estrutura com maior formação de microporos. A área superficial do *biochar* geralmente é definida por análises de BET (Brunauer, Emmet e Teller) na qual a amostra é exposta a uma atmosfera de gás, normalmente nitrogênio a temperatura de 77 K, e a quantidade de gás absorvida é determinada (WEBER; QUICKER, 2018).

Geralmente, uma tendência na produção de *biochar* em relação a temperatura e tempo de pirólise é observada. Com o aumento destes parâmetros ocorre redução no rendimento do *biochar*, aumento no teor de carbono e redução no conteúdo de oxigênio e hidrogênio. Quando os grupos funcionais são reduzidos pela elevação da temperatura, ocorre aumento no pH, na formação de estrutura porosa e na área superficial do adsorvente (WEBER; QUICKER, 2018).

Estas características são preferidas para os processos de adsorção de contaminantes como glifosato.

QUADRO 1- APLICAÇÃO DE *BIOCHAR* PROVENIENTE DE DIFERENTES MATÉRIAS-PRIMAS PARA O TRATAMENTO DE CONTAMINANTES EM MEIO AQUOSO

Matéria-prima utilizada na produção do <i>biochar</i>	Poluente	Produção do <i>biochar</i>	Eficiência e/ou capacidade de adsorção dos poluentes	Referência
Caroço de açaí	Corante azul de metileno	Produção por gaseificação, ativação com NaOH em mufla, 700 °C, 2 h.	93,23 mg g ⁻¹	Pessôa et al. (2019)
Caroço de açaí	Pb ²⁺ , Fe ²⁺ e Mg ²⁺	Pirólise a 600 °C, 1 h, ativação química por KOH e modificação por HNO ₃	86% para Pb ²⁺ , 69% para Fe ²⁺ e 8% para Mg ²⁺	Queiroz et al. (2020)
Lenhoso	Glifosato	Gaseificação 700 a 1000 °C	44 mg g ⁻¹	Mayakaduwa et al. (2016)
Casca de arroz	Glifosato	Pirólise lenta a 700 °C, ativação por vapor	82%	Herath et al. (2016)
Casca de eucalipto	Glifosato	Pirólise 300 °C, 2 h, ativado com H ₃ PO ₄	98%	Sem, Datta e Mondal (2019)

3.2.2 Adsorção

Os processos de adsorção são extremamente importantes do ponto de vista ambiental, principalmente em função da ampla gama de aplicação no tratamento de águas residuais e gases, baixos custos, alta seletividade e simplicidade na operação, quando comparada a outras técnicas (ALMEIDA et al., 2021; BORBA et al., 2019; DIAS et al., 2019; GONÇALVES et al., 2020; VAZ; COSTA; MORAIS, 2019). Este processo é caracterizado pela transferência de massa entre o adsorbato ou adsorvato presente na fase líquida ou gasosa (contaminante) e adsorvente

(superfície sólida). Os processos de adsorção podem ser explicados por meio de dois fenômenos principais, a quimissorção e fisissorção. A quimissorção ou adsorção química é um fenômeno geralmente irreversível, caracterizado por ligações fortes, nas quais as moléculas do adsorvato trocam elétrons com a superfície do adsorvente, compreendendo um sistema de monocamadas. Na fisissorção ou ligações físicas, normalmente ocorre deposição de mais de uma camada de adsorvato sobre a superfície do adsorvente. As interações ocorrem principalmente por Forças de van der Waals e ligação de hidrogênio. Estes mecanismos resultam em ligações fracas entre o adsorvente e o adsorvato, sendo facilmente reversível e o equilíbrio é atingido rapidamente. Este tipo de adsorção é denominado não localizado (ou inespecífico), porque a adsorção ocorre em toda a superfície do adsorvente, diferente da quimissorção que ocorre nos sítios ativos, sendo assim, localizada (RUTHVEN, 1984; TRAN; YOU; CHAO, 2016).

A capacidade de adsorção é dependente das propriedades do adsorvente (área superficial, porosidade, tamanho da partícula e grupos funcionais), processos de operação da adsorção (temperatura, pH, dosagem de adsorvente, agitação e outros parâmetros) e também das características do adsorvato (solubilidade, polaridade, tamanho da molécula, acidez ou basicidade) (COSTA et al., 2023; NASCIMENTO et al., 2014). A temperatura, por exemplo, pode alterar a capacidade e a taxa de adsorção. A partir do aumento da temperatura pode ocorrer aumento da mobilidade das espécies de adsorvato promovendo aumento da taxa de difusão intrapartícula em direção aos poros da superfície do adsorvente. Este fenômeno ocorre devido a redução da viscosidade da solução, resultando na diminuição da resistência da transferência de massa e aumento da mobilidade do adsorvato. A capacidade de adsorção também pode ser aumentada em função da intensidade das interações entre os sítios ativos do *biochar* e o adsorvato. Este processo depende se a adsorção é de natureza exotérmica ou endotérmica (BARQUILHA; BRAGA, 2021).

3.2.3 Cinética de adsorção

A cinética é um parâmetro importante na adsorção, uma vez que está envolvida na eficiência do processo, fornecendo informações sobre a velocidade de adsorção e as interações envolvidas na interface adsorvato-adsorvente. A cinética é representada pela relação dependente entre a taxa de remoção do contaminante na fase fluida em relação ao tempo. Fatores como temperatura, pH, concentração inicial do adsorvato, tamanho das partículas, agitação, força iônica e distribuição do tamanho dos poros podem afetar a velocidade de adsorção (NASCIMENTO et al., 2014).

Os modelos mais utilizados para estudar a cinética de adsorção são os modelos de pseudo-primeira ordem (PPO) o qual assume que a adsorção ocorre como consequência de um gradiente de concentração entre a superfície do adsorvente e da solução, sendo expresso pela Equação 1 e o modelo de pseudo-segunda ordem (PSO), geralmente mais adequado aos processos de adsorção química representado pela Equação 2 (RUTHVEN, 1984).

$$q_t = q_1(1 - \exp(-k_1 t)) \quad (1)$$

$$q_t = \frac{t}{\left(\frac{1}{k_2 q_2^2}\right) + \left(\frac{1}{q_2}\right)} \quad (2)$$

Onde q_t é a capacidade de adsorção no tempo t (mg g^{-1}), k_1 é a constante da taxa de adsorção para PPO (min^{-1}) e k_2 é a constante da taxa de adsorção de PSO ($\text{g mg}^{-1} \text{min}^{-1}$), q_1 e q_2 são valores teóricos para capacidade máxima de adsorção (mg g^{-1}) no tempo t .

3.2.4 Isoterma de adsorção

As isotermas de adsorção são extremamente importantes para determinar a capacidade máxima de adsorção dos adsorventes. As isotermas são curvas e/ou equações matemáticas utilizadas para descrever o comportamento da adsorção, demonstrando a quantidade adsorvida por superfície de adsorvente. Quando o adsorvato entra em contato com o adsorvente as moléculas ou íons tendem a fluir do meio aquoso para a superfície do adsorvente, até que a concentração das moléculas se torne constante (C_e). Neste momento é atingido estado de equilíbrio, tendo a capacidade de adsorção do adsorvente determinada (q_e). No estado de equilíbrio os processos de adsorção continuam a acontecer, no entanto a velocidade com que as moléculas são adsorvidas é igual as que são dessorvidas na superfície do adsorvente (NASCIMENTO et al., 2014).

Para a construção de isotermas de adsorção são necessários dados sobre a concentração de equilíbrio na fase líquida com as respectivas capacidades de adsorção. Para isso, se faz necessário a adição de uma massa de adsorvente em um determinado volume (V) utilizando diferentes concentrações iniciais de solução (C_0) conhecidas. Após o equilíbrio ser atingido, tem-se a concentração final de soluto na solução em equilíbrio (C_e , g L^{-1}), obtendo-se assim a capacidade de adsorção (q , mg g^{-1}). A partir disso, um gráfico de q versus C_e pode ser

construído. A quantidade de adsorvato adsorvido é definido pela Equação 3 (PICCIN et al., 2017).

$$q = \frac{C_0 - C_f}{m} V \quad (3)$$

Onde q é a capacidade de adsorção (mg g^{-1}), C_0 e C_f são a concentração inicial e final do adsorvato, m é a massa do adsorvente (g) e V é o volume da solução (L).

As isotermas são construídas em temperatura constante. No entanto, testes em batelada realizados em diferentes temperaturas constantes podem ser realizados, gerando um conjunto de dados q versus C_e para cada temperatura. Assim, é possível verificar a influência da temperatura nos processos de adsorção (TRAN; YOU; CHAO, 2016).

Diversas equações de isotermas foram propostas para ajustar os dados experimentais sobre os valores obtidos por q versus C_e . Entre elas, as isotermas de Freundlich e Langmuir são os modelos mais utilizados para estabelecer a relação entre quantidade de material adsorvido por massa de adsorvente (HERATH et al., 2016; YAVARI; MALAKAHMAD; SAPARI, 2015).

O modelo de Langmuir assume que a adsorção ocorre em monocamada, não havendo interação entre as moléculas adsorvidas. A adsorção ocorre em locais específicos, homogêneos e energeticamente idênticos, com número definido de sítios. Cada sítio comporta apenas uma molécula adsorvida. A partir desta isoterma, é possível verificar a capacidade máxima de adsorção do adsorvente (NASCIMENTO et al., 2014; SEN; CHATTORAJ, 2021). A isoterma de Langmuir é representada pela Equação 4 (LANGMUIR, 1918).

$$q_e = \frac{q_m k_L C_e}{1 + k_L C_e} \quad (4)$$

Onde q_e é a capacidade de adsorção no equilíbrio (mg g^{-1}), C_e é a concentração de adsorvato no equilíbrio (mg L^{-1}), q_m é a capacidade máxima de adsorção na monocamada (mg g^{-1}), e K_L é a constante de Langmuir (L mg^{-1}).

O fator de separação ou equilíbrio R_L é uma característica importante da adsorção de Langmuir, correspondendo ao grau de desenvolvimento do processo de adsorção. Os valores de $R_L > 1$ indicam processo desfavorável, em que há indicativo de que o soluto tem maior afinidade pela fase líquida do que pela fase sólida, $R_L = 1$ corresponde a uma isoterma linear, $R_L = 0$ indica processo irreversível e $0 < R_L < 1$ indica processo favorável, com maior afinidade do

adsorvato pela fase sólida do que pela líquida (ERDOGAN et al., 2005; NASCIMENTO et al., 2014). O R_L é expresso pela Equação 5 (LANGMUIR, 1918).

$$R_L = \frac{1}{1 + K_L C_e} \quad (5)$$

A isoterma de Freundlich relaciona a quantidade de material adsorvido com a concentração do material na solução utilizando um modelo empírico. Este modelo considera que a adsorção ocorre em superfícies heterogêneas, assumindo-se que os sítios com ligações mais fortes são ocupados primeiro, e que a força de ligação é reduzida com o aumento do grau de ocupação dos sítios, prevendo assim, a existência de multicamadas. A Equação 6 representa o modelo de Freundlich (FREUNDLICH, 1906).

$$q_e = k_F C_e^{1/n} \quad (6)$$

Onde q_e é a capacidade de adsorção no equilíbrio (mg g^{-1}), k_F é a constante de Freundlich ($\text{mg g}^{-1} (\text{L mg}^{-1})^{1/n}$), $1/n$ é o fator de heterogeneidade e C_e é a concentração da solução de equilíbrio (mg L^{-1}).

De modo geral, a adsorção favorável tende a ter um valor de constante de Freundlich (n) entre 1 e 10. Quanto menor o valor de $1/n$ mais forte é a interação adsorvato/adsorvente. Adsorção linear é obtida quando o valor de $1/n$ é igual a 1. Neste caso, as energias são idênticas para todos os sítios de adsorção. Se o valor de $1/n$ for maior que a unidade, o adsorvente tem mais afinidade pelo solvente (NASCIMENTO et al., 2014).

3.2.5 Termodinâmica de adsorção

Os estudos termodinâmicos têm por objetivo analisar os mecanismos de equilíbrio da adsorção a partir da variação da temperatura. A partir disso, é possível verificar a natureza do processo e a espontaneidade de adsorção, como variação da energia livre de Gibbs (ΔG° , kJ mol^{-1}), variação da entalpia (ΔH° , kJ mol^{-1}) e da entropia de adsorção (ΔS° , $\text{kJ mol}^{-1} \text{K}^{-1}$). Estes parâmetros fornecem informações importantes sobre os mecanismos da adsorção. A partir deles é possível indicar se o processo é espontâneo, exotérmico ou endotérmico. A variação da energia livre de Gibbs pode ser calculada pela Equação 7 (IGANSI et al., 2019; MILONJIC, 2007; TRAN; YOU; CHAO, 2016).

$$\Delta G^\circ = -RT \ln K_e \quad (7)$$

Onde K_e é a constante de equilíbrio adimensional obtida da relação q_e/C_e na forma adimensional, T é a temperatura absoluta (K) e R é a constante universal dos gases ($8.314 \text{ J mol}^{-1} \text{ K}$).

A variação da energia livre de Gibbs é a diferença entre a entalpia e entropia da adsorção, a uma temperatura constante. Logo, aplicando este conceito os parâmetros termodinâmicos ΔH° e ΔS° podem ser obtidos pela relação de Van't Hoff, representada pela Equação 8 (ELWAKEEL, 2009; TELLINGHUISEN, 2006).

$$\ln K_e = \frac{-\Delta H^\circ}{RT} + \frac{\Delta S^\circ}{R} \quad (8)$$

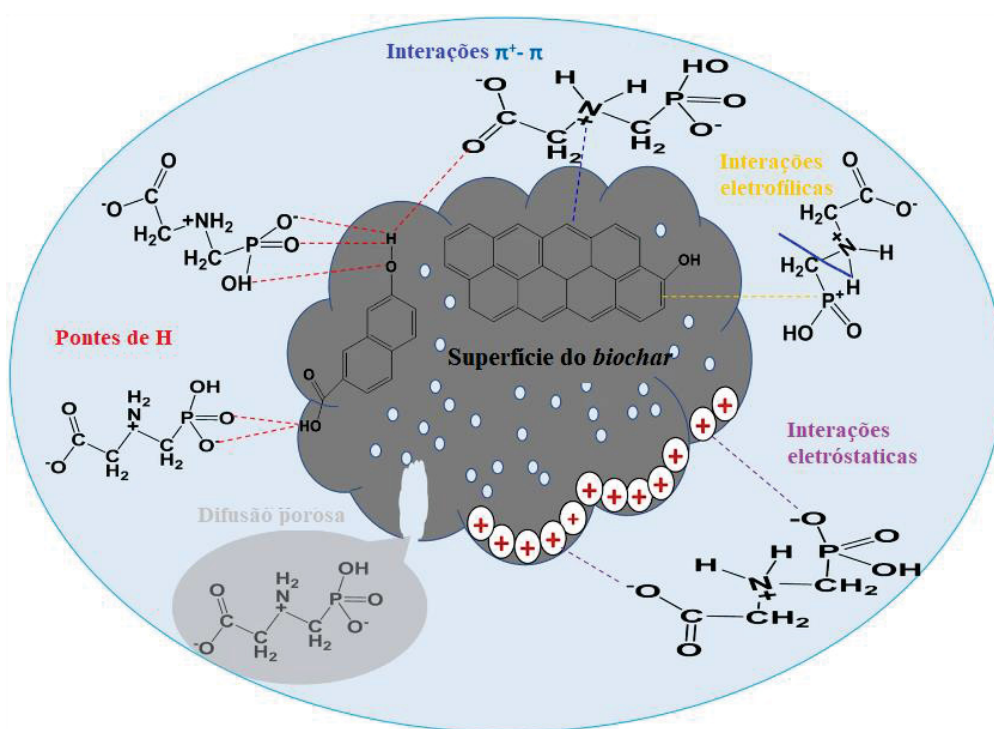
A variação da ΔG° é um fator crítico para determinar o grau de espontaneidade da adsorção. Valores negativos de ΔG° indicam reação de adsorção espontânea e energeticamente mais favorável. Quanto maior a magnitude de ΔG° , mais favorável e espontânea a adsorção. Ao contrário será inviável e não espontânea. Para ΔH° , valores positivos indicam natureza endotérmica, enquanto que valores negativos de ΔH° correspondem a sistemas exotérmicos. Quando o adsorvente apresenta características de fisissorção, como interações de van der Waals, geralmente os valores de ΔH° são inferiores a 20 kJ mol^{-1} . Interações eletrostáticas apresentam valores entre 20 e 80 kJ mol^{-1} e processos de quimissorção, valores entre 80 a 450 kJ mol^{-1} (PICCIN et al., 2017). O sinal e a magnitude de ΔS° podem contribuir para refletir se a adsorção se torna menos ($\Delta S^\circ < 0$) ou mais aleatória ($\Delta S^\circ > 0$). Sinais de ΔS° negativos implicam em fenômenos de adsorção envolvendo mecanismo dissociativo, enquanto que ΔS° positivos sugerem possibilidade de mudanças ou reajustes estruturais no complexo adsorvente/adsorvato, sendo associativos (TRAN; YOU; CHAO, 2016).

3.2.6 Aplicação do *biochar* na adsorção de glifosato

Existem diversas tecnologias para o tratamento de glifosato, como processos oxidativos avançados, osmose reversa, precipitação e adsorção. Dentre elas, a adsorção tem recebido destaque por ser considerada segura, eficaz e de baixo custo, principalmente quando o adsorvente provém de resíduos agroindustriais, como no caso do *biochar*, considerado fonte

sustentável de biomassa. No entanto, os processos de adsorção são complexos, uma vez que podem envolver diferentes mecanismos de adsorção como interações por forças de van der Waals, interações eletrostáticas, hidrofóbicas, preenchimento de poros, ligações de hidrogênio e interações π - π . Todos estes mecanismos são influenciados por uma série de fatores já descritos, como propriedades do *biochar*, do adsorvato e condições de operação (BARQUILHA; BRAGA, 2021; CHENG et al., 2021). Os principais mecanismos envolvidos na adsorção de glifosato por *biochar* são apresentados na FIGURA 2.

FIGURA 2- POSSÍVEIS MECANISMOS ENVOLVIDOS NA ADSORÇÃO DE GLIFOSATO EM *BIOCHAR*



FONTE: adaptado de Aziz et al. (2023).

Dos mecanismos apresentados, o preenchimento de poros é altamente dependente das características do contaminante, além da porosidade e área superficial do biochar. Adsorventes com alta porosidade podem fornecer centros ativos abundantes. Outro mecanismo bastante comum, principalmente na adsorção de contaminantes orgânicos iônicos e ionizáveis são as interações eletrostáticas. Estes compostos são geralmente atraídos pela carga oposta da superfície do biochar, a qual pode ser alterado pelo pH da solução. A superfície do biochar pode estar carregada positivamente quando o pH é inferior ao ponto de carga zero do adsorvente. Por outro lado, a superfície estaria desprotonada e carregada negativamente quando o pH da solução é superior ao ponto de carga zero (BARQUILHA; BRAGA, 2021; DU et al., 2022). Já as

ligações de hidrogênio são uns dos principais mecanismos da adsorção de compostos orgânicos polares no biochar. Poluentes orgânicos são compostos por hidroxilas, amino e outros grupos. Logo, a presença de grupos funcionais do contaminante e do adsorvente contribuem para a formação de pontes de hidrogênio, as quais apresentam forte energia de ligação, sendo dificilmente separadas. As interações π - π são fracas, sendo formadas frequentemente por anéis aromáticos. O adsorvato e o adsorvente são unidos por transferência de elétrons entre doador e receptor de elétrons (BARQUILHA; BRAGA, 2021; CHENG et al., 2021).

Quando o biochar não apresenta alta capacidade de adsorção para remoção de contaminantes do meio, podem ser usadas estratégias para aumentar a eficiência da adsorção, como uso de tratamentos simples para impregnação de metais. Estes tratamentos apresentam bom custo-benefício, melhorando a funcionalidade dos adsorventes a partir do aumento da área de superfície, sítios de ligação ou favorecendo a coleta e reciclabilidade a partir de campos magnéticos. Além disso, esta etapa de tratamento não requer ativação do *biochar* reduzindo significativamente os custos de produção e as etapas necessárias para a obtenção do adsorvente (DU et al., 2022).

O glifosato, por exemplo, apresenta melhores eficiências de remediação quando em contato com ferro (Fe), seja no solo ou na presença de adsorventes como *biochar*. Isso ocorre porque o Fe pode ser um excelente adsorvente de certas moléculas orgânicas. No caso do glifosato, estudos demonstram que os óxidos de ferro podem interagir com o glifosato, principalmente através do grupo fosfato, aumento assim a capacidade de adsorção do herbicida (PEREIRA et al., 2019). Dessa forma, o uso de suporte magnético no *biochar* permite aumento da eficiência de remediação a partir da capacidade de adsorção e também fácil recuperação, a qual pode ocorrer a partir de campos magnéticos (JIA et al., 2020). Alguns *biochars* com Fe foram desenvolvidos, como por exemplo, carvão ativado magnético impregnado com Magnésio (Mg) e Fe (YAMAGUCHI; RUBIO; BERGAMASCO, 2019), adsorventes magnéticos de lignina/Fe₃O₄/La(OH)₃ (LI et al., 2021), CuFe₂O₄@BC derivado de phragmites (JIA et al., 2020), entre outros.

Os processos de reutilização do *biochar* são importantes para redução dos custos operacionais. Os processos de dessorção geralmente são térmicos ou químicos. Para realizar a dessorção, é necessário ter conhecimento sobre as características do adsorvente e do adsorvato, bem como das forças de interação entre ambos. *Biochars* com alta capacidade de adsorção, possibilidade de regeneração e reutilização são altamente recomendados. No entanto, embora o *biochar* possua estas características, o desempenho do adsorvente reduz gradativamente ao longo dos processos de adsorção (BARQUILHA; BRAGA, 2021). Segundo Cheng et al.

(2021), a capacidade de adsorção do *biochar* pode se manter estável por cerca de três a cinco ciclos de regeneração. No entanto, cada caso deve ser analisado individualmente.

O mecanismo de adsorção do glifosato em *biochar* proveniente de material lenhoso, descrito por Mayakaduwa et al. (2016) foi classificado como um processo heterogêneo de quimissorção de acordo com as isotermas de Freundlich e Temkin. Este processo é caracterizado pela quimissorção com interações eletrostáticas entre o glifosato e a superfície heterogênea do *biochar*. No estudo de Herath et al. (2016), os modelos de Freundlich e Langmuir sugeriram ocorrência de mecanismos de adsorção física e química. Os mecanismos envolvidos na adsorção foram definidos como difusão nos poros, ligações de hidrogênio e interações doador-receptor de elétrons. Neste estudo, o *biochar* produzido a partir de cascas de arroz em pirólise lenta a 700 °C foi ativado por vapor e utilizado para a remoção de glifosato em solução aquosa. O estudo ainda demonstrou influência do pH nos processos de adsorção, no qual foi alcançado 82% de remoção em pH ácido (4,0). A partir dos dados de modelagem matemática, Sem, Datta e Mondal (2019), demonstraram que os mecanismos de ligação do glifosato em *biochar* derivado das cascas de eucalipto, também poderiam ser classificados como fisissorção ou quimissorção.

Além da matéria-prima e das condições da pirólise, os tratamentos de ativação de *biochar* por ácidos ou bases, tratamentos com Fe₂O₃, ativação por vapor, também são utilizados para melhorar a capacidade de adsorção (HALL et al., 2017; HERATH et al., 2016; PESSÔA et al., 2019; QUEIROZ et al., 2020). No estudo de Cederlund et al., (2016), o tratamento do *biochar* produzido a partir de madeira e tratado com sais de Fe aumentaram a adsorção de glifosato de 9% para 90%, aproximadamente, mesmo tendo sido reduzida a área superficial do *biochar*. Segundo os autores, é provável que o grupo fosfonato, presente no glifosato tenha sido adsorvido superficialmente pelos íons de magnetita. Em outro estudo, o *biochar* de açaí ativado com NaOH demonstrou ser altamente reciclável. A eficiência de remoção do poluente azul de metileno passou de 99% para 95% após 5 ciclos. Porém, o *biochar* controle, sem o tratamento por ativação perdeu a capacidade de adsorção, passando de 70% para 26% ao final do 5º ciclo de tratamento (PESSÔA et al., 2019).

Ramirez et al. (2022) desenvolveram um adsorvente poroso a partir do caroço de açaí utilizando cloreto de zinco (ZnCl₂) como ativador do carvão para adsorção de 2,4-D (ácido 2,4-diclorofenoxiacético). O adsorvente foi produzido a 700 °C, na proporção 1:1 (material precursor: ZnCl₂) por 90 min, sendo pirolisado em tubo de quartzo sob atmosfera de N₂. O adsorvente apresentou elevada área superficial (920,56 m² g⁻¹), diâmetro de poro de 1,126 nm (microporoso) e volume de poro de 0,467 cm³ g⁻¹. O adsorvente apresentou capacidade máxima

de adsorção de 218 mg g⁻¹ em 55 °C. Os parâmetros termodinâmicos confirmaram processo de natureza física e endotérmica ($\Delta H^0 = 16,16$ kJ mol⁻¹). Os perfis cinéticos demonstraram que o equilíbrio da adsorção foi atingido em 120 min. O QUADRO 2 apresenta a aplicação de *biochar* no tratamento de glifosato presente em matriz aquosa, demonstrando as principais condições de adsorção utilizadas em cada estudo e os principais mecanismos envolvidos na adsorção do herbicida.

QUADRO 2- APLICAÇÃO DE *BIOCHAR* PROVENIENTE DE DIFERENTES MATÉRIAS-PRIMAS PARA O TRATAMENTO DE GLIFOSATO

Adsorvente	Q _{máx} (mg g ⁻¹)	Mecanismos da adsorção	Condições de adsorção	Referência
Al/Fe ₃ O ₄ /La(OH) ₃	83,87	Langmuir/ PSO	12 h adsorção; pH 3 e 4; 250 mg L ⁻¹ de glifosato; 25 °C	Li et al. (2021)
Carvão ativado impregnado com 0,5% Mn e 1% Fe (m m ⁻¹)	9,19	Freundlich/ PSO	24 h adsorção; 800 mg/ 80 mL; 5-80 mg L ⁻¹ glifosato; 45°C	Yamaguchi, Rubio e Bergamasco (2019)
Solo de floresta	161,29	Langmuir/ PSO	1 h adsorção; pH 12; 20 mg L ⁻¹ de glifosato e 1 g adsorvente/ 50 mL solução	Sen et al. (2017)
Compósito híbrido magnético (MnFe ₂ O ₄)	39	Freundlich/ PSO; adsorção espontânea, exotérmica e viável de 5-45°C	Tempo de equilíbrio 8 h; 5-80 mg L ⁻¹ de glifosato; 0,08 g adsorvente/80 mL solução; 5 °C	Yamaguchi; Bergamasco e Hamoudi (2016)
CuFe ₂ O ₄ @ <i>biochar</i> derivado de <i>phragmites</i>	269,4	Freundlich e Langmuir/ PSO	4 h de adsorção; pH 4; 600 mg L ⁻¹ de glifosato; 25 °C	Jia et al. (2020)
<i>Biochar</i> de arroz ativado com vapor	123,3	Freundlich e Langmuir/ PPO	Tempo de equilíbrio 3 h; pH 4; 0-100 mg L ⁻¹ glifosato; 0,5 g L ⁻¹ adsorvente	Herath et al. (2016)
<i>Biochar</i> de dendro (madeira)	44	Freundlich e Temkin/ PSO	pH 5; tempo de equilíbrio 50 min; 5–100 mg L ⁻¹ de glifosato; 1 g L ⁻¹ de adsorvente	Mayakaduwa et al. (2016)

PPO: pseudo-primeira ordem e PSO: pseudo-segunda ordem.

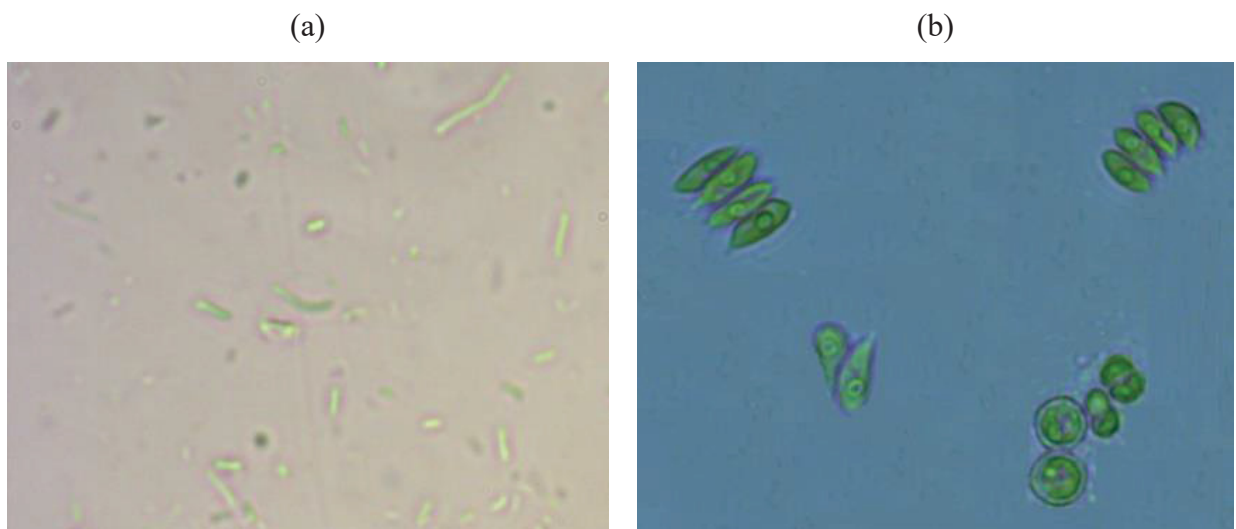
3.3 BIORREMEDIAÇÃO DE GLIFOSATO A PARTIR DE MICROALGAS

3.3.1 Microalgas

As microalgas são micro-organismos fotossintetizantes, que fazem parte de um grupo heterogêneo, predominantemente aquáticas com variações morfológicas, estruturais e fisiológicas que permitem sua adaptação a variadas condições ambientais de cultivo. As microalgas podem ser eucarióticas (com organelas que controlam funções celulares) ou procarióticas como as cianobactérias (não possuem organelas ligadas a membrana), unicelulares ou pluricelulares, apresentando similaridades com as plantas superiores (JOHANSEN et al., 2012).

O gênero *Scenedesmus* é representado pelas microalgas do filo *Chlorophytas*, unicelulares e uninucleadas, em formato elipsoidal. Estas microalgas formam colônias pela união de 2 a 16 células dispostas lado a lado (FRANCESCHINI et al., 2009). Já o gênero *Synechococcus* são cianobactérias unicelulares, procarióticas e fotossintetizantes, muito semelhantes as microalgas. As células apresentam-se em formato oval alongado ou cilíndrico, com tamanho variando de 0,8 a 1,5 μm , a reprodução ocorre por fissão binária (FANKA et al., 2022; FORLANI; CAMPANI, 2001; MARGULIS; SCHWARTZ, 2001). Micrografias das microalgas *Synechococcus* e *Scenedesmus* são apresentadas na FIGURA 3.

FIGURA 3- MICROGRAFIAS DE *Synechococcus nidulans* LEB 117 (A) E *Scenedesmus obliquus* LEB 117 (B)



As microalgas têm sido estudadas como fontes alternativas para a produção de biocombustíveis e fixação de CO_2 , sendo renováveis e de baixo impacto ambiental. Além disso,

podem ser utilizadas para o tratamento de uma diversidade de contaminantes emergentes, incluindo agrotóxicos (COSTA; CRUZ; ROSA, 2021; MAGRO et al., 2021; MORAIS et al., 2023; MOREIRA et al., 2023; REMPEL et al., 2021; ZAPAROLI et al., 2020). Desta forma, o meio de cultivo pode variar em relação aos componentes, resultando em diferentes características no crescimento e na composição celular destes micro-organismos (DEVI et al., 2023).

As microalgas cultivadas em águas residuais são uma das formas mais promissoras para tornar os cultivos economicamente viáveis (CHOUDHARY; PRAJAPATI; MALIK, 2016). Além da biorremediação de poluentes, as microalgas podem ainda ser utilizadas para a produção de *biochar*, compostos de alto valor agregado e biocombustíveis como bioetanol e biodiesel (COSTA et al., 2023; MORAIS et al., 2022; NIE et al., 2020). Isso porque, em resposta as condições de estresse, muitas microalgas alteram suas rotas metabólicas como defesa antioxidativa, e passam a acumular compostos como carboidratos e lipídios. Dessa forma, para aumentar a sustentabilidade dos cultivos e torná-los economicamente viáveis, processos de biorremediação de pesticidas podem ocorrer em conjunto com a acumulação destes biocompostos (KUMAR et al., 2016).

3.3.2 Biorremediação utilizando microalgas

A biorremediação é uma tecnologia ecologicamente correta e de menor custo quando comparada a tecnologias de remediação ambiental. Além de ser efetiva é empregada para a remoção de diversos poluentes (PARWEEN et al., 2017), entre eles, os agrotóxicos (KURADE et al., 2016). No entanto, embora apresente inúmeras vantagens, a biorremediação é um processo complexo, sendo influenciado por diversas variáveis e altamente dependente do comportamento bioquímico dos micro-organismos utilizados e também das características químicas do contaminante e do ambiente a ser remediado (PANDEY et al., 2019).

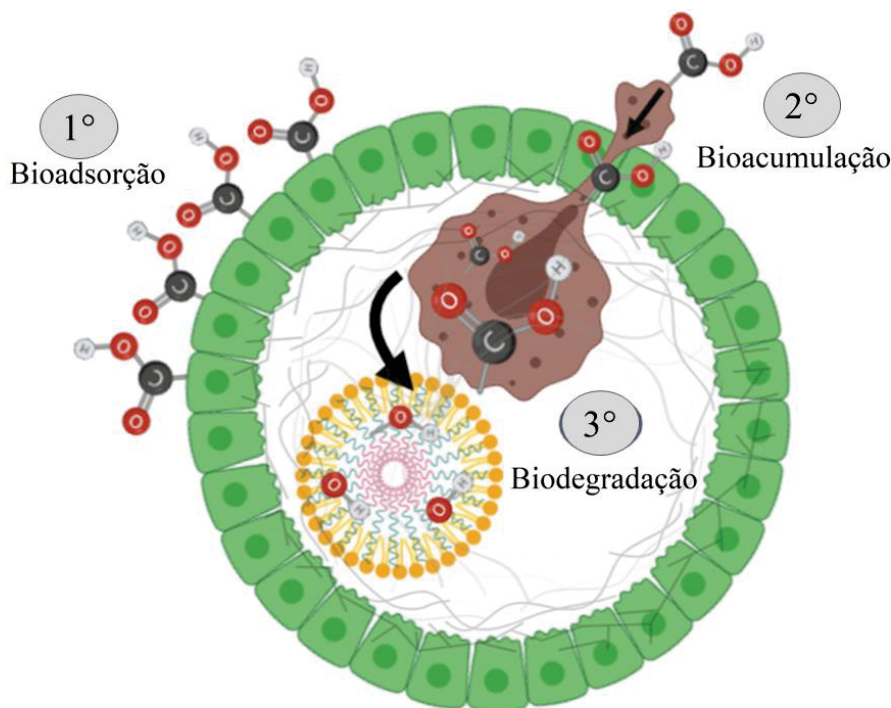
A biorremediação de glifosato por microalgas ainda pode ser alterada pelas condições dos processos, como a concentração do poluente, tempo de exposição e microalga utilizada. Em grande parte das pesquisas foi identificado que concentrações micromolares e milimolares de glifosato não afetam a concentração celular inicial da biomassa nos cultivos. Além disso, maiores períodos de exposição entre a microalga e o agrotóxico são requeridos para a obtenção de maiores eficiências nos processos de biorremediação (MORAIS et al., 2022).

Os mecanismos de biorremediação podem ocorrer por meio de processos ativos ou passivos, no qual interações físico-químicas e biológicas ocorrem. Os mecanismos de

biorremediação de poluentes emergentes por microalgas podem ser visualizados na FIGURA 4. Estes correspondem a processos de bioadsorção, bioacumulação e biodegradação. Processos de fotodegradação e volatilização também podem ocorrer durante a biorremediação (NIE et al., 2020; SHENG et al., 2022; SUTHERLAND; RALPH, 2019):

- a) Bioadsorção: é caracterizada como processo passivo, não metabólico em que ocorre uma interação entre o contaminante e a parede celular das microalgas, as quais estão carregadas negativamente, devido a presença de grupos funcionais (carboxila, hidroxila, sulfato e outros). Para que este processo ocorra é necessária afinidade química entre o contaminante e o micro-organismo, além do controle de condições externas como pH e temperatura;
- b) Bioacumulação: ocorre quando o poluente é absorvido ou transportado pela parede celular das microalgas, ligando-se as proteínas e a outros compostos intracelulares. A bioacumulação ocorre após a adsorção e pode ocorrer simultaneamente a biodegradação;
- c) Biodegradação: é a transformação de um contaminante complexo em uma molécula mais simples, ou seja, menos tóxica. Os processos de biorremediação ocorrem em três fases principais. Na fase I ocorre a transformação inicial do composto a partir de hidrólise, oxidação ou redução pela ação da enzima citocromo P₄₅₀. A fase II envolve a conjugação dos metabólitos da fase I com açúcares, glutatona ou aminoácidos. Na fase III ocorre a transformação dos metabólitos da fase II em substâncias menos tóxicas ou não tóxicas em relação aos compostos iniciais, sendo utilizados para o crescimento das células microalgais;
- d) Fotodegradação e volatilização: estes dois mecanismos podem ocorrer nos processos de biorremediação. A fotodegradação ocorre por fotólise (quando ocorre a degradação do contaminante a partir da absorção da luz) ou fotodegradação (degradação dos contaminantes por meio de interações com radicais hidroxila, por exemplo). Já a volatilização ocorre através da perda dos compostos orgânicos voláteis, facilitados pelas condições dos cultivos microalgais através da aeração e altas temperaturas.

FIGURA 4- MECANISMOS DE BIORREMEDIAÇÃO DE POLUENTES POR MICROALGAS



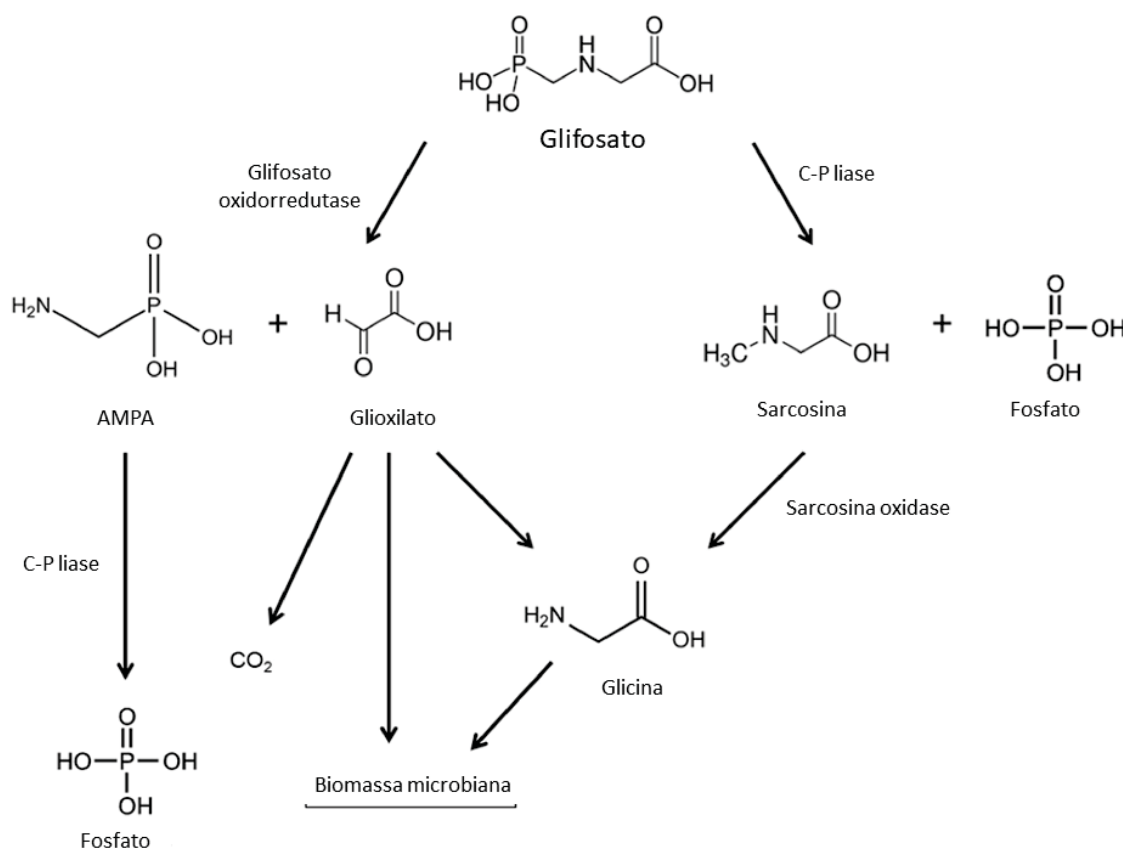
FONTE: Adaptado de Rempel et al. (2021).

A identificação das vias de degradação dos agrotóxicos é extremamente importante nos processos de biorremediação, especialmente do glifosato. Este herbicida apresenta como principal rota do metabolismo microbiano a produção de AMPA, que por sua vez apresenta toxicidade semelhante ao glifosato, gerando poluição secundária no ambiente (OKADA et al., 2020). A ocorrência de AMPA tem sido relatada em diversos recursos urbanos e rurais. Em estudo conduzido por Piel, Baurès e Thomas (2012) foi identificado AMPA em riachos de uma bacia hidrográfica francesa durante todo o ano. Também foi demonstrado valores superiores de AMPA em áreas urbanas em relação as rurais, sendo de 5 e 2 $\mu\text{g L}^{-1}$ respectivamente. A via de degradação pela qual os micro-organismos metabolizam o glifosato é um fator importante nos estudos de biodegradação. Até agora foram demonstradas duas rotas principais do metabolismo microbiano, estas podem ser observadas na FIGURA 5.

A produção de AMPA ocorre através da clivagem da ligação carbono-nitrogênio (C-N), sendo a via de degradação mais frequente, principalmente de bactérias e fungos, correspondendo a 70% dos estudos de biorremediação. Enquanto a segunda rota, envolve a clivagem da ligação carbono-fósforo (C-P) e resulta em sarcosina. Na biodegradação de glifosato, a principal enzima na degradação desta molécula em AMPA e glioxilato é a glifosato oxidorreductase (GOX). O AMPA apresenta características semelhante ao glifosato, sendo

motivo de preocupação por se destacar como tóxico em organismos não alvo (ANNETT; HABIBI; HONTELA, 2014; IORI et al., 2020). Por esse motivo, torna-se cada vez mais importante a identificação de micro-organismos capazes de realizar a biodegradação pela via secundária. Esta por sua vez é menos comum entre os micro-organismos estudados e ocorre a partir da clivagem de C-P catalisada pela enzima C-P liase. O resultado desta degradação é a formação de sarcosina, a qual é posteriormente degradada em glicina e a carbono, não apresentando efeitos tóxicos no ambiente (CHEN et al., 2022; ZHAN et al., 2018).

FIGURA 5- VIAS DE BIODEGRADAÇÃO DE GLIFOSATO POR MICRO-ORGANISMOS



FONTE: Adaptado de Grandcoin, Piel e Baurès (2017).

A identificação de microalgas com capacidade de metabolizar glifosato pela via sarcosina ainda permanece escassa. Além disso, esta via de degradação foi relacionada negativamente com a concentração de fósforo inorgânico disponível durante os processos de biorremediação, o que pode afetar a biodegradação por esta via, uma vez que o fósforo inorgânico é comumente encontrado em águas residuais (LIPOK et al., 2007; ZHAN et al., 2018).

3.3.3 Consórcios microalgais aplicados a biorremediação

Uma das formas de estimular a degradação de contaminantes por microalgas é a partir do uso de diversas linhagens microalgais, atuando em conjunto. Nos consórcios as interações cooperativas entre os micro-organismos aumentam, tornando os sistemas mais resistentes a condições ambientais externas e aumentando a capacidade de remoção de contaminantes (GONÇALVES; PIRES; SIMÕES, 2016; ZHU; HUO; FENG, 2019). O uso de consórcios também pode promover maiores produtividades de biomassa, sendo considerada uma estratégia promissora para o tratamento de águas poluídas e produção de biocombustíveis (QIN et al., 2016; RENUKA et al., 2013). Diferentes morfologias, tamanhos e densidades microalgais podem contribuir nos processos de biorremediação em consórcios (HUSSEIN et al., 2017).

Embora a maioria dos estudos envolvendo a utilização de consórcios microalgais seja destinada ao tratamento de efluentes com elevadas concentrações de nitrogênio e fósforo (CHOUDHARY; PRAJAPATI; MALIK, 2016), o uso desta estratégia para o tratamento de agrotóxicos vem sendo descrito na literatura. No entanto, em função do grande número de combinações possíveis, os estudos envolvendo a utilização de consórcios microalgais ainda são escassos (GONÇALVES; PIRES; SIMÕES, 2017; QIN et al., 2016).

O cultivo de microalgas em consórcio pode oferecer diversas vantagens para a biorremediação de águas residuais e obtenção de bioprodutos. No entanto, existe uma série de gargalos nos sistemas de cultivo que merecem atenção. Entre eles, faz-se necessário o estudo de quais interações cooperativas entre as microalgas proporcionam maiores produtividades máximas de biomassa e remoção de poluentes. Associado a isso, os mecanismos que proporcionam maior obtenção de bioprodutos, visando a redução dos custos de produção deve ser avaliada (MAGRO et al., 2021).

O consórcio microalgal de *Chlorella vulgaris*, *Scenedesmus quadricuda* e *Spirulina platensis* foi considerado eficiente para biorremediar o inseticida malation (99%) e metais pesados (88% Cd, 95% Ni, 89% Pb) de águas residuais urbanas. A combinação de todos os contaminantes provenientes de águas agrícolas e residuais urbanas propiciou o maior crescimento das microalgas (ABDEL-RAZEK et al., 2019). Além deste estudo, relações benéficas no consórcio de microalga-bactéria foram identificadas no crescimento de *Chlorella protothecoides* exposta a 50 mg L⁻¹ de glifosato. O sistema proposto removeu 53,7% do herbicida, sem produção de AMPA (BORELLA et al., 2023).

CAPÍTULO III

4 DESENVOLVIMENTO DA TESE

A tese foi dividida em um capítulo de livro, três artigos de pesquisa e uma patente. O capítulo de livro intitulado “Microalgae for bioremediation of pesticides: Overview, challenges, and future trends” foi publicado no capítulo 4 do livro “Algal Biotechnology: Integrated Algal Engineering for Bioenergy, Bioremediation, and Biomedical Applications”, da Elsevier.

O primeiro artigo intitulado “*Biochar* as a sustainable alternative for the use of residues from the processing of açaí and removal of glyphosate” foi publicado no *Journal of Environmental Chemical Engineering* (doi:10.1016/j.jece.2023.111162). Neste estudo foi desenvolvido um *biochar* magnético do caroço de açaí impregnado com Fe para realizar a adsorção de glifosato em matriz aquosa. Parâmetros de adsorção, como pH, massa de adsorvente, temperatura, parâmetros cinéticos, isotérmicos e termodinâmicos foram determinados. A reciclabilidade do adsorvente foi realizada por 5 ciclos de adsorção e dessorção. A partir do estudo foi obtido um processo de adsorção rápido e eficiente de glifosato com boa capacidade de reutilização do adsorvente.

O desenvolvimento do *biochar* magnético com Fe resultou também no depósito de uma patente relacionada ao processo de obtenção de um *biochar* magnético para adsorção de glifosato, intitulado “Processo de obtenção de *biochar* magnético e uso do *biochar* magnético como adsorvente de glifosato em matriz aquosa”. O pedido de propriedade intelectual foi realizado junto ao Instituto Nacional da Propriedade Intelectual- INPI na data 27/02/2023, com número do processo BR 10 2023 003650 3.

O segundo artigo intitulado “Biodegradação do herbicida glifosato por microalgas” refere-se à exposição das microalgas *S. nidulans* LEB 115 e *S. obliquus* LEB 117 em 4, 8 e 12 mg L⁻¹ do herbicida glifosato. O objetivo do artigo foi avaliar o comportamento cinético das microalgas em relação as diferentes concentrações do herbicida e composição bioquímica da biomassa (carboidratos, lipídios e proteínas), bem como analisar a capacidade de biodegradação do glifosato nos cultivos realizados e verificar a produção de AMPA, principal metabólito produzido por micro-organismos.

O terceiro artigo de pesquisa intitulado “Biodegradação do herbicida glifosato por meio de cultivos axênicos e consórcios microalgais” teve como objetivo analisar a biodegradação de glifosato em cultivos axênicos de *S. nidulans* LEB 115 e *S. obliquus* LEB 117 e em consórcio, utilizando diferentes concentrações iniciais de cada microalga no cultivo. Além disso, as relações sinérgicas e antagônicas resultantes dos cultivos foram discutidos a partir da obtenção dos parâmetros cinéticos. Os resultados da biodegradação de glifosato e

produção de AMPA para todos os cultivos foi elucidado, bem como a composição bioquímica das microalgas, indicando um potencial uso sustentável da biomassa.

CAPÍTULO DE LIVRO

Microalgas na biorremediação de agrotóxicos: visão geral, desafios e tendências futuras

Michele Greque de Moraes, Munise Zaparoli, Bárbara Franco Lucas e Jorge Alberto Vieira Costa

(<https://doi.org/10.1016/B978-0-323-90476-6.00010-8>)

RESUMO

O uso intensivo de agrotóxicos pode impactar negativamente a saúde humana e o meio ambiente. Assim, diversos estudos têm sido realizados utilizando espécies biológicas para biorremediar esses sistemas. Dentre essas espécies, o uso de microalgas se destaca e apresenta a possibilidade de biorremediação ambientalmente correta. As microalgas podem utilizar poluentes como fonte de energia produzindo biomassa rica em carboidratos e lipídios. Os mecanismos utilizados pelas microalgas para biorremediação incluem biodegradação, bioacumulação e bioadsorção. Esses mecanismos estão relacionados à seleção de microalgas adequadas com potencial para biorremediação e às características de pesticidas. Portanto, este capítulo tem como objetivo fornecer uma visão geral das pesquisas mais recentes sobre microalgas usadas para biorremediação de agrotóxicos, ilustrando os desafios dessa técnica e destacando perspectivas futuras e tendências nesse campo.

Palavras-chave: Águas residuais. Biodegradação. Gestão de resíduos. Herbicidas. Poluentes orgânicos.

1 INTRODUÇÃO

O aumento da produção de alimentos impulsionado pelo crescimento da população mundial tornou a modernização da produção agrícola altamente dependente de agrotóxicos. Os pesticidas são substâncias usadas para proteger as culturas contra pragas e atingir um pré-requisito de qualidade e eficiência da produção vegetal (HU et al., 2021; NEHRA et al., 2021). No entanto, o uso excessivo de pesticidas pode impactar negativamente o meio ambiente, resultando na contaminação do solo, ar e água. Estes compostos podem se acumular no solo, plantas, micro-organismos e águas superficiais, e também podem gerar efeitos nocivos à saúde humana (AVILA et al., 2021; ZAINITH et al., 2021).

Portanto, nos últimos anos, alternativas eficientes de biorremediação usando micro-organismos foram desenvolvidas para fornecer uma solução sustentável para mitigar os impactos ambientais destes compostos (AVILA et al., 2021; ZAINITH et al., 2021). A biorremediação é uma tecnologia baseada em materiais biológicos (por exemplo, bactérias, fungos, microalgas e cianobactérias). Essa tecnologia é usada para remover, degradar, acumular ou transformar contaminantes, como agrotóxicos e produtos farmacêuticos. No entanto, embora apresente inúmeras vantagens, a biorremediação é complexa e influenciada por diversas variáveis (PANDEY et al., 2019).

As microalgas se destacam entre as espécies utilizadas para biorremediação (KURADE et al., 2016; NIE et al., 2020). As microalgas são micro-organismos fotossintéticos encontrados em ambientes marinhos ou de água doce (YIN et al., 2020). Esses micro-organismos podem purificar diferentes águas residuais usando os resíduos como substratos para o crescimento. Além disso, durante o crescimento, esses micro-organismos podem fixar CO₂, ajudando a mitigar o dióxido de carbono atmosférico (CHAI et al., 2021).

Microalgas como *Chlorella* spp., *Scenedesmus* spp. e *Chlamydomonas* spp. foram usadas para remover uma variedade de poluentes orgânicos de águas residuais (CHAI et al., 2021; HU et al., 2021; KURADE et al., 2016). As microalgas podem remover pesticidas por meio de bioadsorção, biodegradação e bioacumulação (MARYJOSEPH; KETHEESAN, 2020; NIE et al., 2020). A taxa de remoção de pesticidas depende do micro-organismo usado, da estrutura do pesticida e da área contaminada (NEHRA et al., 2021). Estudos têm demonstrado eficiência de remoção de agrotóxicos por microalgas superior a 90% (KURADE et al., 2016; WAN et al., 2020). No entanto, a inibição do crescimento de microalgas por produtos de degradação é um desafio para esta tecnologia (HU et al., 2021).

O uso de biomassa de microalgas resultante de processos de biorremediação deve ser destacado devido aos seus diversos usos. A biomassa pode ser valorizada para a produção de biocombustíveis, como o biogás, bioetanol, biodiesel e *biochar* usando a abordagem da biorrefinaria (AVILA et al., 2021). Portanto, este capítulo fornece uma visão geral da biorremediação de pesticidas por microalgas. Diferentes mecanismos e técnicas de biorremediação são destacadas por esses micro-organismos, sendo também sugerido alternativas para aumentar a remoção dos agrotóxicos juntamente com a valorização da biomassa. Além disso, são destacados desafios e perspectivas futuras.

2 CONTAMINAÇÃO POR AGROTÓXICOS

Os agrotóxicos são compostos que incluem herbicidas, inseticidas, fungicidas, entre outros (AKTAR; SENGUPTA; CHOWDHURY, 2009; NIE et al., 2020) que são aplicados para evitar doenças nas culturas, ervas daninhas e pragas de insetos (LI et al., 2021). Esses compostos têm desempenhado papel importante na produção agrícola por muitos anos (LI et al., 2021; NIE et al., 2020). O glifosato e a atrazina estão entre os herbicidas mais usados em todo mundo (HU et al., 2021; MAHLER et al., 2017). Cada agrotóxico tem certas propriedades químicas específicas e mecanismos de ação. O glifosato pode ser usado como herbicida foliar pós-emergente, enquanto a absorção de atrazina pode ser incorporada pelas raízes de maneira pré-emergente (MAHLER et al., 2017).

Estudos anteriores relataram pesticidas persistentes detectados em ambientes aquáticos (HU et al., 2021; MAHLER et al., 2017). Além disso, a resistência de pragas a produtos químicos causada pelo uso prolongado de pesticidas é outro desafio a ser superado (LI et al., 2021). Mahler et al. (2017) investigaram a ocorrência dos agrotóxicos atrazina e glifosato em córregos agrícolas e urbanos. A presença de herbicidas em córregos urbanos pode ser causada por sistemas de drenagem, que podem, por exemplo, direcionar a água de chuvas para um córrego próximo. Além disso, de acordo com Nie et al. (2020), a aplicação de pesticidas por pulverização pode facilitar a contaminação ambiental.

O tratamento de agrotóxicos na água é desafiador, sendo um obstáculo aos processos convencionais (JATOI et al., 2021; NEHRA et al., 2021; SUTHERLAND; RALPH, 2019). Resíduos de agrotóxicos na água e no solo podem ter efeitos perigosos nos organismos vivos e no meio ambiente (NEHRA et al., 2021). Além disso, sua presença em produtos agrícolas ou alimentos processados afeta diretamente a segurança alimentar. O teor de resíduos de pesticidas presentes nos alimentos dependerá de várias propriedades dos pesticidas, como solubilidade e

pressão de vapor (LI et al., 2021). Foi relatado que altos níveis de exposição a pesticidas podem contribuir potencialmente para várias doenças múltiplas, como câncer e distúrbios endócrinos (HU et al., 2021; MAHLER et al., 2017; MORALES-PÉREZ; ARIAS; RAMÍREZ-ZAMORA, 2016).

Chai et al. (2021) relataram que a escassez de água apropriada para consumo humano em alguns países pode ser atribuída a falhas no tratamento de águas residuais e descarga de efluentes. As águas residuais contendo resíduos de pesticidas podem ser originárias da fabricação e formulação de pesticidas (por exemplo, de atividades de limpeza) e indústrias agrícolas. Esses resíduos podem poluir corpos d'água e lençóis freáticos com compostos tóxicos (MORALES-PÉREZ; ARIAS; RAMÍREZ-ZAMORA, 2016). Assim, estratégias para remover pesticidas da água de maneira sustentável e para diminuir os riscos à saúde associados à contaminação por pesticidas têm sido recentemente foco de pesquisa.

3 DESTINO AMBIENTAL DOS AGROTÓXICOS

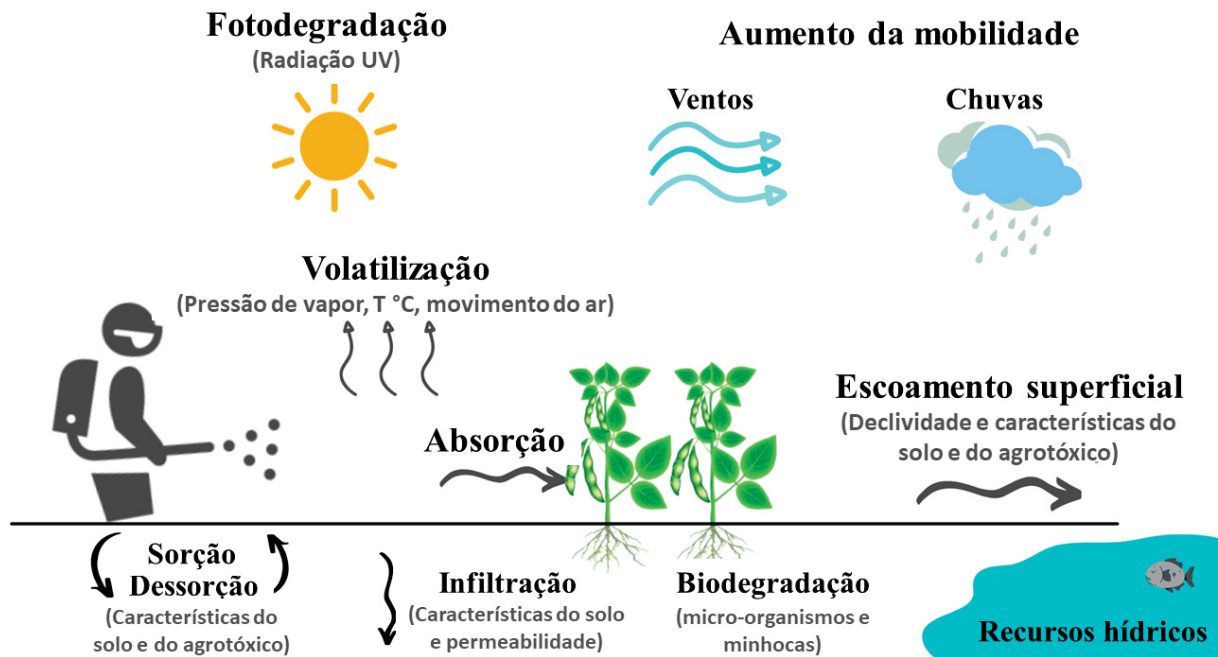
O destino ambiental dos agrotóxicos inicia a partir da pulverização no meio ambiente. A partir desse momento, esses compostos podem ser absorvidos pelas plantas ou permanecer disponíveis na matriz do solo. No ambiente, os pesticidas estão sujeitos a diferentes processos físico-químicos e biológicos. Esses processos incluem adsorção, dessorção, biodegradação, fotodegradação e volatilização (KUMAR; SINGH, 2017; PEÑA; DELGADO-MORENO; RODRÍGUEZ-LIÉBANA, 2019) (FIGURA 1).

Alguns pesticidas possuem características voláteis ou semivoláteis e, como resultado, podem ser transportados na atmosfera, aumentando sua mobilidade (WOODROW; GIBSON; SEIBER, 2018). Além disso, podem ocorrer outros processos, como a erosão eólica e a volatilização desses compostos presentes no solo e nas plantas. Esses parâmetros são influenciados pelas características de sorção do solo, propriedades lipofílicas das plantas e pressão de vapor. O vento também pode promover a mobilidade dos pesticidas antes mesmo de encontrarem o solo ou as plantas (MAMY et al., 2021). Muitos fatores influenciam a volatilização de pesticidas no solo, incluindo o grau de adsorção, teor de água, propriedades do solo e temperatura ambiente (SPENCE, FARMER, CLIATH, 1973).

Os processos de adsorção e dessorção dependem das características do solo, como pH, matéria orgânica, umidade, argila e composição do silte, e são considerados alguns dos parâmetros mais importantes no destino de agrotóxicos. A inclinação do solo, a permeabilidade e a profundidade do lençol freático também afetam o movimento dos pesticidas. Esses

processos determinam a distribuição destes nas fases sólida, gasosa e aquosa, controlando a disponibilidade para outros processos de transporte e degradação (PEÑA; DELGADO-MORENO; RODRÍGUEZ-LIÉBANA, 2019; GAVRILESCU, 2005).

FIGURA 1- DESTINO AMBIENTAL DE PESTICIDAS APÓS APLICAÇÃO NA AGRICULTURA



Outros produtos químicos têm alta solubilidade em água, permitindo que se dissipem pela chuva, resultando na lixiviação de pesticidas para os recursos hídricos e afetando potencialmente espécies marinhas e outras espécies não-alvo (GAVRILESCU, 2005; RAJMOHAN; CHANDRASEKARAN; VARJANI, 2020). O transporte e o armazenamento de pesticidas também podem contribuir para possíveis rotas de contaminação, assim como o descarte inadequado de águas residuais da etapa de lavagem de embalagens ou durante a produção de pesticidas (IUMMATO et al., 2019; NIE et al., 2020).

4 BIORREMEDIAÇÃO DE AGROTÓXICOS POR MICROALGAS

As microalgas são micro-organismos fotossintéticos microscópicos encontrados em água doce e marinha (YIN et al., 2020) e utilizam fontes de energia e carbono para crescer (PATEL; CHOI; SIM, 2020). Esses micro-organismos podem ser aplicados na produção de alimentos, ração animal e vários biocombustíveis devido à flexibilidade da produção de uma variedade de compostos, como proteínas, ácidos graxos, vitaminas e pigmentos

(YIN et al., 2020). Entre as várias vantagens do uso de microalgas estão a capacidade de usar a energia solar e a eficiência na captura de CO₂ da atmosfera (ZAINITH et al., 2021). Além disso, as microalgas têm sido aplicadas no tratamento de águas residuais e estudadas quanto à assimilação de pesticidas como fontes de energia para o seu crescimento (CHAI et al., 2021; NIE et al., 2020).

A biorremediação mediada por microalgas também é conhecida como fitorremediação, ficorremediação e cianorremediação. Essa técnica não apenas acumula ou adsorve pesticidas, mas também os transforma em poluentes menos tóxicos ao meio ambiente, dependendo da espécie microalgal, das vias metabólicas utilizadas e das características dos pesticidas (PRIYADARSHANI; SAHU; RATH, 2011; VIDYASHANKAR; RAVISHANKAR, 2016). Os mecanismos de biorremediação incluem processos ativos ou passivos, nos quais ocorrem interações físico-químicas na parede celular das microalgas. Os mecanismos envolvidos na biorremediação de microalgas incluem processos de bioadsorção, bioacumulação e biodegradação, além de fatores de degradação externos, como fotodegradação e volatilização (HENA, GUTIERREZ; CROUÉ, 2021; NIE et al., 2020; SUTHERLAND; RALPH, 2019).

Vários estudos demonstraram o uso de microalgas para a biorremediação de pesticidas (TABELA 1). Na maioria dos estudos, foi identificada a inibição do crescimento de microalgas em altas concentrações de poluentes, além de induzir respostas oxidativas e alterações no conteúdo e morfologia celular (SALMAN; ABDUL-ADEL, 2015).

TABELA 1- MECANISMOS ENVOLVIDOS NA BIORREMEDIAÇÃO DE PESTICIDAS DE MICROALGAS

continua

Microalga	Agrotóxico	Concentração do agrotóxico	Eficiência de remoção	Tempo de exposição	Mecanismos envolvidos na biorremediação	Referências
<i>Chlorella vulgaris</i>	Diazinon	0,5 mg L ⁻¹	100%	12 d	Biodegradação + bioacumulação	Kurade et al. (2016)
		5 mg L ⁻¹	87,67%			
		20 mg L ⁻¹	93,31%			
		40 mg L ⁻¹	61,99%			
		100 mg L ⁻¹	45,22%			
<i>Chlamydomonas reinhardtii</i>	Triclorfom	2 mg L ⁻¹	100%	10 d	Biodegradação	Wan et al. (2020)
		10 mg L ⁻¹	100%			
		40 mg L ⁻¹	100%			
		60 mg L ⁻¹	100%			
		100 mg L ⁻¹	100%			
<i>Oscillatoria limnetica</i>	Glifosato	200 mg L ⁻¹	96,2%	7 d 14 d 14 d 35 d	Biodegradação	Salman e Abdul-Adel (2015)
		5 mg L ⁻¹	97,5%			
		10 mg L ⁻¹	57,9%			
		15 mg L ⁻¹	37,18%			
		20 mg L ⁻¹	99,9%			

TABELA 2- MECANISMOS ENVOLVIDOS NA BIORREMEDIAÇÃO DE PESTICIDAS DE MICROALGAS

conclusão						
Microalga	Agrotóxico	Concentração do agrotóxico	Eficiência de remoção	Tempo de exposição	Mecanismos envolvidos na biorremediação	Referências
<i>Synechococcus elongatus</i>	Atrazina	0,025 µM	80%	12 h	Bioacumulação	González-Barreiro et al. (2006)
		0,1 µM	75%			
		0,75 µM	70%			
	Terbutrina	0,025 µM	80%	12 h	Bioacumulação	
		0,1 µM	85%			
		0,75 µM	82%			
<i>Chlorella vulgaris</i>	Atrazina	0,025 µM	84%	12 h	Bioacumulação	González-Barreiro et al. (2006)
		0,1 µM	90%			
		0,75 µM	83%			
	Terbutrina	0,025 µM	85%	12 h	Bioacumulação	
		0,1 µM	93%			
		0,75 µM	93%			
Consórcio (<i>Chlorella</i> sp. e <i>Scenedesmus</i> sp.)	Clorpirifós	1 mg L ⁻¹	97%	7 d	Sorção + biodegradação	Avila et al. (2021)
	cipermetrina		74%			
	Oxadiazon		88%			

conclusão

4.1 BIOADSORÇÃO

A bioadsorção é um processo passivo e não metabólico no qual ocorrem interações entre o contaminante (carregado positivamente) e a parede celular da microalga (carregada negativamente) em seu estado ativo ou inativo. É necessária uma afinidade química entre o contaminante e o micro-organismo para que ocorra esse processo e o controle das condições externas como pH e temperatura. Os processos químicos que afetam a bioadsorção também incluem reações de complexação, troca iônica, precipitação e interações eletrostáticas (NIE et al., 2020; SUTHERLAND; RALPH, 2019).

Em microalgas, os processos de bioadsorção de compostos orgânicos ocorrem principalmente por causa de grupos funcionais (por exemplo, carboxila, amina e fosforil), espaços intercelulares, polissacarídeos sulfatados e carboidratos presentes na parede celular (BILAL et al., 2018; XIONG et al., 2018). A bioadsorção também pode ocorrer em substâncias poliméricas extracelulares (EPS) ligadas a células das microalgas ou excretadas no meio extracelular (HENA et al., 2021). Essas substâncias, formadas principalmente por proteínas, lipídios e polissacarídeos são responsáveis pela agregação das células e formação de um filme. Esse filme protege as células de estresses externos, como altas concentrações de contaminantes e variação de temperatura e pH, além de facilitar a adsorção (XIAO; ZHENG, 2016).

Os processos de adsorção geralmente têm vantagens mais significativas do que a bioacumulação, como menor custo e tempo. De acordo com Sutherland e Ralph (2019), a otimização do crescimento de microalgas influenciará positivamente a remediação de contaminantes emergentes. Segundo esses autores, quanto maior a quantidade de células de microalgas, maior a bioadsorção. Além disso, células inativas não requerem controle das condições biológicas para o crescimento de micro-organismos e metabolismo celular, apresentando assim maior versatilidade (HANSDA; KUMAR; ANSHUMALI, 2016).

As desvantagens estão relacionadas à não seletividade desses processos, o que é um problema devido à diversidade de contaminantes presentes nas águas residuais. Assim, a presença de mais de um contaminante pode interferir nos processos de adsorção e saturar os sítios de ligação com contaminantes não-alvo, diminuindo a eficiência da remoção dos contaminantes pretendidos para biorremediação (SUTHERLAND; RALPH, 2019).

4.2 BIOACUMULAÇÃO

A bioacumulação ocorre quando os poluentes são absorvidos ou transportados através da parede celular da microalga. Nesse processo ativo, os contaminantes se ligam a proteínas e outros compostos intracelulares. Esse mecanismo pode ser dividido em (a) difusão passiva, que não requer energia da célula porque o contaminante, que tem baixo peso molecular e é apolar, se difunde através da membrana celular (hidrofóbico). (b) A difusão passiva facilitada ocorre com a ajuda de proteínas transportadoras, facilitando a difusão de contaminantes através da membrana celular. O último mecanismo é (c) captação ativa, que requer energia das células (SUTHERLAND; RALPH, 2019).

A bioacumulação é o processo posterior à bioadsorção e pode ocorrer simultaneamente com a biodegradação (JIN et al., 2012). Esse processo pode ser vantajoso, permitindo maior eficiência na remoção do contaminante devido ao maior número de sítios de ligação (superfície e dentro da célula) (HANSDA et al., 2016).

Durante a bioacumulação, altas concentrações de pesticidas podem induzir estresse devido à geração de espécies reativas de oxigênio (ERO), que são responsáveis por numerosos efeitos tóxicos no metabolismo das microalgas (NIE et al., 2020). Entre eles estão danos oxidativos, disfunções celulares, alterações no conteúdo de clorofila e carotenóides, influência em enzimas antioxidantes, como superóxido dismutase e catalase, e até mesmo a morte dos micro-organismos (KURADE et al., 2016). Portanto, o estudo das concentrações dos contaminantes e a seleção de cepas de microalgas adequadas é extremamente importante para evitar a morte celular.

4.3 BIODEGRADAÇÃO

A biodegradação é o processo mais importante na biorremediação de contaminantes por microalgas, pois é este mecanismo que resulta na transformação metabólica de contaminantes complexos em moléculas simples e menos tóxicas. Além disso, a biodegradação elimina problemas adicionais associados ao tratamento de biomassa contaminada. A biodegradação pode ser dividida em degradação metabólica e co-metabolismo (NIE et al., 2020; SUTHERLAND; RALPH, 2019).

Na primeira fase da biodegradação, a enzima oxidativa citocromo P₄₅₀ desempenha um papel importante no metabolismo e está relacionada à oxidação, redução e hidrólise dos agrotóxicos. Outras enzimas como as polifenoloxidasas e peroxidases, também podem atuar

nesses processos. Na segunda etapa, os pesticidas ou metabólitos são conjugados a açúcares, glutatona ou aminoácidos. Os compostos produzidos nesta etapa são convertidos na fase três em substâncias de menor toxicidade ou não tóxicas (em relação aos compostos originais), o que é útil para o crescimento de células de microalgas (KUMAR; SINGH, 2017; VAN EERD et al., 2003).

Durante a biodegradação, outros compostos com toxicidade igual ou maior podem ser formados. Alguns micro-organismos podem gerar ácido aminometilfosfônico (AMPA) a partir da via de decomposição mais comum, ao metabolizar glifosato (ANNETT et al., 2014; BAI; OGBOURNE, 2016; IORI et al., 2020). Além disso, alguns tratamentos físico-químicos, como Sono-Fenton, tratamento com UV e H₂O₂, irradiação ultrassônica e fotocatalise induzida por TiO₂, podem resultar em compostos mais tóxicos da oxidação do pesticida diazinon (KURADE et al., 2016). No entanto, Kurade et al. (2016) relataram que o uso da microalga *Chlorella vulgaris* na biodegradação desse contaminante resulta em compostos menos tóxicos, como 2-Isopropil-6-metil-4-pirimidinol.

4.4 FOTODEGRADAÇÃO E VOLATILIZAÇÃO

Processos de fotodegradação e volatilização podem ocorrer em um sistema de tratamento de água contaminada durante a biorremediação realizada por microalgas. Ambos os processos podem ser melhorados com base nas condições utilizadas para o cultivo de microalgas. A fotodegradação ocorre por fotólise e pode ser realizada por absorção de luz ou por degradação foto-oxidativa (que ocorre a partir de interações com radicais hidroxila) (AVILA et al., 2021; SUTHERLAND; RALPH, 2019). Os processos de volatilização ocorrem devido à perda de compostos orgânicos voláteis, o que pode ser facilitado pelas condições de cultivo de microalgas, como aeração adequada e altas temperaturas (HENA; GUTIERREZ; CROUÉ, 2021; SUTHERLAND; RALPH, 2019). No entanto, os processos de volatilização também dependem das características do contaminante (GAVRILESCU, 2005).

5 PRINCIPAIS FATORES ENVOLVIDOS NA BIORREMEDIAÇÃO DE AGROTÓXICOS POR MICROALGAS

A biorremediação de pesticidas está relacionada com as condições de sobrevivência das microalgas, tempo de contato entre os micro-organismos e os pesticidas, fatores ambientais e operacionais. Na remoção de poluentes orgânicos, fatores como tamanho da célula, linhagem

microalgal, atividade biológica e morfologia podem ter influência substancial (PATEL; CHOI; SIM, 2020). Os mecanismos de remoção de pesticidas por microalgas podem depender de seus grupos ativos de superfície, propriedades da parede celular (bioadsorção) e enzimas (biodegradação e bioacumulação) (NIE et al., 2020). Durante a biorremediação, a clorofila e os carotenóides podem ser usados como biomarcadores para detectar a exposição de células de microalgas a compostos tóxicos de pesticidas (KURADE et al., 2016). A seleção de espécies de microalgas é uma das primeiras etapas no processo de biorremediação e, associada às técnicas de cultivo, pode influenciar na produção de EPS (XIAO; ZHENG, 2016). Outros fatores que influenciam a velocidade da biorremediação estão relacionados à estrutura química dos pesticidas, grupos funcionais, peso molecular, solubilidade em água, concentração e toxicidade do pesticida (NIE et al., 2020). O entendimento desses fatores pode melhorar as condições operacionais dos processos destinados à produtividade de biomassa, consequentemente melhorando a eficiência da biorremediação (MARYJOSEPH; KETHEESAN, 2020).

Geralmente, a maior remoção de pesticidas por microalgas ocorre com tempos de exposição mais elevados (MATAMOROS; RODRÍGUEZ, 2016). Hultberg et al. (2016) observaram que a exposição de *Chlorella vulgaris* na remediação de 10 agrotóxicos por 4 d mostrou-se mais eficaz em relação ao curto prazo (1 d). Os autores observaram uma redução de aproximadamente metade dos pesticidas (por exemplo, carbofuran, terbutilazina, carfentrazone-ethyl e difenoconazol).

Hu et al. (2021) aplicaram *Chlorella* sp. para a remoção do herbicida atrazina (pesticida muito utilizado em todo o mundo) e avaliaram a bioacumulação e a toxicidade dos produtos de degradação durante esse processo. Dentro de 8 d de exposição à atrazina, a eficiência de remoção foi > 83%. (TABELA 1). Em outro estudo, a microalga *Chlorella vulgaris* exibiu maior remoção (94%) do pesticida diazinon do que outras linhagens (*Chlamydomonas mexicana*, *Scenedesmus obliquus* e *Chlamydomonas pilschmannii*). Os autores relataram a biodegradação de diazinon por *Chlorella vulgaris* com eficiências de remoção de 100, 87,67 e 93,31% em concentrações de 0,5, 5 e 20 mg L⁻¹, respectivamente (TABELA 1). Os autores também observaram a formação de um composto menos tóxico após a biorremediação (KURADE et al., 2016).

Os mecanismos de biorremediação dependem do tempo de retenção hidráulica. A bioacumulação, por exemplo, pode ser aumentada saturando a capacidade de biodegradação. Além disso, o processo de bioacumulação geralmente não ocorre no início da remediação. Longos períodos de exposição podem resultar na adaptação das microalgas aos contaminantes,

tornando-as mais resistentes ao estresse causado por altas concentrações de poluentes (JIN et al., 2012).

Algumas espécies inibem o crescimento quando expostas a altas concentrações de pesticidas, enquanto outras possuem tolerância natural. *Arthrospira fusiformis* e *Spirulina platensis*, por exemplo, apresentam resistência quando expostas a concentrações de glifosato de 0,01 a 10 mM. No entanto, essas duas cepas não podem usar o fosfonato como única fonte de fósforo, o que, por sua vez, não permite a quebra da molécula de glifosato. Ao contrário dessas cepas, outras cianobactérias, como *Anabaena* sp., *Leptolyngbya boryana*, *Microcystis aeruginosa* e *Nostoc punctiforme*, foram capazes de metabolizar o glifosato (FORLANI et al., 2008).

A tolerância de algumas cianobactérias pode ser explicada pela forma resistente da enzima 5-enolpiruvilxiquimato-3-fosfato sintase, além da capacidade das linhagens de metabolizar o glifosato, utilizando-o como fonte de fósforo (ARUNAKUMARA et al., 2013; IORI et al., 2020). Assim, para suprimir os efeitos tóxicos dos contaminantes, as microalgas podem ser pré-aclimatadas usando concentrações subtóxicas dos contaminantes antes da biorremediação. A aclimação reduz os efeitos tóxicos dos contaminantes, melhorando a função celular e os processos metabólicos (MARYJOSEPH; KETHEESAN, 2020). A melhoria das linhagens também pode ocorrer a partir da evolução adaptativa das microalgas a contaminantes específicos. Estudos têm mostrado resultados promissores usando esses métodos (LI et al., 2018; PERRINEAU et al., 2014).

Entre os mecanismos ambientais e operacionais envolvidos na biorremediação, a temperatura se destaca na bioadsorção, principalmente por ser um processo termodinâmico (MARYJOSEPH; KETHEESAN, 2020). A temperatura também é essencial para o cultivo de microalgas, o que pode aumentar a taxa de crescimento e o processo de adsorção de contaminantes (SUTHERLAND; RALPH, 2019). Em geral, as microalgas podem se adaptar a uma ampla faixa de temperaturas, embora as mais utilizadas se adaptem melhor a temperaturas variando entre 25 e 30 °C (ENAMALA et al., 2018).

Além da temperatura, o pH é um fator intrínseco no cultivo de microalgas e está relacionado com a ionização ou dissociação de contaminantes em processos de bioadsorção (HENA et al., 2021). Além disso, a degradação de fungicidas, como iprodiona, pode ser acelerada em condições abióticas, como em meio alcalino ao qual as microalgas estão adaptadas (BAGLIERI et al., 2016). Li et al. (2018) demonstraram mudanças no pH através fotossíntese de *Chlorella pyrenoidosa* e a influência desses parâmetros na degradação do 2,4-diclorofenol, um composto usado para produzir pesticidas. Os autores relataram que o pH influenciou a

formação de compostos de clorofenol na água. Assim, para sua degradação com *Chlorella pyrenoidosa*, foi considerado ideal um pH próximo à neutralidade.

A luminosidade é outro fator ambiental de grande importância para cultivos de microalgas (taxa de crescimento e produção de biocompostos) e processos de fotodegradação. Segundo Remucal (2014), intensidades de luz relevantes para os processos de fotodegradação são comprimentos de onda superiores a 290 nm. A intensidade da luz e o fotoperíodo também têm uma influência considerável no crescimento de microalgas. Intensidades de luz mais altas afetam a taxa de fotossíntese de microalgas, aumentando a produtividade de biomassa e produção de compostos, como carboidratos e lipídios, que são utilizados na produção de bioetanol e biodiesel, respectivamente (KHOO et al., 2020; SUPARMANIAM et al., 2019).

6 TÉCNICAS UTILIZADAS PARA AUMENTAR A REMOÇÃO DE AGROTÓXICOS DA ÁGUA

6.1 CONSÓRCIOS ENTRE MICRO-ORGANISMOS

A utilização de consórcios entre bactérias-microalgas/cianobactérias costuma ser uma prática comum, uma vez que, em aplicações práticas de tratamento de efluentes e recursos hídricos, estes micro-organismos compartilham do mesmo espaço (NIE et al., 2020). Estes sistemas criam um ambiente de equilíbrio, onde o oxigênio produzido pelas microalgas a partir dos processos de fotossíntese é utilizado pelas bactérias como aceitador de elétrons para degradar matéria orgânica e carbono orgânico. Ao utilizarem o oxigênio na respiração, as bactérias produzem CO₂, acessível as microalgas, além de outros compostos como sideróforos, fitohormônios e vitamina B (LIU et al., 2017; MAHESH et al., 2021; RAMANAN et al., 2016). Estes consórcios oferecem interações de cooperação e competição, demonstrando maior resistência na presença de espécies invasoras, reduzindo custos com aeração (SUTHERLAND; RALPH, 2019).

No entanto, as condições de cultivo destes micro-organismos podem ser diferentes, principalmente em relação aos fatores ambientais como pH, temperatura e intensidade de luz. Outros fatores estão relacionados a disponibilidade de nutrientes, as fases de crescimento destes micro-organismos e as condições de cultivo (fotoautotrófico, fotoheterotrófico). Além destes, a produção de metabolitos tóxicos produzidos por microalgas (exotoxinas) e bactérias (fitotoxinas) podem atuar como inibidores de crescimento (ZHANG et al., 2020).

Com relação ao uso de consórcios microalga-microalga, as principais vantagens envolvem maiores taxas de remoção de poluentes, maiores produtividades de biomassa e de compostos como lipídios. Esta alternativa é considerada uma estratégia promissora para tratamento de águas poluídas e produção de biocombustíveis (KUBE et al., 2018; QIN et al., 2016; RENUKA et al., 2013). Nestes consórcios, as interações cooperativas entre as microalgas aumentam, tornando os sistemas mais resistentes a condições ambientais externas e invasão de outras espécies, aumentando a capacidade de absorção de nutrientes e outros contaminantes (GONÇALVES et al., 2017; ZHU et al., 2019).

Ávila et al. (2021) avaliaram a remoção de compostos hidrofóbicos de pesticidas usando um consórcio de microalgas (TABELA 1). Os autores observaram remoção de clorpirifós (35%), cipermetrina (14%) e oxadiazon (55%), sendo O,O-dietil tiofosfato identificado como o produto de transformação do clorpirifós. A sorção de clorpirifós, cipermetrina e oxadiazônio para a fase sólida da biomassa microalgal foi de 62, 60 e 33%, respectivamente.

Os co-cultivos entre fungos-microalgas também são realizados para a remoção de contaminantes orgânicos como pesticidas. Assim como descrito nos sistemas entre bactéria-microalga, consórcios entre fungos-microalgas também fornecem uma relação de sinergia entre os micro-organismos. Nestes sistemas a degradação de poluentes com altos pesos moleculares podem ser viabilizados pela ação de enzimas extracelulares produzidas por fungos (CHU et al., 2021).

Hultberg e Bodin (2018) utilizaram a *Chlorella vulgaris* em conjunto com o fungo *Aspergillus niger* para biorremediação de diversos pesticidas. Os autores reportaram que a formação dos *biopellets* com estes micro-organismos tornou mais eficiente o tratamento de 16 dos 38 pesticidas. Entre os pesticidas, carfentrazone-etílico, phenmedipham, difenoconazol e trinexapaque etílico ficaram abaixo do limite detectável. De acordo com o estudo, este sistema (*biopellets*) pode facilitar a colheita da biomassa, impactando diretamente nos custos.

6.2 CULTIVO MICROALGAL IMOBILIZADO

As técnicas de cultivo suspenso são mais comuns em relação aos cultivos imobilizados, principalmente em função do custo dos processos. No entanto, questões relacionadas à colheita das microalgas acabam dificultando a aplicação deste método de cultivo. Dessa forma, a imobilização microalgal pode ser uma alternativa para a otimização dos processos, além de proteger as células em relação a fotoinibição, oferecendo maior resistência

em ambientes de estresse por salinidade e toxicidade (GONÇALVES et al., 2017; HENA et al., 2021).

O processo de imobilização consiste em manter as células vivas e metabolicamente ativas dentro de uma matriz natural ou sintética hidrofílica, que limite a mobilidade das células e permita a filtração da água. Em alguns casos, a biomassa morta pode funcionar como adsorvente, realizando um processo passivo (DE-BASHAN; BASHAN, 2010). Diversas matrizes naturais (alginato, esponja de lufa, carragena, colágeno celulose, agar, agarose) e sintéticas (poliuretano, acrilamida, polivinil) foram consideradas para a imobilização de microalgas (FERRANDO; MATAMOROS, 2020; MALLICK, 2020).

As matrizes poliméricas de alginato de cálcio são as preferidas para a imobilização microalgal. O material polimérico apresenta características como menor custo e transparência, essencial para o cultivo microalgal (EROGLU et al., 2015; LAM; LEE, 2012). No entanto, embora as matrizes de alginato apresentem fácil manuseio, diversos fatores como concentração insuficiente de alginato, Ca^{+2} e saturação de células podem afetar o desenvolvimento das esferas microalgais. Esses fatores podem levar ao rompimento das cápsulas e ineficiência dos processos de colheita (LAM; LEE, 2012).

A eficiência dos processos de biorremediação por imobilização de microalgas ainda pode ser influenciada pelas altas densidades celulares (ex. 5 g L^{-1}), quantidade de matrizes adicionadas ao meio e fatores relacionados as condições de sobrevivência das microalgas como intensidade luminosa e fotoperíodo (HU et al., 2020). Existem inúmeros desafios para uma aplicação em larga escala da imobilização de microalgas, como a estabilidade das cápsulas, escolha de matrizes adequadas, comercialização e preservação das células (HU et al., 2020). No entanto, este processo apresenta grande potencial para o tratamento de águas residuais.

7 DESAFIOS E TENDÊNCIAS FUTURAS

A remediação de águas residuais com agrotóxicos utilizando microalgas tem demonstrado avanços nos últimos anos. Os sistemas baseados em algas podem ser destacados como uma alternativa para melhorar o meio ambiente. Sutherland e Ralph (2019) descreveram o cultivo de microalgas associado à remoção de contaminantes emergentes como uma opção econômica. No entanto, outros pesquisadores relataram que são necessárias mais investigações sobre a qualidade das águas residuais resultantes do tratamento com microalgas. Além disso, também é apontada a necessidade de análise do ciclo de vida e avaliação da biorremediação além das condições de laboratório (MARYJOSEPH; KETHEESAN, 2020). De acordo com

Sutherland e Ralph (2019), a presença de diversos contaminantes para remediação de microalgas podem ser um desafio para uma espécie metabolizar, assim, a aplicação de consórcios pode surgir como uma solução muito mais viável. Alcançar maior produtividade também pode ajudar a superar questões econômicas (PATEL et al., 2020).

Apesar de demonstrar o alto teor de remoção de pesticidas, algumas microalgas foram afetadas negativamente pelos pesticidas ou seus produtos de degradação. Os efeitos inibitórios desses compostos foram observados em estudo conduzido por Hu et al. (2021). Neste estudo, a atrazina degradada inibiu o crescimento de *Chlorella* sp. mais do que atrazina pura. No entanto, a inibição ocorreu em ambos os tratamentos. Os autores atribuíram a inibição causada pela atrazina pura ou seus produtos de degradação à redução na absorção e utilização da luz, resultando em menor eficiência fotossintética. Kurade et al. (2016) observaram redução no crescimento de *Chlorella vulgaris* e na eficiência de remoção de agrotóxicos com maiores concentrações de diazinon (40 mg L^{-1} e 100 mg L^{-1}) (TABELA 1). Segundo os autores, altas concentrações do poluente podem causar ruptura da membrana celular e exposição de compostos intracelulares a compostos tóxicos. Além disso, Sutherland e Ralph (2019) relataram que a bioacumulação de contaminantes emergentes por células de microalgas pode levar à produção de ERO e consequentemente, pode causar a morte celular.

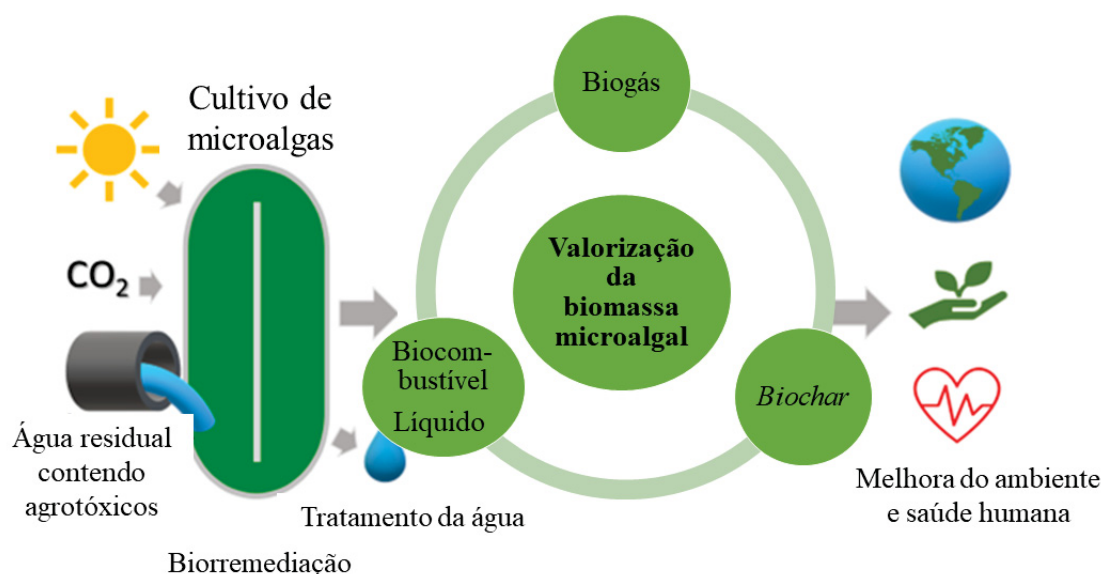
Em relação aos mecanismos operados pelas microalgas durante a remediação de agrotóxicos, a biodegradação pode ser considerada a mais promissora por não resultar em biomassa com poluentes. Em vez disso, os pesticidas são transformados em compostos menos tóxicos (MARYJOSEPH; KETHEESAN, 2020). Nesse contexto, Sutherland e Ralph (2019) sugeriram otimizar as condições (por exemplo, propriedades e produção de enzimas) em certas espécies de microalgas para estimular níveis mais altos de degradação dos contaminantes.

Em uma revisão recente, Nie et al. (2020), consideraram algumas abordagens interessantes para aumentar a remoção de pesticidas por microalgas e foi apoiado por outros autores (MARYJOSEPH; KETHEESAN, 2020). De acordo com Nie et al. (2020), novas abordagens com futuro possível podem ser consideradas como triagem e cultivo de certas linhagens de microalgas, consórcio de microalgas e bactérias e imobilização de microalgas. Segundo os autores, a primeira refere-se principalmente à possibilidade de obtenção de linhagens que crescem em condições extremas, como águas residuais, e podem degradar compostos tóxicos. A segunda abordagem também é interessante; os autores exemplificam a possibilidade de microalgas fornecerem O_2 para crescimento bacteriano, enquanto bactérias oferecem CO_2 para uso de microalgas como substrato. A terceira abordagem refere-se à imobilização de microalgas para melhorar as etapas de remediação, protegendo as células e

permitindo sua reutilização. Recentemente, Hu et al. (2019) relataram que as células de *Chlorella saccharophila* imobilizadas em ágar mantiveram alta eficiência no tratamento de águas residuais após várias reciclagens. A literatura também sugere a modificação genética de microalgas como outra opção para futuros pesquisadores, visando melhorar a remoção de pesticidas (NIE et al., 2020). Xiong et al. (2018) indicaram abordagens semelhantes para melhorar a remoção de contaminantes farmacêuticos por microalgas.

Para melhorar a viabilidade econômica dos processos envolvendo microalgas para biorremediação e tratamento de águas residuais, a valorização da biomassa resultante é importante e pode ser realizada usando a abordagem de biorrefinaria (AVILA et al., 2021; CHAI et al., 2021) (FIGURA 2). No entanto, de acordo com Nie et al. (2020), as substâncias tóxicas na biomassa devem ser abordadas para evitar efeitos negativos durante a aplicação da biomassa. Em um estudo recente conduzido por Avila et al. (2021), após a biorremediação de compostos ativos de pesticidas, a biomassa resultante contendo pesticidas foi utilizada para a produção de biometano. Os autores observaram que a produção de biogás não foi inibida por agrotóxicos na biomassa, confirmando a possibilidade de integração desses processos, resultando na valorização da biomassa.

FIGURA 2- REMOÇÃO DE PESTICIDAS POR MICROALGAS E POSSÍVEIS ALTERNATIVAS PARA VALORIZAÇÃO DA BIOMASSA



8 CONCLUSÕES E PERSPECTIVAS FUTURAS

As microalgas têm sido exploradas nos últimos anos como importantes organismos que metabolizam alguns pesticidas, utilizando-os como fontes de energia enquanto realizam a biorremediação do ambiente. A remoção de certos agrotóxicos do solo e da água geralmente resultam na transformação de compostos tóxicos em produtos menos tóxicos. Este capítulo resume os mecanismos envolvidos neste processo (biodegradação, bioadsorção e bioacumulação) e destaca os principais fatores que afetam a biorremediação. Em geral, a atividade do mecanismo de microalgas durante a biorremediação depende dos grupos ativos de superfície, propriedades da parede celular e enzimas. Com base nos presentes resultados, *Chlamydomonas* spp. e *Chlorella* spp. são cepas consideradas promissoras. Além disso, mais pesquisas devem ser realizadas em diferentes consórcios com microalgas e imobilização para melhorar a viabilidade da biorremediação por esses micro-organismos. Este capítulo também demonstrou que a biomassa de microalgas proveniente da biorremediação pode ser considerada uma chave para transformá-la em um processo de custo viável, pois a biomassa pode ser usada para a produção de biocombustíveis.

REFERÊNCIAS

- AKTAR, W.; SENGUPTA, D.; CHOWDHURY, A. Impact of pesticides use in agriculture: their benefits and hazards. **Interdisciplinary toxicology**, v. 2, n. 1, p. 1-12, 2009.
- ANNETT, R.; HABIBI, H. R.; HONTELA, A. Impact of glyphosate and glyphosate-based herbicides on the freshwater environment. **Journal of Applied Toxicology**, v. 34, n. 5, p. 458–479, 2014.
- ARUNAKUMARA, K. K. I. U.; WALPOLA, B. C.; YOON, M.-H. Metabolism and degradation of glyphosate in aquatic cyanobacteria: A review. **African Journal of Microbiology Research**, v. 7, n. 32, p. 4084–4090, 2013.
- AVILA, R.; PERIS, A.; ELJARRAT, E.; VICENT, T.; BLÁNQUEZ, P. Biodegradation of hydrophobic pesticides by microalgae: Transformation products and impact on algae biochemical methane potential. **Science of the Total Environment**, v. 754, p. 142114, 2021.
- BAGLIERI, A.; SIDELLA, S.; BARONE, V.; FRAGALÀ, F.; SILKINA, A.; NÈGRE, M.; GENNARI, M. Cultivating *Chlorella vulgaris* and *Scenedesmus quadricauda* microalgae to degrade inorganic compounds and pesticides in water. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 23, n. 18, p. 18165–18174, 2016.

BAI, S. H.; OGBOURNE, S. M. Glyphosate: environmental contamination, toxicity and potential risks to human health via food contamination. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 23, n. 19, p. 18988–19001, 2016.

BILAL, M.; RASHEED, T.; SOSA-HERNÁNDEZ, J.; RAZA, A.; NABEEL, F.; IQBAL, H. Biosorption: An Interplay between Marine Algae and Potentially Toxic Elements-A Review. **Marine Drugs**, v. 16, n. 2, p. 65, 2018.

CHAI, W. S.; TAN, W. G.; MUNAWAROH, H. S. H.; GUPTA, V. K.; HO, S-H.; SHOW, P. L. Multifaceted roles of microalgae in the application of wastewater biotreatment: A review. **Environmental Pollution**, v. 269, p. 16236, 2021.

CHU, R.; LI, S.; ZHU, L.; YIN, Z.; HU, D.; LIU, C.; MO, F. A review on co-cultivation of microalgae with filamentous fungi: Efficient harvesting, wastewater treatment and biofuel production. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 139, p. 110689, 2021.

DE-BASHAN, L. E.; BASHAN, Y. Immobilized microalgae for removing pollutants: Review of practical aspects. **Bioresource Technology**, v. 101, n. 6, p. 1611–1627, 2010.

ENAMALA, M. K.; ENAMALA, S.; CHAVALI, M.; DONEPUDI, J.; YADAVALLI, R.; KOLAPALLI, B.; ARADHYULA, T. V.; VELPURI, J.; KUPPAM, C. Production of biofuels from microalgae - A review on cultivation, harvesting, lipid extraction, and numerous applications of microalgae. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 94, p. 49–68, 2018.

EROGLU, E.; SMITH, S. M.; RASTON C. L. Application of Various Immobilization Techniques for Algal Bioprocesses. In: MOHEIMANI, N., MCHENRY, M., BOER, K., BAHRI, P. (Eds). **Biomass and Biofuels from Microalgae. Biofuel and Biorefinery Technologies**, Springer, Cham., 2015. p.19-44.

FERRANDO, L.; MATAMOROS, V. Attenuation of nitrates, antibiotics and pesticides from groundwater using immobilised microalgae-based systems. **Science of the Total Environment**, v. 703, p. 134740, 2020.

FORLANI, G.; PAVAN, M.; GRAMEK, M.; KAFARSKI, P.; LIPOK, J. Biochemical bases for a widespread tolerance of cyanobacteria to the phosphonate herbicide glyphosate. **Plant and Cell Physiology**, v. 49, n. 3, p. 443–456, 2018.

GAVRILESCU, M. Fate of pesticides in the environment and its bioremediation. **Engineering in Life Sciences**, v. 5, n. 6, p. 497–526, 2005.

GONÇALVES, A. L.; PIRES, J. C. M.; SIMÕES, M. A review on the use of microalgal consortia for wastewater treatment. **Algal Research**, v. 24, p. 403–415, 2017.

GONZÁLEZ-BARREIRO, O.; RIOBOO, C.; HERRERO, C.; CID, A. Removal of triazine herbicides from freshwater systems using photosynthetic microorganisms. **Environmental Pollution**, v. 144, n. 1, p. 266–271, 2006.

HANSDA, A.; KUMAR, V.; ANSHUMALI. A comparative review towards potential of microbial cells for heavy metal removal with emphasis on biosorption and bioaccumulation. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, v. 32, n. 10, 2016.

HENA, S.; GUTIERREZ, L.; CROUÉ, J. P. Removal of pharmaceutical and personal care products (PPCPs) from wastewater using microalgae: A review. **Journal of Hazardous Materials**, v. 403, p. 124041, 2021.

HU, J.; LIU, H.; SHUKLA, P.; LIN, W.; LUO, J. Nitrogen and phosphorus removals by the agar-immobilized *Chlorella saccharophila* with long-term preservation at room temperature. **Chemosphere**, v. 251, p. 126406, 2020.

HU, N.; XU, Y.; SUN, C.; ZHU, L.; SUN, S.; ZHAO, Y.; HU, C. Removal of atrazine in catalytic degradation solutions by microalgae *Chlorella sp.* and evaluation of toxicity of degradation products via algal growth and photosynthetic activity. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 207, 1 p. 11546, 2021.

HULTBERG, M.; BODIN, H. Effects of fungal-assisted algal harvesting through biopellet formation on pesticides in water. **Biodegradation**, v. 29, n. 6, p. 557–565, 2018.

HULTBERG, M.; BODIN, H.; ARDAL, E.; ASP, H. Effect of microalgal treatments on pesticides in water. **Environmental Technology**, v. 37, n. 7, p. 893–898, 2016.

IORI, S.; ROVERE, G. D.; EZZAT, L.; SMITS, M.; FERRARESSO, S. S.; BABBUCCI, M.; MARIN, M. G.; MASIERO, L.; FABRELLO, J.; GARRO, E.; CARRARO, L.; CARDAZZO, B.; PATARNELLO, T.; MATOZZO, V.; BARGELLONI, L.; MILAN, M. (2020). The effects of glyphosate and AMPA on the mediterranean mussel *Mytilus galloprovincialis* and its microbiota. **Environmental Research**, v. 182, p. 108984, 2020.

IUMMATO, M. M.; FASSIANO, A.; GRAZIANO, M.; AFONSO, M. dos S.; MOLINA, M. DEL C. R. de; JUÁREZ, Á. B. Effect of glyphosate on the growth, morphology, ultrastructure and metabolism of *Scenedesmus vacuolatus*. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 172, p. 471–479, 2019.

JATOI, A. S.; HASHMI, Z.; ADRIYANI, R.; YUNIARTO, A.; MAZARI, S. A.; AKHTER, F.; MUBARAK, N. M. Recent trends and future challenges of pesticide removal techniques – A comprehensive review. **Journal of Environmental Chemical Engineering**, v. 9, n. 4, p. 105571, 2021.

JIN, Z. P.; LUO, K.; ZHANG, S.; ZHENG, Q.; YANG, H. Bioaccumulation and catabolism of prometryne in green algae. **Chemosphere**, v. 87, n. 3, p. 278–284, 2012.

JONSSON, C. M.; PARAIBA, L. C.; MENDOZA, M. T.; SABATER, C.; CARRASCO, J. M. Bioconcentration of the insecticide pyridaphenthion by the green algae *Chlorella saccharophila*. **Chemosphere**, v. 43, n. 3, p. 321–325, 2001.

KHOO, K. S.; CHEW, K. W.; YEW, G. Y.; LEONG, W. H.; CHAI, Y. H.; SHOW, P. L.; CHEN, W. H. Recent advances in downstream processing of microalgae lipid recovery for biofuel production. **Bioresource Technology**, v. 304, p. 122996, 2020.

KUBE, M.; JEFFERSON, B.; FAN, L.; RODDICK, F. The impact of wastewater characteristics, algal species selection and immobilization on simultaneous nitrogen and phosphorus removal. **Algal Research**, v. 31, p. 478–488, 2018.

KUMAR, A.; SINGH, J. S. Cyanoremediation: A Green-Clean Tool for Decontamination of Synthetic Pesticides from Agro- and Aquatic Ecosystems. In: SINGH, J.; SENEVIRATNE G. (Eds). **Agro-Environmental Sustainability**. Springer, Cham. 2017. p. 59-83.

KURADE, M. B.; KIM, J. R.; GOVINDWAR, S. P.; JEON, B-H. Insights into microalgae mediated biodegradation of diazinon by *Chlorella vulgaris*: Microalgal tolerance to xenobiotic pollutants and metabolism. **Algal Research**, v. 20, p. 26–134, 2016.

LAM, M. K.; LEE, K. T. Immobilization as a feasible method to simplify the separation of microalgae from water for biodiesel production. **Chemical Engineering Journal**, v. 191, p. 263–268, 2012.

LI, C.; ZHU, H.; LI, C.; QIAN, H.; YAO, W.; GUO, Y. The present situation of pesticide residues in China and their removal and transformation during food processing. **Food Chemistry**, v. 354, 1 p. 29552, 2021.

LI, F.; ZHAO, L.; JINXU, Y.; SHI, W.; ZHOU, S.; YUAN, K.; SHENG, G. D. Removal of dichlorophenol by *Chlorella pyrenoidosa* through self-regulating mechanism in air-tight test environment. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 164, p. 109–117, 2018.

LIU, J.; WU, Y.; WU, C.; MUYLEAERT, K.; VYVERMAN, W.; YU, H. Q.; MUÑOZ, R.; RITTMANN, B. Advanced nutrient removal from surface water by a consortium of attached microalgae and bacteria: A review. **Bioresource Technology**, v. 241, p. 1127–1137, 2017.

MAHESH, R.; PANDA, S. K.; DAS, M.; YASHAVANTH, P. R.; DHULL, S.; NEGI, B. B.; JAKHWAL, P.; MAITI, S. K. Advances in Biotechnological Tools for Bioremediation of Wastewater Using Bacterial–Algal Symbiotic System. In: SHAH, M. P.; SARKAR, A.; MANDAL, S. (Eds). **Wastewater Treatment**. Elsevier, 2021. p. 385–411.

MAHLER, B. J.; VAN METRE, P. C.; BURLEY, T. E.; LOFTIN, K. A.; MEYER, M. T.; NOWELL, L. H. Similarities and differences in occurrence and temporal fluctuations in glyphosate and atrazine in small Midwestern streams (USA) during the 2013 growing season. **Science of the total Environment**, v. 579, p. 149–158, 2017.

MALLICK, N. Immobilization of Microalgae. In: GUIBAN, J.; BOLIVAR, J.; LÓPEZ-GALLEGÓ, F.; ROCHA-MARTÍN, J. (Eds). **Immobilization of Enzymes and Cells. Methods in Molecular Biology, Humana**. New York: 2020. p. 453-47.

MAMY, L.; BONNOT, K.; BENOIT, P.; BOCKSTALLER, C.; LATRILLE, E.; ROSSARD, V.; SERVIEN, R.; PATUREAU, D.; PREVOST, L.; PIERLOT, F.; BEDOS, C. Assessment of pesticide volatilization potentials to atmosphere from their molecular properties using the TyPol tool. **Journal of Hazardous Materials**, v. 415, p. 125613, 2021.

MANSANO, A. S.; MOREIRA, R. A.; DORNFELD, H. C.; FREITAS, E. C.; VIEIRA, E. M.; SARMENTO, H.; ROCHA, O.; SELEGHIM, M. H. R. Effects of diuron and carbofuran

and their mixtures on the microalgae *Raphidocelis subcapitata*. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 142, p. 312–321, 2017.

MARYJOSEPH, S.; KETHEESAN, B. Microalgae based wastewater treatment for the removal of emerging contaminants: A review of challenges and opportunities. **Case Studies in Chemical and Environmental Engineering**, v. 2, p. 100046, 2020.

MORALES-PÉREZ, A. A.; ARIAS, C.; RAMÍREZ-ZAMORA, R-M. Removal of atrazine from water using an iron photo catalyst supported on activated carbon. **Adsorption**, v. 22, p. 49–58, 2016.

NEHRA, M.; DILBAGHI, N.; MARRAZZA, G.; KAUSHIK, A.; SONNE, C.; KIM, K-H.; KUMAR, S. Emerging nanobiotechnology in agriculture for the management of pesticide residues. **Journal of Hazardous Materials**, v. 401, p. 23369, 2021.

NIE, J.; SUN, Y.; ZHOU, Y.; KUMAR, M.; USMAN, M.; LI, J.; SHAO, J.; WANG, L.; TSANG, D. C. W. Bioremediation of water containing pesticides by microalgae: Mechanisms, methods, and prospects for future research. **Science of the Total Environment**, v. 707, p. 136080, 2020.

PANDEY, A.; SINGH, M.P.; KUMAR, S.; SRIVASTAVA, S. Phycoremediation of Persistent Organic Pollutants from Wastewater: Retrospect and Prospects. In: GUPTA, S. K.; BUX, F. (Eds) **Application of Microalgae in Wastewater Treatment**. Springer, Cham., 2019. p. 207–235.

PATEL, A. K.; CHOI, Y. Y.; SIM, S. J. Emerging prospects of mixotrophic microalgae: Way forward to sustainable bioprocess for environmental remediation and cost-effective biofuels. **Bioresource Technology**, v. 300, n. 122741, 2020.

PEÑA, A.; DELGADO-MORENO, L.; RODRÍGUEZ-LIÉBANA, J. A. A review of the impact of wastewater on the fate of pesticides in soils: Effect of some soil and solution properties. **Science of The Total Environment**, v. 718, p. 134468, 2019.

PERRINEAU, M. M.; ZELZION, E.; GROSS, J.; PRICE, D. C.; BOYD, J.; BHATTACHARYA, D. Evolution of salt tolerance in a laboratory reared population of *Chlamydomonas reinhardtii*. **Environmental Microbiology**, v. 16, n. 6, p. 1755–1766, 2014.

PRIYADARSHANI, I.; SAHU, D.; RATH, B. Microalgal bioremediation: Current practices and perspectives. **Journal of Biochemical Technology**, v. 3, n. 3, p. 299–304, 2011.

QIN, L.; WANG, Z.; SUN, Y.; SHU, Q.; FENG, P.; ZHU, L.; XU, J.; YUAN, Z. Microalgae consortia cultivation in dairy wastewater to improve the potential of nutrient removal and biodiesel feedstock production. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 23, p. 8379–8387, 2016.

RAJMOHAN, K. S.; CHANDRASEKARAN, R.; VARJANI, S. A Review on Occurrence of Pesticides in Environment and Current Technologies for Their Remediation and Management. **Indian Journal of Microbiology**, v. 60, p. 125–138, 2020.

- RAMANAN, R.; KIM, B. H.; CHO, D. H.; OH, H. M.; KIM, H. S. Algae-bacteria interactions: Evolution, ecology and emerging applications. **Biotechnology Advances**, v. 34, n. 1, p. 14–29, 2016.
- REMUCAL, C. K. The role of indirect photochemical degradation in the environmental fate of pesticides: A review. **Environmental Sciences: Processes and Impacts**, v. 16, n. 4, p. 628–653, 2014.
- RENUKA, N.; SOOD, A.; RATHA, S. K.; PRASANNA, R.; AHLUWALIA, A. S. Evaluation of microalgal consortia for treatment of primary treated sewage effluent and biomass production. **Journal of Applied Phycology**, v. 25, n. 5, p. 1529–1537, 2013.
- SALMAN, J. M.; ABDUL-ADEL, E. Potential use of cyanophyta species *Oscillatoria limnetica* in bioremediation of organophosphorus herbicide glyphosate. **Mesopotamia Environmental Journal**, v. 1, n. 4, p. 15–26, 2015.
- SPENCE, W. F.; FARMER, W. J.; CLIATH, M. M. Pesticide volatilization. In: GUNTHER, F. (Ed.) **Residue Reviews**, New York: Springer, 1973. p. 1–48.
- SUPARMANIAM, U.; LAM, M. K.; UEMURA, Y.; LIM, J. W.; LEE, K. T.; SHUIT, S. H. Insights into the microalgae cultivation technology and harvesting process for biofuel production: A review. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 115, p. 109361, 2019.
- SUTHERLAND, D. L.; RALPH, P. J. Microalgal bioremediation of emerging contaminants – Opportunities and challenges. **Water Research**, v. 164, p. 114921, 2019.
- VAN EERD, L. L.; HOAGLAND, R. E.; ZABLOTOWICZ, R. M.; HALL, J. C. Pesticide metabolism in plants and microorganisms. **Weed Science**, v. 51, n. 4, p. 472–495, 2003.
- VIDYASHANKAR, S.; RAVISHANKAR, G. A. Algae-based bioremediation: Bioproducts and biofuels for biobusiness. In: PRASAD, M. N. V. (Ed) **Bioremediation and Bioeconomy**. Amsterdam: Elsevier, 2016. p. 457–493.
- WAN, L.; WU, Y.; DING, H.; ZHANG, W. Toxicity, Biodegradation, and Metabolic Fate of Organophosphorus Pesticide Trichlorfon on the Freshwater Algae *Chlamydomonas reinhardtii*. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 68, p. 1645–1653, 2020.
- WOODROW, J. E.; GIBSON K. A.; SEIBER J. N. Pesticides and Related Toxicants in the Atmosphere. In: VOOGT, P. (Ed). **Reviews of Environmental Contamination and Toxicology**. Springer, Cham., 2018. p. 147–196.
- XIAO, R.; ZHENG, Y. Overview of microalgal extracellular polymeric substances (EPS) and their applications. **Biotechnology Advances**, v. 34, n. 7, p. 1225–1244, 2016.
- XIONG, J-Q.; KURADE, M. B.; JEON, B-H. Can microalgae remove pharmaceutical contaminants from water? **Trends in Biotechnology**, v. 36, n. 1, p. 30–44, 2018.
- YIN, Z.; ZHU, L.; LI, S.; HU, T.; CHU, R.; MO, F.; HU, D.; LIU, C.; LI, B. A comprehensive review on cultivation and harvesting of microalgae for biodiesel production:

Environmental pollution control and future directions. **Bioresource Technology**, v. 301, p. 122804, 2020.

ZAINITH, S.; SAXENA, G.; KISHOR, R.; BHARAGAVA, R. N. Application of microalgae in industrial effluent treatment, contaminants removal, and biodiesel production: Opportunities, challenges, and future prospects. In: SAXENA, K., KUMAR, V., SHAH, M. P. (Eds). **Bioremediation for Environmental Sustainability**. Amsterdam: Elsevier, 2021. P. 481-517.

ZHANG, B.; LI, W.; GUO, Y.; ZHANG, Z.; SHI, W.; CUI, F.; LENS, P. N. L.; TAY, J. H. Microalgal-bacterial consortia: From interspecies interactions to biotechnological applications. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 118, p. 109563, 2020.

ZHU, S.; HUO, S.; FENG, P. Developing Designer Microalgal Consortia: A Suitable Approach to Sustainable Wastewater Treatment. In: ALAM, M., WANG, Z. (Eds). **Microalgae Biotechnology for Development of Biofuel and Wastewater Treatment**. Singapore: Springer, 2019. p. 569-598.

ARTIGO I

Biochar como alternativa sustentável para aproveitamento de resíduos do processamento de
açaí e remoção de glifosato

Munise Zaparoli, Andrei Vallerão Igansi, Jéssica Teixeira da Silveira, Michele Greque de Moraes e Jorge

Alberto Vieira Costa

(<https://doi.org/10.1016/j.jece.2023.111162>)

RESUMO

Neste estudo, adsorventes produzidos a partir de resíduos do processamento do açaí da Amazônia foram adquiridos e impregnados ou não com FeCl_2 e FeCl_3 para remover o glifosato presente em matrizes aquosas. Os efeitos do pH, massa do adsorvente, concentração de glifosato, tempo de contato e temperatura na capacidade de adsorção, cinética, parâmetros isotérmicos e termodinâmicos foram estudados por meio de testes de adsorção em batelada. A remoção de glifosato no *biochar* de caroço de açaí com Fe foi 85,7% maior do que no *biochar* de caroço de açaí, atingindo uma eficiência de remoção de 87,9% ao utilizar 20 mg L^{-1} de glifosato e 10 g L^{-1} de adsorvente. O estudo de pH demonstrou maiores capacidades de adsorção a pH 4,0 ($18,6 \text{ mg g}^{-1}$). O modelo pseudo-primeira ordem foi o mais apropriado para descrever a cinética de adsorção. O modelo de Weber-Morris mostrou que a adsorção ocorreu por filme e difusão intrapartícula. As isotermas de equilíbrio de adsorção se ajustaram melhor ao modelo de Langmuir ($q_m = 351,4 \text{ mg g}^{-1}$). Os dados termodinâmicos demonstraram que o processo foi espontâneo e favorável, e que a adsorção foi exotérmica. Devido às suas características magnéticas, o *biochar* de caroço de açaí com Fe pode ser facilmente separado e reutilizado. Portanto, dependendo da capacidade de adsorção do adsorvente com Fe e das eficiências de adsorção demonstradas neste estudo, conclui-se que o adsorvente pode ser usado como intermediário nos processos de remoção do glifosato presente em matrizes aquosas.

Palavras-chave: Adsorção. Agrotóxicos. *Biochar* magnético. Remediação. Tratamento de água.

1 INTRODUÇÃO

Os frutos do açaí (*Euterpe oleracea* Mart.) são nativos das florestas tropicais da América do Sul e são conhecidos por seus potenciais benefícios à saúde humana. No Brasil, principalmente nas regiões norte e nordeste, a cadeia produtiva do açaí possui grande significância para a população (IBGE, 2021). Como resultado de sua extração, grande volume de resíduos é gerado, principalmente porque 85% do fruto corresponde ao caroço, material rico em celulose, hemicelulose e lignina. Estes resíduos são descartados irregularmente em vias públicas, podendo resultar na proliferação de doenças transmitidas por vetores, sendo, portanto, um desafio para a gestão ambiental (GONÇALVES et al., 2020; SATO et al., 2020).

Como alternativa viável para o gerenciamento dos resíduos do processamento do açaí, pode-se produzir *biochar*. Este por sua vez, é caracterizado por ser um produto sólido, rico em carbono produzido a partir de processos de pirólise em condições limitadas de oxigênio (ALMEIDA et al., 2021; AWASTHI, 2022). O *biochar* pode ser utilizado para o aprimoramento da capacidade produtiva dos solos, redução de acidez (JI et al., 2022; SATO et al., 2019) ou no tratamento de águas contendo contaminantes orgânicos e inorgânicos (ALMEIDA et al., 2021; DIAS et al., 2019; HERATH et al., 2016; LUCACI et al., 2019; PRAVEEN et al., 2022).

Nesse sentido, o tratamento de contaminantes orgânicos e inorgânicos tem despertado grande interesse, principalmente devido sua presença frequente em recursos hídricos (VARJANI et al., 2019). O glifosato (N-(fosfonometil)glicina, $C_3H_8NO_5P$) é um dos herbicidas mais utilizados no mundo para o controle de ervas daninhas. Este composto é caracterizado por ser organofosforado, não seletivo e altamente solúvel em água (FENG et al., 2020; YAMAGUCHI et al., 2016). Devido ao uso frequente e em grandes quantidades, este herbicida pode causar efeitos carcinogênicos e mutagênicos, levando a prejuízos ao meio ambiente e a saúde humana (HERATH et al., 2016; MAHLER et al., 2017). Por esse motivo torna-se essencial o desenvolvimento de tecnologias seguras, de baixo custo e eficientes para o tratamento destes compostos (PEREIRA et al., 2021).

Diversos métodos vêm sendo estudados para a remoção de glifosato, dentre eles adsorção, osmose reversa, precipitação, tratamentos biológicos e processos oxidativos avançados, entre outros (FENG et al., 2020; PEREIRA et al., 2021; SEN et al., 2019). O tratamento por adsorção se destaca como um método flexível e eficaz, com baixo custo de produção, manutenção e aplicação no tratamento de água contendo pesticidas e outros

contaminantes (AHMADI et al., 2022; JIA et al., 2020; FOROUTAN et al., 2022b; SAVARI et al., 2021).

Tendo em vista as vantagens da utilização de técnicas de adsorção, diversos adsorventes foram desenvolvidos para remoção de glifosato, como carvão ativado magnético impregnado com Mg e Fe (YAMAGUCHI et al., 2019), adsorventes magnéticos de lignina/Fe₃O₄/La(OH)₃ (LI et al., 2021), CuFe₂O₄@BC derivado de phragmites (JIA et al., 2020). O *biochar* magnético oferece a possibilidade de um tratamento econômico, aprimorando a funcionalidade dos adsorventes por meio do aumento da área superficial, dos sítios de ligação ou facilitando a coleta e a reciclagem com campos magnéticos. Além disso, não requer ativação do *biochar*, reduzindo significativamente os custos de produção e as etapas necessárias para obter o adsorvente (DU et al., 2022; QU et al., 2022). Conforme demonstrado, tratamentos físicos e químicos podem ser utilizados com o objetivo de aumentar a capacidade de adsorção a partir de modificações nas propriedades superficiais dos adsorventes, aumentando os sítios de ligação (JIA et al., 2020).

Nesse sentido, os processos de coprecipitação simples usando metais têm mostrado boa aplicabilidade. Dentre os metais utilizados, o Fe se destaca na remoção do glifosato, principalmente por aumentar significativamente as taxas de remoção do contaminante (JIA et al., 2020). Até o momento, a impregnação de metais como o Fe no *biochar* sintetizado a partir do caroço de açaí não foi realizada.

Portanto, é essencial desenvolver adsorventes econômicos, sustentáveis e reutilizáveis com boa capacidade de adsorção de glifosato (LI et al., 2021). Este trabalho teve como objetivo agregar valor ao caroço de açaí, desenvolvendo adsorventes impregnados ou não com Fe, e investigar sua aplicação eficaz como adsorvente para a remoção de glifosato em matrizes aquosas. O estudo também visou caracterizar os adsorventes, avaliar as condições ideais para a adsorção de glifosato e explorar a viabilidade de reutilização do adsorvente. Além disso, buscou determinar os parâmetros cinéticos, isotérmicos e termodinâmicos da adsorção de glifosato no *biochar* de caroço de açaí com ferro.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 MATERIAL

O caroço de açaí amazônico utilizado como precursor do *biochar* foi obtido a partir dos resíduos agroindustriais do processamento do açaí (*Euterpe oleracea* Mart.). Os caroços

foram coletados pela Cooperativa dos Produtores Agroextrativistas do Bailique (AmazonBai), situado no Arquipélago do Bailique, distrito do Macapá, Amapá, Brasil. O glifosato de grau analítico (N-(fosfonometil)glicina, $C_3H_8NO_5P$, pureza 96%) e o molibdato de sódio ($MoNa_2O_4$, pureza 99,5%) foram obtidos da Sigma-Aldrich. A ninidrina ($C_9H_6O_4$, pureza 99%) foi adquirida da Dinâmica Química Contemporânea LTDA.

2.2 PREPARAÇÃO DO *BIOCHAR* DE CAROÇO DE AÇAÍ

A produção do *biochar* foi realizada de acordo com metodologia proposta por Dias et al. (2019) com adaptações. Os resíduos de açaí coletados foram lavados e posteriormente secos em estufa a 60 °C por 24 h. A pirólise foi realizada utilizando 5 g de caroço de açaí em cadinhos de porcelana submetidos a 700 °C por 1 h em mufla, utilizando taxa de aquecimento de 18 °C min⁻¹. O processo de pirólise foi realizado em condições limitadas de oxigênio, obtidas a partir da vedação dos cadinhos com tampas. Após o processamento e resfriamento em temperatura ambiente, as amostras de *biochar* foram moídas utilizando gral e pistilo, sendo posteriormente peneiradas (<75 µm) para homogeneização das amostras. O *biochar* foi posteriormente armazenado em recipientes herméticos, e mantido em temperatura ambiente para posteriores análises.

2.3 PREPARAÇÃO DO *BIOCHAR* DE CAROÇO DE AÇAÍ COM Fe

A fim de aumentar a capacidade de adsorção do *biochar* foi utilizado método de coprecipitação. Para isso, 1 g de *biochar* foi disperso em 50 mL de solução contendo $FeCl_3$ (0,06 mol L⁻¹) e $FeCl_2$ (0,06 mol L⁻¹) em temperatura ambiente e sob agitação. Em seguida, 2 mol L⁻¹ de NaOH foi adicionado por gotejamento até a solução atingir pH próximo a 10. A solução foi mantida em agitação por 2 h a 95 °C. Por fim, os adsorventes foram filtrados, lavados duas vezes com 50 mL de água destilada e posteriormente secos em estufa a 100 °C por 24 h (adaptado de Jia et al., 2020). Após a secagem, o *biochar* tratado foi macerado, peneirado e armazenado em recipientes herméticos, até realização dos ensaios de adsorção e caracterização.

2.4 CARACTERIZAÇÃO DOS ADSORVENTES

O ponto de carga zero (pH_{pcz}) seguiu metodologia de 11 pontos. Para isso, 0,02 g do *biochar* foi adicionado em soluções contendo 20 mL de NaCl 0,1 mol L⁻¹, em pH variando de 2 a 12. O pH foi ajustado utilizando 0,1 mol L⁻¹ de HCl ou NaOH. Posteriormente, as soluções foram agitadas por 24 h a 120 rpm, utilizando agitador termostático (Innova® 44). O pH_{pcz} foi obtido pela construção de gráfico de ΔpH versus pH inicial, obtido pela determinação do pH antes e após agitação (DIEL et al., 2021a). A caracterização dos grupos funcionais foi realizada por análise de espectroscopia de infravermelho por transformada de Fourier (FTIR) (Prestige 21, Shimadzu, modelo 210045, Japão), utilizando técnica de refletância difusa, com KBr. Os espectros foram obtidos na faixa de 400 a 4000 cm⁻¹. As análises foram realizadas antes e após o processo de adsorção. A morfologia da superfície foi avaliada a partir de microscopia eletrônica de varredura (MEV) (JSM-6610 LV, JEOL, Japan), utilizando voltagem de 15 kV. A área superficial específica (A_s) e o volume dos poros (V_p) dos *biochars* foram determinados através de analisador Micromeritics (modelo ASAP 2020), operando a 77 K. A A_s foi obtida a partir de isotermas de adsorção/dessorção de nitrogênio por método de Brunauer-Emmett-Teller (BET). O volume e o diâmetro médio dos *biochars* foram obtidos com base no método de Barret-Joyner-Halenda (BJH).

2.5 DETERMINAÇÃO DE GLIFOSATO E CURVA DE CALIBRAÇÃO

As concentrações de glifosato foram determinadas por método colorimétrico descrito por Bhaskara e Nagaraja (2006). Uma solução estoque contendo 500 mg L⁻¹ de glifosato foi preparada para determinação da curva padrão. As concentrações de glifosato utilizadas foram 1, 5, 10, 15, 20, 25, 30 e 35 mg L⁻¹. As concentrações de glifosato foram adicionadas em tubos de ensaio contendo 1 mL de ninidrina (5% m v⁻¹) e 1 mL de molibdato de sódio (5% m v⁻¹). Em seguida, os tubos foram vedados e acondicionados em banho maria, 95 °C a 100 °C para reação e formação do complexo roxo, sendo posteriormente resfriados a temperatura ambiente. A quantificação do glifosato foi realizada em espectrofotômetro UV-Vis (UV mini-1240) a 570 nm. Para garantir a reprodutibilidade foi realizado ensaio branco com água destilada, ninidrina e molibdato de sódio.

2.6 ENSAIOS DE ADSORÇÃO

Os ensaios de adsorção foram realizados inicialmente para fins de seleção do *biochar* com maior capacidade de adsorção de glifosato. Os adsorventes foram analisados em ensaio de adsorção em batelada, contendo 10 g L^{-1} de adsorvente e 20 mg L^{-1} de glifosato, utilizando pH natural do meio ($\text{pH} \approx 4,0$). Posteriormente, o *biochar* com maior capacidade de adsorção foi avaliado quanto ao efeito da concentração de adsorvente, variando de $0,25$ a 10 g L^{-1} . Estes resultados foram utilizados para análise do pH do meio ($3,0$ a $9,0$), ajustado com solução de $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ de HNO_3 e NaOH (HERATH et al., 2016).

Os experimentos de adsorção foram realizados em *Erlenmeyers* de 125 mL com volume útil de 50 mL , em agitador termostático (Innova®44), a 100 rpm e $25 \text{ }^\circ\text{C}$ por 24 h . Para analisar a concentração do glifosato no sobrenadante, uma alíquota de 5 mL foi coletada e filtrada em membrana de $0,45 \text{ }\mu\text{m}$ (JIA et al., 2020; YAMAGUCHI et al., 2019). A determinação do glifosato residual foi determinada conforme metodologia descrita por Bhaskara e Nagaraja (2006). Todos os experimentos foram realizados em duplicata. A capacidade de adsorção a qualquer instante ($q_t \text{ mg g}^{-1}$) e no equilíbrio ($q_e \text{ mg g}^{-1}$) foram determinadas conforme Equação 1. O percentual de remoção do herbicida ($R, \%$) foi calculado de acordo com Equação 2.

$$q_{e,t} = \frac{(C_0 - C_{e,t}) V}{m} \quad (1)$$

$$R = \frac{C_0 - C_t}{C_0} 100\% \quad (2)$$

Onde C_0 é a concentração inicial de glifosato na fase líquida (mg L^{-1}), C_t é a concentração de glifosato na fase líquida em qualquer instante (mg L^{-1}), m é a massa do adsorvente (g), V é o volume da solução (L) e C_e é a concentração no equilíbrio do glifosato na fase líquida (mg L^{-1}).

2.7 MODELOS CINÉTICOS

Os ensaios cinéticos foram conduzidos utilizando 20 mg L^{-1} de glifosato, com tempo de contato de 0 a 90 min , a $25 \text{ }^\circ\text{C}$. Os modelos cinéticos de pseudo-primeira ordem (PPO) (Equação 3) e pseudo-segunda ordem (PSO) (Equação 4) foram utilizados para descrever o

comportamento do adsorvente durante a cinética de adsorção (CADAVAL et al., 2015; IGANSI et al., 2019).

$$q_t = q_1(1 - \exp(-k_1 t)) \quad (3)$$

$$q_t = \frac{t}{\left(\frac{1}{k_2 q_2^2}\right) + \left(\frac{1}{q_2}\right)} \quad (4)$$

Onde q_t é a capacidade de adsorção no tempo t (mg g^{-1}), k_1 é constante da taxa de adsorção para PPO (min^{-1}) e k_2 é constante da taxa de adsorção de PSO ($\text{g mg}^{-1} \text{min}^{-1}$), q_1 e q_2 são valores teóricos para capacidade máxima de adsorção (mg g^{-1}) no tempo t . O modelo de Elovich também foi usado para avaliar os parâmetros cinéticos do estudo, sendo apresentado pela Equação 5 (HO; MCKAY, 1998; LÜTKE et al., 2019)

$$q_t = \frac{1}{a} \ln(1 + abt) \quad (5)$$

Onde na modelagem de Elovich, a representa a velocidade inicial devido a dq/dt com $q_t=0$ ($\text{mg g}^{-1} \text{min}^{-1}$), e b é a constante de dessorção do modelo de Elovich (g mg^{-1}). Para elucidar o mecanismo de difusão, os dados experimentais foram analisados pelo modelo de difusão intrapartícula (Equação 6) (KHAN; SHARMA; ALI, 2011; WEBER; MORRIS, 1963).

$$q_t = k_{WB} t^{1/2} + C \quad (6)$$

Onde k_{WB} é a constante de taxa de difusão do modelo de Weber e Morris ($\text{mg g}^{-1} \text{t}^{-1/2}$), e C é um parâmetro do modelo de Weber e Morris relacionado à espessura da camada limite do filme.

2.8 MODELOS ISOTÉRMICOS E PARÂMETROS TERMODINÂMICOS

As isotermas de equilíbrio foram obtidas a partir dos resultados das etapas anteriores. As concentrações de glifosato variaram de 0 a 220 mg L^{-1} . Os dados obtidos nos ensaios de equilíbrio foram ajustados as isotermas de adsorção de Freundlich (Equação 7), Langmuir

(Equação 8), Temkin (Equação 9) e Dubinin–Radushkevich (D-R) (Equação 10) (FREUNDLICH 1906; KHAN; SHARMA; ALI, 2011; LANGMUIR, 1918; PICCIN et al., 2017).

$$q_e = k_F C_e^{1/n} \quad (7)$$

$$q_e = \frac{q_m k_L C_e}{1 + k_L C_e} \quad (8)$$

$$q_e = B \ln A + B \ln C_e \quad (9)$$

$$q_e = q_{mDR} \exp(-\beta \varepsilon^2) \quad (10)$$

Onde q_e é a capacidade de adsorção no equilíbrio (mg g^{-1}), k_F é a constante de Freundlich ($\text{mg g}^{-1} (\text{L mg}^{-1})^{1/n}$), $1/n$ é o fator de heterogeneidade e C_e é a concentração da solução de equilíbrio (mg L^{-1}), q_m é a capacidade máxima de adsorção na monocamada (mg g^{-1}), k_L é a constante de Langmuir (L mg^{-1}), $B (=RT/b)$ é uma constante que representa o calor de adsorção b (kJ mol^{-1}) e A é a constante de ligação de equilíbrio (L mg^{-1}) correspondente à energia de ligação máxima, q_{mDR} (mg g^{-1}) é a capacidade máxima de adsorção DR, ε (potencial de adsorção) pode ser determinada através da Equação 11, e β ($\text{mol}^2 \text{kJ}^{-2}$) fornece a energia livre média de sorção E (kJ mol^{-1}) e pode ser calculada usando a Equação 12 (PICCIN et al., 2017).

$$\varepsilon = RT \ln \left(1 + \frac{1}{C_e} \right) \quad (11)$$

$$E = \frac{1}{\sqrt{2\beta}} \quad (12)$$

A adsorção de glifosato no *biochar* de caroço de açaí com Fe também foi utilizada para determinar os parâmetros termodinâmicos, a partir da variação da energia livre de Gibbs (ΔG° , kJ mol^{-1}), variação da entalpia de adsorção (ΔH° , kJ mol^{-1}) e variação da entropia de

adsorção (ΔS° , kJ mol⁻¹ K⁻¹), utilizando as Equações 13 e 14 (IGANSI et al., 2019; MILONJIĆ, 2007).

$$\Delta G^\circ = -RT \ln K_e \quad (13)$$

$$\frac{\Delta G^\circ}{RT} = \frac{\Delta H^\circ}{RT} - \frac{\Delta S^\circ}{R} \quad (14)$$

Onde K_e é a constante de equilíbrio adimensional obtida da relação q_e/c_e na forma adimensional, T é a temperatura absoluta (K) e R é a constante universal dos gases (8.314 J mol⁻¹ K).

2.9 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os modelos cinéticos e de equilíbrio foram estimados por regressão não linear utilizando o modelo *Quasi-Newton* no *Software Statistic 7.0* (StatSoft, USA). A qualidade dos ajustes foi avaliada estatisticamente utilizando o coeficiente de determinação (R^2) e erro médio relativo (EMR) (EL-KHAIARY; MALASH, 2011).

2.10 RECICLABILIDADE DO ADSORVENTE

Após adsorção, o *biochar* de caroço de açaí com Fe foi separado por filtração, lavado três vezes com água destilada e ressuspensionado em solução de 20 mL de NaOH 0,5 mol L⁻¹ por 1 h. Posteriormente, o adsorvente foi separado por meio de filtração e seco a 80 °C por 24 h, e reutilizado em novo ciclo de adsorção (JIA et al., 2020). A reutilização do adsorvente foi realizada por 5 ciclos de adsorção/dessorção.

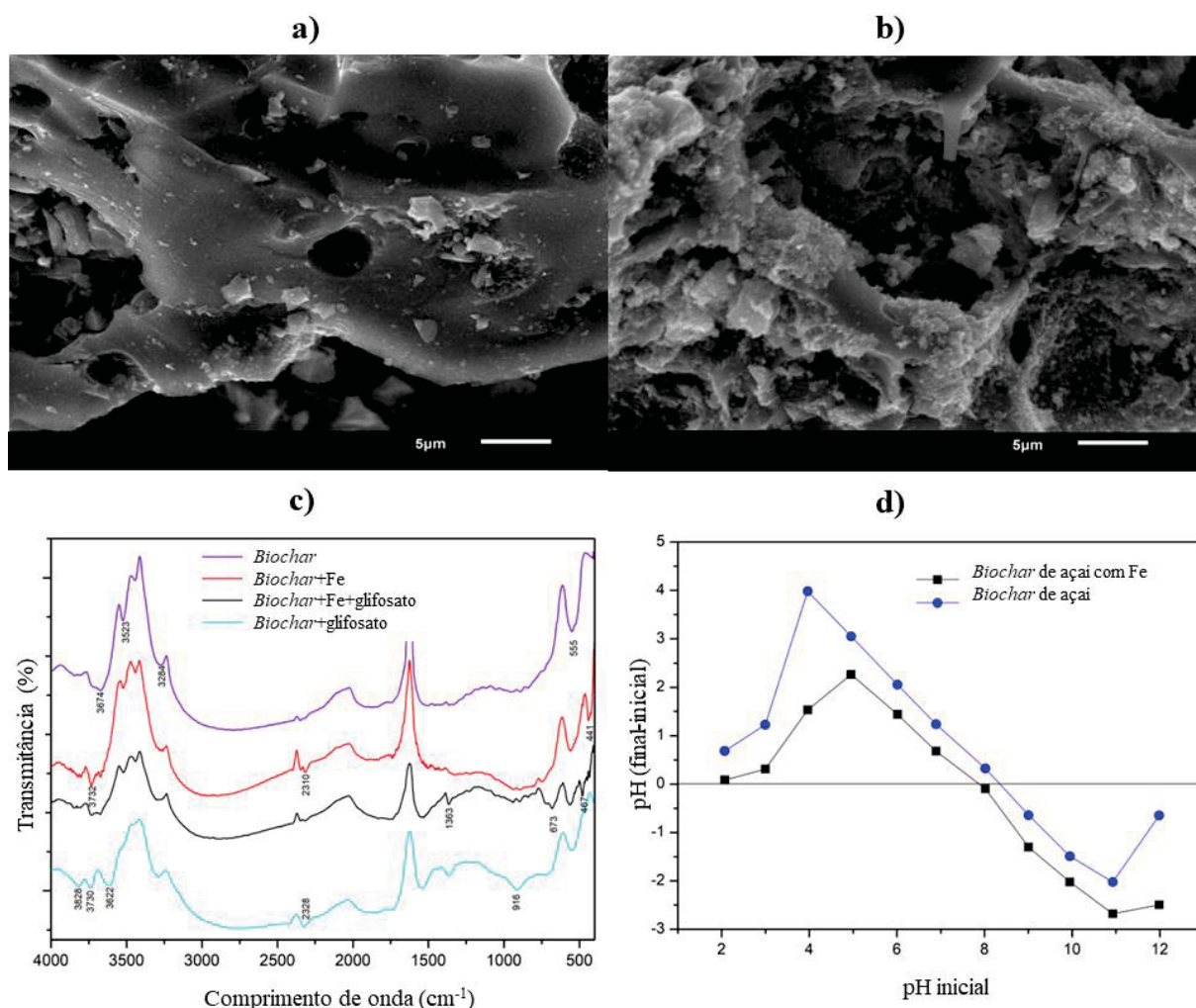
3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 CARACTERIZAÇÃO DOS ADSORVENTES

Os adsorventes produzidos apresentaram morfologias com características heterogêneas, superfícies porosas e estruturas irregulares. Estas características podem ser observadas na FIGURA 1a e 1b com aumento de 3000 x. Nestas figuras as partículas dos

biochars aparecem em diferentes tamanhos e formatos, comprovando as características heterogêneas dos adsorventes.

FIGURA 1- IMAGENS DE MEV (A, B), ESPECTROS DE FTIR (C) E pH_{PCZ} (D) PARA *BIOCHAR* DE CAROÇO DE AÇAÍ E *BIOCHAR* DE CAROÇO DE AÇAÍ COM Fe



Ao comparar as imagens MEV de ambos os *biochars*, foram observadas alterações na superfície do adsorvente modificado. A modificação no *biochar* é ocasionada pela deposição de material metálico, oriundo do processo de coprecipitação na amostra de *biochar* de caroço de açai com Fe. A modificação no adsorvente ocorre a partir da precipitação da solução contendo cloreto férrico (FeCl_3) e cloreto ferroso (FeCl_2) e uma solução alcalina (NaOH), resultando na formação de óxido de ferro. Resultados semelhantes de deposição dos metais sobre o adsorvente foram encontrados por Yamaguchi et al. (2019) ao desenvolver um *biochar* ativado magnético, utilizando manganês e ferro. Alterações na superfície no *biochar*

modificado com FeCl_3 ($0,06 \text{ mol L}^{-1}$) e CuCl_2 ($0,03 \text{ mol L}^{-1}$), em relação ao *biochar* puro derivado de phragmites também foram observadas no estudo de Jia et al. (2020).

Os espectros de FTIR registrados para os adsorventes produzidos, antes e após o processo de adsorção de glifosato, apresentaram semelhança, conforme ilustrado na FIGURA 1c. As bandas em 3284 a 3800 cm^{-1} apareceram em todos os espectros, sendo atribuídas as vibrações de estiramento do grupo hidroxila ($-\text{OH}$) na superfície do adsorvente (ALIZADEH et al., 2022; FOROUTAN et al., 2022a, 2023; JACQUES et al., 2007; JIA et al., 2020; KHATOONI et al., 2023; PESSÔA et al., 2019). Picos próximos a 425 cm^{-1} (441 cm^{-1}) identificados no *biochar* do caroço de açaí com Fe podem ser atribuídos a presença de Fe no adsorbente ($\text{Fe}-\text{O}$) (JIA et al., 2020). A presença de picos em aproximadamente 1363 cm^{-1} em ambos os *biochar* após a adsorção de glifosato pode ser atribuído a vibração do estiramento C-N de uma ligação recém-formada (HERATH et al., 2016; MARCELINO; CUBA; TERAN, 2021). A baixa ocorrência de grupos funcionais na superfície dos adsorventes pode ser explicada pelas altas temperaturas utilizadas na produção do adsorvente (ALMEIDA et al., 2021).

O ponto de carga zero (pH_{pcz}) é caracterizado como o valor de pH no qual as cargas positivas e negativas da superfície do adsorvente se anulam. Neste estudo, o pH_{pcz} do *biochar* de caroço de açaí foi superior ao *biochar* de caroço de açaí com Fe, sendo 8,34 e 7,84, respectivamente (FIGURA 1d). A adsorção de ânions é favorecida quando o $\text{pH}_{\text{solução}} < \text{pH}_{\text{pcz}}$, porque nestas condições a superfície do adsorvente está carregada positivamente, promovendo aumento das forças eletroestáticas (HERATH et al., 2016). O glifosato, embora apresente principalmente cargas negativas é caracterizado por possuir características anfotéricas, apresentando cargas positivas e negativas, as quais variam de acordo com o pH (YAMAGUCHI et al., 2019). O grupo fosfonato presente na molécula confere cargas negativas ao glifosato, enquanto os grupos amina estão relacionadas as cargas positivas. Dessa forma, em pH inferior a 0,78 a carga de glifosato é positiva, em função da protonação no local da amina. Se o pH aumenta de 0,78 para 2,29 a carga torna-se neutra, devido a predominância de dissociação (PO_2H^-) e protonação (NH_2^+). Por sua vez, o aumento das cargas negativas ocorre quando o pH está acima de 2,29 (DIEL et al., 2021a). Em condições naturais, as soluções de glifosato apresentam $\text{pH} \approx 4$, o que lhe confere cargas negativas, tornando-o vantajoso para os processos de adsorção no *biochar*, uma vez que não necessita de ajuste dos valores de pH para aumentar a capacidade de adsorção.

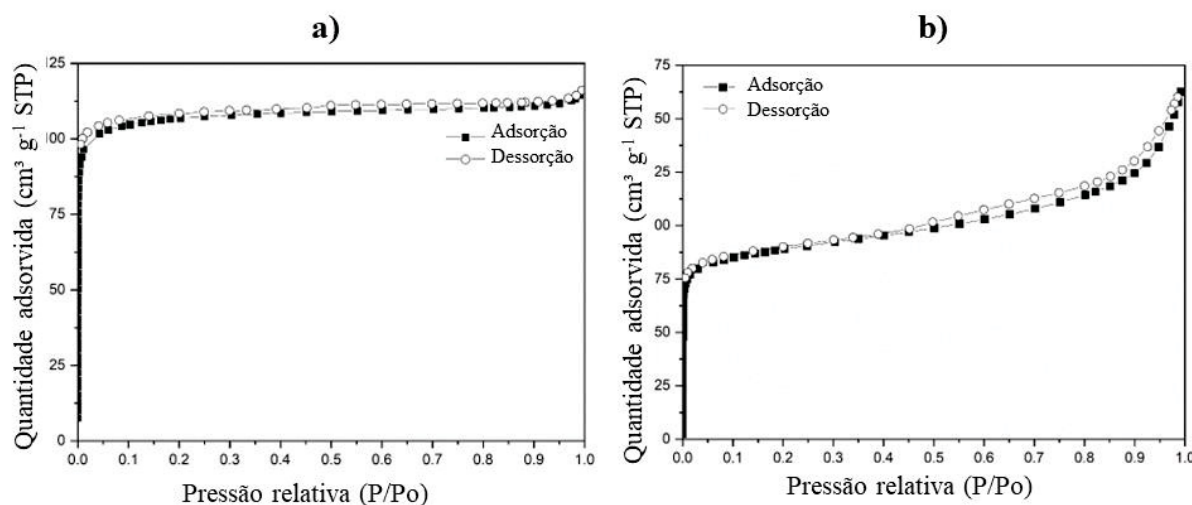
A área de superfície BET do *biochar* de caroço de açaí foi $321,11 \text{ m}^2 \text{ g}^{-1}$, valor superior quando comparado a área superficial BET do *biochar* de caroço de açaí com Fe, no qual foram

obtidos valores de $276,43 \text{ m}^2 \text{ g}^{-1}$. Estudos têm demonstrado influência positiva do aumento da temperatura nos processos de obtenção de *biochar* com alta área superficial, volume e diâmetro de poros. Temperaturas altas nos processos de pirólise tais como a utilizada neste estudo (700°C) atribuem ao *biochar* do caroço de açaí maiores áreas superficiais e volumes de poros (SATO et al., 2019). No entanto, tratamentos químicos como os de coprecipitação podem reduzir a área superficial específica do adsorvente impregnado com íons de Fe, como ocorreu com o *biochar* de caroço de açaí com Fe, o qual demonstrou redução de 13,9% da área superficial específica (S_{BET}).

Embora reduza a S_{BET} , a adição de íons de ferro aumentou o volume de poros de 0,019 para $0,141 \text{ cm}^3 \text{ g}^{-1}$, e o diâmetro médio dos poros de 4,192 para 7,811 nm. Dessa forma, associa-se que as partículas de Fe impregnadas na superfície do material ocuparam a estrutura porosa, reduzindo a S_{BET} e provocando aumento no volume e diâmetro dos poros. A redução da S_{BET} não é característica favorável, uma vez que reduz a área de contato entre o adsorvente e o adsorvato. No entanto, o *biochar* de caroço de açaí com Fe apresentou elevada área superficial, e elevado aumento no diâmetro dos poros, o que pode facilitar a adsorção de glifosato (DIEL et al., 2021a). A redução S_{BET} é uma característica observada em outros estudos, quando realizado tratamento superficial do adsorvente puro com metais (YAMAGUCHI et al., 2019).

A FIGURA 2a e 2b ilustra as isotermas de adsorção e dessorção de N_2 para *biochar* de caroço de açaí e *biochar* de caroço de açaí com Fe, respectivamente. De acordo com os resultados e com classificação das isotermas de adsorção da *International Union of Pure and Applied Chemistry* (IUPAC) (THOMMES et al., 2015), as isotermas mostram correlação entre o Tipo I (FIGURA 2a) e Tipo I e IV (FIGURA 2b), caracterizado por materiais microporosos e mesoporosos. Nestas isotermas também é possível identificar ponto de inflexão entre as curvas de adsorção-dessorção de N_2 em elevados valores de pressão, sendo esta histerese classificada como Tipo H4, característica de materiais carbonáceos microporosos e mesoporosos (LÜTKE et al., 2019; NADERI, 2015; PESSÔA et al., 2019; THOMMES et al., 2015). A partir da distribuição do tamanho dos poros, observa-se picos indicando a presença de microporos (0-2 nm) e maior presença de mesoporos (2-50 nm). A presença de microporos é mais recorrente nas amostras de *biochar* de caroço de açaí sem modificação.

FIGURA 2- ISOTERMA DE ADSORÇÃO-DESSORÇÃO DE N₂ PARA *BIOCHAR* DE CAROÇO DE AÇAÍ (A) E *BIOCHAR* DE CAROÇO DE AÇAÍ COM Fe (B)



3.2 ADSORÇÃO DO *BIOCHAR* DE CAROÇO DE AÇAÍ E *BIOCHAR* DE CAROÇO DE AÇAÍ COM Fe

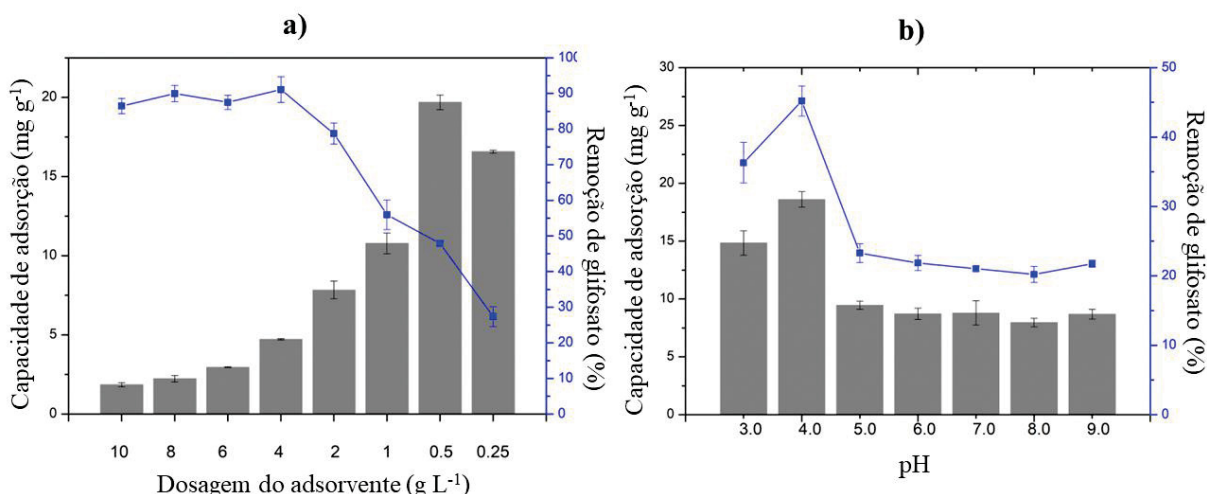
A remoção de glifosato no *biochar* modificado com Fe foi superior ao *biochar* de caroço de açaí, atingindo eficiências de remoção de 88%, quando utilizado 20 mg L⁻¹ de glifosato e 10 g L⁻¹ de adsorvente. O *biochar* do caroço de açaí sem modificação não possui características adequadas a adsorção de glifosato, apresentando capacidade de adsorção de 2,1%. A baixa capacidade de adsorção do *biochar* de caroço de açaí puro indica a necessidade de tratamento para que se aumente a funcionalidade do adsorvente, e assim, melhore a capacidade de remoção de glifosato. Outros adsorventes como nanotubos de carbono de paredes múltiplas também demonstraram baixos potenciais de adsorção de glifosato quando em seu estado natural ou funcionalizados com grupos OH ou COOH (<0,04%). Quando estes adsorventes foram modificados com partículas metálicas, houve aumento nas eficiências de remoção de glifosato, chegando a 84% e capacidade de adsorção de 21,17 mg g⁻¹, sintetizados com extrato de noz-pecã e impregnado com nanopartículas metálicas de ferro (DIEL et al., 2021a).

3.3 EFEITO DO pH E DA MASSA DE ADSORVENTE NA ADSORÇÃO DE GLIFOSATO

Uma das etapas fundamentais nos processos de adsorção é a definição da massa de adsorvente. Esta etapa é fundamental para aplicação do processo em escala industrial, uma vez

que reduz os custos associados ao uso do adsorvente e a geração de resíduos. Logo, para definir a quantidade de massa de adsorvente foram realizados experimentos com dosagens de *biochar* de caroço de açaí com Fe variando de 0,25 a 10 g L⁻¹. Conforme demonstrado na FIGURA 3a, maiores percentuais de remoção de glifosato (>80%) ocorreram para maiores concentrações de adsorvente adicionado, de 4 – 10 g L⁻¹. As maiores eficiências de remoção ocorrem devido a maior presença de sítios de ligação presentes na superfície do adsorvente. Conforme a concentração de *biochar* de caroço de açaí com Fe foi reduzida, verificou-se redução da eficiência de adsorção, porém, observou-se maiores capacidades de adsorção. Quando a dosagem de *biochar* é excessiva (>4 g L⁻¹) em relação à concentração de glifosato, o adsorvente não atinge o estado de saturação. Consequentemente, a quantidade de glifosato adsorvido por unidade de massa de adsorvente é reduzida. Resultados semelhantes foram encontrados em outros estudos (FOROUTAN et al., 2022a; HOSSEINI et al., 2022; SEN et al., 2019). Desta forma, para se obter melhor custo-benefício nos processos, optou-se por trabalhar com a concentração de 0,5 g L⁻¹, concentração está responsável pela maior capacidade de adsorção do estudo em pH natural no meio (≈4,0).

FIGURA 3- REMOÇÃO (%) E CAPACIDADE DE ADSORÇÃO (mg g⁻¹) DO GLIFOSATO NO *BIOCHAR* DE CAROÇO DE AÇAÍ COM Fe, EM RELAÇÃO A DOSAGEM DO ADSORVENTE (g L⁻¹) E VARIAÇÃO DO pH



Barras cinzas referem-se à capacidade de adsorção (mg g⁻¹), a linha azul refere-se à remoção de glifosato (%)

Além da massa de adsorvente, o pH exerce papel importante nos processos de adsorção. Por este motivo, a adsorção de glifosato foi avaliada em diferentes faixas de pH (3,0 a 9,0), conforme demonstrado na FIGURA 3b. Neste processo foram verificadas maiores capacidades de adsorção em condições ácidas de pH 3,0 e 4,0, condições nas quais foram

obtidas capacidade de adsorção de $14,90 \pm 1,10$ e $18,06 \pm 0,7$ mg g⁻¹, respectivamente. A capacidade de adsorção do glifosato é reduzida em níveis de pH acima de 4,0, permanecendo estável de pH 5,0 a 9,0, com capacidade de adsorção próxima de 10 mg g⁻¹. A eficiência de remoção do herbicida seguiu a mesma tendência da capacidade de adsorção. As maiores eficiências de remoção de glifosato ocorreram em pH 3,0 e 4,0, com remoção de 36% e 45%, respectivamente, com posterior redução a partir de pH 5,0, chegando próximo a 20% de remoção. Logo, evidencia-se que o pH exerce efeito direto na adsorção, uma vez que afeta o grau de ionização e especiação do glifosato, bem como na carga superficial do adsorvente (HERATH et al., 2016).

Este resultado também pode ser explicado pelo estudo do pH_{pcz} (FIGURA 1d). Como a solução de glifosato apresenta $pH < pH_{pcz}$ ($pH < 7,84$), o *biochar* de caroço de açaí com Fe apresenta carga positiva, conferindo fortes interações eletroestáticas com as moléculas de glifosato, que neste pH apresenta carga negativa. Quando o pH da solução aumenta, as cargas positivas do *biochar* de caroço de açaí com Fe diminuem, conduzindo a redução da adsorção, causada pelas forças repulsivas entre o glifosato e o adsorvente. Dessa forma, um dos principais mecanismos envolvidos na adsorção de glifosato ocorre por meio de interações eletroestáticas entre a superfície do adsorvente e os grupos aniônicos do glifosato. Além disso, pontes de hidrogênio podem ser formadas entre as moléculas do glifosato e os grupos carboxílicos presentes no *biochar*, os quais podem atuar como doadores ou aceptores de H (HERATH et al., 2016; JIANG et al., 2018).

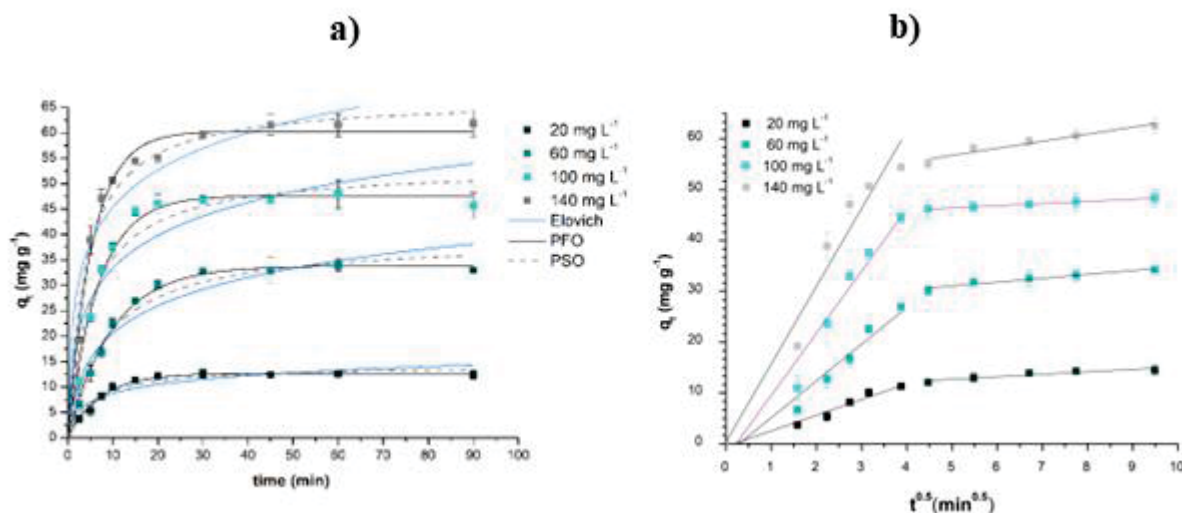
O glifosato apresenta diferentes respostas na capacidade de adsorção em função da protonação e desprotonação dos grupos funcionais em diferentes valores de pH. Por esse motivo, o pH das soluções contendo glifosato auxiliam positivamente na adsorção quando apresentam cargas negativas, ou seja, valores de $pH > 2,2$. Ainda, deve-se considerar que um aumento das cargas positivas de glifosato ocorre em valores de pH muito básicos, ocasionando repulsão do adsorvente e redução da eficiência do processo (LI et al., 2021). Resultados semelhantes ao deste estudo foram encontrados em outros trabalhos, como nos desenvolvidos por Herath et al. (2016) e Li et al. (2021) os quais demonstraram capacidades máximas de adsorção de glifosato em pH ácido de 3,0 e 4,0 ($16,4$ mg g⁻¹ e $130-140$ mg g⁻¹, respectivamente)

3.4 CINÉTICA DE ADSORÇÃO DE GLIFOSATO

A cinética utilizada para descrever os mecanismos de adsorção foi realizada em temperatura ambiente (25 °C), 100 rpm e utilizando diferentes concentrações de glifosato, as

quais variaram de 20 a 140 mg L⁻¹. Conforme observado na FIGURA 4a, a capacidade de adsorção do *biochar* de caroço de açaí com Fe está relacionada com a concentração inicial do glifosato. Pode-se observar que em todas as concentrações de glifosato, a adsorção foi rápida, aumentando gradualmente até aproximadamente 30 a 45 min. Este fenômeno ocorre devido a ampla disponibilidade de sítios ativos carregados positivamente no *biochar* de caroço de açaí com Fe, os quais interagem com o glifosato carregado negativamente (HERATH et al., 2016). Após este período, não foram verificadas mudanças significativas na capacidade de adsorção. A rápida adsorção do glifosato no *biochar* do caroço de açaí com Fe ocorre devido à disponibilidade de sítios ativos no adsorvente, nas primeiras etapas da adsorção. O processo é seguido por uma fase lenta, associada à saturação dos sítios ativos de adsorção, levando à saturação e equilíbrio do sistema (DIEL et al., 2021b; HERATH et al., 2016; NOORI; TAHMASEBPOOR; FOROUTAN, 2022). A adsorção quando realizada em curtos períodos de tempo, tais como neste estudo, são consideradas vantajosas para aplicação em tratamento de águas e efluentes (DIEL et al., 2021b).

FIGURA 4- CINÉTICA DE EQUILÍBRIO DO *BIOCHAR* DE CAROÇO DE AÇAÍ COM Fe UTILIZANDO DIFERENTES CONCENTRAÇÕES DE GLIFOSATO



Conforme esperado, as maiores concentrações iniciais de glifosato promoveram aumento nas capacidades de adsorção. Para melhor compreensão dos parâmetros cinéticos, os dados experimentais foram ajustados aos modelos de PPO, PSO e Elovich. Os valores estimados dos parâmetros cinéticos estão apresentados na TABELA 1.

TABELA 1- PARÂMETROS CINÉTICOS DA ADSORÇÃO DE GLIFOSATO EM DIFERENTES CONCENTRAÇÕES

Modelo	Concentração de glifosato (mg L⁻¹)			
PPO	20	60	100	140
q_1 (mg g ⁻¹)	12,666	33,823	47,647	59,947
K_1 (min ⁻¹)	0,138	0,101	0,147	0,187
R ²	0,991	0,996	0,990	0,989
EMR (%)	3,160	3,853	5,270	3,605
PSO				
q_2 (mg g ⁻¹)	14,224	39,195	53,358	67,201
K_2 (min ⁻¹)	0,013	0,003	0,004	0,004
R ²	0,963	0,974	0,956	0,980
EMR (%)	8,294	8,980	10,610	7,560
Elovich				
a (g mg ⁻¹)	0,389	0,120	0,105	0,096
b (mg g ⁻¹ min ⁻¹)	7,402	9,035	31,068	79,392
R ²	0,903	0,929	0,885	0,926
EMR (%)	13,79	14,60	16,78	11,06

A partir dos dados do R² e EMR, observa-se que a adsorção de glifosato é bem descrita pelo modelo não linear de PPO. A qualidade do ajuste dos dados experimentais a este modelo ainda é comprovada pelos valores muito próximos da capacidade de adsorção dos dados experimentais em relação ao modelo aplicado.

O modelo de PPO assume que a adsorção ocorre em função de um gradiente de concentração entre a solução e a superfície do adsorvente, indicando que a adsorção do glifosato ocorre por fisissorção, que é dependente da concentração inicial do herbicida (ALIZADEH et al., 2022; HERATH et al., 2016). Na concentração de 140 mg L⁻¹ obteve-se capacidade de adsorção de 59,947 mg g⁻¹ e constante de velocidade de adsorção de 0,187 min⁻¹. Em estudo desenvolvido por Herath et al. (2016), a adsorção do glifosato também foi observada na

primeira hora de contato entre o glifosato e o *biochar* sintetizado pela casca de arroz ativada por vapor, resultando em uma eficiência de remoção de 73% e uma capacidade de adsorção de 29,3 mg g⁻¹. A cinética do estudo de Herath et al. (2016) foi bem descrita pelo modelo de PPO.

O modelo Elovich indica a presença de processos químicos na adsorção de poluentes (FOROUTAN et al., 2022). Os valores de R² encontrados para todas as concentrações de glifosato estudadas por este modelo foram inferiores aos dos modelos de PPO e PSO (<0,93). O modelo de difusão intrapartícula de Weber-Morris também foi fornecido para auxiliar na compreensão dos mecanismos de adsorção e das etapas de controle de taxa que afetam a cinética. De acordo com este modelo, um gráfico obtido pela representação gráfica de q_t versus $t^{0,5}$ mostra multilinearidade, com cada porção representando um mecanismo de transferência de massa diferente. A primeira parte refere-se à transferência externa de massa (difusão do filme) ou etapa de adsorção instantânea. A segunda parte refere-se à etapa de adsorção gradual, onde a difusão intrapartícula pode ser a etapa de controle da taxa. Se a regressão passar pela origem, a difusão intrapartícula é a única etapa limitante da taxa (DOTTO; PINTO, 2011).

O gráfico de Weber-Morris é apresentado na Figura 4b. A partir do gráfico é possível verificar que a difusão no filme e a difusão intrapartícula operaram simultaneamente durante o processo de adsorção do glifosato no *biochar* do caroço de açaí com Fe. A porção inicial refere-se à difusão da camada limite, e a segunda descreve a etapa de adsorção gradual, onde o controle da difusão intrapartícula é limitante da taxa.

A Tabela 2 demonstra as constantes de taxa de difusão obtidas pelo ajuste do modelo Weber-Morris com a primeira (k_{WB1}) e a segunda porção (k_{WB2}). O estudo de difusão intrapartícula indicou que $k_{WB1} > k_{WB2}$ para todas as concentrações de glifosato testadas. Além disso, um aumento na concentração de adsorbato de 20 para 140 mg L⁻¹ levou a um aumento na constante de taxa de difusão em relação à região do filme (k_{WB1}). Esse comportamento facilita a difusão das moléculas de glifosato para a superfície do *biochar*, levando a um aumento na capacidade de adsorção (LÜTKE et al., 2019). No k_{WB2} demonstra-se maior similaridade entre os dados, principalmente nas concentrações de 20 a 100 mg L⁻¹ de glifosato. Este comportamento indica que a difusão intrapartícula é independente da concentração de adsorbato. Assim, a difusão intrapartícula depende principalmente das propriedades superficiais do *biochar*, sendo independente da concentração de glifosato.

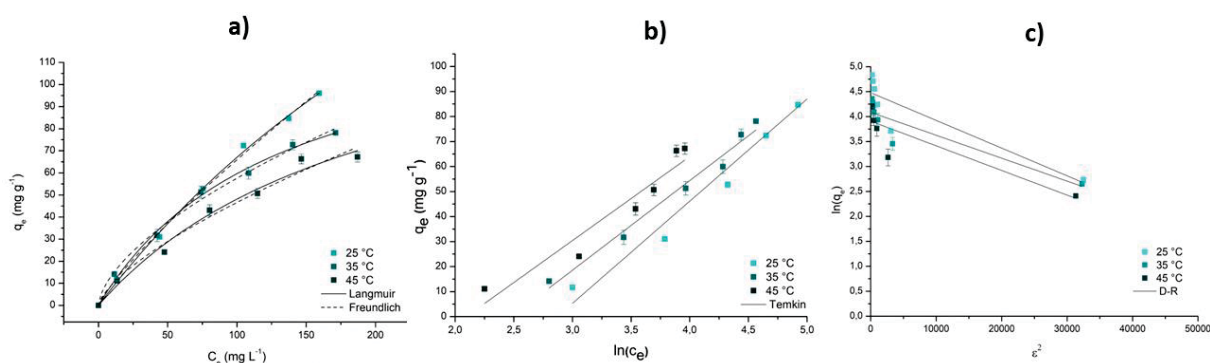
Tabela 2- Constantes de taxa de difusão do modelo Weber-Morris em diferentes concentrações de adsorbato

Concentração do adsorbato (mg L ⁻¹)	K_{WB1} (mg L ⁻¹ t ^{1/2})	R ²	K_{WB2} (mg L ⁻¹ t ^{1/2})	R ²
20	3,090	0,972	0,480	0,942
60	7,230	0,963	0,760	0,999
100	12,240	0,967	0,440	0,946
140	15,300	0,955	1,400	0,870

3.5 MODELOS ISOTÉRMICOS E PARÂMETROS TERMODINÂMICOS

Para estabelecer os modelos mais adequados para o equilíbrio, os dados foram ajustados aos modelos de Langmuir, Freundlich, Temkin e D-R (FIGURA 5). As isotermas de equilíbrio foram obtidas em temperaturas de 25, 35 e 45 °C. Conforme demonstrado na FIGURA 5a, a temperatura influenciou diretamente na capacidade de adsorção do *biochar* de caroço de açaí com Fe. A capacidade de adsorção reduziu de 96 para 67 mg g⁻¹ com o aumento da temperatura de 25 para 45 °C. Este comportamento sugere que a adsorção de glifosato no *biochar* de caroço de açaí com Fe é um processo exotérmico. Tendência similar foi relatada por Sen et al. (2017) ao analisar a adsorção de glifosato com solo florestal.

FIGURA 5- ISOTERMAS DE EQUILÍBRIO DE ADSORÇÃO DE GLIFOSATO EM *BIOCHAR* DE CAROÇO DE AÇAÍ COM Fe



As constantes das isotermas são demonstradas na TABELA 3, na qual se observa melhor ajuste dos dados experimentais ao modelo de Langmuir. Este modelo sugere mecanismo de adsorção baseado em sítios específicos, homogêneos e energeticamente idênticos (RUTHVEN, 1984).

TABELA 3- ISOTERMAS DE ADSORÇÃO PARA REMOÇÃO DE GLIFOSATO

Modelo	Temperatura		
	25 °C	35 °C	45 °C
Langmuir			
q_m (mg g ⁻¹)	351,402	138,093	146,932
K_L (L mg ⁻¹)	0,002	0,008	0,005
R^2	0,997	0,994	0,986
EMR (%)	3,639	6,250	7,040
Freundlich			
K_F ((mg g ⁻¹)(L mg ⁻¹) ^{-1/n})	0,004	0,003	0,002
n_F	0,006	0,005	0,005
R^2	0,988	0,935	0,931
EMR (%)	8,320	18,130	14,470
Temkin			
bt (kJ mol ⁻¹)	80,162	112,995	116,982
At (L mg ⁻¹)	0,089	0,136	0,094
R^2	0,923	0,945	0,922
EMR (%)	19,610	11,110	16,950
Dubinin–Radushkevich (D–R)			
q_{mDR} (mg g ⁻¹)	88,171	59,526	49,836
β (mol ² kJ ⁻²)	0,55x10 ⁴	0,46x10 ⁴	0,49x10 ⁴
R^2	0,808	0,825	0,774
E (kJ mol ⁻¹)	0,95x10 ⁻²	1,4x10 ⁻²	1,01x10 ⁻²
ARE (%)	6,310	5,050	6,470

Desta forma, a adsorção de glifosato no *biochar* de caroço de açaí com Fe ocorre em monocamadas. Os dados também se ajustaram bem ao modelo de Freundlich, apresentando coeficientes de regressão altos ($R^2 > 0,93$). Este modelo sugere adsorção em superfícies heterogêneas, sendo um processo físico multicamadas (RUTHVEN, 1984). Semelhantes a estes resultados, estudos apresentados por Borba et al. (2019) e Nourouzi et al. (2010) apresentaram ajustes dos dados ao modelo de Langmuir, quando realizado adsorção de glifosato.

Em relação ao R^2 da isoterma de Temkin, observa-se que o modelo se ajustou razoavelmente aos dados ($R^2 = 0,92-0,94$). A energia livre média (E) do modelo D-R, que pode ser utilizada para caracterizar processos de adsorção como químicos ou físicos, rendeu valores $< 8 \text{ kJ mol}^{-1}$, indicando processos de fisissorção (WANG et al., 2023). Para o modelo D-R, o baixo R^2 para todas as temperaturas analisadas ($R^2 < 0,825$) indica que o modelo desta isoterma não se ajustou satisfatoriamente aos dados de adsorção.

A adsorção de glifosato no *biochar* de caroço de açaí com Fe foi obtida a partir das isotermas e foram avaliados de acordo com os valores da constante de equilíbrio (K_e), mudança na energia livre de Gibbs (ΔG°), mudança na entalpia (ΔH°), e variação da entropia (ΔS°). Os parâmetros termodinâmicos estão apresentados na TABELA 4. O R^2 do ajuste linear foi 0,9904.

TABELA 4- PARÂMETROS TERMODINÂMICOS DA ADSORÇÃO DE GLIFOSATO NO *BIOCHAR* DE CAROÇO DE AÇAÍ COM Fe

Temperatura (°C)	K_e	ΔG° (kJ mol ⁻¹)	ΔH° (kJ mol ⁻¹)	ΔS° (kJ mol ⁻¹ K ⁻¹)
25	0,6347	-15,99	-12,185	0,01278
35	0,5457	-16,14		
45	0,4659	-16,24		

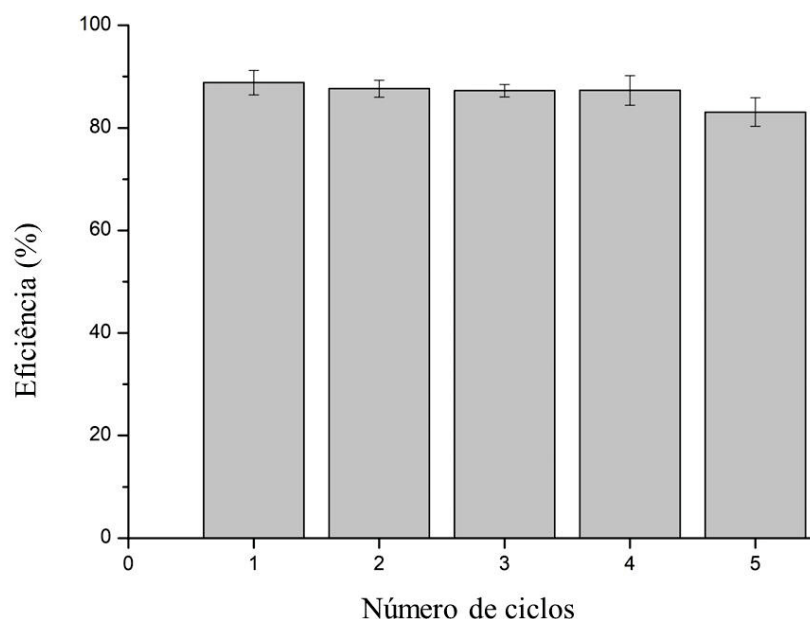
Os valores de K_e apresentados na TABELA 4 aumentam conforme ocorre redução na temperatura, corroborando com maiores capacidades de adsorção. Os valores negativos apresentados por ΔG° indicam que o processo de adsorção de glifosato foi espontâneo e favorável. Além disso, ΔG° foi determinado na faixa de -20 a 0 kJ mol⁻¹, indicando processo físico (FOROUTAN et al., 2023). Da mesma forma, o sinal negativo de ΔH° indica natureza exotérmica. Valores de ΔH° inferiores a 40 kJ mol⁻¹, como o encontrado neste estudo (ΔH° - 12.185 kJ mol⁻¹) indicam processos envolvendo mecanismos de fisissorção (IGANSI et al., 2019). Além disso, os valores positivos de ΔS° indicam que a desordem na interface sólido-líquido aumenta após a adsorção.

3.6 RECICLABILIDADE DO *BIOCHAR* DE CAROÇO DE AÇAÍ COM Fe

Um dos aspectos importantes para aplicação em larga escala de adsorventes é a possibilidade de regeneração do material, o que possibilita redução dos custos empregados no processo de tratamento dos efluentes. A reciclabilidade do *biochar* de caroço de açaí com Fe foi testada em 5 ciclos, não havendo redução na capacidade de adsorção, conforme pode ser observado na FIGURA 6. Dessa forma, o adsorvente pode ser utilizado por mais de 5 ciclos nos processos de adsorção de glifosato. A possibilidade de reutilizar o *biochar* do caroço de açaí com Fe por mais de 5 ciclos também demonstra a estabilidade do adsorvente desenvolvido durante os processos de dessorção com NaOH. Outros adsorventes magnéticos, como o desenvolvido por Jia et al. (2020), mostraram redução de 100% para 72,3% na taxa de adsorção após o 1º ciclo, 58,1% no 2º ciclo e 46,6% no 3º ciclo operacional. A redução na eficiência do *biochar* foi atribuída às lavagens com NaOH, que podem ter comprometido os locais de adsorção do glifosato.

No presente estudo, a redução na eficiência de remoção de glifosato no *biochar* do caroço de açaí com Fe pode ter ocorrido porque o adsorbato não foi completamente dessorvido durante a etapa de dessorção com NaOH, resultando em uma diminuição nos sítios ativos disponíveis para adsorção de glifosato. Mesmo com essa redução de eficiência, vale ressaltar que o *biochar* do caroço de açaí com ferro continua sendo uma matéria-prima de baixo custo, assim como o processo de coprecipitação de Fe utilizado. Essas características e a eficiência na remoção do glifosato tornam o *biochar* do caroço de açaí com Fe competitivo entre os adsorventes estudados, contribuindo para a sustentabilidade dos processos.

Além da reciclabilidade do *biochar*, é importante estudar o impacto dos íons interferentes no processo de adsorção em efluentes reais. Outro estudo envolvendo a adsorção de violeta de metila e azul de metileno demonstrou que a presença de NaCl (0,01-0,3 mg L⁻¹) reduziu a eficiência de adsorção. Essa redução ocorreu devido a interações entre íons Na⁺ e grupos funcionais como -OH⁻ e COO⁻ presentes na superfície do adsorvente, bem como forças eletrostáticas repulsivas (AHMADI et al., 2022).

FIGURA 6- ESTUDO DA REUTILIZAÇÃO DO *BIOCHAR* DE CAROÇO DE AÇAÍ COM Fe

3.7 POSSÍVEIS MECANISMOS DE ADSORÇÃO DO CAROÇO DE AÇAÍ COM Fe

Os possíveis mecanismos de adsorção do *biochar* do caroço de açaí com Fe podem envolver processos de fisissorção e quimissorção, de acordo com os dados de modelagem isotérmica e cinética. A adsorção do glifosato no *biochar* pode envolver interações químicas, onde o pH entre 3 e 4 da solução confere cargas positivas ao *biochar*, possibilitando a formação de fortes interações eletrostáticas com o glifosato, que é carregado negativamente. Além disso, o processo de adsorção do glifosato no *biochar* do caroço de açaí com Fe foi bem descrito pelo modelo de Langmuir ($R^2 = 0,99$), indicando que o processo de adsorção pode ser governado por um mecanismo de quimissorção. O modelo de Freundlich também indicou que a adsorção pode ser governada por processos físicos, pois os dados também se ajustam bem a este modelo. Em relação à cinética, observou-se que o modelo de PPO foi mais adequado aos dados, indicando que a etapa determinante da taxa do processo de adsorção é governada por mecanismos físicos.

4 CONCLUSÕES

O processo de coprecipitação no *biochar* de açaí foi responsável pela redução da área superficial e aumento no volume e diâmetro dos poros, elevando a eficiência nos processos de adsorção de glifosato. Além disso, verificou-se que a adsorção de glifosato no *biochar* de caroço

de açaí com Fe é dependente do pH (4,0), dosagem de adsorvente ($0,5 \text{ g L}^{-1}$) e concentração de glifosato (220 mg L^{-1}), bem como da temperatura (25°C) empregada nos processos. O modelo de Langmuir ajustou-se bem aos dados ($R^2=0,997$), indicando adsorção em monocamadas. A concentração máxima de adsorção por Langmuir foi 351 mg g^{-1} . Os processos de adsorção ocorreram em poucos minutos, atingindo equilíbrio em até 45 min, para todas as concentrações estudadas. Além destas vantagens, o adsorvente demonstra potencial aplicação na adsorção de glifosato em meios aquosos, apresentando reciclabilidade e aplicação em amplas faixas ambientais de pH das águas residuais e temperaturas. Dessa forma, além de agregar valor ao resíduo do processo produtivo do açaí, o adsorvente resolve os problemas de destinação destes resíduos, podendo ser produzido de forma econômica e sustentável.

REFERÊNCIAS

- AHMADI, A.; FOROUTAN, R.; ESMAEILI, H.; PEIGHAMBARDOUST, S. J.; HEMMATI, S.; RAMAVANDI, B. Montmorillonite clay/starch/ CoFe_2O_4 nanocomposite as a superior functional material for uptake of cationic dye molecules from water and wastewater. **Materials Chemistry and Physics**, v. 284, p. 126088, 2022.
- ALIZADEH, M.; PEIGHAMBARDOUST, S. J.; FOROUTAN, R.; AZIMI, H.; RAMAVANDI, B. Surface magnetization of hydrolyzed *Luffa Cylindrica* biowaste with cobalt ferrite nanoparticles for facile Ni^{2+} removal from wastewater. **Environmental Research**, v. 212, p. 113242, 2022.
- ALMEIDA, A. D. S. V.; VIEIRA, W. T.; BISPO, M. D.; MELO, S. F.; SILVA, T. L.; BALLIANO, T. L.; VIEIRA, M. G. A.; SOLETTI, J. I. Caffeine removal using activated *biochar* from açaí seed (*Euterpe oleracea* Mart.): Experimental study and description of adsorbate properties using Density Functional Theory (DFT). **Journal of Environmental Chemical Engineering**, v. 9, n. 1, p. 104891, 2021.
- AWASTHI, M. K. Engineered *biochar*: A multifunctional material for energy and environment. **Environmental Pollution**, v. 298, p. 118831, 2022.
- BHASKARA, B. L.; NAGARAJA, P. Direct Sensitive Spectrophotometric Determination of Glyphosate by Using Ninhydrin as a Chromogenic Reagent in Formulations and Environmental Water Samples. **Helvetica Chimica Acta**, v. 89, n. 11, p. 2686–2693, 2006.
- BORBA, L. L.; CUBA, R. M. F.; CUBA TERÁN, F. J.; CASTRO, M. N.; MENDES, T. A. Use of Adsorbent *Biochar* from Pequi (*Caryocar brasiliense*) Husks for the Removal of Commercial Formulation of Glyphosate from Aqueous Media. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v. 62, p. 19180450, 2019.
- CADAVAL, T. R. S.; DOTTO, G. L.; PINTO, L. A. A. Equilibrium Isotherms, Thermodynamics, and Kinetic Studies for the Adsorption of Food Azo Dyes onto Chitosan Films. **Chemical Engineering Communications**, v. 202, n. 10, p. 1316–1323, 2015.

DIAS, Y. N.; SOUZA, E. S.; DA COSTA, H. S. C.; MELO, L. C. A.; PENIDO, E. S.; AMARANTE, C. B.; TEIXEIRA, O. M. M.; FERNANDES, A. R. *Biochar* produced from Amazonian agro-industrial wastes: properties and adsorbent potential of Cd^{2+} and Cu^{2+} . **Biochar**, v. 1, n. 4, p. 389–400, 2019.

DIEL, J. C.; FRANCO, D. S. P.; IGANSI, A. V.; CADAVAL, T. R. S.; PEREIRA, H. A.; NUNES, I. dos S.; BASSO, C. W.; ALVES, M. do C. M.; MORAIS, J.; PINTO, D.; DOTTO, G. L. Green synthesis of carbon nanotubes impregnated with metallic nanoparticles: Characterization and application in glyphosate adsorption. **Chemosphere**, v. 283, p. 131193, 2021 a.

DIEL, J. C.; FRANCO, D. S. P.; NUNES, I. D. S.; PEREIRA, H. A.; MOREIRA, K. S.; THIAGO, T. A.; FOLETTO, E. L.; DOTTO, G. L. Carbon nanotubes impregnated with metallic nanoparticles and their application as an adsorbent for the glyphosate removal in an aqueous matrix. **Journal of Environmental Chemical Engineering**, v. 9, n. 2, 2021 b.

DOTTO, G. L.; PINTO, L. A. A. Adsorption of food dyes acid blue 9 and food yellow 3 onto chitosan: Stirring rate effect in kinetics and mechanism. **Journal of Hazardous Materials**, v. 187, n. 1–3, p. 164–170, 2011.

DU, L.; AHMAD, S.; LIU, L.; WANG, L.; TANG, J. A review of antibiotics and antibiotic resistance genes (ARGs) adsorption by biochar and modified biochar in water. **Science of The Total Environment**, v. 300, p. 121925, 2022.

EL-KHAIARY, M. I.; MALASH, G. F. Common data analysis errors in batch adsorption studies. **Hydrometallurgy**, v. 105, n. 3–4, p. 314–320, 2011.

FENG, D.; SORIC, A.; BOUTIN, O. Treatment technologies and degradation pathways of glyphosate: A critical review. **Science of the Total Environment**, v. 742, p. 140559, 2020.

FOROUTAN, R.; JAMALEDDIN PEIGHAMBARDOUST, S.; AMARZADEH, M.; KIANI KORRI, A.; SADAT PEIGHAMBARDOUST, N.; AHMAD, A.; RAMAVANDI, B. Nickel ions abatement from aqueous solutions and shipbuilding industry wastewater using ZIF-8-chicken beak hydroxyapatite. **Journal of Molecular Liquids**, v. 356, p. 119003, 2022a.

FOROUTAN, R.; PEIGHAMBARDOUST, S. J.; GHOJAVAND, S.; FARJADFARD, S.; RAMAVANDI, B. Cadmium elimination from wastewater using potato peel biochar modified by ZIF-8 and magnetic nanoparticle. **Colloid and Interface Science Communications**, v. 55, p. 100723, 2023.

FOROUTAN, R.; PEIGHAMBARDOUST, S. J.; MOHAMMADI, R.; PEIGHAMBARDOUST, S. H.; RAMAVANDI, B. Development of new magnetic adsorbent of walnut shell ash/starch/ Fe_3O_4 for effective copper ions removal: Treatment of groundwater samples. **Chemosphere**, v. 296, p. 133978, 2022 b.

FREUNDLICH, H. M. F. Over the adsorption in solution. **Journal Physical Chemical**, v. 57, p. 385-471, 1906.

GARCÍA-JARAMILLO, M.; COX, L.; KNICKER, H. E.; CORNEJO, J.; SPOKAS, K. A.; HERMOSÍN, M. C. Characterization and selection of biochar for an efficient retention of tricyclazole in a flooded alluvial paddy soil. **Journal of Hazardous Materials**, v. 286, p. 581–588, 2015.

GONÇALVES, A. C.; SCHWANTES, D.; JUNIOR, E. C.; ZIMMERMANN, J.; COELHO, G. F. Adsorption of Cd (II), Pb (II) and Cr (III) on chemically modified *Euterpe Oleracea* biomass for the remediation of water pollution. **Acta Scientiarum. Technology**, v. 43, n. 1, p. e50263, 2020.

HERATH, I.; KUMARATHILAKA, P.; AL-WABEL, M. I.; ABDULJABBAR, A.; AHMAD, M.; USMAN, A. R. A.; VITHANAGE, M. Mechanistic modeling of glyphosate interaction with rice husk derived engineered *biochar*. **Microporous and Mesoporous Materials**, v. 225, p. 280–288, 2016.

HO, Y. S.; MCKAY, G. Kinetic Models for the Sorption of Dye from Aqueous Solution by Wood. **Process Safety and Environmental Protection**, v. 76, n. 2, p. 183–191, 1998.

HOSSEINI, S. S.; HAMADI, A.; FOROUTAN, R.; PEIGHAMBARDOUST, S. J.; RAMAVANDI, B. Decontamination of Cd²⁺ and Pb²⁺ from aqueous solution using a magnetic nanocomposite of eggshell/starch/Fe₃O₄. **Journal of Water Process Engineering**, v. 48, p. 102911, 2022.

IBGE. **Produção de Açaí (cultivo) no Brasil**. Disponível em: <<https://www.ibge.gov.br/explica/producao-agropecuaria/acai-cultivo/br>>. Acesso em: 2 maio. 2023.

IGANSI, A. V.; ENGELMANN, J.; LÜTKE, S. F.; PORTO, F. B.; PINTO, L. A. A.; CADAVAL, T. R. S. Isotherms, kinetics, and thermodynamic studies for adsorption of pigments and oxidation products in oil bleaching from catfish waste. **Chemical Engineering Communications**, v. 206, n. 11, p. 1410–1424, 2019.

JACQUES, R. A.; LIMA, E. C.; DIAS, S. L. P.; MAZZOCATO, A. C.; PAVAN, F. A. Yellow passion-fruit shell as biosorbent to remove Cr(III) and Pb(II) from aqueous solution. **Separation and Purification Technology**, v. 57, n. 1, p. 193–198, 2007.

Jl, M.; WANG, X.; USMAN, M.; LIU, F.; DAN, Y.; ZHOU, L.; CAMPANARO, S.; LUO, G.; SANG, W. Effects of different feedstocks-based *biochar* on soil remediation: A review. **Environmental Pollution**, v. 294, p. 118655, 2022.

JIA, D.; LIU, M.; XIA, J.; LI, C. Effective removal of aqueous glyphosate using CuFe₂O₄@*biochar* derived from phragmites. **Journal of Chemical Technology and Biotechnology**, v. 95, n. 1, p. 196–204, 2020.

JIANG, X.; OUYANG, Z.; ZHANG, Z.; YANG, C.; LI, X.; DANG, Z.; WU, P. Mechanism of glyphosate removal by *biochar* supported nano-zero-valent iron in aqueous solutions. **Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects**, v. 547, p. 64–72, 2018.

KHAN, T. A.; SHARMA, S.; ALI, I. Adsorption of Rhodamine B dye from aqueous solution onto acid activated mango (*Magnifera indica*) leaf powder: Equilibrium, kinetic and thermodynamic studies. **Journal of Toxicology and Environmental Health Sciences**, v. 3, n. 10, p. 286–297, 2011.

KHATOONI, H.; PEIGHAMBARDoust, S. J.; FOROUTAN, R.; MOHAMMADI, R.; RAMAVANDI, B. Adsorption of methylene blue using sodium carboxymethyl cellulose-g-poly (acrylamide-co-methacrylic acid)/Cloisite 30B nanocomposite hydrogel. **Journal of Polymers and the Environment**, v. 31, n. 1, p. 297–311, 2023.

LANGMUIR, I. The adsorption of gases on plane surfaces of glass, mica and platinum. **Journal American Chemical Society**, v. 40, p. 1361–1403, 1918.

LI, C.; LI, Y.; LI, Q.; DUAN, J.; HOU, J.; HOU, Q.; AI, S.; LI, H.; YANG, Y. Regenerable magnetic aminated lignin/Fe₃O₄/La(OH)₃ adsorbents for the effective removal of phosphate and glyphosate. **Science of The Total Environment**, v. 788, p. 147812, 2021.

LUCACI, A. R.; BULGARIU, D.; AHMAD, I.; LISĂ, G.; MOCANU, A. M.; BULGARIU, L. Potential Use of Biochar from Various Waste Biomass as Biosorbent in Co(II) Removal Processes. **Water**, v. 11, n. 8, p. 1565, 2019.

LÜTKE, S. F.; IGANSI, A. V.; PEGORARO, L.; DOTTO, G. L.; PINTO, L. A. A.; CADAVAL, T. R. S. Preparation of activated carbon from black wattle bark waste and its application for phenol adsorption. **Journal of Environmental Chemical Engineering**, v. 7, n. 5, p. 103396, 2019.

MAHLER, B. J.; VAN METRE, P. C.; BURLEY, T. E.; LOFTIN, K. A.; MEYER, M. T.; NOWELL, L. H. Similarities and differences in occurrence and temporal fluctuations in glyphosate and atrazine in small Midwestern streams (USA) during the 2013 growing season. **Science of The Total Environment**, v. 579, p. 149–158, 2017.

MARCELINO, N. V. A.; CUBA, R. M. F.; TERAN, F. J. C. Reaproveitamento de sabugo de milho para potencial remoção de formulação comercial de glifosato em fase aquosa pela técnica de adsorção. **Engenharia Sanitária e Ambiental**, v. 26, n. 4, p. 669–681, 2021.

MILONJIĆ, S. K. A consideration of the correct calculation of thermodynamic parameters of adsorption. **Journal of the Serbian Chemical Society**, v. 72, n. 12, p. 1363–1367, 2007.

NADERI, M. Surface Area: Brunauer–Emmett–Teller (BET). **Progress in Filtration and Separation**, p. 585–608, 2015.

NOORI, M.; TAHMASEBPOOR, M.; FOROUTAN, R. Enhanced adsorption capacity of low-cost magnetic clinoptilolite powders/beads for the effective removal of methylene blue: Adsorption and desorption studies. **Materials Chemistry and Physics**, v. 278, p. 125655, 2022.

NOUROUZI, M. M.; CHUAH, T. G.; CHOONG, T. S. Y. Adsorption of glyphosate onto activated carbon derived from waste newspaper. **New pub: Balaban**, v. 24, n. 1–3, p. 321–326, 2012.

PEREIRA, H. A.; HERNANDES, P. R. T.; NETTO, M. S.; RESKE, G. D.; VIECELI, V.; OLIVEIRA, L. F. S.; DOTTO, G. L. Adsorbents for glyphosate removal in contaminated waters: a review. **Environmental Chemistry Letters**, v. 19, n. 2, p. 1525–1543, 2021.

PESSÔA, T. S.; LIMA FERREIRA, L. E. de; DA SILVA, M. P.; PEREIRA NETO, L. M.; NASCIMENTO, B. F. do; FRAGA, T. J. M.; JAGUARIBE, E. F.; CAVALCANTI, J. V.; DA MOTTA SOBRINHO, M. A. Açaí waste benefiting by gasification process and its employment in the treatment of synthetic and raw textile wastewater. **Journal of Cleaner Production**, v. 240, p. 118047, 2019.

PICCIN, J.S.; CADAVAL, T.R.S.; PINTO, L.A.A. de; G.L. DOTTO. Adsorption isotherms in liquid phase: Experimental, modeling, and interpretations. In: BONILLA-PETRICIOLET, A.; MENDOZA-CASTILLO, D.; REYNEL-ÁVILA, H (Eds.). **Adsorption Processes for Water Treatment and Purification**, Springer International Publishing, 2017, p. 19–51.

PRAVEEN, S.; JEGAN, J.; BHAGAVATHI PUSHPA, T.; GOKULAN, R.; BULGARIU, L. Biochar for removal of dyes in contaminated water: an overview. **Biochar**, v. 4, n. 1, p. 10, 2022.

QU, J.; SHI, J.; WANG, Y.; TONG, H.; ZHU, Y.; XU, L.; WANG, Y.; ZHANG, B.; TAO, Y.; DAI, X.; ZHANG, H.; ZHANG, T. Applications of functionalized magnetic biochar in environmental remediation: A review. **Journal of Hazardous Materials**, v. 434, p. 128841, 2022.

RUTHVEN, D. M. Physical Adsorption and the Characterization of Porous Adsorbents. **Principles of Adsorption and Adsorption Processes**, New York, v. 19, p. 433, 1985.

SATO, M. K.; LIMA, H. V.; COSTA, A. N.; RODRIGUES, S.; PEDROSO, A. J. S.; MAIA, C. M. B. F. *Biochar* from Acai agroindustry waste: Study of pyrolysis conditions. **Waste Management**, v. 96, p. 158–167, 2019.

SATO, M. K.; LIMA, H. V.; COSTA, A. N.; RODRIGUES, S.; MOONEY, S. J.; CLARKE, M.; PEDROSO, A. J. S.; MAIA, C. M. B. de F. Biochar as a sustainable alternative to açaí waste disposal in Amazon, Brazil. **Process Safety and Environmental Protection**, v. 139, p. 36–46, 2020.

SAVARI, A.; HASHEMI, S.; ARFAEINIA, H.; DOBARADARAN, S.; FOROUTAN, R.; MAHVI, A. H.; FOULADVAND, M.; SORIAL, G. A.; FARJADFARD, S.; RAMAVANDI, B. Physicochemical characteristics and mechanism of fluoride removal using powdered zeolite-zirconium in modes of pulsed& continuous sonication and stirring. **Advanced Powder Technology**, v. 31, n. 8, p. 3521–3532, 2020.

SEN, K.; DATTA, J. K.; MONDAL, N. K. Glyphosate adsorption by *Eucalyptus camaldulensis* bark-mediated char and optimization through response surface modeling. **Applied Water Science**, v. 9, n. 7, p. 1–12, 2019.

SEN, K.; MONDAL, N. K.; CHATTORAJ, S.; DATTA, J. K. Statistical optimization study of adsorption parameters for the removal of glyphosate on forest soil using the response surface methodology. **Environmental Earth Sciences**, v. 76, n. 1, p. 1–15, 2017.

THOMMES, M.; KANEKO, K.; NEIMARK, A. V.; OLIVIER, J. P.; RODRIGUEZ-REINOSO, F.; ROUQUEROL, J.; SING, K. S. W. Physisorption of gases, with special reference to the evaluation of surface area and pore size distribution (IUPAC Technical Report). **Pure and Applied Chemistry**, v. 87, n. 9–10, p. 1051–1069, 2015.

VARJANI, S.; KUMAR, G.; RENE, E. R. Developments in *biochar* application for pesticide remediation: Current knowledge and future research directions. **Journal of Environmental Management**, v. 232, p. 505–513, 2019.

WANG, Y.; LUO, J.; QIN, J.; HUANG, Y.; KE, T.; LUO, Y.; YANG, M. Efficient removal of phytochrome using rice straw-derived biochar: Adsorption performance, mechanisms, and practical applications. **Bioresource Technology**, v. 376, p. 128918, 2023.

WEBER, W. J.; MORRIS, J. C. Kinetics of Adsorption on Carbon from Solution. **Journal of the Sanitary Engineering Division**, v. 89, n. 2, p. 31–59, 1963.

YAMAGUCHI, N. U.; BERGAMASCO, R.; HAMOUDI, S. Magnetic MnFe_2O_4 –graphene hybrid composite for efficient removal of glyphosate from water. **Chemical Engineering Journal**, v. 295, p. 391–402, 2016.

YAMAGUCHI, N. U.; RUBIO, A. J.; BERGAMASCO, R. Activated carbon loaded with manganese and iron for glyphosate adsorption: Kinetics, isotherms and thermodynamic studies. **Revista Ambiente e Água**, v. 14, n. 6, 2019.

ARTIGO II

Biodegradação do herbicida glifosato por microalgas

RESUMO

A aplicação generalizada de agrotóxicos na agricultura é reconhecida mundialmente como estratégia para aumentar a produção agrícola. No entanto, o uso excessivo e inadequado desses compostos pode gerar problemas ambientais, devido as suas características tóxicas. Neste contexto, a identificação de micro-organismos com capacidade de biorremediação de agrotóxicos, principalmente daqueles amplamente utilizados como o glifosato, é de fundamental importância para tratamento de águas residuais. O objetivo deste estudo foi avaliar a biorremediação do glifosato e os efeitos deste herbicida sobre os parâmetros de crescimento e composição bioquímica das microalgas *Synechococcus nidulans* LEB 115 e *Scenedesmus obliquus* LEB 117. Para isso, o glifosato foi adicionado em concentrações de 4, 8 e 12 mg L⁻¹ no meio de cultivo BG-11 contendo as microalgas. Os cultivos tiveram duração de 15 d, dos quais foi realizado acompanhamento diário do crescimento, atividade fotossintética e pH. Ao final dos cultivos, a biomassa foi coletada para determinação da composição de carboidratos, proteínas e lipídios e o sobrenadante foi utilizado para a determinação residual de glifosato e ácido aminometilfosfônico (AMPA) por análise de Cromatografia Líquida acoplada a Espectrometria de Massas em Série (LC-MS/MS). Os parâmetros cinéticos demonstraram que a adição de glifosato não exerceu efeito negativo sobre a *S. obliquus* LEB 117. No entanto, houve redução significativa de 0,096 para 0,084 d⁻¹ na $\mu_{\text{máx}}$ e aumento de 7,23 para 8,27 d no tg para *S. nidulans* LEB 115, quando comparados os cultivos com adição de 12 mg L⁻¹ de glifosato em relação aos controles ($p < 0,05$), respectivamente. Também não foram verificadas alterações da adição do glifosato nas atividades fotossintéticas destas microalgas. As maiores eficiências de remoção do agrotóxico ocorreram em 4 mg L⁻¹, sendo 35,31% e 28,54% para *S. nidulans* LEB 115 e *S. obliquus* LEB 117, respectivamente. A biomassa produzida durante o cultivo apresentou altos teores de proteínas ($\approx 60\%$) na biomassa de *S. nidulans* LEB 115, além de carboidratos e lipídios ($33 \pm 1,08\%$ e $22 \pm 0,65\%$) em *S. obliquus* LEB 117. Contudo, esses resultados demonstram potenciais usos da biomassa em processos posteriores a biorremediação, para obtenção de bioprodutos.

Palavras-chave: Agrotóxicos. Águas residuais. Biorremediação. Cianobactérias. Fitorremediação. Tratamento de água.

1 INTRODUÇÃO

A utilização de agrotóxicos é conhecida mundialmente por sua ampla utilização na agricultura visando o aumento da produção agrícola. No entanto, o uso intensivo destes produtos químicos vem acompanhado de sérios problemas relacionados à degradação ambiental e aos riscos à saúde humana, visto que o aumento da utilização de pesticidas é proporcional à contaminação dos solos, do ar e dos recursos hídricos (LIMA et al., 2022; PANDEY et al., 2019; RAJPUT et al., 2022; VAN BRUGGEN et al., 2018; ZABALOY et al., 2022).

O glifosato (N-[fosfonometil]-glicina) é um herbicida organofosforado, sistêmico, não seletivo, de amplo espectro e pós-emergência, apresentando alta mobilidade no ambiente (IORI et al., 2020; IUMMATO et al., 2019). Este agrotóxico é amplamente aplicado em cultivos de soja e milho transgênicos, sendo um dos herbicidas mais utilizados no mundo (FERNANDES et al., 2019). Em função da ampla utilização, estudos de exposições agrícolas do glifosato conduziram à reclassificação do herbicida pela Agência Internacional de Pesquisa contra o Câncer (IARC), definindo-o como “provavelmente cancerígeno” para humanos (PEILLEX; PELLETIER, 2020). Este herbicida foi ainda relacionado a outros problemas, como desregulação endócrina, danos aos rins, transtorno do déficit de atenção com hiperatividade, autismo, doença celíaca, Alzheimer, Parkinson, abortos involuntários, doenças respiratórias e dermatológicas (MEFTAUL et al., 2020; VAN BRUGGEN et al., 2018).

A contaminação de glifosato nas águas superficiais e subterrâneas ocorre principalmente por escoamento superficial, derramamentos acidentais, lixiviação e erosão de solos (BORELLA et al., 2023). Uma vez disponíveis no meio, estes compostos podem ser biodegradados por micro-organismos locais. No entanto, o tempo de meia vida do glifosato e do seu principal metabólito, o ácido aminometilfosfônico (AMPA), pode variar de dias a meses (0,8-151 d e 10-98 d, respectivamente), dependendo das condições do solo (BAI; OGBOURNE, 2016). É importante ressaltar que os níveis de glifosato na água podem variar significativamente dependendo de fatores como o local de amostragem, clima, solo e as práticas agrícolas locais. Na região sudeste do Brasil, por exemplo, concentrações de glifosato na faixa de 0,5 e 8,7 mg L⁻¹, acima do limite estipulado pela legislação nacional (0,5 mg L⁻¹), foram encontradas em 80% das fontes de água potável amostradas pelo estudo (LIMA et al., 2022).

Neste contexto, várias estratégias de tratamento convencionais e não convencionais foram citadas para a remoção de glifosato dos corpos hídricos. Entre eles adsorção, separação por membrana, eletrólise, coagulação e processos oxidativos avançados (PEREIRA et al., 2020; VILLAMAR-AYALA et al., 2019). Muitos destes métodos apresentam como desvantagem alto

custo, utilização de equipamentos complexos e, em alguns casos, geração de poluição secundária (DEVIRAM et al., 2020; RAJPUT et al., 2022).

A biorremediação surge como alternativa a estes problemas, principalmente por ser considerada uma técnica ambientalmente amigável, que remove poluentes a partir da biodegradação por micro-organismos (microalgas, bactérias e fungos) e suas enzimas (CASTREJÓN-GODÍNEZ et al., 2021; CHEN et al., 2022; MOHANTY; DAS, 2021). Destes micro-organismos, as microalgas (eucarióticas) e as cianobactérias (microalgas verdes azuladas, procarióticas) merecem atenção, por apresentarem capacidade em melhorar a qualidade das águas residuais, removendo nutrientes, agrotóxicos, CO₂ e gerando subprodutos de interesse comercial. Ao realizar a biorremediação, as microalgas produzem biomassa. Esta por sua vez, pode ser utilizada estudada para possíveis aplicações na produção de biogás, biodiesel, bioetanol, *biochar* ou como biofertilizantes (MORAIS et al., 2022; TOULIABAH et al., 2022).

Os processos de remoção dos poluentes podem ocorrer a partir da bioadsorção, bioacumulação e biodegradação. A bioadsorção envolve processos passivos de transferência de massa para a parede celular das microalgas. Já a bioacumulação ocorre quando os poluentes são absorvidos ou transportados através da parede celular da microalga, ligando-se a proteínas e outros compostos intracelulares. Por fim, a biodegradação é responsável pela transformação dos poluentes em substâncias menos tóxicas. Estes processos podem apresentar altas eficiências de tratamento (chegando a 100%), dependendo das condições aplicadas aos cultivos, do contaminante e das linhagens microalgais utilizadas (MORAIS et al., 2022; REMPEL et al., 2021).

Até o momento, a maioria dos relatos referentes a biorremediação de glifosato envolvem o uso de bactérias e fungos, sendo poucos estudos relacionados a seleção de microalgas para este fim (CASTREJÓN-GODÍNEZ et al., 2021; CHEN et al., 2022). Por este motivo, o comportamento cinético e composição bioquímica das microalgas em cultivos contendo glifosato, bem como os processos de biodegradação deste composto permanecem desconhecidos para muitas microalgas. Com base nisso, este estudo objetivou avaliar a biodegradação de glifosato e os efeitos deste herbicida sobre os parâmetros cinéticos e composição bioquímica das microalgas *Synechococcus nidulans* LEB 115 e *Scenedesmus obliquus* LEB 117.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 MICRO-ORGANISMOS E CONDIÇÕES DE CULTIVO

As microalgas *Synechococcus nidulans* LEB 115 e *Scenedesmus obliquus* LEB 117, investigadas no presente trabalho, são pertencentes ao banco de linhagens do Laboratório de Engenharia Bioquímica da Universidade Federal do Rio Grande (Brasil). Os inóculos das microalgas foram mantidos em reatores do tipo *Erlenmeyers* de 2000 mL (volume útil de 1800 mL) em estufa termostatzada a 30 °C, luminosidade de $80 \mu\text{mol}_{\text{fótons}} \text{m}^{-2} \text{s}^{-1}$, fotoperíodo 12 h claro/ 12 h escuro e aeração a partir de ar comprimido (MORAIS; COSTA, 2007). Para a realização dos ensaios, as microalgas foram adicionadas em meio BG-11 composto por (g L⁻¹): NaNO₃ (1,5), K₂HPO₄.3H₂O (0,04), MgSO₄.7H₂O (0,075), CaCl₂.2H₂O (0,036), citrato férrico amoniacal (0,006), EDTA dissódico (0,001), Na₂CO₃ (0,02), ácido cítrico (0,006) mais 1 mL L⁻¹ de solução A5+Co contendo micronutrientes (RIPPKA; DERUELLES; WATERBURY, 1979). A estes meios, foram adicionadas diferentes concentrações de glifosato (4, 8 e 12 mg L⁻¹). Além disso, foram realizados ensaios controle sem adição de glifosato para cada microalga, assim como ensaio controle contendo apenas glifosato em meio BG-11, sem adição de microalgas, para avaliar os efeitos abióticos na remoção do herbicida. Cada espécie foi inoculada individualmente em reatores do tipo *Erlenmeyers* de 250 mL (volume útil de 150 mL) e cultivadas em incubadora com agitação orbital de 150 rpm sob condições controladas de temperatura (30 °C), luminosidade ($41,6 \mu\text{mol}_{\text{fótons}} \text{m}^{-2} \text{s}^{-1}$) e fotoperíodo (12 h claro/escuro). A concentração inicial de biomassa foi 0,20 g L⁻¹. Os experimentos foram realizados em duplicata por um período de 15 d.

Para melhor avaliar os efeitos tóxicos da exposição ao glifosato, as microalgas foram analisadas quanto a composição bioquímica de carboidratos, lipídios e proteínas. Para isso, ao final dos experimentos, a biomassa foi colhida por centrifugação (Hitachi, Himac CR-GIII, Japão) a 2000 g durante 20 min, sendo após congelada a -80 °C, liofilizada e armazenada a -20 °C para posterior análises de caracterização.

2.2 PREPARO DA SOLUÇÃO ESTOQUE E DETERMINAÇÃO DO GLIFOSATO

O glifosato de grau analítico utilizado no estudo, foi obtido da Sigma-Aldrich (nº 1071-83-6). Uma solução estoque de glifosato (N-(fosfonometil)glicina) foi previamente preparada em concentração de 500 mg L⁻¹, sendo posteriormente filtrada com membrana Millipore 0,2

µm. As concentrações de glifosato e ácido aminometilfosfônico dos cultivos foram determinados por análise de Cromatografia Líquida acoplado a Espectrometria de Massas em Série (LC-MS/MS).

A eficiência de remoção de glifosato no meio residual (%) foi determinada conforme Equação 1.

$$R = \frac{C_0 - C_f}{C_0} 100\% \quad (1)$$

Onde C_0 é a concentração inicial de glifosato (mg L^{-1}), C_f é a concentração final de glifosato (mg L^{-1}) e R é a porcentagem de remoção do herbicida (%).

2.3 PARÂMETROS CINÉTICOS, ATIVIDADE FOTOSSINTÉTICA E COMPOSIÇÃO DAS MACROMOLÉCULAS

A concentração de biomassa das microalgas (g L^{-1}) foi determinada a cada 24 h pela medida de densidade óptica em espectrofotômetro a 670 nm (espectrofotômetro Shimadzu UV/VIS UVmin-1240, Japão), utilizando curva padrão que relaciona a densidade óptica e massa seca. Os parâmetros cinéticos determinados foram a concentração máxima de biomassa ($X_{\text{máx}}$, g L^{-1}), produtividade em biomassa (P_{biomassa} , $\text{mg L}^{-1} \text{ d}^{-1}$), velocidade específica máxima de crescimento ($\mu_{\text{máx}}$, d^{-1}), e o tempo de geração (tg, d). A velocidade específica máxima de crescimento foi determinada pela regressão exponencial da fase logarítmica de crescimento. Os demais parâmetros cinéticos foram determinados conforme Equações 2 e 3, respectivamente (BAILEY; OLLIS, 1986).

$$P_{\text{biomassa}} (\text{mg L}^{-1} \text{ d}^{-1}) = \frac{X - X_0}{t - t_0} \quad (2)$$

$$\text{Tempo de geração (d)} = \frac{\text{Ln}2}{\mu_{\text{máx}}} \quad (3)$$

Onde X é a concentração de biomassa (g L^{-1}) no tempo t (d), X_0 é a concentração de biomassa (g L^{-1}) no tempo t_0 (d).

Para verificação do estado fisiológico das células expostas ou não ao glifosato, foi verificada a fluorescência da clorofila das células microalgais (Fv/Fm). Esta verificação é dada pela relação da fluorescência variável (Fv) e fluorescência máxima (Fm), determinada a partir de Fluorímetro AquaPen AP 100 (Photon System-Instrument). Para isso, uma alíquota contendo as células das microalgas foram aclimatadas no escuro por 15 min, sendo após realizada a leitura em equipamento portátil (NORDIO et al., 2023).

Para a determinação de carboidratos e proteínas, extratos contendo 5 mg de biomassa liofilizada foram adicionados a 10 mL de água destilada e submetidos a ruptura celular a partir de sonda ultrassônica (Cole Parmer, CPX 130, EUA) para liberação de material intracelular. Os extratos foram sonicados com 10 ciclos operacionais (59 segs on/off).

O conteúdo total de carboidratos foi determinado pelo método fenol-sulfúrico (DUBOIS et al., 1956) utilizando curva padrão de glicose. A concentração de proteínas totais foi determinada conforme descrito por Lowry et al. (1951), com prévia hidrólise alcalina. O conteúdo de lipídios foi determinado por método colorimétrico utilizando curva padrão de tripalmitina, conforme estabelecido por Marsh e Weinstein (1966). Para isso, os lipídios foram extraídos da biomassa liofilizada utilizando solventes orgânicos, clorofórmio e metanol (1:2).

2.4 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os ensaios realizados em duplicata foram avaliados pela Análise de Variância (ANOVA) seguida por teste de Tukey para comparação das médias ($p < 0,05$). Os resultados são apresentados por média $\pm$ desvio padrão.

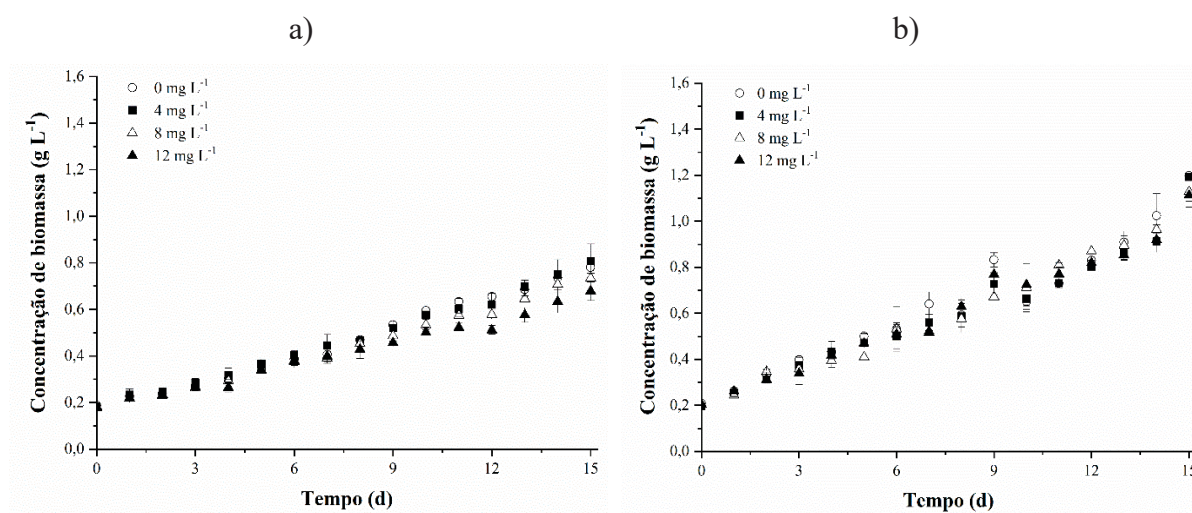
3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 INFLUÊNCIA DO GLIFOSATO SOBRE O CRESCIMENTO E ATIVIDADE FOTOSSINTÉTICA DAS MICROALGAS

Neste estudo, inicialmente foi analisada a influência das concentrações de glifosato sobre o comportamento cinético das microalgas. A densidade celular, por exemplo, é frequentemente utilizada como indicador associado aos efeitos tóxicos dos poluentes nos micro-organismos, uma vez que demonstra o efeito inibitório no metabolismo celular (KABRA et al., 2014). Nesse sentido, as concentrações de glifosato adicionadas aos cultivos não podem ultrapassar concentrações que venham a inibir o metabolismo celular e por consequência afetar

os processos de biodegradação. As curvas de crescimento das microalgas expostas a concentrações crescentes de glifosato, de 4 a 12 mg L⁻¹ e os respectivos ensaios controle, sem adição do herbicida são apresentadas na FIGURA 1.

FIGURA 1- CURVAS DE CRESCIMENTO DE *S. nidulans* LEB 115 (A) E *S. obliquus* LEB 117 (B) SUBMETIDAS A DIFERENTES CONCENTRAÇÕES DE GLIFOSATO (0 A 12 mg L⁻¹)



Em todos os ensaios realizados, observou-se a ausência de uma fase de adaptação no crescimento das microalgas. Além disso, elas demonstraram um comportamento de crescimento semelhante nos primeiros dias de cultivo, mesmo quando expostas a diferentes concentrações de glifosato. Esta constatação está de acordo com outros estudos da literatura, onde foi avaliado os efeitos deste herbicida sobre o comportamento de diferentes cianobactérias (LIN et al., 2023). Embora a adição de 12 mg L⁻¹ de glifosato tenha resultado em menores concentrações de biomassa para as microalgas estudadas ao final dos cultivos, é possível verificar que estas podem sobreviver em meio contendo o poluente (TABELA 1).

A adição de maiores concentrações de glifosato no cultivo de *S. nidulans* LEB 115 resultou em redução no crescimento da microalga. No entanto, apenas a $\mu_{\text{máx}}$ e tg foram significativamente afetados nos cultivos com 12 mg L⁻¹ de glifosato em relação ao controle. A $\mu_{\text{máx}}$ reduziu de $0,096 \pm 0,002 \text{ d}^{-1}$ para $0,084 \pm 0,003 \text{ d}^{-1}$ em relação ao controle. Como consequência o tg deste ensaio foi superior em relação a todos os experimentos realizados ($8,27 \pm 0,31 \text{ d}$). Os demais parâmetros como $X_{\text{máx}}$ e P_{biomassa} não apresentaram diferenças estatísticas significativas entre os cultivos desta microalga. Para *S. obliquus* LEB 117 não foram verificadas diferenças significativas ($p > 0,05$) nos parâmetros cinéticos do cultivo controle e das condições com adição de glifosato.

TABELA 1- CONCENTRAÇÃO MÁXIMA DE BIOMASSA ($X_{\text{máx}}$), VELOCIDADE ESPECÍFICA MÁXIMA DE CRESCIMENTO ($\mu_{\text{máx}}$), TEMPO DE GERAÇÃO (tg) E PRODUTIVIDADE DE BIOMASSA (P_{biomassa}) PARA *S. nidulans* LEB 115 E *S. obliquus* LEB 117

Cultivo com glifosato (mg L ⁻¹)	$X_{\text{máx}}$ (g L ⁻¹)	$\mu_{\text{máx}}$ (d ⁻¹)	tg (d)	P_{biomassa} (mg L ⁻¹ d ⁻¹)
<i>S. nidulans</i> LEB 115				
0	0,78 ^{a,B} ±0,03	0,096 ^{a,AB} ±0,002	7,23 ^{a,AB} ±0,14	39,44 ^{a,B} ±1,42
4	0,81 ^{a,B} ±0,07	0,093 ^{a,AB} ±0,002	7,44 ^{a,AB} ±0,16	41,58 ^{a,B} ±5,14
8	0,73 ^{a,B} ±0,02	0,092 ^{ab,AB} ±0,001	7,51 ^{ab,AB} ±0,07	37,07 ^{a,B} ±0,49
12	0,68 ^{a,B} ±0,04	0,084 ^{b,B} ±0,003	8,27 ^{b,A} ±0,31	33,13 ^{a,B} ±2,92
<i>S. obliquus</i> LEB 117				
0	1,20 ^{a,A} ±0,14	0,102 ^{a,A} ±0,008	6,81 ^{a,B} ±0,51	65,91 ^{a,A} ±9,26
4	1,19 ^{a,A} ±0,02	0,102 ^{a,A} ±0,002	6,79 ^{a,B} ±0,15	66,44 ^{a,A} ±1,89
8	1,13 ^{a,A} ±0,04	0,106 ^{a,A} ±0,003	6,54 ^{a,B} ±0,17	61,60 ^{a,A} ±2,72
12	1,11 ^{a,A} ±0,06	0,102 ^{a,A} ±0,006	6,82 ^{a,B} ±0,38	60,62 ^{a,A} ±4,43

Letras sobrescritas iguais na mesma coluna para diferentes concentrações de glifosato indicam que as respostas médias não diferiram significativamente quando utilizado teste de Tukey com nível de confiança de 95% ($p > 0,05$). Letras minúsculas referem-se à comparação entre diferentes concentrações de glifosato para a mesma microalga. Letras maiúsculas referem-se à comparação entre as microalgas. Os dados são apresentados como média ± desvio padrão.

Ao comparar os parâmetros cinéticos das duas microalgas, é possível verificar maior $X_{\text{máx}}$ para *S. obliquus* LEB 117. Estes encontram-se de acordo com estudo desenvolvido por Cruz et al. (2023) com as mesmas microalgas, os quais encontraram $X_{\text{máx}}$ de 1,39 e 0,92 g L⁻¹ para *S. obliquus* LEB 117 e *S. nidulans* LEB 115. Além disso, *S. obliquus* LEB 117 apresenta maiores produtividade de biomassa em relação a *S. nidulans* LEB 115.

Pesquisas anteriores demonstraram diferentes efeitos do glifosato em microalgas. Em estudo desenvolvido por Issa et al. (2013), concentrações de glifosato de 150, 300 e 600 ppm para *Scenedesmus quadricauda* e 37,5, 75 e 150 ppm para *Merismopedia glauca*, foram relacionadas a redução da densidade celular e concentração de clorofila a e b. Outro estudo demonstrou a relação de diferentes dosagens de glifosato (4, 6 e 8 mg L⁻¹) com a redução do crescimento celular de *Scenedesmus vacuolatus* em relação ao controle. As reduções no crescimento foram na ordem de 18% a 57% dependendo da concentração testada. Também foi verificada redução no conteúdo de clorofilas totais (a+b), alterações morfológicas e metabólicas, além de aumento significativo do estresse oxidativo (IUMMATO et al., 2019). No entanto, a resistência de diferentes microalgas/cianobactérias a concentrações significativas de

agrotóxicos foi relatada em diversos estudos. *Synechocystis* PCC 6803 e *Anabaena variabilis* ATCC 29413 demonstraram tolerância ao ácido livre do glifosato em concentrações de até 20 mM. Já a formulação comercial, Roundup®, demonstrou ser mais tóxica. Estes efeitos podem ser atribuídos a presença de surfactantes presentes na formulação do herbicida. A resistência destas microalgas ao glifosato não foi atribuída a biodegradação do agrotóxico, logo, sugeriu-se que as microalgas produzam uma enzima tolerante ao glifosato ou que haja uma superprodução da enzima 5-enolpiruvil shiquimato-3-fosfato sintase (EPSPS) (POWEL et al., 1991). Além das microalgas citadas, *Spirulina* spp. apresentou tolerância em 20 mM de glifosato, sem efeito inibitório no crescimento. Por esta microalga possuir a enzima alvo do glifosato, EPSPS, sendo bastante sensível ao glifosato, os autores atribuíram a tolerância a expressão da via degradativa do herbicida (LIPOK et al., 2007).

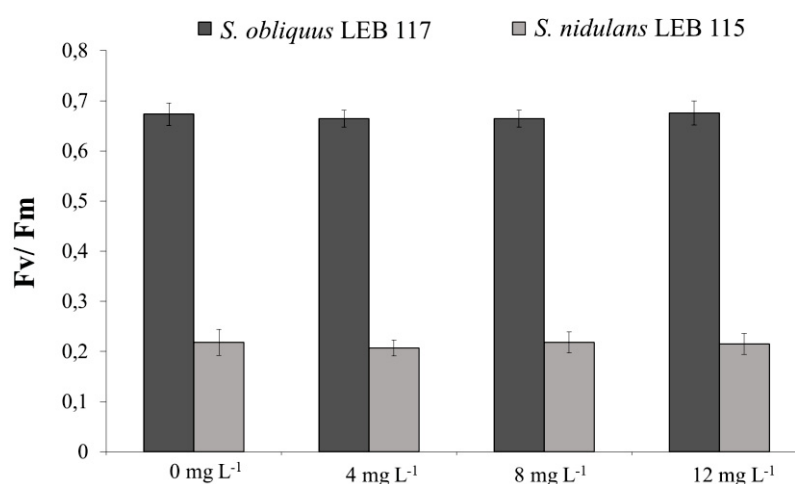
Os efeitos tóxicos do glifosato sobre as microalgas são dependentes da concentração do herbicida utilizado e das espécies microalgais, as quais variam em relação a fisiologia, citologia, genética e morfologia. O efeito deste herbicida nas microalgas tem sido relacionado ao efeito que causa nas plantas superiores, principalmente por ambas compartilharem vias metabólicas como a fotossintética, além da biossíntese de aminoácidos aromáticos pela via chiquimato. O mecanismo de ação do glifosato ocorre pela inibição da enzima EPSPS. Esta por sua vez é responsável pela produção dos aminoácidos aromáticos, os quais são usados na síntese de proteínas (IUMMATO et al., 2019). Porém, em estudo desenvolvido por Lin et al. (2023), foi relatado que cianobactérias como *Microcystis aeruginosa*, *Synechocystis* sp., *Synechococcus* sp., *Anabaena* sp., *Planktothrix* sp. não apresentaram inibição da enzima EPSPS quando expostas a 0 a 5000 $\mu\text{g L}^{-1}$ de glifosato, com exceção da *Pseudanabaena*. Também foi sugerido neste estudo que o glifosato é utilizado como fonte de fósforo, uma vez que concentrações de 5000 $\mu\text{g L}^{-1}$ estimularam principalmente o crescimento de cianobactérias como *Microcystis aeruginosa* e *Synechococcus* (LIN et al., 2023).

O estado fisiológico das microalgas (Fv/Fm) foi ainda confirmado pela estabilidade das atividades fotossintéticas para todas as condições de adição de glifosato nos cultivos (FIGURA 2). Estes valores representam uma medida não invasiva da atividade do fotossistema II (PSII), estimando o estado fisiológico da cultura (NORDIO et al., 2023).

Estudos anteriores indicam que pode haver redução destes valores quando as microalgas são cultivadas em condições de estresse celular, uma vez que a medida da atividade fotossintética reflete a toxicidade dos herbicidas ou dos produtos de sua degradação (HU et al., 2021). A redução nos valores Fv/ Fm ocorrem em virtude da redução da atividade do PSII ocasionada por condições desfavoráveis de crescimento (RANGLOVÁ et al., 2019). *Chlorella*

sp., por exemplo, quando exposta a diferentes concentrações de atrazina pura (herbicida) e na presença de subprodutos da degradação de atrazina em concentrações de 40 e 80 $\mu\text{g L}^{-1}$ apresentou redução no crescimento ($p < 0,05$) a partir de 4 d de cultivo. Nas concentrações de 40 e 80 $\mu\text{g L}^{-1}$ de atrazina degradada e 80 $\mu\text{g L}^{-1}$ de atrazina houve redução significativa ($p < 0,05$) na fotossíntese das microalgas (Fv/Fm), sendo a maior concentração do herbicida responsável pela maior inibição (HU et al., 2021).

FIGURA 2- ATIVIDADE FOTOSSINTÉTICA AO LONGO DO CULTIVO PARA AS MICROALGAS EXPOSTAS A DIFERENTES CONCENTRAÇÕES DE GLIFOSATO (0 a 12 mg L^{-1})



Fluorescência variável (Fv) e fluorescência máxima (Fm).

Segundo Nordio et al. (2023), valores Fv/ Fm entre 0,6 e 0,7 representam ausência de estresse em microalgas. No entanto, valores inferiores de Fv/Fm (0,31 e 0,38) foram verificados para cianobactérias do gênero *Nostoc*, *Cylindrospermum* e *Synechocystis* cultivadas em condições favoráveis de temperatura (30 °C). Semelhante a estes resultados, neste estudo foram verificados maiores valores de Fv/Fm para microalgas como *Scenedesmus* e valores inferiores para cianobactérias como *Synechococcus*. Contudo, os valores da atividade fotossintética encontrados se mantiveram constantes independente do aumento da concentração do herbicida nos cultivos, demonstrando que as microalgas não foram submetidas a condições de estresse significativo.

O glifosato quando presente em meio aquoso possui características ácidas. Embora apresente este comportamento, o pH das microalgas permaneceu na faixa de cultivo encontrado por outros estudos (CRUZ; ROSA; COSTA, 2023). Os perfis de pH dos ensaios controles permaneceram próximos ao das maiores concentrações de glifosato adicionados ao meio,

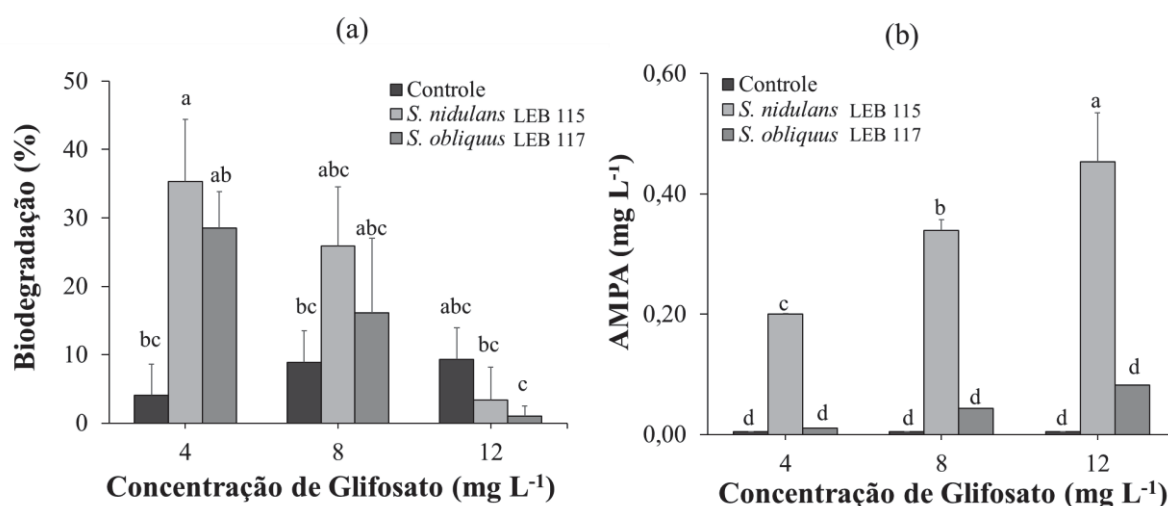
variando de $9,27 \pm 0,3$ a $9,57 \pm 0,32$ para *S. nidulans* LEB 115 e $9,40 \pm 0,37$ a $9,55 \pm 0,34$ para *S. obliquus* LEB 117, respectivamente.

3.2 BIODEGRADAÇÃO DE GLIFOSATO POR *S. nidulans* LEB 115 E *S. obliquus* LEB 117

Os mecanismos de ação das microalgas para realizar a biorremediação de glifosato podem ocorrer de diferentes formas, entre eles bioadsorção, bioacumulação e biodegradação. Além destes mecanismos, a fotodegradação e volatilização são processos naturais e que podem ocorrer durante o processo de biorremediação. No entanto, em função da baixa pressão de vapor do glifosato, a volatilização pode ser considerada desprezível (BAI; OGBOURNE, 2016).

As concentrações residuais de glifosato nos meios de cultivo, após um período de 15 d foram analisadas para determinar a capacidade de biodegradação das microalgas e a degradação abiótica ocasionada por fatores externos. A degradação abiótica foi avaliada em meio ausente de microalgas, contendo apenas meio BG-11 e glifosato. Os dados são apresentados na FIGURA 3a.

FIGURA 3- BIODEGRADAÇÃO DE GLIFOSATO (A) E FORMAÇÃO DE AMPA (B) POR *S. nidulans* LEB 115 E *S. obliquus* LEB 117



Os dados são apresentados a partir do valor médio $\pm$ desvio padrão. Letras iguais para mesmo gráfico indicam igualdade estatística a um nível de 95% de confiança ($p > 0,05$).

A partir dos dados obtidos observou-se maior eficiência de biodegradação na concentração de 4 mg L^{-1} de glifosato, sendo 35,31% para *S. nidulans* LEB 115 e 28,54% para *S. obliquus* LEB 117. As microalgas estudadas não apresentaram o mesmo potencial em utilizar o poluente como fonte de nutriente em 12 mg L^{-1} , uma vez que foi verificado redução da

biorremediação em relação as demais concentrações de glifosato. Neste caso, um período maior de biorremediação seria indicado, ou limitação das fontes de nutrientes, para que o glifosato fosse utilizado por estes micro-organismos.

Semelhante a este resultado, Kurade et al. (2016) verificaram redução nas eficiências de biodegradação de diazinon por *Chlorella vulgaris* ao aumentar a concentração do agrotóxico de 0,5 para 100 mg L⁻¹. Além disso, foi observado 18% de remoção de diazinon por fatores abióticos em meio controle sem microalgas contendo 20 mg L⁻¹, após 12 d de incubação. Em relação a este estudo, no ensaio controle com ausência de microalgas, após 15 d, houve redução da concentração de glifosato variando de 4,10; 8,85 e 9,33%, para as concentrações de 4, 8 e 12 mg L⁻¹. Esta remoção pode ter ocorrido em função dos fatores abióticos do meio, como por exemplo, foto-oxidação, entre outros. A maioria dos estudos envolvendo a biodegradação de glifosato por microalgas não faz menção da biodegradação do meio abiótico, sendo este um importante parâmetro para os processos de biorremediação.

As microalgas apresentam diferentes tolerâncias ao glifosato, bem como capacidades de biodegradação (RAJPUT et al., 2022). Estas características dependem da morfologia, área de superfície, tamanho das células, densidade microalgal inicial, tempo de contato e concentração do agrotóxico (DEVIRAM et al., 2020). Neste contexto, algumas microalgas e cianobactérias são amplamente conhecidas por degradarem estes compostos. Linhagens de *Spirulina platensis*, por exemplo, removem em apenas 7 d concentrações de 2 ppm de fosmete, etiona e parationa metílica, em percentuais de 70%, 61% e 50%, respectivamente (GUL et al., 2021). *Nannochloris oculata* foi responsável por uma remoção de 73% de lindano, um agrotóxico organofosforado, em concentrações de 0,1 mg L⁻¹ (PÉREZ-LEGASPI et al., 2016). *Oscillatoria limnetica* foi utilizada na biorremediação de glifosato em diferentes períodos de exposição 3, 5, 7, 14 e 35 d, demonstrando também boa capacidade de biorremediação. As maiores eficiências foram observadas nos maiores períodos de contato entre o agrotóxico e as microalgas, sendo 97,55% em 7 d com 5 mg L⁻¹, 57,9% e 37,18% em 14 d com 10 mg L⁻¹, 99,9% em 35 d com 20 mg L⁻¹ (SALMAN; ABDUL-ADEL, 2015). Forlani et al. (2008) descreveram a capacidade de seis cianobactérias (*Anabaena* sp., *Leptolyngbya boryana*, *Microcystis aeruginosa*, *Nostoc punctiforme*, *Spirulina platensis* e *Arthrospira fusiformis*) em utilizar fosfonato como única fonte de fósforo. Essa avaliação foi realizada a partir do crescimento destes micro-organismos na presença de glifosato, com meios padrões ou ausentes de qualquer fonte de fósforo. Destes micro-organismos, apenas *Spirulina platensis* e *Arthrospira fusiformis* não apresentaram capacidade em metabolizar glifosato como única fonte de fósforo. Esta característica foi relacionada com a absorção ineficiente do fosfonato. Porém,

em outro estudo realizado com *Spirulina* spp. foi demonstrada a capacidade desta microalga em biodegradar glifosato como única fonte de fósforo (LIPOK et al., 2007).

Geralmente, concentrações menores de agrotóxico são responsáveis por maiores percentuais de biodegradação, assim como maiores períodos de contato entre as microalgas e os herbicidas, ou adaptação prévia do inóculo a determinadas concentrações do herbicida. Nestes casos, a biodegradação de glifosato ocorre quando os micro-organismos transformam este composto a partir de diferentes rotas metabólicas, utilizando-o como fonte de carbono, fósforo e nitrogênio (CASTREJÓN-GODÍNEZ et al., 2021; ZHAN et al., 2018). Porém, nem todas as microalgas apresentam capacidade de biodegradação. Foi relatado anteriormente que *Synechocystis* PCC 6803 e *Anabaena variabilis* ATCC 29413 não demonstraram capacidade de biodegradar glifosato (POWEL et al., 1991).

Na biodegradação de glifosato, duas vias metabólicas principais são conhecidas, sendo elas AMPA e sarcosina (ZHAN et al., 2018). A principal rota de transformação resulta na formação de AMPA e glioxilato, correspondendo a aproximadamente 70% dos subprodutos do metabolismo de bactérias e fungos, principalmente (VILLAMAR-AYALA et al., 2019). Nesta via, a ligação carbono-nitrogênio é quebrada pela enzima glifosato oxidorreductase. O ácido glioxilato pode ser consumido pelos micro-organismos degradantes de glifosato, servindo como fonte de energia. No entanto, o AMPA representa uma ameaça ao ambiente, causando poluição secundária. Este composto pode ser metabolizado em metilamina e fosfato por alguns micro-organismos, a partir da catálise da enzima C-P liase. Outro caminho para a remoção de AMPA é a metabolização em fosforil formaldeído pela transaminase, sendo posteriormente transformado pela fosfatase em fosfato e formaldeído (CHEN et al., 2022; VILLAMAR-AYALA et al., 2019). A segunda rota de biodegradação é catalisada pela C-P liase, transformando o herbicida em sarcosina e fosfato, produto de maior interesse nos processos de biorremediação, porque desintoxica o glifosato, sendo a sarcosina utilizada como nutriente de crescimento (ZHAN et al., 2018). Neste caso, a ligação carbono-fósforo do glifosato é clivada pela catálise da C-P liase, e o glifosato é utilizado como fonte de fósforo (CHEN et al., 2022; SVIRIDOV et al., 2015; VILLAMAR-AYALA et al., 2019).

A identificação da formação de AMPA pelo metabolismo de *S. nidulans* LEB 115 e *S. obliquus* LEB 117 é demonstrada na FIGURA 3b. A partir dos resultados, é possível identificar maiores produções de AMPA pela microalga *S. nidulans* LEB 115, correspondendo a $0,20 \pm 0,01 \text{ mg L}^{-1}$; $0,34 \pm 0,02 \text{ mg L}^{-1}$ e $0,45 \pm 0,08 \text{ mg L}^{-1}$ para as concentrações, 4, 8 e 12 mg L^{-1} de glifosato adicionado ao meio, respectivamente. Estes dados são concomitantes aos maiores percentuais de biodegradação de glifosato desta microalga, quando comparada a

S. obliquus LEB 117. A *S. obliquus* LEB 117, apresentou a menor formação deste composto. Este comportamento pode estar relacionado à biodegradação pela rota metabólica sarcosina, uma vez que esta microalga apresentou capacidade de remoção do agrotóxico, principalmente em 4 e 8 mg L⁻¹ de glifosato. Embora os maiores percentuais de remoção de glifosato tenham ocorrido para as menores concentrações de glifosato testadas, foram verificadas maiores formações de AMPA para as concentrações de 12 mg L⁻¹ para ambas microalgas em estudo.

Até o momento, o rastreamento de espécies microalgais com capacidade de biodegradar glifosato pela via secundária é limitado, sendo ainda muito restrito a linhagens de fungos e bactérias. Por esse motivo, é extremamente importante este estudo para que se identifiquem espécies microalgais com tal potencial de biodegradação. Além disso, a disponibilização de nutrientes nos meios de cultivos são fatores que podem ser avaliados, uma vez que foi relatado anteriormente que concentrações de fósforo inorgânico podem estar relacionados a inibição da utilização de glifosato como fonte de fósforo para a formação de sarcosina, por diversos isolados de bactérias (FORLANI et al., 2008; ZHAN et al., 2018).

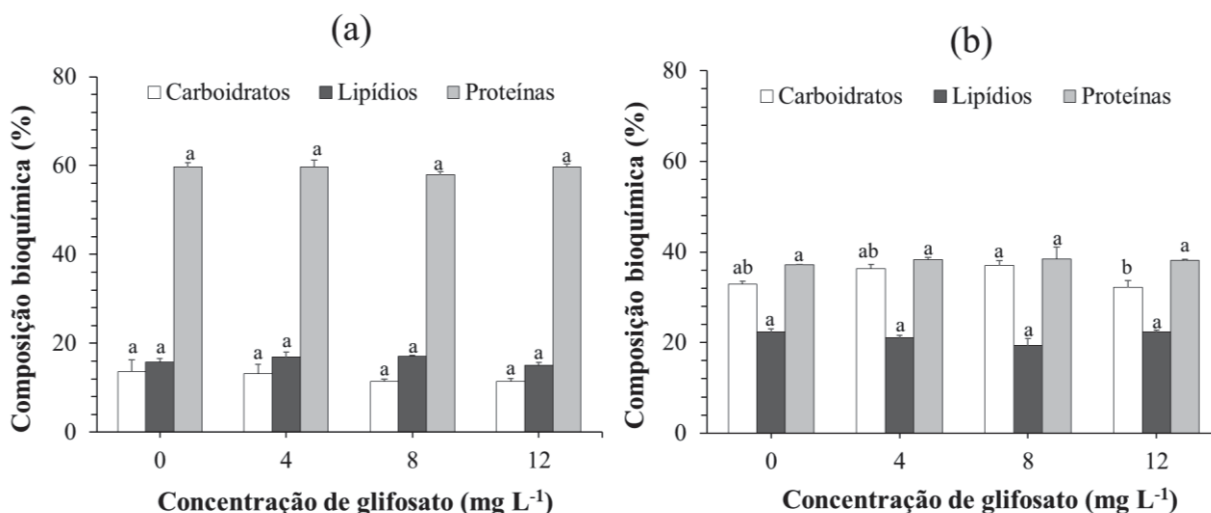
3.3 INFLUÊNCIA DO GLIFOSATO SOBRE A COMPOSIÇÃO BIOQUÍMICA DAS MICROALGAS

O conteúdo de carboidratos, lipídios e proteínas de *S. nidulans* LEB 115 e *S. obliquus* LEB 117 são apresentados na FIGURA 4. Os dados obtidos no crescimento celular das microalgas frente a diferentes concentrações de glifosato refletem também na composição bioquímica das microalgas, uma vez que não houve resultados significativos positivos da adição de glifosato nas concentrações de carboidratos, lipídios ou proteínas ($p > 0,05$) para as microalgas, em relação ao controle. Estes resultados podem estar relacionados com a tolerância destas microalgas a presença de glifosato e ausência de estresse oxidativo, uma vez que este está vinculado a alterações na composição bioquímica das microalgas. Outra hipótese é em relação ao não esgotamento das fontes de nitrogênio no meio de cultivo.

Em estudo realizado por Issa et al. (2013), foi demonstrado aumento nas concentrações de carboidratos quando se aumentou a concentração de glifosato de 150 ppm para 600 ppm em *Scenedesmus quadricauda*. Como consequência, o conteúdo de proteínas reduziu, uma vez que o glifosato atua na inibição da síntese de aminoácidos aromáticos (ISSA et al., 2013). Em relação ao presente estudo, pode-se verificar que as concentrações de glifosato adicionadas aos ensaios não foram suficientes para alterar os parâmetros de crescimento e atividade fotossintética das microalgas, não levando a um estresse oxidativo das células, que

possivelmente alteraria as concentrações das macromoléculas de maior interesse para produção de biocombustíveis.

FIGURA 4- CONTEÚDO DE CARBOIDRATOS, LIPÍDIOS E PROTEÍNAS (%) PARA *S. nidulans* LEB 115 (A) E *S. obliquus* LEB 117(B) EXPOSTAS A DIFERENTES CONCENTRAÇÕES DE GLIFOSATO



Valor médio $\pm$ desvio padrão. Letras iguais em barras de cores iguais para a mesma microalga indicam igualdade estatística a um nível de 95% de confiança ($p > 0,05$).

Ao comparar a composição bioquímica das microalgas, verificam-se maiores teores de carboidratos e lipídios para a *S. obliquus* LEB 117 ($33 \pm 1,08\%$ e $22 \pm 0,65\%$) em relação a *S. nidulans* LEB 115 ($14 \pm 2,70\%$ e $16 \pm 0,79\%$). Os maiores conteúdos de proteínas foram verificados para *S. nidulans* LEB 115 ($\approx 60\%$). A valorização de biomassa microalgal após processos de biorremediação é um dos mecanismos possíveis para reduzir os custos do processo. A obtenção destes bioprodutos pode variar de acordo com a composição bioquímica das microalgas e dos métodos utilizados. Entre os bioprodutos, pode-se citar valorização da biomassa a partir da produção de biocombustíveis, *biochar*, biogás, entre outros (GEREMEIA et al., 2021; MORAIS et al., 2022). No entanto, devido aos processos de adsorção e acumulação do agrotóxico, faz-se necessária a determinação deste composto na biomassa para que este não exerça efeitos tóxicos durante aplicações futuras, assim como ocorre com outros poluentes emergentes (REMPEL et al., 2021).

O uso de estratégias de biorremediação para o tratamento de águas contendo agrotóxicos como glifosato podem ainda ser conduzidas em águas residuais contendo outros poluentes. Neste caso, os mesmos, podem ser utilizados na substituição parcial ou total do meio BG-11, dependendo da composição do efluente utilizado. Em estudo conduzido por

Castellanos-Estupiñan et al. (2022) foi demonstrado que *Chlorella*, *Scenedesmus* e *Hapalosyphon* sp. podem ser cultivadas em águas residuais não diluídas provenientes do escoamento agrícola do cultivo de arroz. Estas microalgas são capazes de remover mais de 80% de NO₃, PO₄. Além disso, foi constatado que o agrotóxico Clorpirifós foi removido em eficiências de 42 % para *Chlorella*, seguido por 51% de *Scenedesmus* e 60% *Hapalosyphon*.

4 CONCLUSÕES

A utilização de micro-organismos para a biodegradação de glifosato é uma técnica promissora para os processos de remediação deste poluente da água. Neste estudo, 4 mg L⁻¹ de glifosato foi removido em percentuais de 33,31% e 28,54% para *S. nidulans* LEB 115 e *S. obliquus* LEB 117, respectivamente. As microalgas demonstraram resistência frente as concentrações de glifosato as quais foram expostas. A produção de AMPA foi verificada em menor quantidade para a microalga *S. obliquus* LEB 117, indicando que o glifosato pode ter sido biodegradado pela via sarcosina. Além disso, a composição bioquímica de *S. nidulans* LEB 115 e *S. obliquus* LEB 117, com altos teores de proteínas, carboidratos e lipídios, indica potencial em utilizar a biomassa das microalgas para a obtenção de produtos de interesse, após processos de biorremediação.

REFERÊNCIAS

- BAI, S. H.; OGBOURNE, S. M. Glyphosate: environmental contamination, toxicity and potential risks to human health via food contamination. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 23, n. 19, p. 18988–19001, 2016.
- BAILEY, J. E.; OLLIS, D. F. **Biochemical Engineering Fundamentals**. 2 ed. Singapore: McGraw-Hill, 1986.
- BORELLA, L.; NOVELLO, G.; GASPAROTTO, M.; RENELLA, G.; ROVERSO, M.; BOGIALLI, S.; FILIPPINI, F.; SFORZA, E. Design and experimental validation of an optimized microalgae-bacteria consortium for the bioremediation of glyphosate in continuous photobioreactors. **Journal of Hazardous Materials**, v. 441, p. 129921, 2023.
- CASTELLANOS-ESTUPIÑAN, M.A.; CARRILLO-BOTELLO, A.M.; ROZO-GRANADOS, L.S.; BECERRA-MORENO, D.; GARCÍA-MARTÍNEZ, J.B.; URBINA-SUAREZ, N.A.; LÓPEZ-BARRERA, G.L.; BARAJAS-SOLANO, A.F.; BRYAN, S.J.; ZUORRO, A. Removal of Nutrients and Pesticides from Agricultural Runoff Using Microalgae and Cyanobacteria. **Water**, v. 14, p. 558, 2022.

- CASTREJÓN-GODÍNEZ, M. L.; TOVAR-SÁNCHEZ, E.; VALENCIA-CUEVAS, L.; ROSAS-RAMÍREZ, M. E.; RODRÍGUEZ, A.; MUSSALI-GALANTE, P. Glyphosate Pollution Treatment and Microbial Degradation Alternatives, a Review. **Microorganisms**, v. 9, n. 11, p. 2322, 2021.
- CHEN, Y.; CHEN, W. J.; HUANG, Y.; LI, J.; ZHONG, J.; ZHANG, W.; ZOU, Y.; MISHRA, S.; BHATT, P.; CHEN, S. Insights into the microbial degradation and resistance mechanisms of glyphosate. **Environmental Research**, v. 215, p. 114153, 2022.
- CRUZ, C. G.; ROSA, A. P. C.; COSTA, J. A. V. Identification of the phytohormones indole-3-acetic acid and trans-zeatin in microalgae. **Journal of Chemical Technology and Biotechnology**, v. 98, n. 4, p. 1048–1056, 2023.
- DEVIRAM, G.; MATHIMANI, T.; ANTO, S.; AHAMED, T. S.; ANANTH, D. A.; PUGAZHENDHI, A. Applications of microalgal and cyanobacterial biomass on a way to safe, cleaner and a sustainable environment. **Journal of Cleaner Production**, v. 253, p. 119770, 2020.
- DUBOIS, M.; GILLES, K. A.; HAMILTON, J. K.; REBERS, P. A.; SMITH, F. Colorimetric Method for Determination of Sugars and Related Substances. **Analytical Chemistry**, v. 28, n. 3, p. 350–356, 1956.
- FERNANDES, G.; APARICIO, V. C.; BASTOS, M. C.; DE GERÓNIMO, E.; LABANOWSKI, J.; PRESTES, O. D.; ZANELLA, R.; DOS SANTOS, D. R. Indiscriminate use of glyphosate impregnates river epilithic biofilms in southern Brazil. **Science of The Total Environment**, v. 651, p. 1377–1387, 2019.
- FORLANI, G.; PAVAN, M.; GRAMEK, M.; KAFARSKI, P.; LIPOK, J. Biochemical Bases for a Widespread Tolerance of Cyanobacteria to the Phosphonate Herbicide Glyphosate. **Plant and Cell Physiology**, v. 49, n. 3, p. 443–456, 2008.
- GEREMIA, E.; RIPA, M.; CATONE, C. M.; ULGIATI, S. Bioremediation and Biomass Production—A New Challenge for Europe. **Environments**, v. 8, n. 12, p. 136, 2021.
- GUL, O.; YOLA, B. B.; KIRAN, T. R.; YOLA, M. L. *Spirulina platensis* and Bioremediation of Phosmet, Ethion, Methyl Parathion pesticides. **Journal of Intelligent Systems with Applications**, p. 50–57, 2021.
- HU, N.; XU, Y.; SUN, C.; ZHU, L.; SUN, S.; ZHAO, Y.; HU, C. Removal of atrazine in catalytic degradation solutions by microalgae *Chlorella* sp. and evaluation of toxicity of degradation products via algal growth and photosynthetic activity. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 207, p. 111546, 2021.
- IORI, S.; DALLA ROVERE, G.; EZZAT, L.; SMITS, M.; FERRARESSO, S. S.; BABBUCCI, M.; MARIN, M. G.; MASIERO, L.; FABRELLO, J.; GARRO, E.; CARRARO, L.; CARDAZZO, B.; PATARNELLO, T.; MATOZZO, V.; BARGENOLLI, L.; MILAN, M. The effects of glyphosate and AMPA on the mediterranean mussel *Mytilus galloprovincialis* and its microbiota. **Environmental Research**, v. 182, p. 108984, 2020.

ISSA, A. A. E.; ADAM, M. S.; FAWZY, M. A. Alterations in some metabolic activities of *Scenedesmus quadricauda* and *Merismopedia glauca* in response to glyphosate herbicide. **Journal of Biology and Earth Sciences**, v. 3, n. 1, p. 17-23, 2013.

IUMMATO, M. M.; FASSIANO, A.; GRAZIANO, M.; AFONSO, M. dos S.; MOLINA, M. del C. R. de; JUÁREZ, Á. B. Effect of glyphosate on the growth, morphology, ultrastructure and metabolism of *Scenedesmus vacuolatus*. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 172, p. 471–479, 2019.

KABRA, A. N.; JI, M. K.; CHOI, J.; KIM, J. R.; GOVINDWAR, S. P.; JEON, B. H. Toxicity of atrazine and its bioaccumulation and biodegradation in a green microalga, *Chlamydomonas mexicana*. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 21, n. 21, p. 12270–12278, 2014.

KURADE, M. B.; KIM, J. R.; GOVINDWAR, S. P.; JEON, B. H. Insights into microalgae mediated biodegradation of diazinon by *Chlorella vulgaris*: Microalgal tolerance to xenobiotic pollutants and metabolism. **Algal Research**, v. 20, p. 126–134, 2016.

LIMA, I. B.; BOËCHAT, I. G.; FERNANDES, M. D.; MONTEIRO, J. A. F.; RIVAROLI, L.; GÜCKER, B. Glyphosate pollution of surface runoff, stream water, and drinking water resources in Southeast Brazil. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 30, p. 27030–27040, 2022.

LIN, W.; ZHANG, Z.; CHEN, Y.; ZHANG, Q.; KE, M.; LU, T.; QIAN, H. The mechanism of different cyanobacterial responses to glyphosate. **Journal of Environmental Sciences**, v. 125, p. 258–265, 2023.

LIPOK, J.; OWSIAK, T.; MŁYNARZ, P.; FORLANI, G.; KAFARSKI, P. Phosphorus NMR as a tool to study mineralization of organophosphonates—The ability of *Spirulina* spp. to degrade glyphosate. **Enzyme and Microbial Technology**, v. 41, n. 3, p. 286–291, 2007.

LOWRY, O.H.; ROSEBROUGH, N. J.; FARR, A. L.; RANDALL, R. J. Protein measurement with the Folin phenol reagent. **Journal of Biological Chemistry**, p. 265–276, 1951.

MARSH, J. B.; WEINSTEIN, D. B. Simple charring method for determination of lipids. **Journal of lipid research**, v. 7, n. 4, p. 574-576, 1966.

MEFTAUL, I. M.; VENKATESWARLU, K.; DHARMARAJAN, R.; ANNAMALAI, P.; ASADUZZAMAN, M.; PARVEN, A.; MEGHARAJ, M. Controversies over human health and ecological impacts of glyphosate: Is it to be banned in modern agriculture? **Environmental Pollution**, v. 263, p. 114372, 2020.

MOHANTY, S. S.; DAS, A. P. A Systematic Study on the Microbial Degradation of Glyphosate: A Review. **Geomicrobiology Journal**, v. 39, n. 3–5, p. 316–327, 2021.

MORAIS, M. G.; ZAPAROLI, M.; LUCAS, B. F.; COSTA, J. A. V. Microalgae for bioremediation of pesticides: Overview, challenges, and future trends. In: AHMAD, A.; BANAT, F.; TAHER, H. (Eds.). **Algal Biotechnology: Microalgae for bioremediation of pesticides: Overview, challenges, and future trends**. Elsevier, 2022. p. 63–78.

NORDIO, R.; DELGADO, F. J.; SÁNCHEZ-ZURANO, A.; HERNANDEZ, J. G.; RODRÍGUEZ-MIRANDA, E.; GUZMÁN, J. L.; LAFARGA, T.; ACIÉN, G. Long-term assessment of the nutrient recovery capacity and biomass productivity of *Scenedesmus almeriensis* in raceway reactors using unprocessed urban wastewater. **Bioresource Technology**, v. 369, p. 128374, 2023.

PANDEY, A.; SINGH, M. P.; KUMAR, S.; SRIVASTAVA, S. Phycoremediation of Persistent Organic Pollutants from Wastewater: Retrospect and Prospects. In: GUPTA, S. K.; BUX, F. (Eds). **Application of Microalgae in Wastewater Treatment**. Springer, Cham. 2019. p. 207–235.

PEILLEX, C.; PELLETIER, M. The impact and toxicity of glyphosate and glyphosate-based herbicides on health and immunity. **Journal of Immunotoxicology**, v. 17, n. 1, p. 163–174, 2020.

PEREIRA, H. A.; HERNANDES, P. R. T.; NETTO, M. S.; RESKE, G. D.; VIECELI, V.; OLIVEIRA, L. F. S.; DOTTO, G. L. Adsorbents for glyphosate removal in contaminated waters: a review. **Environmental Chemistry Letters**, v. 19, n. 2, p. 1525–1543, 2020.

PÉREZ-LEGASPI, I. A.; ORTEGA-CLEMENTE, L. A.; MOHA-LEÓN, J. D.; RÍOS-LEAL, E.; GUTIÉRREZ, S. C. R.; RUBIO-FRANCHINI, I. Effect of the pesticide lindane on the biomass of the microalgae *Nannochloris oculata*. **Journal of Environmental Science and Health**, v. 51, n. 2, p. 103–106, 2016.

POWELL, H. A.; KERBBY, N. W.; ROWELL, P. Natural tolerance of cyanobacteria to the herbicide glyphosate. **New Phytologist**, v. 119, n. 3, p. 421–426, 1991.

RAJPUT, V.; JAISWAL, K. K.; KUMAR, V.; VLASKIN, M. S.; NANDA, M.; KUMAR, S.; VERMA, M. Microalgae: A Promising Tool for Pesticide Mitigation in Wastewater. **Pesticides Bioremediation**, p. 399–410, 2022.

RANGLOVÁ, K.; LAKATOS, G. E.; MANOEL, J. A. C.; GRIVALSKÝ, T.; MASOJÍDEK, J. Rapid screening test to estimate temperature optima for microalgae growth using photosynthesis activity measurements. **Folia Microbiologica**, v. 64, n. 5, p. 615–625, 2019.

REMPEL, A.; BIOLCHI, G. N.; ANTUNES, A. C. F.; GUTKOSKI, J. P.; TREICHEL, H.; COLLA, L. M. Cultivation of Microalgae in Media Added of Emergent Pollutants and Effect on Growth, Chemical Composition, and Use of Biomass to Enzymatic Hydrolysis. **Bioenergy Research**, v. 14, n. 1, p. 265–277, 2021.

RIPPKA, R.; DERUELLES, J.; WATERBURY, J. B. Generic assignments, strain histories and properties of pure cultures of cyanobacteria. **Journal of General Microbiology**, v. 111, n. 1, p. 1–61, 1979.

SALMAN, J. M.; ABDUL-ADEL, E. Potential use of cyanophyta species *Oscillatoria limnetica* in bioremediation of organophosphorus herbicide glyphosate. **Mesopotamia Environmental Journal**, v. 1, n. 4, 2015.

SVIRIDOV, A. V.; SHUSHKOVA, T. V.; ERMAKOVA, I. T.; IVANOVA, E. V.; EPIKTETOV, D. O.; LEONT'EVSKII, A. A. Microbial degradation of glyphosate herbicides (review). **Prikladnaia biokhimiia i mikrobiologiia**, v. 51, n. 2, p. 183–190, 2015.

TOULIABAH, H. E. S.; EL-SHEEKH, M. M.; ISMAIL, M. M.; EL-KASSAS, H. A Review of Microalgae- and Cyanobacteria-Based Biodegradation of Organic Pollutants. **Molecules**, v. 27, n. 3, p. 1141, 2022.

VAN BRUGGEN, A. H. C.; HE, M. M.; SHIN, K.; MAI, V.; JEONG, K. C.; FINCKH, M. R.; MORRIS, J. G. Environmental and health effects of the herbicide glyphosate. **Science of The Total Environment**, v. 616–617, p. 255–268, 2018.

VILLAMAR-AYALA, C. A.; CARRERA-CEVALLOS, J. V.; VASQUEZ-MEDRANO, R.; ESPINOZA-MONTERO, P. J. Fate, eco-toxicological characteristics, and treatment processes applied to water polluted with glyphosate: A critical review. **Critical Reviews in Environmental Science and Technology**, v. 49, n. 16, p. 1476–1514, 2019.

ZABALOY, M. C.; ALLEGRI, M.; HERNANDEZ GUIJARRO, K.; BEHRENDT, KRAEMER, F.; MORRÁS, H.; ERIJMAN, L. Microbiomes and glyphosate biodegradation in edaphic and aquatic environments: recent issues and trends. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, v. 38, n. 6, p. 1–29, 2022.

ZHAN, H.; FENG, Y.; FAN, X.; CHEN, S. Recent advances in glyphosate biodegradation. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 102, n. 12, p. 5033–5043, 2018.

ARTIGO III

Biodegradação do herbicida glifosato por meio de cultivos axênicos e consórcios microalgais

RESUMO

A produção agrícola aumentou consideravelmente a poluição dos recursos hídricos por agrotóxicos, particularmente de glifosato, um dos herbicidas mais utilizados no mundo. Nesse sentido, as tecnologias baseadas em cultivos de microalgas axênicas ou consórcios têm demonstrado ser alternativa aos processos de remediação usuais, principalmente por possuírem características sustentáveis. O objetivo deste estudo foi avaliar a eficiência dos processos de biodegradação de glifosato e os parâmetros cinéticos de *Synechococcus nidulans* LEB 115 e *Scenedesmus obliquus* LEB 117 em sistemas de cultivos axênicos ou em consórcios. Para realização dos experimentos, diferentes proporções de cada microalga foram utilizadas (100:0%, 75:25%, 50:50% e 25:75%) em cultivos com meio BG-11, adicionados de 4 mg L⁻¹ de glifosato. Os ensaios foram realizados em biorreatores *Erlenmeyers* com volume útil de 150 mL, a 150 rpm, fotoperíodo 12 h claro/ 12 h escuro e luminosidade de 41,6 $\mu\text{mol f\acute{o}tons m}^{-2}\text{s}^{-1}$, por 15 d. Ao final dos cultivos foi realizada composição das macromoléculas (carboidratos, lipídios e proteínas). A concentração residual de glifosato e produção do ácido aminometilfosfônico (AMPA) foi realizada por Cromatografia Líquida acoplada a Espectrometria de Massas em Série (LC-MS/MS) a partir do sobrenadante obtido ao final do cultivo. Os resultados demonstraram resistência das microalgas quando expostas a concentrações de 4 mg L⁻¹. O sistema de cultivo, seja em cultura axênica ou consórcio, não influenciou positivamente nos processos de biodegradação. No entanto, foram observadas menores produções de AMPA, que é o principal metabólito do glifosato, na cultura pura de *S. obliquus* LEB 117, sendo igual ao controle, onde não houve produção ($p > 0,05$). A biomassa de *S. obliquus* LEB 117 produzida durante o cultivo apresenta potencial para ser utilizada nos processos de produção de biocombustíveis, uma vez que apresentou 41,2% de carboidratos e 21,0% de lipídios para os ensaios com glifosato. Dessa forma, os resultados deste estudo indicam que a microalga pode crescer utilizando glifosato como fonte de nutriente, realizando a remoção do herbicida e sendo fonte sustentável para a produção de biocombustíveis, sem gerar poluição secundária pela geração de AMPA.

Palavras-chave: Ácido aminometilfosfônico (AMPA). Agrotóxicos. Biorremediação. Cianobactéria. Fitorremediação.

1 INTRODUÇÃO

O uso excessivo de agrotóxicos, especialmente do glifosato, representa uma das principais ameaças à qualidade dos recursos hídricos em muitas regiões do mundo. O glifosato é amplamente utilizado em áreas agrícolas e urbanas para controle de plantas invasoras. No entanto, o uso deste herbicida pode levar à contaminação dos cursos hídricos, afetando não apenas a qualidade da água, mas também a biodiversidade aquática e a saúde humana (BOTTA et al., 2009; FELTRACCO et al., 2022; MUÑOZ et al., 2023; NIE et al., 2020). Os agrotóxicos podem persistir no ambiente por longos períodos. Devido a isso, preocupações sobre os efeitos do glifosato na saúde humana foram relatadas em diversos estudos, nos quais o herbicida foi correlacionado com o desenvolvimento de doenças como câncer, doença celíaca, desregulação endócrina, autismo, entre outros problemas de saúde (MEFTAUL et al., 2020; VAN BRUGGEN et al., 2018).

O glifosato (N-(fosfonometil)glicina) é um herbicida organofosforado, não seletivo, de amplo espectro e altamente solúvel em água (ANNETT; HABIBI; HONTELA, 2014; OKADA et al., 2020). Por esse motivo, as rotas de contaminação das águas subterrâneas e superficiais ocorrem principalmente após pulverização, a partir da infiltração no solo e/ou escoamento superficial, no qual a ação das chuvas são as maiores responsáveis por conduzir os compostos para rios e lagos (LIPOK; STUDNIK; GRUYAERT, 2010; WU et al., 2016). O transporte do glifosato é fortemente dependente das condições do solo e intensidade das chuvas. Com isso, estudos demonstraram concentrações relevantes deste agrotóxico em recursos hídricos, em concentrações que variam de $\mu\text{g L}^{-1}$ a mg L^{-1} , na maioria das vezes acima dos limites permitidos pelas legislações vigentes (LIMA et al., 2022; LUTRI et al., 2020; OKADA et al., 2020). Logo, a problemática do uso de agrotóxicos na poluição destes recursos é um tema urgente e requer uma abordagem integrada levando em consideração a proteção ambiental, a saúde humana e a segurança alimentar.

As microalgas são opção promissora para a biorremediação de águas contaminadas com agrotóxicos (MATAMOROS; RODRÍGUEZ, 2016; NASIRI; AHMADZADEH; AMIRI, 2023; SUTHERLAND; RALPH, 2019). Estes micro-organismos podem utilizar o glifosato como fonte de nutrientes (carbono, fósforo e nitrogênio) para o crescimento, tolerando concentrações de glifosato 3 ou 4 vezes superiores às encontradas normalmente nos ambientes contaminados (BORELLA et al., 2023; FORLANI et al., 2008). As microalgas oferecem ainda um sistema de tratamento sustentável, reduzindo as concentrações de CO_2 atmosférico, ao tempo em que realizam a biorremediação e produzem biomassa, a qual pode ser utilizada para

a obtenção de uma variedade de subprodutos de interesse. Além disso, possuem diversidade nos modos de operação dos cultivos, podendo ser utilizadas linhagens puras ou em consórcios. Neste cenário, os consórcios oferecem uma opção robusta, auxiliando na colheita de espécies microalgais e evitando perdas de microalgas individuais durante os cultivos. Estes sistemas também são adequados ao tratamento de águas residuais, nos quais as microalgas podem ser expostas a condições *outdoor* com diferentes estresses celulares (MAGRO et al., 2022; ZHU; HUO; FENG, 2019). Entre as principais vantagens do uso de consórcios de micro-organismos pode-se citar maiores eficiências nos processos de biorremediação e aumento da densidade celular, a qual pode ser utilizada em processos posteriores de valorização da biomassa (SOUSA et al., 2023).

No entanto, até o momento, poucas pesquisas foram realizadas utilizando consórcios combinando microalga–microalga/ cianobactéria para remoção de agrotóxicos. A literatura indica estudos utilizando este sistema de consórcio para remoção de nutrientes de efluentes de laticínios (QIN et al., 2016), pós-tratamento de efluentes da digestão anaeróbia de resíduos bovinos (MAGRO et al., 2022) e tratamento de águas residuais municipais (SILVA-BENAVIDES; TORZILLO, 2012). Em relação ao glifosato, identificou-se processos de biorremediação em águas residuais sintéticas e reais a partir de consórcio bactéria-microalga, na qual o herbicida foi reduzido em 53 e 79%, respectivamente, sem formação de ácido aminometilfosfônico (AMPA) (BORELLA et al., 2023). Embora alguns estudos indiquem a toxicidade do glifosato em relação a algumas microalgas (ISSA et al., 2013; IUMMATO et al., 2019), até o momento, não foram encontrados estudos com a avaliação de consórcios de microalga-microalga para a remoção de glifosato em meio aquoso com identificação da produção de AMPA.

Os processos de remoção de agrotóxicos por microalgas podem ocorrer por biodegradação, bioacumulação e bioadsorção (MORAIS et al., 2022). Destes, a biodegradação é de fundamental importância, uma vez que é responsável pela transformação do glifosato em compostos de menor toxicidade para o ambiente. No entanto, a maioria das linhagens com potencial uso em processos de biodegradação de glifosato, em torno de 70%, dos quais destacam-se bactérias e fungos, apresentam a formação de AMPA como principal subproduto do metabolismo. Este composto é considerado uma problemática secundária, uma vez que apresenta toxicidade no ambiente (VILLAMAR-AYALA et al., 2019). Portanto, a verificação da formação dos produtos do metabolismo é essencial para verificar as vias de degradação nos processos de biorremediação.

Com base nisso, o objetivo deste estudo foi avaliar a eficiência dos processos de biodegradação de glifosato e o comportamento cinético de *Synechococcus nidulans* LEB 115 e *Scenedesmus obliquus* LEB 117 em sistemas de cultivos axênicos ou em consórcios.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 MICRO-ORGANISMOS E CONDIÇÕES DE CULTIVO

Para a realização dos consórcios microalgais foram utilizadas as microalgas *Synechococcus nidulans* LEB 115 e *Scenedesmus obliquus* LEB 117, pertencentes ao banco de linhagens do Laboratório de Engenharia Bioquímica da Universidade Federal do Rio Grande (FURG), Brasil. As microalgas foram cultivadas em meio BG-11 composto por (g L⁻¹): NaNO₃ (1,5), K₂HPO₄.3H₂O (0,04), MgSO₄.7H₂O (0,075), CaCl₂.2H₂O (0,036), citrato férrico amoniacal (0,006), EDTA dissódico (0,001), Na₂CO₃ (0,02), ácido cítrico (0,006) mais 1 mL L⁻¹ de solução A5+Co contendo micronutrientes (RIPPKA; DERUELLES; WATERBURY, 1979). O meio de cultivo foi esterilizado por 30 min a 121 °C.

Os inóculos das microalgas foram mantidos em estufa termostaticada a 30 °C, sob luminosidade de 80 μmol fôtons m⁻²s⁻¹, fotoperíodo de 12 h claro/ 12 h escuro, em reatores do tipo *Erlenmeyers* de 2000 mL (com volume útil de 1800 mL) e aerados com ar comprimido (MORAIS; COSTA, 2007). Os consórcios foram obtidos pela mistura dos inóculos em diferentes proporções, conforme demonstrado na TABELA 1. Os cultivos foram realizados por 15 d em *Erlenmeyers* de 250 mL (com volume útil de 150 mL), com concentração inicial do inóculo de 0,20 g L⁻¹ para cada microalga. Os cultivos foram realizados em incubadora com agitação orbital a 150 rpm, sob condições controladas de temperatura (30 °C), luminosidade (41,6 μmol fôtons m⁻² s⁻¹), fotoperíodo (12 h claro/ 12 h escuro) e adição de 4 mg L⁻¹ de glifosato. Ensaio controle sem adição de glifosato e em cultura axênica foram realizados para ambas microalgas, assim como controle contendo 4 mg L⁻¹ de glifosato em meio BG-11 sem adição de microalgas para avaliação da degradação por fatores abióticos. Todos os experimentos foram realizados em duplicata. Diariamente, foi realizado acompanhamento dos cultivos em microscópio para garantir ausência de contaminação. Ao final dos experimentos, a biomassa foi coletada por centrifugação (utilizando centrífuga modelo Hitachi, Himac CR-GIII, fabricado no Japão) a 2000 x g durante 20 min. Em seguida, as amostras foram congeladas a -80 °C, liofilizadas e armazenadas a -20 °C para as análises de caracterização.

2.2 PREPARO DA SOLUÇÃO ESTOQUE E DETERMINAÇÃO DO GLIFOSATO

Uma solução estoque de glifosato de grau analítico, obtido da Sigma-Aldrich (nº 1071-83-6) (N-(fosfonometil)glicina) foi previamente preparada em concentração de 500 mg L⁻¹, sendo posteriormente filtrada utilizando membrana Millipore 0,2 µm. As concentrações de glifosato e AMPA dos cultivos foram determinados por análise de Cromatografia Líquida acoplado a Espectrometria de Massas em Série (LC-MS/MS). A eficiência de remoção de glifosato no meio residual (%) foi determinada conforme Equação 1.

$$R (\%) = \frac{C_0 - C_f}{C_0} 100\% \quad (1)$$

Onde C₀ é a concentração inicial de glifosato no meio (mg L⁻¹), C_f é a concentração final de glifosato no 15º d de cultivo (mg L⁻¹) e R é a porcentagem de remoção do herbicida (%).

2.3 PARÂMETROS CINÉTICOS, ATIVIDADE FOTOSSINTÉTICA E COMPOSIÇÃO DAS MACROMOLÉCULAS

A densidade microalgal obtida dos consórcios foi determinada a cada 24 h a partir de contagem de células em câmara de *Neubauer*, sendo expressa em número de células por mL⁻¹. A contagem foi realizada usando microscópio (Axiocan Erc 5s Microscope Cam, Zeiss, Germany) (CASSURIAGA et al., 2020). Para o preparo dos inóculos foi utilizando curva padrão relacionando a densidade óptica e massa seca (COSTA et al., 2002), obtido a partir de medida de densidade óptica em espectrofotômetro a 670 nm (espectrofotômetro Shimadzu UV/VIS UVmin-1240, Japão),

A velocidade específica máxima de crescimento (µ_{máx}, d⁻¹) foi determinada pela regressão exponencial da fase logarítmica de crescimento. A produtividade celular máxima (P_{máx}, células por mL⁻¹ d⁻¹) foi determinada conforme Equação 2. Também foi determinada a concentração máxima de biomassa (X_{máx}, número de células por mL⁻¹) (BAILEY; OLLIS, 1986).

$$P_{máx} (\text{células mL}^{-1} \text{ d}^{-1}) = \frac{X_t - X_0}{t - t_0} \quad (2)$$

Onde X_t a concentração de células (número de células por mL^{-1}) no tempo t (d), X_0 é a concentração de células (número de células por mL^{-1}) no tempo t_0 (d).

A fluorescência da clorofila das células microalgais (F_v/F_m) ocorreu após aclimação das células ao escuro por 15 min, com posterior determinação por equipamento portátil Fluorímetro AquaPen AP 100 (Photon System-Instrument) (NORDIO et al., 2023).

Para determinação dos teores de carboidratos e proteínas, foram utilizados extratos contendo 5 mg de biomassa liofilizada, os quais foram adicionados a 10 mL de água destilada e submetidos a ruptura celular por meio de sonda ultrassônica (modelo Cole Parmer, CPX 130, fabricado nos EUA) para liberação do material intracelular. Os extratos foram sonicados em 10 ciclos operacionais, cada um com 59 seg on/off.

Para determinar o conteúdo de carboidratos, foi utilizado o método fenol-sulfúrico descrito por Dubois et al. (1956). A concentração de proteínas totais foi determinada conforme descrito por Lowry et al. (1951), com prévia hidrólise alcalina. O conteúdo de lipídios foi determinado por meio de método colorimétrico, utilizando curva padrão de tripalmitina, de acordo com metodologia estabelecida por Marsh e Weinstein (1966).

2.4 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os resultados foram avaliados pela Análise de Variância (ANOVA) seguida por teste de Tukey para comparação das médias ($p < 0,05$). Os resultados foram apresentados por média $\pm$ desvio padrão. Os ensaios foram realizados em duplicata.

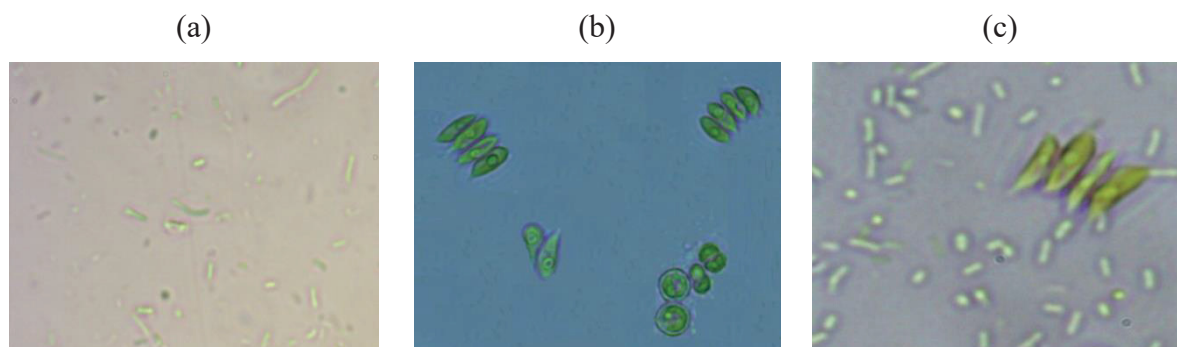
3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 INFLUÊNCIA DO GLIFOSATO E DOS CONSÓRCIOS MICROALGAIS SOBRE OS PARÂMETROS CINÉTICOS

A FIGURA 1 apresenta as micrografias dos cultivos microalgais das culturas axênicas de *S. nidulans* LEB 115, *S. obliquus* LEB 117 e o consórcio de ambas microalgas. Os micro-organismos utilizados no consórcio possuem morfologias variadas. O gênero *Synechococcus* são cianobactérias unicelulares, procarióticas e fotossintetizantes. As células apresentam-se em formato oval alongado ou cilíndrico (FANKA et al., 2022; FORLANI; CAMPANI, 2001). Já o gênero *Scenedesmus* são microalgas da classe *Chlorophytas*, unicelulares e uninucleadas, na

forma elipsoidais. Estas microalgas formam colônias pela união de 2 a 16 células dispostas lado a lado (FRANCESCHINI et al., 2009).

FIGURA 1- OBSERVAÇÕES MICROSCÓPICAS (AUMENTO DE 50 x) DAS CÉLULAS MICROALGAIS EM CULTURA AXÊNICA DE *S. nidulans* LEB 115 (A), *S. obliquus* LEB 117 (B) E CONSÓRCIO DAS DUAS MICROALGAS (C)



As microalgas e cianobactérias, são reconhecidas pela capacidade de adaptação a condições de estresse causadas por contaminações nos ambientes aquáticos. Em relação as contaminações por glifosato, foi relatado que alguns gêneros como *Nostoc* e *Spirulina* apresentam tolerância maior ao glifosato e a isopropilamina (sal utilizado na formulação de glifosato) do que outros gêneros de microalgas como *Anabaena*, *Leptolyngbya* e *Microcystis* (LIPOK; STUDNIK; GRUYAERT, 2010). Em relação a *S. nidulans* LEB 115 e *S. obliquus* LEB 117 avaliadas neste estudo, concentrações de 4 mg L^{-1} de glifosato não influenciaram negativamente nos parâmetros cinéticos avaliados ($X_{\text{máx}}$, $P_{\text{máx}}$, $\mu_{\text{máx}}$) para os cultivos axênicos, de ambas microalgas. Os dados podem ser observados na TABELA 1.

Os resultados da TABELA 1 mostram que menores $X_{\text{máx}}$ foram obtidos para a *S. obliquus* LEB 117, sendo $3,965 \text{ cél.}10^4 \text{ ml}^{-1}$ e $3,735 \text{ cél.}10^4 \text{ ml}^{-1}$ para cultivos controle e com 4 mg L^{-1} de glifosato, respectivamente. O efeito da adição de agrotóxicos depende da concentração utilizada e das características de cada microalga. Por exemplo, em estudo utilizando 5 mg L^{-1} glifosato, *Chlorella protothecoides* apresentou aumento na concentração celular. Isto ocorreu pela maior quantidade de nutrientes como fósforo e nitrogênio disponibilizados pelo glifosato durante o processo de biorremediação (BORELLA et al., 2023). Já para *Microcystis aeruginosa*, a presença de glifosato em concentrações superiores a $0,8 \text{ mg L}^{-1}$ foi responsável por redução na $\mu_{\text{máx}}$ (WANG; JIANG; SHENG, 2021).

TABELA 1- ATIVIDADE FOTOSSINTÉTICA, CONCENTRAÇÃO CELULAR MÁXIMA ($X_{\text{máx}}$), VELOCIDADE ESPECÍFICA MÁXIMA DE CRESCIMENTO ($\mu_{\text{máx}}$) E PRODUTIVIDADE MÁXIMA ($P_{\text{máx}}$) PARA OS CULTIVOS AXÊNICOS E EM CONSÓRCIOS COM AS MICROALGAS DE *S. obliquus* LEB 117 E *S. nidulans* LEB 115

Atividade		S. obliquus LEB 117			S. nidulans LEB 115		
Experimento	fotossintética (Fv/Fm)	X _{máx} (cél.10 ⁴ mL ⁻¹)	μ _{máx} (d ⁻¹)	P _{máx} (cél.10 ⁴ mL ⁻¹ d ⁻¹)	X _{máx} (cél.10 ⁶ mL ⁻¹)	μ _{máx} (d ⁻¹)	P _{máx} (cél.10 ⁶ mL ⁻¹ d ⁻¹)
Sy-controle	0,235±0,03	-	-	-	0,574±0,03 ^{a,A}	0,062±<0,01 ^{c,B}	0,060±<0,01 ^{b,B}
Sc-controle	0,687±0,03	3,965±0,09 ^{c,A}	0,182±<0,01 ^{a,A}	0,455±<0,08 ^{e,A}	-	-	-
Sy-100%	0,240±0,02	-	-	-	0,518±0,10 ^{a,AB}	0,061±<0,01 ^{c,B}	0,045±<0,01 ^{c,C}
Sc-100%	0,672±0,03	3,735±0,33 ^{c,A}	0,199±0,01 ^{a,A}	0,468±0,04 ^{e,A}	-	-	-
Sc-75% + Sy-25%	0,433±0,04	1,485±0,15 ^{c,B}	0,105±<0,01 ^{b,B}	0,200±0,01 ^{e,B}	0,302±0,08 ^{b,BC}	0,100±<0,01 ^{b,A}	0,019±<0,01 ^{d,D}
Sc-50% + Sy-50%	0,368±0,03	1,027±0,05 ^{c,BC}	0,109±0,01 ^{b,B}	0,087±<0,01 ^{e,BC}	0,288±0,06 ^{b,C}	0,084±0,02 ^{bc,AB}	0,016±<0,01 ^{d,D}
Sc-25% + Sy-75%	0,292±0,03	0,570±0,01 ^{c,C}	0,103±0,01 ^{b,B}	0,037±0,01 ^{c,C}	0,437±0,06 ^{ab,ABC}	0,116±<0,01 ^{b,A}	0,079±<0,01 ^{a,A}

Valores são apresentados em média ± desvio padrão. As porcentagens (%) referem-se à concentração de cada microalga nos consórcios. Sy refere-se a *Synechococcus nidulans* LEB 115 e Sc refere-se a *Scenedesmus obliquus* LEB 117. Experimentos controle foram realizados sem adição do herbicida. Campos sem valores referem-se a cultivo puro. As letras sobrescritas minúsculas comparam cada parâmetro cinético isoladamente. Letras sobrescritas maiúsculas comparam os ensaios de cada microalga individualmente. Letras iguais indicam que as respostas médias não diferiram significativamente quando utilizado teste de Tukey com nível de confiança de 95% ($p > 0,05$).

Nos cultivos com 25% de *S. obliquus* LEB 117 (Sc-25%+Sy75%), o consórcio resultou em efeito antagônico (efeito negativo) nos parâmetros cinéticos desta microalga. Houve redução de $\mu_{\text{máx}}$ nos cultivos com glifosato, variando $\mu_{\text{máx}}$ de 0,199 d⁻¹ para 0,103 d⁻¹, em relação a condição axênica de *S. obliquus* LEB 117 (Sc-100%). Os valores de $X_{\text{máx}}$ de *S. obliquus* LEB 117 reduziram gradualmente conforme aumento da concentração de *S. nidulans* LEB 115 nos cultivos, assim como os valores de $P_{\text{máx}}$. No entanto, efeito sinérgico na $\mu_{\text{máx}}$ foi observado nos consórcios com *S. nidulans* LEB 115. Um aumento de 0,061 d⁻¹ para 0,116 d⁻¹ foi observado quando utilizado 75% da concentração inicial desta microalga e 25% de *S. obliquus* LEB 117. Nesta condição, também foi observado maior $P_{\text{máx}}$, em relação as demais condições estudadas com esta microalga. Esta condição indica que a presença de *S. obliquus* LEB 117 em baixas concentrações iniciais auxiliam positivamente na $P_{\text{máx}}$ e $\mu_{\text{máx}}$ de *S. nidulans* LEB 115.

Diferentes efeitos no crescimento de micro-organismos em consórcios podem ser observados. Sousa et al. (2023) verificou efeito antagônico na produtividade de *Chlorella vulgaris* cultivada em consórcio com bactérias. Magro et al. (2022) demonstrou efeito positivo na $\mu_{\text{máx}}$ utilizando consórcio com 50% *Scenedesmus obliquus* + 50% *Spirulina platensis* cultivadas em meio Zarrouk a 20%. Neste estudo, maiores $X_{\text{máx}}$ foram obtidas nos cultivos com maiores adições iniciais de *Spirulina*, sendo 100 e 90% *Spirulina* (1,69 e 1,72 g L⁻¹, respectivamente). Desta forma, destaca-se a importância em estudar quais relações são benéficas entre os consórcios microalgais, para que não ocorram efeitos negativos no crescimento dos micro-organismos que venham afetar a eficiência dos processos de biorremediação.

O efeito do glifosato em consórcios de microalgas/microalgas não foi bem elucidado até o momento. No entanto, respostas do glifosato no crescimento de microalgas em culturas axênicas foram avaliados em estudos anteriores. *Spirulina* spp. foi cultivada com 20 mM do herbicida e não houve inibição do crescimento da microalga. Esta microalga apresentou capacidade em utilizar o glifosato como única fonte de fósforo no cultivo, dessa forma, o fosfato inorgânico foi substituído pelo glifosato. Uma fase de latência prolongada foi identificada nesses ensaios, seguido por aumento da biomassa (LIPOK et al., 2007). *Synechocystis* PCC 6803 e *Anabaena variabilis* ATCC 29413 em cultivos axênicos demonstraram tolerância ao ácido livre do glifosato em concentrações de até 20 mM (POWELL; KERBY; ROWELL, 1991). As diatomáceas, *Pseudo-nitzschia mannii* e *Chaetoceros decipiens*, cultivadas em monocultura e consórcio foram analisadas em relação a mistura dos herbicidas alachlor, diuron, des-isopropil-atrazina e simazina, em 1 µg L⁻¹ de cada herbicida por 9 d. As descobertas da

pesquisa indicaram que a toxicidade dos herbicidas pode ser intensificada devido a interações entre diferentes espécies em ecossistemas naturais, resultando em diversas respostas fisiológicas e de crescimento. *C. decipiens*, por exemplo, apresentou maior sensibilidade aos agrotóxicos quando cultivada em consórcio (SAHRAOUI et al., 2022). Para *S. nidulans* LEB 115 e *S. obliquus* LEB 117 cultivadas em monocultura não foi verificada redução na P_{biomassa} e $X_{\text{máx}}$ em até 12 mg L^{-1} de glifosato, demonstrando o potencial destas microalgas ao serem utilizados na biodegradação do herbicida (Artigo II, p. 104).

Além dos parâmetros de crescimento, comumente utilizados para verificação dos efeitos tóxicos de compostos como agrotóxicos em microalgas, a ausência de efeito tóxico do glifosato foi verificada pela baixa variação dos valores da atividade fotossintética determinados ao longo dos cultivos. Esse parâmetro é uma forma não invasiva de medir a atividade do fotossistema II (PSII), que é responsável por avaliar o estado fisiológico das microalgas (NORDIO et al., 2023). A diminuição nos valores de F_v/F_m ocorre devido à redução da atividade do PSII, que é causada por condições desfavoráveis de crescimento (RANGLOVÁ et al., 2019).

Os resultados deste estudo demonstram baixa variação F_v/F_m para todos os experimentos nos 15 d de cultivo (TABELA 1). Também não foram observadas diferenças entre os cultivos em culturas axênicas com ou sem adição de glifosato. Resultados obtidos por Sahraoui et al. (2022) também demonstraram integridade do fotossistema II a partir de medidas de F_v/F_m nas condições experimentais de monocultivo e co-cultivo de *Pseudo-nitzschia mannii* e *Chaetoceros decipiens*, quando expostas a uma mistura dos herbicidas alachlor, diuron, des-isopropil-atrazina e simazina, em concentração total de $4,6 \mu\text{g L}^{-1}$.

No entanto, alguns pesquisadores indicam que a avaliação do F_v/F_m para detectar efeitos tóxicos de herbicidas pode não ser o melhor parâmetro, uma vez que a sensibilidade é baixa (KARGAR et al., 2019; SAHRAOUI et al., 2022). As diferenças no comportamento de F_v/F_m em microalgas foram observadas em outros estudos. Valores entre 0,6 e 0,7 para microalgas são considerados em condições de cultivos adequadas. Já para cianobactérias são encontrados valores inferiores, de 0,31 e 0,38, para *Nostoc*, *Cylindrospermum* e *Synechocystis* (NORDIO et al., 2023).

A diferença nos valores de F_v/F_m em cianobactérias e microalgas ocorre principalmente porque nas cianobactérias, os principais complexos de captação de luz são ficobilissomos, enquanto nas microalgas são clorofila a e b. Além disso, as cianobactérias possuem maior proporção de PSI do que PSII do que células eucarióticas. O F_v está relacionado aos complexos do PSII, enquanto F_m pode estar relacionado ao PSII, ficobiliproteínas e

possivelmente ao complexo PSI (LAN et al., 2015). A razão Fv/Fm refere-se ao rendimento quântico máximo da fotoquímica do PSII. Estes resultados confirmam a ausência de efeitos negativos devido a adição de glifosato em 4 mg L^{-1} , colaborando com os resultados obtidos nos parâmetros cinéticos de ambas microalgas.

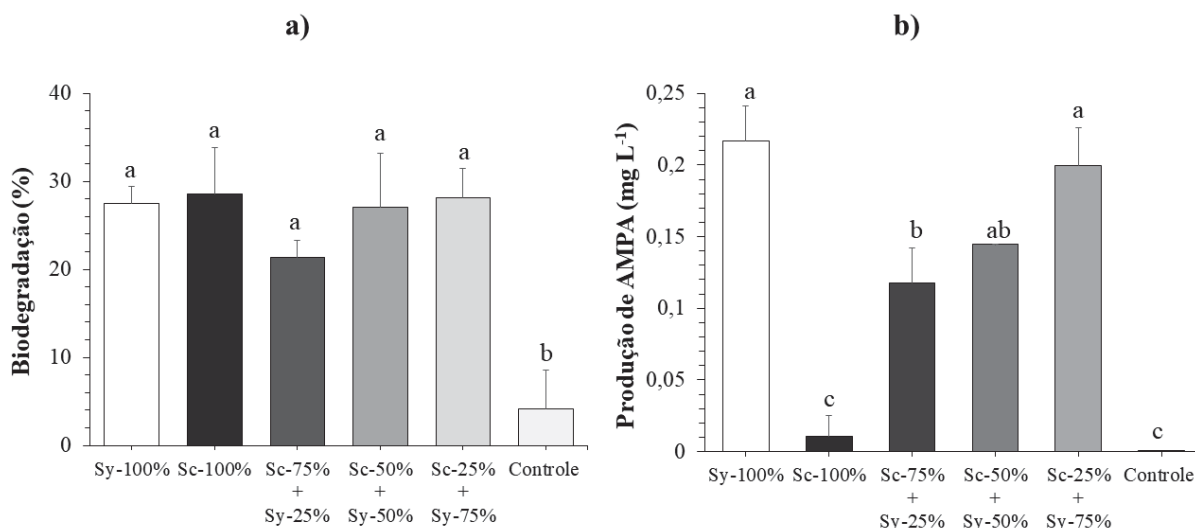
Além disso, o pH dos cultivos permaneceu na faixa de 8,8 e 11,1, não demonstrando influência da adição do glifosato em relação aos ensaios controle, no qual não houve adição do herbicida. Esta variação de pH ocorre naturalmente no meio contendo microalgas, sendo resultado do crescimento celular. Em outro estudo com *S. nidulans* LEB 115, a variação do pH foi de 8,9 a 11,0, estando próxima da faixa de pH 10, do meio no qual a microalga foi isolada (FANKA et al., 2022).

3.2 BIODEGRADAÇÃO DE GLIFOSATO A PARTIR DE CULTURAS AXÊNICAS OU EM CONSÓRCIOS MICROALGAIS

A degradação de glifosato no ambiente envolve vias bióticas e abióticas, entre elas, fotodegradação, degradação química e biodegradação por micro-organismos (MEFTAUL et al., 2020). A volatilização é considerada insignificante, devido à baixa pressão de vapor do herbicida. A degradação causada por fatores abióticos neste estudo, para o experimento controle em condição estéril foi 4%, conforme observado na FIGURA 2a.

As microalgas foram responsáveis por reduzir a concentração de glifosato, tanto nos cultivos axênicos de *S. nidulans* LEB 115 e *S. obliquus* LEB 117, quanto nos consórcios envolvendo as duas microalgas. Todos os ensaios realizados apresentaram remoção significativamente superior de glifosato quando comparados ao controle ($p < 0,05$). As remoções máximas foram de 28 e 29%, para culturas axênicas de *S. nidulans* LEB 115 e *S. obliquus* LEB 117, respectivamente. Outras microalgas/cianobactérias quando cultivadas em meio contendo glifosato também demonstraram redução do herbicida. *Microcystis aeruginosa* removeu 20,7% em meio BG-11 contendo $1,2 \text{ mg L}^{-1}$ de glifosato (WANG; JIANG; SHENG, 2021). Borella et al. (2023) demonstraram relações benéficas do uso de consórcios microalga-bactéria para o crescimento de *Chlorella protothecoides* exposta a altas concentrações de glifosato (50 mg L^{-1}). Além disso, este sistema foi capaz de remover 53,7% do herbicida, sem produção de AMPA. Contudo, embora os consórcios ofereçam uma possibilidade de cultivo, principalmente porque diferentes microalgas possuem diferentes requerimentos nutricionais, neste estudo, não foi observado aumento da remoção do herbicida nestas condições.

FIGURA 2- BIODEGRADAÇÃO DE GLIFOSATO (A) E PRODUÇÃO DE AMPA (B) PARA OS CULTIVOS EM CONDIÇÕES AXÊNICAS E EM CONSÓRCIOS



Valores são apresentados em média $\pm$ desvio padrão. Sy refere-se a *S. nidulans* LEB 115 e Sc refere-se a *S. obliquus* LEB 117, ambas cultivadas em diferentes proporções, conforme especificação (%); Controle refere-se ao ensaio estéril e sem adição de microalgas. Letras iguais para o mesmo gráfico indicam igualdade estatística a um nível de 95% de confiança ($p > 0,05$).

Um dos fatores importantes nos estudos de biodegradação de glifosato é a via de degradação pela qual os micro-organismos vão metabolizar o herbicida. Até o momento foram identificadas duas principais rotas, a mais comum resulta na produção de AMPA a partir da clivagem da ligação carbono-nitrogênio (C-N). A segunda via e menos comum é a clivagem da ligação carbono-fósforo (C-P), resultando em sarcosina. Na biodegradação de glifosato, a principal enzima na degradação desta molécula em AMPA e glioxilato é a glifosato oxidorreductase (GOX), responsável pela clivagem da ligação C-N. A via secundária de degradação é menos comum entre os micro-organismos estudados e ocorre a partir da clivagem de C-P catalisada pela enzima C-P liase. O resultado desta degradação é a formação de sarcosina, a qual é degradada em glicina e posteriormente a carbono (CHEN et al., 2022; ZHAN et al., 2018).

A identificação das vias de degradação é extremamente importante nos processos de biorremediação, especialmente do glifosato, uma vez que este herbicida apresenta como principal rota do metabolismo microbiano a produção de AMPA. Este por sua vez, é conhecido por possuir toxicidade semelhante ao glifosato, afetando organismos não alvo e sendo considerado uma contaminação secundária (OKADA et al., 2020). A literatura indica vários micro-organismos capazes de metabolizar glifosato e AMPA como fonte de fósforo inorgânico,

entre elas a *Spirulina* spp. (LIPOK et al., 2007). Ainda assim, a identificação de microalgas com capacidade de metabolizar glifosato pela via sarcosina permanece escassa.

A transformação de glifosato em sarcosina foi relacionada negativamente com a concentração de fósforo inorgânico disponível durante os processos de biorremediação (LIPOK et al., 2007; ZHAN et al., 2018). Isso geralmente ocorre porque entre as estratégias de clivagem da ligação carbono-fósforo a ação de fosfatases é inibida na presença de fósforo inorgânico (SVIRIDOV et al., 2012). Como o glifosato é um herbicida organofosforado, o fosfato pode ser utilizado para sustentar o crescimento microbiano, não havendo necessidade da utilização de fonte externa de fósforo (BORELLA et al., 2023). No entanto, a maioria das águas residuais e solos apresentam composição com este nutriente. Desta forma, torna-se importante estudos que avaliem estes processos em condições mais próximas as condições ambientais reais.

Para investigar o mecanismo de remoção de glifosato por *S. nidulans* LEB 115 e *S. obliquus* LEB 117, a presença de AMPA no sobrenadante foi avaliada por LC-MS/MS ao final dos cultivos. A identificação deste composto é importante uma vez que glifosato e AMPA compartilham de características físico-químicas semelhantes, sendo altamente solúveis em água e não voláteis, além da toxicidade em organismos não alvo (OKADA et al., 2020). Os resultados apresentados na FIGURA 2b mostram que maiores concentrações deste composto foram obtidas por *S. nidulans* LEB 115, no cultivo axênico ou em condições em que esta microalga é utilizada em maiores proporções nos cultivos, 50 ou 75% (Sc-50%+ Sy-50% e Sc-25%+Sy-75%).

Em estudo anterior foi indicado que alguns micro-organismos como *Comamonas odontotermitis* P2 e *Bacillus cereus* CB4 podem ser degradados pelas enzimas glifosato oxidorreductase e CP liase, produzindo AMPA e sarcosina como subprodutos da degradação (FIRDOUS; IQBAL; ANWAR, 2020). Outro estudo mostrou que *Spirulina* spp. pode utilizar glifosato como única fonte de fósforo. Esta microalga é capaz de remover de 70% de glifosato em concentração de 0,4 mM e 1% quando utilizado 10 mM, ambas após 10 d de cultivo. A análise de quantificação dos subprodutos de degradação, AMPA e sarcosina, mostrou que estes não foram produzidos, sendo sugerido outra via, não elucidada (LIPOK et al., 2007). Em outro estudo utilizando culturas axênicas de *Oscillatoria limnetica* a capacidade de remoção de 99,9% foi obtida em meio contendo 20 mg L⁻¹ de glifosato em 35 d. Neste estudo não foi identificada a via de degradação (SALMAN; ABDUL-ADEL, 2015).

3.3 COMPOSIÇÃO BIOQUÍMICA

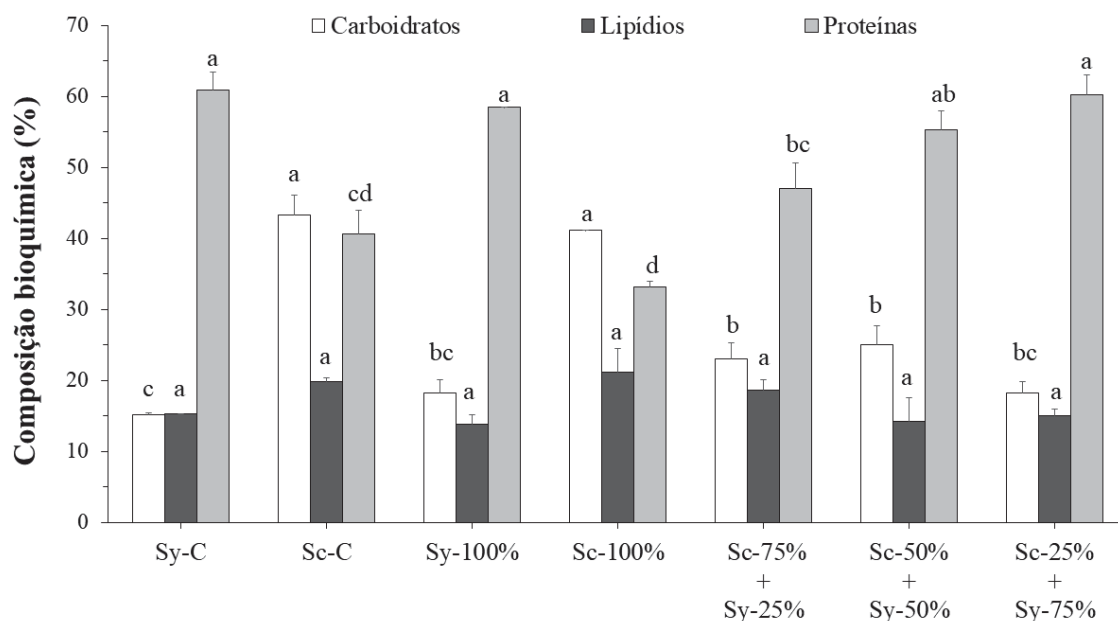
Alterações na intensidade de luz, fotoperíodo, tempo de cultivo e adição de estresse celular por compostos químicos como agrotóxicos podem causar variações na composição bioquímica das microalgas. Estes parâmetros são muito utilizados quando se objetiva o acúmulo de biomoléculas como carboidratos e lipídios para a produção de biocombustíveis. Neste contexto, dependendo da concentração de glifosato adicionada a síntese destes produtos pode ser favorecida (JAISWAL et al., 2020).

No entanto, neste estudo a síntese de carboidratos e lipídios não foi influenciada pela adição de glifosato. Em 4 mg L^{-1} de glifosato, as linhagens estudadas não demonstraram sofrer influência direta de estresse celular no crescimento e atividade fotossintética. Desta forma, o glifosato pode ter sido utilizado como fonte de nutrientes (C, N e P) para o crescimento das células.

Os maiores teores de carboidratos foram identificados para os cultivos com *S. obliquus* LEB 117, com ou sem adição de glifosato em 4 mg L^{-1} , sendo $41,2 \pm 0,1$ e $43,4 \pm 2,7\%$, respectivamente (FIGURA 3). Já as menores concentrações desta biomolécula foram identificadas nos cultivos com maiores proporções de *S. nidulans* LEB 115, atingindo $15,1 \pm 0,3$ e $18,2 \pm 1,9\%$, para as condições Sy-C e Sy-100%, respectivamente. Estes resultados foram inferiores aos encontrados por Fanka et al. (2022) em cultivo *outdoor* utilizando *raceways*. Estes pesquisadores encontraram concentração de 23,3% de carboidratos e 14,4% de lipídios para *S. nidulans* LEB 115 cultivada em meio BG-11.

Maiores conteúdos de carboidratos eram esperados para *Scenedesmus* uma vez que em condições normais de crescimento esta microalga apresenta maior acúmulo deste composto em relação a *Synechococcus*. Em estudo anterior utilizando cultivo autotrófico, Cruz, Rosa e Costa (2023) encontraram concentrações de $11,2 \pm 2,6$ e $11,0 \pm 1,7\%$ para lipídios e carboidratos em *S. nidulans* LEB 115 e $19,6 \pm 1,7$ e $17,9 \pm 1,8\%$ para *S. obliquus* LEB 117, respectivamente. As diferentes condições impostas aos cultivos, como modo de aeração, volume do cultivo, intensidade de luz, justificam as diferenças na obtenção das biomoléculas em comparação ao presente estudo.

FIGURA 3- COMPOSIÇÃO BIOQUÍMICA DOS CULTIVOS EM CONDIÇÕES AXÊNICAS E EM CONSÓRCIO



Valores são apresentados em média $\pm$ desvio padrão. Sy refere-se a *S. nidulans* LEB 115 e Sc refere-se a *S. obliquus* LEB 117, ambas cultivadas em diferentes proporções, conforme especificação (%); Sy-C e Sc-C referem-se aos ensaios controle, sem adição de glifosato. Letras iguais em barras de cores iguais indicam igualdade estatística a um nível de 95% de confiança ($p > 0,05$).

Em relação ao conteúdo de lipídios, não foram observadas diferenças significativas entre os diferentes cultivos. Valores máximos desta biomolécula foram encontrados nas culturas axênicas de *S. obliquus* LEB 117, com ou sem adição de glifosato, chegando a $21,0 \pm 3,3$ e $20,0 \pm 0,6\%$. Estes valores condizem com os encontrados por Cruz, Rosa e Costa (2023), utilizando a mesma microalga ($19,6 \pm 1,7\%$).

Dessa forma, a valorização da biomassa microalgal após o cultivo em meio contaminado não apenas contribui para a descontaminação ambiental, mas também oferece oportunidades econômicas e industriais significativas, impulsionando o desenvolvimento sustentável. A biomassa microalgal resultante dos processos de biorremediação foi citada na literatura como matéria-prima que pode ser aproveitada para a produção de diversos produtos como biocombustíveis e biofertilizantes (REMPEL et al., 2021), além da digestão anaeróbia visando a produção de biometano, conforme indicado em estudo de Avila et al. (2021).

4 CONCLUSÃO

O estudo revelou respostas distintas no cultivo de microalgas em consórcio. Efeito sinérgico foi observado nos parâmetros cinéticos ao utilizar *S. nidulans* LEB 115 na proporção

Sy75%-Sc25%. No entanto, verificou-se efeitos antagônicos nos consórcios envolvendo *S. obliquus* LEB 117 na presença de *S. nidulans* LEB 115 em concentrações de 25, 50 e 75%. Ambas as microalgas demonstraram tolerância à concentração de glifosato adicionado ao meio, o que foi confirmado pela estabilidade das atividades fotossintéticas durante os cultivos. Apesar disso, a utilização dos consórcios não resultou em efeito positivo nos processos de biodegradação. No entanto, foi observado diferenças entre os cultivos em relação à produção de AMPA. A biodegradação de glifosato por *S. obliquus* LEB 117 apresentou baixa produção deste metabólito, o que a torna de maior importância nos processos de biodegradação, por não gerar poluentes secundários. Além disso, esta microalga quando cultivada em cultura axênica demonstra potencial para ser utilizada na produção de biocombustíveis, uma vez que apresentou elevados teores de carboidratos (41,2%) e lipídios (21,0%).

REFERÊNCIAS

- ANNETT, R.; HABIBI, H. R.; HONTELA, A. Impact of glyphosate and glyphosate-based herbicides on the freshwater environment. **Journal of Applied Toxicology**, v. 34, n. 5, p. 458–479, 2014.
- AVILA, R.; PERIS, A.; ELJARRAT, E.; VICENT, T.; BLÁNQUEZ, P. Biodegradation of hydrophobic pesticides by microalgae: Transformation products and impact on algae biochemical methane potential. **Science of the Total Environment**, v. 754, p. 142114, 2021.
- BAILEY, J. E.; OLLIS, D. F. **Biochemical Engineering Fundamentals**. 2 ed. Singapore: McGraw-Hill, 1986.
- BATTCHIKOVA, N.; MUTH-PAWLAK, D.; ARO, E. M. Proteomics of cyanobacteria: current horizons. **Current Opinion in Biotechnology**, v. 54, p. 65–71, 2018.
- BORELLA, L.; NOVELLO, G.; GASPAROTTO, M.; RENELLA, G.; ROVERSO, M.; BOGIALLI, S.; FILIPPINI, F.; SFORZA, E. Design and experimental validation of an optimized microalgae-bacteria consortium for the bioremediation of glyphosate in continuous photobioreactors. **Journal of Hazardous Materials**, v. 441, 2023.
- BOTTA, F.; LAVISON, G.; COUTURIER, G.; ALLIOT, F.; MOREAU-GUIGON, E.; FAUCHON, N.; GUERY, B.; CHEVREUIL, M.; BLANCHOU, H. Transfer of glyphosate and its degradate AMPA to surface waters through urban sewerage systems. **Chemosphere**, v. 77, n. 1, p. 133–139, 2009.
- CASSURIAGA, A. P. A.; MORAES, L.; MORAIS, M. G.; COSTA, J. A. V. Polyhydroxybutyrate production and increased macromolecule content in *Chlamydomonas reinhardtii* cultivated with xylose and reduced nitrogen levels. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 158, p. 875–883, 2020.

CHEN, Y.; CHEN, W. J.; HUANG, Y.; LI, J.; ZHONG, J.; ZHANG, W.; ZOU, Y.; MISHRA, S.; BHATT, P.; CHEN, S. Insights into the microbial degradation and resistance mechanisms of glyphosate. **Environmental Research**, v. 215, p. 114153, 2022.

COSTA, J. A. V.; COLLA, L. M.; FILHO, P. D.; KABKE, K.; WEBER, A. Modelling of *Spirulina platensis* growth in fresh water using response surface methodology. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, v. 18, n. 7, p. 603–607, 2002.

CRUZ, C. G.; ROSA, A. P. C.; COSTA, J. A. V. Identification of the phytohormones indole-3-acetic acid and trans-zeatin in microalgae. **Journal of Chemical Technology and Biotechnology**, v. 98, n. 4, p. 1048–1056, 2023.

DUBOIS, M.; GILLES, K. A.; HAMILTON, J. K.; REBERS, P. A.; SMITH, F. Colorimetric Method for Determination of Sugars and Related Substances. **Analytical Chemistry**, v. 28, n. 3, p. 350–356, 1956.

FANKA, L. S.; ROSA, G. M.; MORAIS, M. G.; COSTA, J. A. V. Outdoor Production of Biomass and Biomolecules by *Spirulina (Arthrospira)* and *Synechococcus* cultivated with Reduced Nutrient Supply. **Bioenergy Research**, v. 15, n. 1, p. 121–130, 2022.

FELTRACCO, M.; ROSSO, B.; FAVARIN, M.; SAMBO, F.; BARBARO, E.; BIONDI, S.; TOSCANO, G.; BARBANTE, C.; GAMBARO, A. The Occurrence of Glyphosate and its Degradation Products in the Urban Stormwater: A Short Review. **Water, Air, and Soil Pollution**, v. 233, n. 12, p. 1–13, 2022.

FIRDOUS, S.; IQBAL, S.; ANWAR, S. Optimization and modeling of glyphosate biodegradation by a novel *Comamonas odontotermitis* P2 through response surface methodology. **Pedosphere**, v. 30, n. 5, p. 618–627, 2020.

FORLANI, G.; CAMPANI, A. A dimeric 5-enol-pyruvyl-shikimate-3-phosphate synthase from the cyanobacterium *Spirulina platensis*. **New Phytologist**, v. 151, n. 2, p. 443–450, 2001.

FORLANI, G.; PAVAN, M.; GRAMEK, M.; KAFARSKI, P.; LIPOK, J. Biochemical Bases for a Widespread Tolerance of Cyanobacteria to the Phosphonate Herbicide Glyphosate. **Plant and Cell Physiology**, v. 49, n. 3, p. 443–456, 2008.

FRANCESCHINI, I. M.; MURLIGA, A. L.; DE REVIERS, B.; PRADO, J. F.; HAMLAOUI, S. **Algas: uma abordagem filogenética, taxonômica e ecológica**. Porto Alegre: Artmed Editora, 2009.

ISSA, A. A. E.; ADAM, M. S.; FAWZY, M. A. Alterations in some metabolic activities of *Scenedesmus quadricauda* and *Merismopedia glauca* in response to glyphosate herbicide. **Journal of Biology and Earth Sciences**, v. 3, n. 1, p. 17–23, 2013.

IUMMATO, M. M.; FASSIANO, A.; GRAZIANO, M.; AFONSO, M. dos S.; MOLINA, M. del C. R. de; JUÁREZ, Á. B. Effect of glyphosate on the growth, morphology, ultrastructure and metabolism of *Scenedesmus vacuolatus*. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 172, p. 471–479, 2019.

JAISWAL, K. K.; KUMAR, V.; VLASKIN, M. S.; NANDA, M. Impact of glyphosate herbicide stress on metabolic growth and lipid inducement in *Chlorella sorokiniana* UUIND6 for biodiesel production. **Algal Research**, v. 51, p. 102071, 2020.

KARGAR, M.; GHORBANI, R.; RASHED MOHASSEL, M. H.; RASTGOO, M. Chlorophyll Fluorescence - a Tool for Quick Identification of Accase and ALS Inhibitor Herbicides Performance. **Planta Daninha**, v. 37, p. e019166813, 2019.

LAN, S.; WU, L.; ZHANG, D.; HU, C. Effects of light and temperature on open cultivation of desert cyanobacterium *Microcoleus vaginatus*. **Bioresource Technology**, v. 182, p. 144–150, 2015.

LIMA, I. B.; BOËCHAT, I. G.; FERNANDES, M. D.; MONTEIRO, J. A. F.; RIVAROLI, L.; GÜCKER, B. Glyphosate pollution of surface runoff, stream water, and drinking water resources in Southeast Brazil. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 30, p. 27030–27040, 2022.

LIPOK, J.; OWSIAK, T.; MŁYNARZ, P.; FORLANI, G.; KAFARSKI, P. Phosphorus NMR as a tool to study mineralization of organophosphonates—The ability of *Spirulina* spp. to degrade glyphosate. **Enzyme and Microbial Technology**, v. 41, n. 3, p. 286–291, 2007.

LIPOK, J.; STUDNIK, H.; GRUYAERT, S. The toxicity of Roundup® 360 SL formulation and its main constituents: Glyphosate and isopropylamine towards non-target water photoautotrophs. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 73, n. 7, p. 1681–1688, 2010.

LOURENÇO, S. O. **Cultivo de Microalgas Marinhas – Princípios e Aplicações**. São Carlos: RiMa, 2006.

LOWRY, O.H.; ROSEBROUGH, N. J.; FARR, A. L.; RANDALL, R. J. Protein measurement with the Folin phenol reagent. **Journal of Biological Chemistry**, p. 265–276, 1951.

LUTRI, V. F.; MATTEODA, E.; BLARASIN, M.; APARICIO, V.; GIACOBONE, D.; MALDONADO, L.; BECHER QUINODOZ, F.; CABRERA, A.; GIULIANO ALBO, J. Hydrogeological features affecting spatial distribution of glyphosate and AMPA in groundwater and surface water in an agroecosystem. **Science of The Total Environment**, v. 711, p. 134557, 2020.

MAGRO, F. G.; FREITAG, J. F.; BERGOLI, A.; COSTA, J. A. V.; COLLA, L. M. Microalgae Consortia for Post-treating Effluent of Anaerobic Digestion of Cattle Waste and Evaluation of Biochemical Composition of Biomass. **Bioenergy Research**, v. 15, n. 1, p. 371–384, 2022.

MARSH, J. B.; WEINSTEIN, D. B. Simple charring method for determination of lipids. **Journal of lipid research**, v. 7, n. 4, p. 574–576, 1966.

MATAMOROS, V.; RODRÍGUEZ, Y. Batch vs continuous-feeding operational mode for the removal of pesticides from agricultural run-off by microalgae systems: A laboratory scale study. **Journal of Hazardous Materials**, v. 309, p. 126–132, 2016.

MEFTAUL, I. M.; VENKATESWARLU, K.; DHARMARAJAN, R.; ANNAMALAI, P.; ASADUZZAMAN, M.; PARVEN, A.; MEGHARAJ, M. Controversies over human health and ecological impacts of glyphosate: Is it to be banned in modern agriculture? **Environmental Pollution**, v. 263, p. 114372, 2020.

MORAIS, M. G.; COSTA, J. A. V. Carbon dioxide fixation by *Chlorella kessleri*, *C. vulgaris*, *Scenedesmus obliquus* and *Spirulina* sp. cultivated in flasks and vertical tubular photobioreactors. **Biotechnology Letters**, v. 29, n. 9, p. 1349–1352, 2007.

MORAIS, M. G.; ZAPAROLI, M.; LUCAS, B. F.; COSTA, J. A. V. Microalgae for bioremediation of pesticides: Overview, challenges, and future trends. In: AHMAD, A.; BANAT, F.; TAHER, H. (Eds.). **Algal Biotechnology: Microalgae for bioremediation of pesticides: Overview, challenges, and future trends**. Elsevier, 2022. p. 63–78.

MUÑOZ, J. P.; SILVA-PAVEZ, E.; CARRILLO-BELTRÁN, D.; CALAF, G. M. Occurrence and exposure assessment of glyphosate in the environment and its impact on human beings. **Environmental research**, v. 231, n. 3, p. 116201, 2023.

NASIRI, M.; AHMADZADEH, H.; AMIRI, A. H. Biodegradation and metabolic fate of organophosphorus pesticides in well water using *Dunaliella salina*. **International Journal of Environmental Science and Technology**, v. 20, n. 1, p. 981–992, 2023.

NIE, J.; SUN, Y.; ZHOU, Y.; KUMAR, M.; USMAN, M.; LI, J.; SHAO, J.; WANG, L.; TSANG, D. C. W. Bioremediation of water containing pesticides by microalgae: Mechanisms, methods, and prospects for future research. **Science of The Total Environment**, v. 707, p. 136080, 2020.

NORDIO, R.; DELGADO, F. J.; SÁNCHEZ-ZURANO, A.; HERNANDEZ, J. G.; RODRÍGUEZ-MIRANDA, E.; GUZMÁN, J. L.; LAFARGA, T.; ACIÉN, G. Long-term assessment of the nutrient recovery capacity and biomass productivity of *Scenedesmus almeriensis* in raceway reactors using unprocessed urban wastewater. **Bioresource Technology**, v. 369, p. 128374, 2023.

OKADA, E.; ALLINSON, M.; BARRAL, M. P.; CLARKE, B.; ALLINSON, G. Glyphosate and aminomethylphosphonic acid (AMPA) are commonly found in urban streams and wetlands of Melbourne, Australia. **Water Research**, v. 168, p. 115139, 2020.

OKADA, E.; COGGAN, T.; ANUMOL, T.; CLARKE, B.; ALLINSON, G. A simple and rapid direct injection method for the determination of glyphosate and AMPA in environmental water samples. **Analytical and Bioanalytical Chemistry**, v. 411, n. 3, p. 715–724, 2019.

POWELL, H. A.; KERBBY, N. W.; ROWELL, P. Natural tolerance of cyanobacteria to the herbicide glyphosate. **New Phytologist**, v. 119, n. 3, p. 421–426, 1991.

QIN, L.; WANG, Z.; SUN, Y.; SHU, Q.; FENG, P.; ZHU, L.; XU, J.; YUAN, Z. Microalgae consortia cultivation in dairy wastewater to improve the potential of nutrient removal and biodiesel feedstock production. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 23, p. 8379–8387, 2016.

- RANGLOVÁ, K.; LAKATOS, G. E.; MANOEL, J. A. C.; GRIVALSKÝ, T.; MASOJÍDEK, J. Rapid screening test to estimate temperature optima for microalgae growth using photosynthesis activity measurements. **Folia Microbiologica**, v. 64, n. 5, p. 615–625, 2019.
- REMPEL, A.; BIOLCHI, G. N.; ANTUNES, A. C. F.; GUTKOSKI, J. P.; TREICHEL, H.; COLLA, L. M. Cultivation of Microalgae in Media Added of Emergent Pollutants and Effect on Growth, Chemical Composition, and Use of Biomass to Enzymatic Hydrolysis. **Bioenergy Research**, v. 14, n. 1, p. 265–277, 2021.
- RIPPKA, R.; DERUELLES, J.; WATERBURY, J. B. Generic assignments, strain histories and properties of pure cultures of cyanobacteria. **Journal of General Microbiology**, v. 111, n. 1, p. 1–61, 1979.
- SAHRAOUI, I.; GARALI, S. M. B.; CHAKROUN, Z.; GONZALEZ, C.; PRINGAULT, O.; HLAILI, A. S. Monoculture and co-culture tests of the toxicity of four typical herbicides on growth, photosynthesis and oxidative stress responses of the marine diatoms *Pseudo-nitzschia mannii* and *Chaetoceros decipiens*. **Ecotoxicology**, v. 31, p. 700–713, 2022.
- SALMAN, J. M.; ABDUL-ADEL, E. Mesopotamia Environmental Journal Potential use of cyanophyta species *Oscillatoria limnetica* in bioremediation of organophosphorus herbicide glyphosate. **Mesopotamia Environmental Journal**, v. 1, n. 4, p. 15–26, 2015.
- SILVA-BENAVIDES, A. M.; TORZILLO, G. Nitrogen and phosphorus removal through laboratory batch cultures of microalga *Chlorella vulgaris* and cyanobacterium *Planktothrix isoethrix* grown as monoalgal and as co-cultures. **Journal of Applied Phycology**, v. 24, n. 2, p. 267–276, 2012.
- SOUSA, H.; SOUSA, C. A.; VALE, F.; SANTOS, L.; SIMÕES, M. Removal of parabens from wastewater by *Chlorella vulgaris*-bacteria co-cultures. **Science of The Total Environment**, v. 884, p. 163746, 2023.
- SUTHERLAND, D. L.; RALPH, P. J. Microalgal bioremediation of emerging contaminants - Opportunities and challenges. **Water Research**, v. 164, p. 114921, 2019.
- SVIRIDOV, A. V.; SHUSHKOVA, T. V.; ZELENKOVA, N. F.; VINOKUROVA, N. G.; MORGUNOV, I. G.; ERMAKOVA, I. T.; LEONTIEVSKY, A. A. Distribution of glyphosate and methylphosphonate catabolism systems in soil bacteria *Ochrobactrum anthropi* and *Achromobacter* sp. **Applied microbial and cell physiology**, v. 93, n. 2, p. 787–796, 2012.
- VAN BRUGGEN, A. H. C.; HE, M. M.; SHIN, K.; MAI, V.; JEONG, K. C.; FINCKH, M. R.; MORRIS, J. G. Environmental and health effects of the herbicide glyphosate. **Science of the Total Environment**, v. 616–617, p. 255–268, 2018.
- VILLAMAR-AYALA, C. A.; CARRERA-CEVALLOS, J. V.; VASQUEZ-MEDRANO, R.; ESPINOZA-MONTERO, P. J. Fate, eco-toxicological characteristics, and treatment processes applied to water polluted with glyphosate: A critical review. **Critical Reviews in Environmental Science and Technology**, v. 49, n. 16, p. 1476–1514, 2019.

WANG, W.; JIANG, M.; SHENG, Y. Glyphosate Accelerates the Proliferation of *Microcystis aeruginosa*, a Dominant Species in Cyanobacterial Blooms. **Environmental Toxicology and Chemistry**, v. 40, n. 2, p. 342–351, 2021.

WU, L.; QIU, Z.; ZHOU, Y.; DU, Y.; LIU, C.; YE, J.; HU, X. Physiological effects of the herbicide glyphosate on the cyanobacterium *Microcystis aeruginosa*. **Aquatic Toxicology**, v. 178, p. 72–79, 2016.

ZHAN, H.; FENG, Y.; FAN, X.; CHEN, S. Recent advances in glyphosate biodegradation. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 102, n. 12, p. 5033–5043, 2018.

ZHU, S., HUO, S., FENG, P. Developing Designer Microalgal Consortia: A Suitable Approach to Sustainable Wastewater Treatment. In: ALAM, M., WANG, Z. (Eds). **Microalgae Biotechnology for Development of Biofuel and Wastewater Treatment**. Singapore: Springer, 2019, p. 569–598.

CAPÍTULO IV

5 CONCLUSÕES GERAIS

A pesquisa desenvolvida demonstrou a possibilidade de desenvolver técnicas sustentáveis para o tratamento de glifosato presente em matrizes aquosas. Neste contexto, foi demonstrado o desenvolvimento de um adsorvente magnético utilizando resíduos provenientes do beneficiamento do açaí e processos de biorremediação a partir de microalgas. Através dos processos de adsorção de glifosato em *biochar* com Fe verificou-se que estes são dependentes do pH utilizado na solução, da concentração de adsorvente e do adsorvato, bem como da temperatura e tempo utilizados nos processos. A capacidade máxima de adsorção foi de 96 mg g^{-1} , utilizando pH 4,0, temperatura de $25 \text{ }^{\circ}\text{C}$ e 220 g L^{-1} de glifosato. O equilíbrio foi atingido em até 45 min. O processo foi exotérmico e melhor ajustado ao modelo de Langmuir ($R^2=0,997$), indicando adsorção em monocamadas.

Os processos de biorremediação com microalgas também demonstraram ser promissores para o tratamento de glifosato. As microalgas utilizadas demonstraram resistência frente as concentrações de glifosato estudadas. A produção de AMPA foi verificada em menor quantidade para a microalga *S. obliquus* LEB 117, indicando que o glifosato pode ter sido biodegradado pela via da sarcosina. Em relação aos consórcios microalgais, o estudo revelou respostas distintas, sendo observado efeito sinérgico nos parâmetros cinéticos ao utilizar *S. nidulans* LEB 115 na proporção Sc25%- Sy75%, e efeitos antagônicos nos consórcios envolvendo *S. obliquus* LEB 117 com adição de *S. nidulans* LEB 115 em proporções de 25, 50 e 75%. A utilização dos consórcios não resultou em efeito positivo nos processos de biodegradação. Dessa forma, *S. obliquus* LEB 117 quando cultivada em cultura axênica demonstra potencial para ser utilizada na biorremediação de glifosato com possibilidade de produção de biocombustíveis, uma vez que apresentou elevados teores de carboidratos (41,2%) e lipídios (21%).

Pode-se concluir que o adsorvente magnético produzido a partir do caroço de açaí demonstra potencial para aplicação na adsorção de glifosato em meios aquosos, apresentando boa reciclabilidade e aplicação em amplas faixas ambientais de pH e temperaturas. Além disso, o cultivo de microalgas em meio contendo agrotóxicos pode ser utilizado visando o tratamento de poluentes e aplicação na produção de compostos de interesse, como biocombustíveis. Essas tecnologias oferecem a possibilidade de criação de sistemas sustentáveis para o tratamento de glifosato em sistemas aquosos, utilizando processos físicos, químicos e biológicos.

6 RESÍDUOS GERADOS E DESTINO

Durante o período da pesquisa, os resíduos gerados incluíram principalmente águas residuais contendo glifosato e solventes utilizados em análise da composição bioquímica das microalgas. Esses resíduos foram devidamente identificados e armazenados conforme as regulamentações do Laboratório de Engenharia Bioquímica e da Universidade Federal do Rio Grande, garantindo seu correto descarte.

7 SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS

- a) Avaliar o efeito do *biochar* magnético na presença de águas residuais reais;
- b) Realizar experimentos de biodegradação de glifosato sem fonte de fósforo inorgânico e avaliar a produção de AMPA pelas microalgas;
- c) Verificar a formação de sarcosina como via de degradação de *S. obliquus* LEB 117;
- d) Avaliar o efeito conjunto de *biochar* e microalgas em sistemas imobilizados para remoção de glifosato em matrizes aquosas.

CAPÍTULO V

REFERÊNCIAS

- ABDEL-RAZEK, M. A.; ABOZEID, A. M.; ELTHOLTH, M. M.; ABOUELENIEN, F. A.; EL-MIDANY, S. A.; MOUSTAFA, N. Y.; MOHAMED, R. A. Bioremediation of a pesticide and selected heavy metals in wastewater from various sources using a consortium of microalgae and cyanobacteria. **Slovenian Veterinary Research**, v. 56, p. 61–73, 2019.
- AKTAR, W.; SENGUPTA, D.; CHOWDHURY, A. Impact of pesticides use in agriculture: their benefits and hazards. **Interdisciplinary toxicology**, v. 2, n. 1, p. 1-12, 2009.
- ALMEIDA, A. D. S. V.; VIEIRA, W. T.; BISPO, M. D.; DE MELO, S. F.; SILVA, T. L.; BALLIANO, T. L.; VIEIRA, M. G. A.; SOLETTI, J. I. Caffeine removal using activated *biochar* from açai seed (*Euterpe oleracea* Mart): Experimental study and description of adsorbate properties using Density Functional Theory (DFT). **Journal of Environmental Chemical Engineering**, v. 9, n. 1, p. 104891, 2021.
- ALVES, J. L. F.; SILVA, J. C. G.; DI DOMENICO, M.; GALDINO, W. V. D. A.; ANDERSEN, S. L. F.; ALVES, R. F.; DE SENA, R. F. Exploring Açai Seed (*Euterpe oleracea*) Pyrolysis Using Multi-component Kinetics and Thermodynamics Assessment Towards Its Bioenergy Potential. **Bioenergy Research**, p. 1–17, 2020.
- AMARANTE JUNIOR, O. P.; SANTOS, T. C. R. Glifosato: propriedades, toxicidade, usos e legislação. **Química Nova**, v. 24, 2002.
- ANNETT, R.; HABIBI, H. R.; HONTELA, A. Impact of glyphosate and glyphosate-based herbicides on the freshwater environment. **Journal of Applied Toxicology**, v. 34, n. 5, p. 458–479, 2014.
- ARUNAKUMARA, K. K. I. U.; WALPOLA, B. C.; YOON, M.-H. Metabolism and degradation of glyphosate in aquatic cyanobacteria: A review. **African Journal of Microbiology Research**, v. 7, n. 32, p. 4084–4090, 2013.
- AVILA, R.; PERIS, A.; ELJARRAT, E.; VICENT, T.; BLÁNQUEZ, P. Biodegradation of hydrophobic pesticides by microalgae: Transformation products and impact on algae biochemical methane potential. **Science of the Total Environment**, v. 754, p. 142114, 2021.
- AWASTHI, M. K. Engineered *biochar*: A multifunctional material for energy and environment. **Environmental Pollution**, v. 298, p. 118831, 2022.
- AZIZ, K.; MAMOUNI, R.; KAYA, S.; AZIZ, F. Low-cost materials as vehicles for pesticides in aquatic media: a review of the current status of different biosorbents employed, optimization by RSM approach. **Environmental Science and Pollution Research**, 2023.
- BAGLIERI, A.; SIDELLA, S.; BARONE, V.; FRAGALÀ, F.; SILKINA, A.; NÈGRE, M.; GENNARI, M. Cultivating *Chlorella vulgaris* and *Scenedesmus quadricauda* microalgae to degrade inorganic compounds and pesticides in water. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 23, n. 18, p. 18165–18174, 2016.

BAI, S. H.; OGBOURNE, S. M. Glyphosate: environmental contamination, toxicity and potential risks to human health via food contamination. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 23, n. 19, p. 18988–19001, 2016.

BAILEY, J. E.; OLLIS, D. F. **Biochemical Engineering Fundamentals**. 2 ed. Singapore: McGraw-Hill, 1986.

BARQUILHA, C. E. R.; BRAGA, M. C. B. Adsorption of organic and inorganic pollutants onto *biochars*: Challenges, operating conditions, and mechanisms. **Bioresource Technology Reports**, v. 15, p. 100728, 2021

BATTCHIKOVA, N.; MUTH-PAWLAK, D.; ARO, E. M. Proteomics of cyanobacteria: current horizons. **Current Opinion in Biotechnology**, v. 54, p. 65–71, 2018.

BEZERRA, P. Q. M.; MORAES, L.; SILVA, T. N. M.; CARDOSO, L. G.; DRUZIAN, J. I.; MORAIS, M. G.; NUNES, I. L.; COSTA, J. A. V. Strategy for Carbohydrate-Starch Production Enhancement by *Chlorella fusca* Using Seawater as Culture Medium. **BioEnergy Research**, 2023.

BHASKARA, B. L.; NAGARAJA, P. Direct Sensitive Spectrophotometric Determination of Glyphosate by Using Ninhydrin as a Chromogenic Reagent in Formulations and Environmental Water Samples. **Helvetica Chimica Acta**, v. 89, n. 11, p. 2686–2693, 2006.

BILAL, M.; RASHEED, T.; SOSA-HERNÁNDEZ, J.; RAZA, A.; NABEEL, F.; IQBAL, H. Biosorption: An Interplay between Marine Algae and Potentially Toxic Elements-A Review. **Marine Drugs**, v. 16, n. 2, p. 65, 2018.

BORBA, L. L.; CUBA, R. M. F.; CUBA TERÁN, F. J.; CASTRO, M. N.; MENDES, T. A. Use of Adsorbent *Biochar* from Pequi (*Caryocar brasiliense*) Husks for the Removal of Commercial Formulation of Glyphosate from Aqueous Media. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v. 62, p. 19180450, 2019.

BORELLA, L.; NOVELLO, G.; GASPAROTTO, M.; RENELLA, G.; ROVERSO, M.; BOGIALLI, S.; FILIPPINI, F.; SFORZA, E. Design and experimental validation of an optimized microalgae-bacteria consortium for the bioremediation of glyphosate in continuous photobioreactors. **Journal of Hazardous Materials**, v. 441, p. 129921, 2023.

BOTTA, F.; LAVISON, G.; COUTURIER, G.; ALLIOT, F.; MOREAU-GUIGON, E.; FAUCHON, N.; GUERY, B.; CHEVREUIL, M.; BLANCHOU, H. Transfer of glyphosate and its degradate AMPA to surface waters through urban sewerage systems. **Chemosphere**, v. 77, n. 1, p. 133–139, 2009.

BRASIL. 2020. Projeto da FURG vira prioridade e modelo para Ministério da Ciência, Tecnologia, Inovações e Comunicações. Disponível em: <<https://www.furg.br/noticias/noticias-institucional/projeto-da-furg-vira-prioridade-e-modelo-para-ministerio-da-ciencia-tecnologia-inovacoes-e-comunicacao>>. Acesso em: 04 jul. 2023.

BRASIL. Portaria de Consolidação nº 5, de 28 de setembro de 2017. Consolidação das normas sobre as ações e os serviços de saúde do Sistema Único de Saúde. **Diário Oficial da União**, Brasília, DP, 28 set. 2017, p. 435.

BRASIL. Resolução CONAMA nº 357, de 17 de março de 2005. Classificação de águas, doces, salobras e salinas do Território Nacional. **Diário Oficial da União nº. 53**, Brasília, DF, 18 mar. 2005, p. 58-63.

CADAVAL, T. R. S.; DOTTO, G. L.; PINTO, L. A. A. Equilibrium Isotherms, Thermodynamics, and Kinetic Studies for the Adsorption of Food Azo Dyes onto Chitosan Films. **Chemical Engineering Communications**, v. 202, n. 10, p. 1316–1323, 2015.

CASSURIAGA, A. P. A.; MORAES, L.; MORAIS, M. G.; COSTA, J. A. V. Polyhydroxybutyrate production and increased macromolecule content in *Chlamydomonas reinhardtii* cultivated with xylose and reduced nitrogen levels. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 158, p. 875–883, 2020.

CASTELLANOS-ESTUPIÑAN, M.A.; CARRILLO-BOTELLO, A.M.; ROZO-GRANADOS, L.S.; BECERRA-MORENO, D.; GARCÍA-MARTÍNEZ, J.B.; URBINA-SUAREZ, N.A.; LÓPEZ-BARRERA, G.L.; BARAJAS-SOLANO, A.F.; BRYAN, S.J.; ZUORRO, A. Removal of Nutrients and Pesticides from Agricultural Runoff Using Microalgae and Cyanobacteria. **Water**, v. 14, p. 558, 2022.

CASTREJÓN-GODÍNEZ, M. L.; TOVAR-SÁNCHEZ, E.; VALENCIA-CUEVAS, L.; ROSAS-RAMÍREZ, M. E.; RODRÍGUEZ, A.; MUSSALI-GALANTE, P. Glyphosate Pollution Treatment and Microbial Degradation Alternatives, a Review. **Microorganisms**, v. 9, n. 11, p. 2322, 2021.

CEDERLUND, H.; BÖRJESSON, E.; LUNDBERG, D.; STENSTRÖM, J. Adsorption of Pesticides with Different Chemical Properties to a Wood *Biochar* Treated with Heat and Iron. **Water, Air, and Soil Pollution**, v. 227, n. 6, p. 1–12, 2016.

CENTENO, L. **Valorização de resíduo do fruto de açaí (*Euterpe oleracea* Mart.) por meio da obtenção sustentável de nanocelulose**. 2021. 110 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia e Ciência de Alimentos)- Escola de Química e Alimentos, Universidade Federal do Rio Grande, Rio Grande, 2021.

CHAI, W. S.; TAN, W. G.; MUNAWAROH, H. S. H.; GUPTA, V. K.; HO, S-H.; SHOW, P. L. Multifaceted roles of microalgae in the application of wastewater biotreatment: A review. **Environmental Pollution**, v. 269, p. 16236, 2021.

CHEN, Y.; CHEN, W. J.; HUANG, Y.; LI, J.; ZHONG, J.; ZHANG, W.; ZOU, Y.; MISHRA, S.; BHATT, P.; CHEN, S. Insights into the microbial degradation and resistance mechanisms of glyphosate. **Environmental Research**, v. 215, p. 114153, 2022.

CHENG, N.; WANG, B.; WU, P.; LEE, X.; XING, Y.; CHEN, M.; GAO, B. Adsorption of emerging contaminants from water and wastewater by modified *biochar*: A review. **Environmental Pollution**, v. 273, p. 116448, 2021.

CHOUDHARY, P.; PRAJAPATI, S. K.; MALIK, A. Screening native microalgal consortia for biomass production and nutrient removal from rural wastewaters for bioenergy applications. **Ecological Engineering**, v. 91, p. 221–230, 2016.

CHU, R.; LI, S.; ZHU, L.; YIN, Z.; HU, D.; LIU, C.; MO, F. A review on co-cultivation of microalgae with filamentous fungi: Efficient harvesting, wastewater treatment and biofuel production. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 139, p. 110689, 2021.

COSTA, J. A. V.; COLLA, L. M.; FILHO, P. D.; KABKE, K.; WEBER, A. Modelling of *Spirulina platensis* growth in fresh water using response surface methodology. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, v. 18, n. 7, p. 603–607, 2002.

COSTA, J. A. V.; ZAPAROLI, M.; CASSURIAGA, A. P. A.; CARDIAS, B. B.; SILVA VAZ, B.; MORAIS, M. G.; MOREIRA, J. B. *Biochar* production from microalgae: a new sustainable approach to wastewater treatment based on a circular economy. **Enzyme and Microbial Technology**, p. 110281, 2023.

COSTA, J. A. V.; CRUZ, C. G.; ROSA, A. P. C. Insights into the technology utilized to cultivate microalgae in dairy effluents. **Biocatalysis and Agricultural Biotechnology**, v. 35, p. 102106, 2021.

CRUZ, C. G.; ROSA, A. P. C.; COSTA, J. A. V. Identification of the phytohormones indole-3-acetic acid and trans-zeatin in microalgae. **Journal of Chemical Technology and Biotechnology**, v. 98, n. 4, p. 1048–1056, 2023.

DEAMICI, K. M.; SANTOS, L. O.; COSTA, J. A. V. Use of static magnetic fields to increase CO₂ biofixation by the microalga *Chlorella fusca*. **Bioresource Technology**, v. 276, p. 103–109, 2019.

DE-BASHAN, L. E.; BASHAN, Y. Immobilized microalgae for removing pollutants: Review of practical aspects. **Bioresource Technology**, v. 101, n. 6, p. 1611–1627, 2010.

DEVI, A.; VERMA, M.; SARATALE, G. D.; SARATALE, R. G.; FERREIRA, L. F. R.; MULLA, S. I.; BHARAGAVA, R. N. Microalgae: A green eco-friendly agents for bioremediation of tannery wastewater with simultaneous production of value-added products. **Chemosphere**, v. 336, p. 139192, 2023.

DEVIRAM, G.; MATHIMANI, T.; ANTO, S.; AHAMED, T. S.; ANANTH, D. A.; PUGAZHENDHI, A. Applications of microalgal and cyanobacterial biomass on a way to safe, cleaner and a sustainable environment. **Journal of Cleaner Production**, v. 253, p. 119770, 2020.

DIAS, Y. N.; SOUZA, E. S.; COSTA, H. S. C.; MELO, L. C. A.; PENIDO, E. S.; AMARANTE, C. B.; TEIXEIRA, O. M. M.; FERNANDES, A. R. *Biochar* produced from Amazonian agro-industrial wastes: properties and adsorbent potential of Cd²⁺ and Cu²⁺. **Biochar**, v. 1, n. 4, p. 389–400, 2019.

DIEL, J. C.; FRANCO, D. S. P.; IGANSI, A. V.; CADAVAL, T. R. S.; PEREIRA, H. A.; NUNES, I. S.; BASSO, C. W.; ALVES, M. C. M.; MORAIS, J.; PINTO, D.; DOTTO, G. L. Green synthesis of carbon nanotubes impregnated with metallic nanoparticles: Characterization and application in glyphosate adsorption. **Chemosphere**, v. 283, p. 131193, 2021 a.

DIEL, J. C.; FRANCO, D. S. P.; NUNES, I. D. S.; PEREIRA, H. A.; MOREIRA, K. S.; THIAGO, T. A.; FOLETTO, E. L.; DOTTO, G. L. Carbon nanotubes impregnated with metallic nanoparticles and their application as an adsorbent for the glyphosate removal in an aqueous matrix. **Journal of Environmental Chemical Engineering**, v. 9, n. 2, 2021 b.

DU, L.; AHMAD, S.; LIU, L.; WANG, L.; TANG, J. A review of antibiotics and antibiotic resistance genes (ARGs) adsorption by *biochar* and modified *biochar* in water. **Science of The Total Environment**, v. 300, p. 121925, 2022.

DUARTE, J. H.; FANKA, L. S.; COSTA, J. A. V. CO₂ Biofixation via *Spirulina* sp. Cultures: Evaluation of Initial Biomass Concentration in Tubular and Raceway Photobioreactors. **Bioenergy Research**, p. 1–5, 2020.

DUBOIS, M.; GILLES, K. A.; HAMILTON, J. K.; REBERS, P. A.; SMITH, F. Colorimetric Method for Determination of Sugars and Related Substances. **Analytical Chemistry**, v. 28, n. 3, p. 350–356, 1956.

EL-KHAIARY, M. I.; MALASH, G. F. Common data analysis errors in batch adsorption studies. **Hydrometallurgy**, v. 105, n. 3–4, p. 314–320, 2011.

ELWAKEEL, K. Z. Removal of Reactive Black 5 from aqueous solutions using magnetic chitosan resins. **Journal of Hazardous Materials**, v. 167, n. 1–3, p. 383–392, 2009.

ENAMALA, M. K.; ENAMALA, S.; CHAVALI, M.; DONEPUDI, J.; YADAVALLI, R.; KOLAPALLI, B.; ARADHYULA, T. V.; VELPURI, J.; KUPPAM, C. Production of biofuels from microalgae - A review on cultivation, harvesting, lipid extraction, and numerous applications of microalgae. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 94, p. 49–68, 2018.

ERDOGAN, S. Y.; ERDOĞAN, S.; ÖNAL, Y.; AKMIL-BAŞAR, C.; BILMEZ-ERDEMOĞLU, S.; SARICI-ÖZDEMİR, Ç.; KÖSEOĞLU, E. İÇDUYGU, G. Optimization of nickel adsorption from aqueous solution by using activated carbon prepared from waste apricot by chemical activation. **Applied Surface Science**, v. 252, p. 1324–1331, 2005.

EROGLU, E.; SMITH, S. M.; RASTON C. L. Application of Various Immobilization Techniques for Algal Bioprocesses. In: MOHEIMANI, N., MCHENRY, M., BOER, K., BAHRI, P. (Eds). **Biomass and Biofuels from Microalgae. Biofuel and Biorefinery Technologies**, Springer, Cham., 2015. p.19-44.

ESPERANZA, M.; SEOANE, M.; RIOBOO, C.; HERRERO, C.; CID, Á. Early alterations on photosynthesis-related parameters in *Chlamydomonas reinhardtii* cells exposed to atrazine: A multiple approach study. **Science of the Total Environment**, v. 554–555, p. 237–245, 2016.

FANKA, L. S.; ROSA, G. M.; MORAIS, M. G.; COSTA, J. A. V. Outdoor Production of Biomass and Biomolecules by *Spirulina* (*Arthrospira*) and *Synechococcus* cultivated with Reduced Nutrient Supply. **Bioenergy Research**, v. 15, n. 1, p. 121–130, 2022.

FELTRACCO, M.; ROSSO, B.; FAVARIN, M.; SAMBO, F.; BARBARO, E.; BIONDI, S.; TOSCANO, G.; BARBANTE, C.; GAMBARO, A. The Occurrence of Glyphosate and its

Degradation Products in the Urban Stormwater: A Short Review. **Water, Air, and Soil Pollution**, v. 233, n. 12, p. 1–13, 2022.

FENG, D.; SORIC, A.; BOUTIN, O. Treatment technologies and degradation pathways of glyphosate: A critical review. **Science of the Total Environment**, v. 742, p. 140559, 2020.

FERNANDES, G.; APARICIO, V. C.; BASTOS, M. C.; GERÓNIMO, E.; LABANOWSKI, J.; PRESTES, O. D.; ZANELLA, R.; SANTOS, D. R. Indiscriminate use of glyphosate impregnates river epilithic biofilms in southern Brazil. **Science of The Total Environment**, v. 651, p. 1377–1387, 2019.

FERRANDO, L.; MATAMOROS, V. Attenuation of nitrates, antibiotics and pesticides from groundwater using immobilised microalgae-based systems. **Science of the Total Environment**, v. 703, p. 134740, 2020.

FIRDOUS, S.; IQBAL, S.; ANWAR, S. Optimization and modeling of glyphosate biodegradation by a novel *Comamonas odontotermitis* P2 through response surface methodology. **Pedosphere**, v. 30, n. 5, p. 618–627, 2020.

FORLANI, G.; CAMPANI, A. A dimeric 5-enol-pyruvyl-shikimate-3-phosphate synthase from the cyanobacterium *Spirulina platensis*. **New Phytologist**, v. 151, n. 2, p. 443–450, 2001.

FORLANI, G.; PAVAN, M.; GRAMEK, M.; KAFARSKI, P.; LIPOK, J. Biochemical Bases for a Widespread Tolerance of Cyanobacteria to the Phosphonate Herbicide Glyphosate. **Plant and Cell Physiology**, v. 49, n. 3, p. 443–456, 2008.

FRANCESCHINI, I. M.; MURLIGA, A. L.; REVIERS, B.; PRADO, J. F.; HAMLAOUI, S. **Algas: uma abordagem filogenética, taxonômica e ecológica**. Porto Alegre: Artmed Editora, 2009.

FREITAS, B. C. B.; SANTOS, T. D.; MOREIRA, J. B.; ZANFONATO, K.; MORAIS, M. G.; COSTA, J. A. V. Novel foods: a meal replacement shake and a high-calorie food supplemented with *Spirulina* biomass. **International Food Research Journal**, v. 26, n. 1, p. 56-65, 2019.

FREUNDLICH, H. M. F. Over the adsorption in solution. **Journal Physical Chemical**, v. 57, p. 385-471, 1906.

GALLI, A. J. B.; MONTEZUMA, M. C. **Alguns aspectos da utilização do herbicida glifosato na agricultura**. São Paulo: Acadcom Gráfica e Editora Ltda, 2005.

GAVRILESCU, M. Fate of pesticides in the environment and its bioremediation. **Engineering in Life Sciences**, v. 5, n. 6, p. 497–526, 2005.

GONÇALVES, A. C.; SCHWANTES, D.; JUNIOR, E. C.; ZIMMERMANN, J.; COELHO, G. F. Adsorption of Cd (II), Pb (II) and Cr (III) on chemically modified *Euterpe Oleracea* biomass for the remediation of water pollution. **Acta Scientiarum. Technology**, v. 43, n. 1, p. e50263, 2020.

GONÇALVES, A. L.; PIRES, J. C. M.; SIMÕES, M. A review on the use of microalgal consortia for wastewater treatment. **Algal Research**, v. 24, p. 403–415, 2017.

GONÇALVES, A. L.; PIRES, J. C. M.; SIMÕES, M. Biotechnological potential of *Synechocystis salina* co-cultures with selected microalgae and cyanobacteria: Nutrients removal, biomass and lipid production. **Bioresource Technology**, v. 200, p. 279–286, 2016.

GONZÁLEZ-BARREIRO, O.; RIOBOO, C.; HERRERO, C.; CID, A. Removal of triazine herbicides from freshwater systems using photosynthetic microorganisms. **Environmental Pollution**, v. 144, n. 1, p. 266–271, 2006.

GRANDCOIN, A.; PIEL, S.; BAURÈS, E. AminoMethylPhosphonic acid (AMPA) in natural waters: Its sources, behavior and environmental fate. **Water Research**, v. 117, p. 187–197, 2017.

GUL, O.; YOLA, B. B.; KIRAN, T. R.; YOLA, M. L. *Spirulina platensis* and Bioremediation of Phosmet, Ethion, Methyl Parathion pesticides. **Journal of Intelligent Systems with Applications**, p. 50–57, 2021.

HALL, K. E.; SPOKAS, K. A.; GAMIZ, B.; COX, L.; PAPIERNIK, S. K.; KOSKINEN, W. C. Glyphosate sorption/desorption on *biochars* - interactions of physical and chemical processes. **Pest Management Science**, v. 74, n. 5, p. 1206–1212, 2018.

HANSDA, A.; KUMAR, V.; ANSHUMALI. A comparative review towards potential of microbial cells for heavy metal removal with emphasis on biosorption and bioaccumulation. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, v. 32, n. 10, 2016.

HENA, S.; GUTIERREZ, L.; CROUÉ, J. P. Removal of pharmaceutical and personal care products (PPCPs) from wastewater using microalgae: A review. **Journal of Hazardous Materials**, v. 403, p. 124041, 2021.

HERATH, I.; KUMARATHILAKA, P.; AL-WABEL, M. I.; ABDULJABBAR, A.; AHMAD, M.; USMAN, A. R. A.; VITHANAGE, M. Mechanistic modeling of glyphosate interaction with rice husk derived engineered *biochar*. **Microporous and Mesoporous Materials**, v. 225, p. 280–288, 2016.

HU, J.; LIU, H.; SHUKLA, P.; LIN, W.; LUO, J. Nitrogen and phosphorus removals by the agar-immobilized *Chlorella saccharophila* with long-term preservation at room temperature. **Chemosphere**, v. 251, p. 126406, 2020.

HU, N.; XU, Y.; SUN, C.; ZHU, L.; SUN, S.; ZHAO, Y.; HU, C. Removal of atrazine in catalytic degradation solutions by microalgae *Chlorella sp.* and evaluation of toxicity of degradation products via algal growth and photosynthetic activity. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 207, 1 p. 11546, 2021.

HULTBERG, M.; BODIN, H. Effects of fungal-assisted algal harvesting through biopellet formation on pesticides in water. **Biodegradation**, v. 29, n. 6, p. 557–565, 2018.

HULTBERG, M.; BODIN, H.; ARDAL, E.; ASP, H. Effect of microalgal treatments on pesticides in water. **Environmental Technology**, v. 37, n. 7, p. 893–898, 2016.

HUSSEIN, M. H.; ABDULLAH, A. M.; EL-DIN, N. I. B.; MISHAQA, E. S. I. Biosorption Potential of the Microchlorophyte *Chlorella vulgaris* for Some Pesticides. **Journal of Fertilizers & Pesticides**, v. 08, n. 01, p. 1–5, 2017.

IARC. International Agency For Research on Cancer. Evaluation of five organophosphate insecticides and herbicides. 2015. Disponível em: <<http://www.iarc.fr/en/media-centre/iarcnews/pdf/MonographVolume112.pdf>>. Acesso em: 23 jan. 2020.

IBGE. **Produção de Açaí (cultivo) no Brasil**. Disponível em: <<https://www.ibge.gov.br/explica/producao-agropecuaria/acai-cultivo/br>>. Acesso em: 2 maio. 2023.

IGANSI, A. V.; ENGELMANN, J.; LÜTKE, S. F.; PORTO, F. B.; PINTO, L. A. A.; CADAVAL, T. R. S. Isotherms, kinetics, and thermodynamic studies for adsorption of pigments and oxidation products in oil bleaching from catfish waste. **Chemical Engineering Communications**, v. 206, n. 11, p. 1410–1424, 2019.

IORI, S.; ROVERE, G. D.; EZZAT, L.; SMITS, M.; FERRARESSO, S. S.; BABBUCCI, M.; MARIN, M. G.; MASIERO, L.; FABRELLO, J.; GARRO, E.; CARRARO, L.; CARDAZZO, B.; PATARNELLO, T.; MATOZZO, V.; BARGENOLLI, L.; MILAN, M. The effects of glyphosate and AMPA on the mediterranean mussel *Mytilus galloprovincialis* and its microbiota. **Environmental Research**, v. 182, p. 108984, 2020.

ISSA, A. A. E.; ADAM, M. S.; FAWZY, M. A. Alterations in some metabolic activities of *Scenedesmus quadricauda* and *Merismopedia glauca* in response to glyphosate herbicide. **Journal of Biology and Earth Sciences**, v. 3, n. 1, p. 17-23, 2013.

IUMMATO, M. M.; FASSIANO, A.; GRAZIANO, M.; AFONSO, M. S.; MOLINA, M. C. R.; JUÁREZ, Á. B. Effect of glyphosate on the growth, morphology, ultrastructure and metabolism of *Scenedesmus vacuolatus*. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 172, p. 471–479, 2019.

IZAGUIRRES, G. G. **Utilização do caroço de açaí como leito filtrante no tratamento de água**. 2021. 122 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia e Ciência de Alimentos) - Escola de Química e Alimentos, Universidade Federal do Rio Grande, Rio Grande, 2021.

JACQUES, R. A.; LIMA, E. C.; DIAS, S. L. P.; MAZZOCATO, A. C.; PAVAN, F. A. Yellow passion-fruit shell as biosorbent to remove Cr(III) and Pb(II) from aqueous solution. **Separation and Purification Technology**, v. 57, n. 1, p. 193–198, 2007.

JAISWAL, K. K.; KUMAR, V.; VLASKIN, M. S.; NANDA, M. Impact of glyphosate herbicide stress on metabolic growth and lipid inducement in *Chlorella sorokiniana* UUIND6 for biodiesel production. **Algal Research**, v. 51, p. 102071, 2020.

JATOI, A. S.; HASHMI, Z.; ADRIYANI, R.; YUNIARTO, A.; MAZARI, S. A.; AKHTER, F.; MUBARAK, N. M. Recent trends and future challenges of pesticide removal techniques – A comprehensive review. **Journal of Environmental Chemical Engineering**, v. 9, n. 4, p. 105571, 2021.

Jl, M.; WANG, X.; USMAN, M.; LIU, F.; DAN, Y.; ZHOU, L.; CAMPANARO, S.; LUO, G.; SANG, W. Effects of different feedstocks-based *biochar* on soil remediation: A review. **Environmental Pollution**, v. 294, p. 118655, 2022.

JIA, D.; LIU, M.; XIA, J.; LI, C. Effective removal of aqueous glyphosate using CuFe_2O_4 @*biochar* derived from phragmites. **Journal of Chemical Technology and Biotechnology**, v. 95, n. 1, p. 196–204, 2020.

JIANG, X.; OUYANG, Z.; ZHANG, Z.; YANG, C.; LI, X.; DANG, Z.; WU, P. Mechanism of glyphosate removal by *biochar* supported nano-zero-valent iron in aqueous solutions. **Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects**, v. 547, p. 64–72, 2018.

JIN, Z. P.; LUO, K.; ZHANG, S.; ZHENG, Q.; YANG, H. Bioaccumulation and catabolism of prometryne in green algae. **Chemosphere**, v. 87, n. 3, p. 278–284, 2012.

JOHANSEN, M. N. **Microalgae: Biotechnology, Microbiology and Energy**. Nova Science Publishers, Inc, New York, 2012.

JONSSON, C. M.; PARAIBA, L. C.; MENDOZA, M. T.; SABATER, C.; CARRASCO, J. M. Bioconcentration of the insecticide pyridaphenthion by the green algae *Chlorella saccharophila*. **Chemosphere**, v. 43, n. 3, p. 321–325, 2001.

JORGE, F. T. A.; SILVA, A. S.; BRIGAGÃO, G. V. Açai waste valorization via mannose and polyphenols production: techno-economic and environmental assessment. **Biomass Conversion and Biorefinery**, 2022.

KABRA, A. N.; JI, M. K.; CHOI, J.; KIM, J. R.; GOVINDWAR, S. P.; JEON, B. H. Toxicity of atrazine and its bioaccumulation and biodegradation in a green microalga, *Chlamydomonas mexicana*. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 21, n. 21, p. 12270–12278, 2014.

KARGAR, M.; GHORBANI, R.; RASHED MOHASSEL, M. H.; RASTGOO, M. Chlorophyll Fluorescence - a Tool for Quick Identification of Accase and ALS Inhibitor Herbicides Performance. **Planta Daninha**, v. 37, p. e019166813, 2019.

KHOO, K. S.; CHEW, K. W.; YEW, G. Y.; LEONG, W. H.; CHAI, Y. H.; SHOW, P. L.; CHEN, W. H. Recent advances in downstream processing of microalgae lipid recovery for biofuel production. **Bioresource Technology**, v. 304, p. 122996, 2020.

KUBE, M.; JEFFERSON, B.; FAN, L.; RODDICK, F. The impact of wastewater characteristics, algal species selection and immobilisation on simultaneous nitrogen and phosphorus removal. **Algal Research**, v. 31, p. 478–488, 2018.

KUMAR, A.; SINGH, J. S. Cyanoremediation: A Green-Clean Tool for Decontamination of Synthetic Pesticides from Agro- and Aquatic Ecosystems. In: SINGH, J.; SENEVIRATNE G. (Eds). **Agro-Environmental Sustainability**. Springer, Cham. 2017. p. 59-83.

KUMAR, M. S.; KABRA, A. N.; MIN, B.; EL-DALATONY, M. M.; XIONG, J.; THAJUDDIN, N.; LEE, D. S.; JEON, B. H. Insecticides induced biochemical changes in

freshwater microalga *Chlamydomonas mexicana*. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 23, n. 2, p. 1091–1099, 2016.

KURADE, M. B.; KIM, J. R.; GOVINDWAR, S. P.; JEON, B. H. Insights into microalgae mediated biodegradation of diazinon by *Chlorella vulgaris*: Microalgal tolerance to xenobiotic pollutants and metabolism. **Algal Research**, v. 20, p. 126–134, 2016.

LAM, M. K.; LEE, K. T. Immobilization as a feasible method to simplify the separation of microalgae from water for biodiesel production. **Chemical Engineering Journal**, v. 191, p. 263–268, 2012.

LAN, S.; WU, L.; ZHANG, D.; HU, C. Effects of light and temperature on open cultivation of desert cyanobacterium *Microcoleus vaginatus*. **Bioresource Technology**, v. 182, p. 144–150, 2015.

LANGMUIR, I. The adsorption of gases on plane surfaces of glass, mica and platinum. **Journal American Chemical Society**, v. 40, p. 1361–1403, 1918.

LI, C.; LI, Y.; LI, Q.; DUAN, J.; HOU, J.; HOU, Q.; AI, S.; LI, H.; YANG, Y. Regenerable magnetic aminated lignin/Fe₃O₄/La(OH)₃ adsorbents for the effective removal of phosphate and glyphosate. **Science of The Total Environment**, v. 788, p. 147812, 2021.

LI, C.; ZHU, H.; LI, C.; QIAN, H.; YAO, W.; GUO, Y. The present situation of pesticide residues in China and their removal and transformation during food processing. **Food Chemistry**, v. 354, 1 p. 29552, 2021.

LIMA, I. B.; BOËCHAT, I. G.; FERNANDES, M. D.; MONTEIRO, J. A. F.; RIVAROLI, L.; GÜCKER, B. Glyphosate pollution of surface runoff, stream water, and drinking water resources in Southeast Brazil. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 30, p. 27030–27040, 2022.

LIN, W.; ZHANG, Z.; CHEN, Y.; ZHANG, Q.; KE, M.; LU, T.; QIAN, H. The mechanism of different cyanobacterial responses to glyphosate. **Journal of Environmental Sciences**, v. 125, p. 258–265, 2023.

LIPOK, J.; OWSIAK, T.; MŁYNARZ, P.; FORLANI, G.; KAFARSKI, P. Phosphorus NMR as a tool to study mineralization of organophosphonates—The ability of *Spirulina* spp. to degrade glyphosate. **Enzyme and Microbial Technology**, v. 41, n. 3, p. 286–291, 2007.

LIPOK, J.; STUDNIK, H.; GRUYAERT, S. The toxicity of Roundup® 360 SL formulation and its main constituents: Glyphosate and isopropylamine towards non-target water photoautotrophs. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 73, n. 7, p. 1681–1688, 2010.

LIU, J.; WU, Y.; WU, C.; MUYLEAERT, K.; VYVERMAN, W.; YU, H. Q.; MUÑOZ, R.; RITTMANN, B. Advanced nutrient removal from surface water by a consortium of attached microalgae and bacteria: A review. **Bioresource Technology**, v. 241, p. 1127–1137, 2017.

LIU, Y.; LONAPPAN, L.; BRAR, S. K.; YANG, S. Impact of *biochar* amendment in agricultural soils on the sorption, desorption, and degradation of pesticides: A review. **Science of the Total Environment**, v. 645, p. 60–70, 2018.

LOPES, M. **Desenvolvimento de sistema de filtração para tratamento de água através de biochar de biomassa microalgal**. 2021. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Bioprocessos e Biotecnologia)- Setor de Tecnologia, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2021.

LOURENÇO, S. O. **Cultivo de Microalgas Marinhas – Princípios e Aplicações**. São Carlos: RiMa, 2006.

LOWRY, O.H.; ROSEBROUGH, N. J.; FARR, A. L; RANDALL, R. J. Protein measurement with the Folin phenol reagent. **Journal of Biological Chemistry**, p. 265–276, 1951.

LÜTKE, S. F.; IGANSI, A. V.; PEGORARO, L.; DOTTO, G. L.; PINTO, L. A. A.; CADAVAL, T. R. S. Preparation of activated carbon from black wattle bark waste and its application for phenol adsorption. **Journal of Environmental Chemical Engineering**, v. 7, n. 5, p. 103396, 2019.

LUTRI, V. F.; MATTEODA, E.; BLARASIN, M.; APARICIO, V.; GIACOBONE, D.; MALDONADO, L.; BECHER QUINODOZ, F.; CABRERA, A.; GIULIANO ALBO, J. Hydrogeological features affecting spatial distribution of glyphosate and AMPA in groundwater and surface water in an agroecosystem. **Science of The Total Environment**, v. 711, p. 134557, 2020.

MAGRO, F. G.; FREITAG, J. F.; BERGOLI, A.; CAVANHI, V. A. F.; COLLA, L. M. Microalgae consortia cultivation using effluents for bioproduct manufacture. **Reviews in Environmental Science and Bio/Technology**, v. 20, n. 3, p. 865–886, 2021.

MAGRO, F. G.; FREITAG, J. F.; BERGOLI, A.; COSTA, J. A. V.; COLLA, L. M. Microalgae Consortia for Post-treating Effluent of Anaerobic Digestion of Cattle Waste and Evaluation of Biochemical Composition of Biomass. **Bioenergy Research**, v. 15, n. 1, p. 371–384, 2022.

MAHESH, R.; PANDA, S. K.; DAS, M.; YASHAVANTH, P. R.; DHULL, S.; NEGI, B. B.; JAKHWAL, P.; MAITI, S. K. Advances in Biotechnological Tools for Bioremediation of Wastewater Using Bacterial–Algal Symbiotic System. In: SHAH, M. P.; SARKAR, A.; MANDAL, S. (Eds). **Wastewater Treatment**. Elsevier, 2021. p. 385–411.

MAHLER, B. J.; VAN METRE, P. C.; BURLEY, T. E.; LOFTIN, K. A.; MEYER, M. T.; NOWELL, L. H. Similarities and differences in occurrence and temporal fluctuations in glyphosate and atrazine in small Midwestern streams (USA) during the 2013 growing season. **Science of the total Environment**, v. 579, p. 149–158, 2017.

MALLICK, N. Immobilization of Microalgae. In: GUIBAN, J.; BOLIVAR, J.; LÓPEZ-GALLEGO, F.; ROCHA-MARTÍN, J. (Eds). **Immobilization of Enzymes and Cells. Methods in Molecular Biology, Humana**. New York: 2020. p. 453-47.

MAMY, L.; BONNOT, K.; BENOIT, P.; BOCKSTALLER, C.; LATRILLE, E.; ROSSARD, V.; SERVIEN, R.; PATUREAU, D.; PREVOST, L.; PIERLOT, F.; BEDOS, C. Assessment of pesticide volatilization potentials to atmosphere from their molecular properties using the TyPol tool. **Journal of Hazardous Materials**, v. 415, p. 125613, 2021.

- MANSANO, A. S.; MOREIRA, R. A.; DORNFELD, H. C.; FREITAS, E. C.; VIEIRA, E. M.; SARMENTO, H.; ROCHA, O.; SELEGHIM, M. H. R. Effects of diuron and carbofuran and their mixtures on the microalgae *Raphidocelis subcapitata*. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 142, p. 312–321, 2017.
- MARGARITES, A. C. F.; COSTA, J. A. V. Increment of carbohydrate concentration of *Chlorella minutissima* microalgae for bioethanol production. **Journal of Engineering Research and Applications**, v. 4, n. 11, p. 80–86, 2014.
- MARGULIS, L.; SCHWARTZ, K. V. **Cinco Reinos: Um Guia Ilustrado dos Filos da Vida na Terra**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2001.
- MARIA, M. A.; CASTRO, S. R.; LANGE, L. C.; SIÚVES, C. L. F.; SOARES, A. C. Ecological risk assessment of glyphosate in surface water when it is used to control floating aquatic macrophytes. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v. 92, n. 2, p. 3-12.
- MARSH, J. B.; WEINSTEIN, D. B. Simple charring method for determination of lipids. **Journal of lipid research**, v. 7, n. 4, p. 574-576, 1966.
- MARYJOSEPH, S.; KETHEESAN, B. Microalgae based wastewater treatment for the removal of emerging contaminants: A review of challenges and opportunities. **Case Studies in Chemical and Environmental Engineering**, v. 2, p. 100046, 2020.
- MATAMOROS, V.; RODRÍGUEZ, Y. Batch vs continuous-feeding operational mode for the removal of pesticides from agricultural run-off by microalgae systems: A laboratory scale study. **Journal of Hazardous Materials**, v. 309, p. 126–132, 2016.
- MAYAKADUWA, S. S.; KUMARATHILAKA, P.; HERATH, I.; AHMAD, M.; AL-WABEL, M.; OK, Y. S.; USMAN, A.; ABDULJABBAR, A.; VITHANAGE, M. Equilibrium and kinetic mechanisms of woody *biochar* on aqueous glyphosate removal. **Chemosphere**, v. 144, p. 2516–2521, 2016.
- MEFTAUL, I. M.; VENKATESWARLU, K.; DHARMARAJAN, R.; ANNAMALAI, P.; ASADUZZAMAN, M.; PARVEN, A.; MEGHARAJ, M. Controversies over human health and ecological impacts of glyphosate: Is it to be banned in modern agriculture? **Environmental Pollution**, v. 263, p. 114372, 2020.
- MILONJIĆ, S. K. A consideration of the correct calculation of thermodynamic parameters of adsorption. **Journal of the Serbian Chemical Society**, v. 72, n. 12, p. 1363–1367, 2007.
- MOHANTY, S. S.; DAS, A. P. A Systematic Study on the Microbial Degradation of Glyphosate: A Review. **Geomicrobiology Journal**, v. 39, n. 3–5, p. 316–327, 2021.
- MORAES, P. V. D.; ROSSI, P. Comportamento ambiental do glifosato. **Scientia Agraria Paranaensis**, v. 9, n. 3, p. 22–35, 2010.
- MORAIS, M. G.; COSTA, J. A. V. Carbon dioxide fixation by *Chlorella kessleri*, *C. vulgaris*, *Scenedesmus obliquus* and *Spirulina* sp. cultivated in flasks and vertical tubular photobioreactors. **Biotechnology Letters**, v. 29, n. 9, p. 1349–1352, 2007.

MORAIS, M. G.; LOPES, M.; IZAGUIRRES, G. G.; MOREIRA, J. B.; RADMANN, E. M.; COSTA, J. A. V. Microalgal *biochar*: A sustainable bioadsorbent. In: KAPOOR, R.T.; SHAH, M.P (Eds.). **Synergistic Approaches for Bioremediation of Environmental Pollutants: Recent Advances and Challenges**. Academic Press, 2022. p. 345–363.

MORAIS, M. G.; VARGAS, B. P.; VAZ, B. S.; CARDIAS, B. B.; COSTA, J. A. V. Advances in the synthesis and applications of nanomaterials to increase CO₂ biofixation in microalgal cultivation. **Clean Technologies and Environmental Policy**, v. 25, p. 617–632, 2023.

MORAIS, M. G.; ZAPAROLI, M.; LUCAS, B. F.; COSTA, J. A. V. Microalgae for bioremediation of pesticides: Overview, challenges, and future trends. In: AHMAD, A.; BANAT, F.; TAHER, H. (Eds.). **Algal Biotechnology**: Microalgae for bioremediation of pesticides: Overview, challenges, and future trends. Elsevier, 2022. p. 63–78.

MORALES-PÉREZ, A. A.; ARIAS, C.; RAMÍREZ-ZAMORA, R-M. Removal of atrazine from water using an iron photo catalyst supported on activated carbon. **Adsorption**, v. 22, p. 49–58, 2016.

MOREIRA, J. B.; SANTOS, T. D.; DUARTE, J. H.; BEZERRA, P. Q. M.; MORAIS, M. G.; COSTA, J. A. V. Role of microalgae in circular bioeconomy: from waste treatment to biofuel production. **Clean Technologies and Environmental Policy**, v. 25, n. 7, p. 427–437, 2023.

MUÑOZ, J. P.; SILVA-PAVEZ, E.; CARRILLO-BELTRÁN, D.; CALAF, G. M. Occurrence and exposure assessment of glyphosate in the environment and its impact on human beings. **Environmental research**, v. 231, n. 3, p. 116201, 2023.

NADERI, M. Surface Area: Brunauer–Emmett–Teller (BET). **Progress in Filtration and Separation**, p. 585–608, 2015.

NASCIMENTO, R. F.; LIMA, A. C. A.; VIDAL, C. B.; MELO, D. Q.; RAULINO, G. S. C. **Adsorção aspectos teóricos e aplicações ambientais**. Fortaleza: Imprensa Universitária, 2014. 256 p.

NASIRI, M.; AHMADZADEH, H.; AMIRI, A. H. Biodegradation and metabolic fate of organophosphorus pesticides in well water using *Dunaliella salina*. **International Journal of Environmental Science and Technology**, v. 20, n. 1, p. 981–992, 2023.

NEHRA, M.; DILBAGHI, N.; MARRAZZA, G.; KAUSHIK, A.; SONNE, C.; KIM, K-H.; KUMAR, S. Emerging nanobiotechnology in agriculture for the management of pesticide residues. **Journal of Hazardous Materials**, v. 401, p. 23369, 2021.

NIE, J.; SUN, Y.; ZHOU, Y.; KUMAR, M.; USMAN, M.; LI, J.; SHAO, J.; WANG, L.; TSANG, D. C. W. Bioremediation of water containing pesticides by microalgae: Mechanisms, methods, and prospects for future research. **Science of the Total Environment**, v. 707, p. 136080, 2020.

NORDIO, R.; DELGADO, F. J.; SÁNCHEZ-ZURANO, A.; HERNANDEZ, J. G.; RODRÍGUEZ-MIRANDA, E.; GUZMÁN, J. L.; LAFARGA, T.; ACIÉN, G. Long-term assessment of the nutrient recovery capacity and biomass productivity of *Scenedesmus*

almeriensis in raceway reactors using unprocessed urban wastewater. **Bioresource Technology**, v. 369, p. 128374, 2023.

NOUROUZI, M. M.; CHUAH, T. G.; CHOONG, T. S. Y. Adsorption of glyphosate onto activated carbon derived from waste newspaper. **New pub: Balaban**, v. 24, n. 1–3, p. 321–326, 2012.

OKADA, E.; ALLINSON, M.; BARRAL, M. P.; CLARKE, B.; ALLINSON, G. Glyphosate and aminomethylphosphonic acid (AMPA) are commonly found in urban streams and wetlands of Melbourne, Australia. **Water Research**, v. 168, p. 115139, 2020.

OKADA, E.; COGGAN, T.; ANUMOL, T.; CLARKE, B.; ALLINSON, G. A simple and rapid direct injection method for the determination of glyphosate and AMPA in environmental water samples. **Analytical and Bioanalytical Chemistry**, v. 411, n. 3, p. 715–724, 2019.

OSMAN, A. I.; FARGHALI, M.; IHARA, I.; ELGARAHY, A. M.; AYYAD, A.; MEHTA, N.; NG, K. H.; EL-MONAEM, E. M. A.; ELTAWEL, A. S.; HOSNY, M.; HAMED, S. M.; FAWZY, S.; YAP, P.; ROONEY, D. W. Materials, fuels, upgrading, economy, and life cycle assessment of the pyrolysis of algal and lignocellulosic biomass: a review. **Environmental Chemistry Letters**, v. 21, n. 3, p. 1419–1476, 2023.

PANDEY, A.; SINGH, M. P.; KUMAR, S.; SRIVASTAVA, S. Phycoremediation of Persistent Organic Pollutants from Wastewater: Retrospect and Prospects. In: GUPTA, S. K.; BUX, F. (Eds). **Application of Microalgae in Wastewater Treatment**. Springer, Cham. 2019. p. 207–235.

PARWEEN, T.; BHANDARI, P.; SHARMA, R.; JAN, S.; SIDDIQUI, Z. H.; PATANJALI, P. K. Bioremediation: A sustainable tool to prevent pesticide pollution. In: OVES, M.; KHAN, M. Z.; ISMAIL, I. M. I. **Modern Age Environmental Problems and their Remediation**. Springer International Publishing, 2017, p. 215–227.

PATEL, A. K.; CHOI, Y. Y.; SIM, S. J. Emerging prospects of mixotrophic microalgae: Way forward to sustainable bioprocess for environmental remediation and cost-effective biofuels. **Bioresource Technology**, v. 300, n. 122741, 2020.

PATERNINA, L. P. R.; MORAES, L.; SANTOS, T. D.; DE MORAIS, M. G.; COSTA, J. A. V. *Spirulina* and açai as innovative ingredients in the development of gummy candies. **Journal of Food Processing and Preservation**, v. 46, n. 12, 2022.

PEILLEX, C.; PELLETIER, M. The impact and toxicity of glyphosate and glyphosate-based herbicides on health and immunity. **Journal of Immunotoxicology**, v. 17, n. 1, p. 163–174, 2020.

PEÑA, A.; DELGADO-MORENO, L.; RODRÍGUEZ-LIÉBANA, J. A. A review of the impact of wastewater on the fate of pesticides in soils: Effect of some soil and solution properties. **Science of The Total Environment**, v. 718, p. 134468, 2019.

PEREIRA, R.C., ANIZELLI, P.R., DI MAURO, E.; VALEZI, D. F.; COSTA, A. C. S.; ZAIA, C. T. B. V.; ZAIA, D. A. M. The effect of pH and ionic strength on the adsorption of glyphosate onto ferrihydrite. **Geochemical Transactions**, v. 20, n. 3, 2019.

PEREIRA, H. A.; HERNANDES, P. R. T.; NETTO, M. S.; RESKE, G. D.; VIECELI, V.; OLIVEIRA, L. F. S.; DOTTO, G. L. Adsorbents for glyphosate removal in contaminated waters: a review. **Environmental Chemistry Letters**, v. 19, n. 2, p. 1525–1543, 2021.

PÉREZ-LEGASPI, I. A.; ORTEGA-CLEMENTE, L. A.; MOHA-LEÓN, J. D.; RÍOS-LEAL, E.; GUTIÉRREZ, S. C. R.; RUBIO-FRANCHINI, I. Effect of the pesticide lindane on the biomass of the microalgae *Nannochloris oculata*. **Journal of Environmental Science and Health**, v. 51, n. 2, p. 103–106, 2016.

PERRINEAU, M. M.; ZELZION, E.; GROSS, J.; PRICE, D. C.; BOYD, J.; BHATTACHARYA, D. Evolution of salt tolerance in a laboratory reared population of *Chlamydomonas reinhardtii*. **Environmental Microbiology**, v. 16, n. 6, p. 1755–1766, 2014.

PESSÔA, T. S.; FERREIRA, L. E. L.; SILVA, M. P.; NETO, L. M. P.; NASCIMENTO, B. F.; FRAGA, T. J. M.; JAGUARIBE, E. F.; CAVALCANTI, J. V.; SOBRINHO, M. A. M. Açai waste benefiting by gasification process and its employment in the treatment of synthetic and raw textile wastewater. **Journal of Cleaner Production**, v. 240, p. 118047, 2019.

PICCIN, J. S., CADAVAL, T. R. S., PINTO, L. A. A., DOTTO, G. L. Adsorption Isotherms in Liquid Phase: Experimental, Modeling, and Interpretations. In: BONILLA-PETRICIOLET, A., MENDOZA-CASTILLO, D., REYNEL-ÁVILA, H. (Eds.) **Adsorption Processes for Water Treatment and Purification**. Springer, Cham, 2017, p.19-51.

PIEL, S.; BAURÈS, E.; THOMAS, O. Contribution to Surface Water Contamination Understanding by Pesticides and Pharmaceuticals, at a Watershed Scale. **International Journal of Environmental Research and Public Health**, v. 9, n. 12, p. 4433-4451, 2012.

POWELL, H. A.; KERBBY, N. W.; ROWELL, P. Natural tolerance of cyanobacteria to the herbicide glyphosate. **New Phytologist**, v. 119, n. 3, p. 421-426, 1991.

PRAVEEN, S.; JEGAN, J.; BHAGAVATHI PUSHPA, T.; GOKULAN, R.; BULGARIU, L. Biochar for removal of dyes in contaminated water: an overview. **Biochar**, v. 4, n. 1, p. 10, 2022.

PRIYADARSHANI, I.; SAHU, D.; RATH, B. Microalgal bioremediation: Current practices and perspectives. **Journal of Biochemical Technology**, v. 3, n. 3, p. 299–304, 2011.

QIN, L.; WANG, Z.; SUN, Y.; SHU, Q.; FENG, P.; ZHU, L.; XU, J.; YUAN, Z. Microalgae consortia cultivation in dairy wastewater to improve the potential of nutrient removal and biodiesel feedstock production. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 23, n. 9, p. 8379–8387, 2016.

QUEIROZ, L. S.; SOUZA, L. K. C.; THOMAZ, K. T. C.; LIMA, E. T. L.; FILHO, G. N. R.; NASCIMENTO, L. A. S.; PIRES, L. H. O.; FAIAL, K. C. F.; COSTA, C. E. F. Activated carbon obtained from amazonian biomass tailings (acai seed): Modification, characterization,

and use for removal of metal ions from water. **Journal of Environmental Management**, v. 270, p. 110868, 2020.

RAJAK, P.; ROY, S.; GANGULY, A.; MANDI, M.; DUTTA, A.; DAS, K.; NANDA, S.; GHANTY, S.; BISWAS, G. Agricultural pesticides – friends or foes to biosphere? **Journal of Hazardous Materials Advances**, v. 10, p. 100264, 2023.

RAJMOHAN, K. S.; CHANDRASEKARAN, R.; VARJANI, S. A Review on Occurrence of Pesticides in Environment and Current Technologies for Their Remediation and Management. **Indian Journal of Microbiology**, v. 60, p. 125–138, 2020.

RAJPUT, V.; JAISWAL, K. K.; KUMAR, V.; VLASKIN, M. S.; NANDA, M.; KUMAR, S.; VERMA, M. Microalgae: A Promising Tool for Pesticide Mitigation in Wastewater. **Pesticides Bioremediation**, p. 399–410, 2022.

RAMAKRISHNAN, B.; VENKATESWARLU, K.; SETHUNATHAN, N.; MEGHARAJ, M. Local applications but global implications: Can pesticides drive microorganisms to develop antimicrobial resistance? **Science of the Total Environment**, v. 654, p. 177–189, 2019.

RAMANAN, R.; KIM, B. H.; CHO, D. H.; OH, H. M.; KIM, H. S. Algae-bacteria interactions: Evolution, ecology and emerging applications. **Biotechnology Advances**, v. 34, n. 1, p. 14–29, 2016.

RAMIREZ, R.; SCHNORR, C. E.; GEORGIN, J.; NETTO, M. S.; FRANCO, D. S. P.; CARISSIMI, E.; WOLFF, D.; SILVA, L. F. O.; DOTTO, G. L. Transformation of Residual Açai Fruit (*Euterpe oleracea*) Seeds into Porous Adsorbent for Efficient Removal of 2,4-Dichlorophenoxyacetic Acid Herbicide from Waters. **Molecules**, v. 27, n. 22, p. 7781, 2022.

RANGLOVÁ, K.; LAKATOS, G. E.; MANOEL, J. A. C.; GRIVALSKÝ, T.; MASOJÍDEK, J. Rapid screening test to estimate temperature optima for microalgae growth using photosynthesis activity measurements. **Folia Microbiologica**, v. 64, n. 5, p. 615–625, 2019.

REMPEL, A.; BIOLCHI, G. N.; ANTUNES, A. C. F.; GUTKOSKI, J. P.; TREICHEL, H.; COLLA, L. M. Cultivation of Microalgae in Media Added of Emergent Pollutants and Effect on Growth, Chemical Composition, and Use of Biomass to Enzymatic Hydrolysis. **Bioenergy Research**, v. 14, n. 1, p. 265–277, 2021.

REMPEL, A.; GUTKOSKI, J. P.; NAZARI, M. T.; BIOLCHI, G. N.; CAVANHI, V. A. F.; TREICHEL, H.; COLLA, L. M. Current advances in microalgae-based bioremediation and other technologies for emerging contaminants treatment. **Science of the Total Environment**, 772, p. 144918, 2021.

REMUCAL, C. K. The role of indirect photochemical degradation in the environmental fate of pesticides: A review. **Environmental Sciences: Processes and Impacts**, v. 16, n. 4, p. 628–653, 2014.

RENUKA, N.; SOOD, A.; RATHA, S. K.; PRASANNA, R.; AHLUWALIA, A. S. Evaluation of microalgal consortia for treatment of primary treated sewage effluent and biomass production. **Journal of Applied Phycology**, v. 25, n. 5, p. 1529–1537, 2013.

RIPPKA, R.; DERUELLES, J.; WATERBURY, J. B. Generic assignments, strain histories and properties of pure cultures of cyanobacteria. **Journal of General Microbiology**, v. 111, n. 1, p. 1–61, 1979.

ROMERO, D. M.; MOLINA, M. C. R.; JUÁREZ, Á. B. Oxidative stress induced by a commercial glyphosate formulation in a tolerant strain of *Chlorella kessleri*. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 74, n. 4, p. 741–747, 2011.

RUTHVEN, D. M. Physical Adsorption and the Characterization of Porous Adsorbents. **Principles of Adsorption and Adsorption Processes**, New York, v. 19, p. 433, 1985.

RUTHVEN, D. M. **Principles of Adsorption and Adsorption Process**. New York: John Wiley & Sons, 1984.

SAHRAOUI, I.; GARALI, S. M. B.; CHAKROUN, Z.; GONZALEZ, C.; PRINGAULT, O.; HLAILI, A. S. Monoculture and co-culture tests of the toxicity of four typical herbicides on growth, photosynthesis and oxidative stress responses of the marine diatoms *Pseudo-nitzschia mannii* and *Chaetoceros decipiens*. **Ecotoxicology**, v. 31, p. 700–713, 2022.

SALMAN, J. M.; ABDUL-ADEL, E. Potential use of cyanophyta species *Oscillatoria limnetica* in bioremediation of organophosphorus herbicide glyphosate. **Mesopotamia Environmental Journal**, v. 1, n. 4, p. 15–26, 2015.

SATO, M. K.; LIMA, H. V.; COSTA, A. N.; RODRIGUES, S.; PEDROSO, A. J. S.; MAIA, C. M. B. F. *Biochar* from Acai agroindustry waste: Study of pyrolysis conditions. **Waste Management**, v. 96, p. 158–167, 2019.

SATO, M. K.; LIMA, H. V.; COSTA, A. N.; RODRIGUES, S.; MOONEY, S. J.; CLARKE, M.; PEDROSO, A. J. S.; MAIA, C. M. B. de F. *Biochar* as a sustainable alternative to açai waste disposal in Amazon, Brazil. **Process Safety and Environmental Protection**, v. 139, p. 36–46, 2020.

SEN, K.; CHATTORAJ, S. A comprehensive review of glyphosate adsorption with factors influencing mechanism: Kinetics, isotherms, thermodynamics study. In: BHATTACHARYYA, S.; MONDAL, N. K.; PLATOS, J.; SNÁŠEL, V.; KRÖMER, P. (Eds). **Intelligent Environmental Data Monitoring for Pollution Management**, Academic Press, 2021. p. 93–125.

SEN, K.; DATTA, J. K.; MONDAL, N. K. Glyphosate adsorption by *Eucalyptus camaldulensis* bark-mediated char and optimization through response surface modeling. **Applied Water Science**, v. 9, n. 7, p. 1–12, 2019.

SEN, K.; MONDAL, N. K.; CHATTORAJ, S.; DATTA, J. K. Statistical optimization study of adsorption parameters for the removal of glyphosate on forest soil using the response surface methodology. **Environmental Earth Sciences**, v. 76, n. 1, p. 1–15, 2017.

SHENG, Y.; BENMATI, M.; GUENDOUZI, S.; BENMATI, H.; YUAN, Y.; SONG, J.; XIA, C.; BERKANI, M. Latest eco-friendly approaches for pesticides decontamination using microorganisms and consortia microalgae: A comprehensive insights, challenges, and perspectives. **Chemosphere**, v. 308, p. 136183, 2022.

SILVA-BENAVIDES, A. M.; TORZILLO, G. Nitrogen and phosphorus removal through laboratory batch cultures of microalga *Chlorella vulgaris* and cyanobacterium *Planktothrix isoethrix* grown as monoalgal and as co-cultures. **Journal of Applied Phycology**, v. 24, n. 2, p. 267–276, 2012.

SOUSA, H.; SOUSA, C. A.; VALE, F.; SANTOS, L.; SIMÕES, M. Removal of parabens from wastewater by *Chlorella vulgaris*-bacteria co-cultures. **Science of The Total Environment**, v. 884, p. 163746, 2023.

SPENCE, W. F.; FARMER, W. J.; CLIATH, M. M. Pesticide volatilization. In: GUNTHER, F. (Ed.) **Residue Reviews**, New York: Springer, 1973. p. 1–48.

SUPARMANIAM, U.; LAM, M. K.; UEMURA, Y.; LIM, J. W.; LEE, K. T.; SHUIT, S. H. Insights into the microalgae cultivation technology and harvesting process for biofuel production: A review. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 115, p. 109361, 2019.

SUTHERLAND, D. L.; RALPH, P. J. Microalgal bioremediation of emerging contaminants – Opportunities and challenges. **Water Research**, v. 164, p. 114921, 2019.

SVIRIDOV, A. V.; SHUSHKOVA, T. V.; ERMAKOVA, I. T.; IVANOVA, E. V.; EPIKTETOV, D. O.; LEONT'EVSKII, A. A. Microbial degradation of glyphosate herbicides (review). **Prikladnaia Biokhimiia i Mikrobiologiya**, v. 51, n. 2, p. 183–190, 2015.

SVIRIDOV, A. V.; SHUSHKOVA, T. V.; ZELENKOVA, N. F.; VINOKUROVA, N. G.; MORGUNOV, I. G.; ERMAKOVA, I. T.; LEONTIEVSKY, A. A. Distribution of glyphosate and methylphosphonate catabolism systems in soil bacteria *Ochrobactrum anthropi* and *Achromobacter* sp. **Applied microbial and cell physiology**, v. 93, n. 2, p. 787–796, 2012.

TELLINGHUISEN, J. Van't Hoff analysis of $K^{\circ}(T)$: How good...or bad? **Biophysical Chemistry**, v. 120, n. 2, p. 114–120, 2006.

THOMMES, M.; KANEKO, K.; NEIMARK, A. V.; OLIVIER, J. P.; RODRIGUEZ-REINOSO, F.; ROUQUEROL, J.; SING, K. S. W. Physisorption of gases, with special reference to the evaluation of surface area and pore size distribution (IUPAC Technical Report). **Pure and Applied Chemistry**, v. 87, n. 9–10, p. 1051–1069, 2015.

TOULIABAH, H. E. S.; EL-SHEEKH, M. M.; ISMAIL, M. M.; EL-KASSAS, H. A Review of Microalgae- and Cyanobacteria-Based Biodegradation of Organic Pollutants. **Molecules**, v. 27, n. 3, p. 1141, 2022.

TRAN, H. N.; YOU, S.-J.; CHAO, H.-P. Thermodynamic parameters of cadmium adsorption onto orange peel calculated from various methods: A comparison study. **Journal of Environmental Chemical Engineering**, v. 4, n. 3, p. 2671–2682, 2016.

TZASKOS, D. F.; MARCOVICZ, C.; DIAS, N. M. P.; ROSSO, N. D. Desenvolvimento de amostragem para quantificação de glifosato em águas naturais. **Ciencia e Agrotecnologia**, v. 36, n. 4, p. 399–405, 2012.

- VAN BRUGGEN, A. H. C.; HE, M. M.; SHIN, K.; MAI, V.; JEONG, K. C.; FINCKH, M. R.; MORRIS, J. G. Environmental and health effects of the herbicide glyphosate. **Science of The Total Environment**, v. 616–617, p. 255–268, 2018.
- VAN EERD, L. L.; HOAGLAND, R. E.; ZABLOTOWICZ, R. M.; HALL, J. C. Pesticide metabolism in plants and microorganisms. **Weed Science**, v. 51, n. 4, p. 472–495, 2003.
- VARJANI, S.; KUMAR, G.; RENE, E. R. Developments in *biochar* application for pesticide remediation: Current knowledge and future research directions. **Journal of Environmental Management**, v. 232, p. 505–513, 2019.
- VAZ, B. S.; COSTA, J. A. V.; MORAIS, M. G. Innovative nanofiber technology to improve carbon dioxide biofixation in microalgae cultivation. **Bioresource Technology**, v. 273, p. 592–598, 2019.
- VIDYASHANKAR, S.; RAVISHANKAR, G. A. Algae-based bioremediation: Bioproducts and biofuels for biobusiness. In: PRASAD, M. N. V. (Ed.) **Bioremediation and Bioeconomy**. Amsterdam: Elsevier, 2016. p. 457–493.
- VILLAMAR-AYALA, C. A.; CARRERA-CEVALLOS, J. V.; VASQUEZ-MEDRANO, R.; ESPINOZA-MONTERO, P. J. Fate, eco-toxicological characteristics, and treatment processes applied to water polluted with glyphosate: A critical review. **Critical Reviews in Environmental Science and Technology**, v. 49, n. 16, p. 1476–1514, 2019.
- WAN, L.; WU, Y.; DING, H.; ZHANG, W. Toxicity, Biodegradation, and Metabolic Fate of Organophosphorus Pesticide Trichlorfon on the Freshwater Algae *Chlamydomonas reinhardtii*. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 68, p. 1645–1653, 2020.
- WANG, W.; JIANG, M.; SHENG, Y. Glyphosate Accelerates the Proliferation of *Microcystis aeruginosa*, a Dominant Species in Cyanobacterial Blooms. **Environmental Toxicology and Chemistry**, v. 40, n. 2, p. 342–351, 2021.
- WEBER, K.; QUICKER, P. Properties of *biochar*. **Fuel**, v. 217, p. 240–261, 2018.
- WOODROW, J. E.; GIBSON K. A.; SEIBER J. N. Pesticides and Related Toxicants in the Atmosphere. In: VOOGT, P. (Ed.) **Reviews of Environmental Contamination and Toxicology**. Springer, Cham., 2018. p. 147–196.
- WU, L.; QIU, Z.; ZHOU, Y.; DU, Y.; LIU, C.; YE, J.; HU, X. Physiological effects of the herbicide glyphosate on the cyanobacterium *Microcystis aeruginosa*. **Aquatic Toxicology**, v. 178, p. 72–79, 2016.
- XIAO, R.; ZHENG, Y. Overview of microalgal extracellular polymeric substances (EPS) and their applications. **Biotechnology Advances**, v. 34, n. 7, p. 1225–1244, 2016.
- XIONG, J-Q.; KURADE, M. B.; JEON, B-H. Can microalgae remove pharmaceutical contaminants from water? **Trends in Biotechnology**, v. 36, n. 1, p. 30–44, 2018.

YAMAGUCHI, N. U.; BERGAMASCO, R.; HAMOUDI, S. Magnetic MnFe_2O_4 –graphene hybrid composite for efficient removal of glyphosate from water. **Chemical Engineering Journal**, v. 295, p. 391–402, 2016.

YAMAGUCHI, N. U.; RUBIO, A. J.; BERGAMASCO, R. Activated carbon loaded with manganese and iron for glyphosate adsorption: Kinetics, isotherms and thermodynamic studies. **Revista Ambiente e Água**, v. 14, n. 6, 2019.

YAVARI, S.; MALAKAHMAD, A.; SAPARI, N. B. *Biochar* efficiency in pesticides sorption as a function of production variables—a review. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 22, n. 18, p. 13824–13841, 2015.

YIN, Z.; ZHU, L.; LI, S.; HU, T.; CHU, R.; MO, F.; HU, D.; LIU, C.; LI, B. A comprehensive review on cultivation and harvesting of microalgae for biodiesel production: Environmental pollution control and future directions. **Bioresource Technology**, v. 301, p. 122804, 2020.

ZABALOY, M. C.; ALLEGRI, M.; HERNANDEZ GUIJARRO, K.; BEHRENDT, KRAEMER, F.; MORRÁS, H.; ERIJMAN, L. Microbiomes and glyphosate biodegradation in edaphic and aquatic environments: recent issues and trends. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, v. 38, n. 6, p. 1–29, 2022.

ZAINITH, S.; SAXENA, G.; KISHOR, R.; BHARAGAVA, R. N. Application of microalgae in industrial effluent treatment, contaminants removal, and biodiesel production: Opportunities, challenges, and future prospects. In: SAXENA, K., KUMAR, V., SHAH, M. P. (Eds). **Bioremediation for Environmental Sustainability**. Amsterdam: Elsevier, 2021. P. 481–517.

ZAPAROLI, M.; ZIEMNICZAK, F. G.; MANTOVANI, L.; COSTA, J. A. V.; COLLA, L. M. Cellular Stress Conditions as a Strategy to Increase Carbohydrate Productivity in *Spirulina platensis*. **Bioenergy Research**, v. 13, p. 1221–1234, 2020.

ZHAN, H.; FENG, Y.; FAN, X.; CHEN, S. Recent advances in glyphosate biodegradation. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 102, n. 12, p. 5033–5043, 2018.

ZHANG, B.; LI, W.; GUO, Y.; ZHANG, Z.; SHI, W.; CUI, F.; LENS, P. N. L.; TAY, J. H. Microalgal-bacterial consortia: From interspecies interactions to biotechnological applications. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 118, p. 109563, 2020.

ZHU, S.; HUO, S.; FENG, P. Developing Designer Microalgal Consortia: A Suitable Approach to Sustainable Wastewater Treatment. In: ALAM, M., WANG, Z. (Eds). **Microalgae Biotechnology for Development of Biofuel and Wastewater Treatment**. Singapore: Springer, 2019, p. 569–598.

APÊNDICES

APÊNDICE 1- Produções bibliográficas

a) Artigos publicados

COSTA, J. A. V.; FREITAS, B. C. B.; MORAES, L.; ZAPAROLI, M.; MORAIS, M. G. Progress in the physicochemical treatment of microalgae biomass for value-added product recovery. **Bioresource Technology**, v. 301, n. 122727, p. 122727, 2020.

COSTA, J. A. V.; ZAPAROLI, M.; CASSURIAGA, A. P. A.; CARDIAS, B. B.; DA SILVA VAZ, B.; DE MORAIS, M. G.; MOREIRA, J. B. Biochar production from microalgae: a new sustainable approach to wastewater treatment based on a circular economy. **Enzyme and Microbial Technology**, p. 110281, 2023.

MOREIRA, J. B.; KUNTZLER, S. G.; BEZERRA, P. Q. M.; CASSURIAGA, A. P. A.; ZAPAROLI, M.; DA SILVA, J. L. V.; COSTA, J. A. V.; MORAIS, M. G. Recent Advances of Microalgae Exopolysaccharides for Application as Biofloculants. **Polysaccharides**, v. 3, p. 264-276, 2022.

MOREIRA, J. B.; SANTOS, T. D.; ZAPAROLI, M.; ALMEIDA, A. C. A.; COSTA, J. A. V.; MORAIS, M. G. An Overview of Nanofiltration and Nanoadsorption Technologies to Emerging Pollutants Treatment. **Applied Sciences**, v. 12, p. 8552, 2022.

ZAPAROLI, M.; ZIEMNICZAK, F. G.; MANTOVANI, L.; COSTA, J. A. V.; COLLA, L. M. Cellular Stress Conditions as a Strategy to Increase Carbohydrate Productivity in *Spirulina platensis*. **BioEnergy Research**, v. 13, p. 1221-1234, 2020.

ZAPAROLI, M.; IGANSI, A. V.; SILVEIRA, J. T.; MORAIS, M. G.; COSTA, J. A. V. Biochar as a sustainable alternative for the use of residues from the processing of açaí and the removal of glyphosate. **Journal of Environmental Chemical Engineering**, p. 111162, 2023.

b) Capítulos de livros

MORAIS, M. G.; ZAPAROLI, M.; LUCAS, B. F.; COSTA, J. A. V. Microalgae for bioremediation of pesticides: Overview, challenges, and future trends. In: AHMAD, A.; BANAT, F.; TAHER, H. **Algal Biotechnology: Integrated Algal Engineering for Bioenergy, Bioremediation, and Biomedical Applications**. Elsevier, 1ed, 2022, p. 63-78.

COSTA, J. A. V.; MOREIRA, J. B.; SILVEIRA, J. T.; ZAPAROLI, M.; MORAIS, M. G. Minimal Processing Methods for Food. In: TARAFDAR, A.; PANDEY, A.; SIROHI, R.; SOCCOL, C.; DUSSAP, C. **Current Developments in Biotechnology and Bioengineering: Advances in Food Engineering**. Elsevier, 1ed, 2022. p 301-331.

c) Patente

Patente depositada em 27/02/23 intitulada “Processo de obtenção de *biochar* magnético e uso do *biochar* magnético como adsorvente de glifosato em matriz aquosa”, com número de processo BR 10 2023 003650 3.

APÊNDICE 2- Comprovante de depósito de patente



SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL
MINISTÉRIO DO DESENVOLVIMENTO, INDÚSTRIA, COMÉRCIO E SERVIÇOS
INSTITUTO NACIONAL DA PROPRIEDADE INDUSTRIAL

EXAME PRELIMINAR

N.º do Pedido: BR102023003650-3 **N.º de Depósito PCT:**
Data de Depósito: 27/02/2023

O pedido atende formalmente as disposições legais, especialmente quanto ao Art. 19 da LPI e o Instrução Normativa nº 31/2013, estando apto a ser protocolado.

Condições do Pedido	S	N
Requerimento de depósito com os campos obrigatórios preenchidos	X	
Idioma Português	X	
Relatório Descritivo	X	
Reivindicações	X	
PI e C – Apresenta desenhos citados ou não cita nem apresenta desenhos. MU – Apresenta desenhos.	X	
Resumo	X	
Formatado no padrão exigido	X	
Valor correto de Recolhimento	X	

Rio de Janeiro, 14 de março de 2023.

Patricia Paiva Carvalho
 Mat. Nº 1535837
 DIRPA / COSAP/SEFOR