

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE PELOTAS**  
**FACULDADE DE AGRONOMIA ELISEU MACIEL**  
**DEPARTAMENTO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA AGROINDUSTRIAL**  
**CURSO DE MESTRADO PROFISSIONAL EM CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE**  
**ALIMENTOS**



**DISSERTAÇÃO DE MESTRADO**

**Biossorção passiva dos herbicidas clomazone e imazetapir por microalgas**

**ALBERTO KUHN KLUMB**

**PELOTAS, 2018.**

**Alberto Kuhn Klumb**

**Biossorção passiva dos herbicidas clomazone e imazetapir por microalgas**

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos da Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel da Universidade Federal de Pelotas, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Ciência e Tecnologia de Alimentos.

Orientador: Daniel Arsand

Pelotas, 2018.

Universidade Federal de Pelotas / Sistema de Bibliotecas  
Catalogação na Publicação

K63b Klumb, Alberto Kuhn

Biossorção passiva dos herbicidas clomazone e imazetapir por microalgas / Alberto Kuhn Klumb ; Daniel Arsand, orientador. — Pelotas, 2018.

71 f. : il.

Dissertação (Mestrado) — Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel, Universidade Federal de Pelotas, 2018.

1. Adsorção. 2. Chaetoceros muelleri. 3. Desmodesmus sp. 4. Scenedesmus obliquus. I. Arsand, Daniel, orient. II. Título.

CDD : 664

**Alberto Kuhn Klumb**

**Biossorção passiva dos herbicidas clomazone e imazetapir por microalgas**

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos da Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel da Universidade Federal de Pelotas, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Ciência e Tecnologia de Alimentos.

Data da defesa: 18 de julho de 2018.

Banca examinadora:

Prof. Dr. Daniel Ricardo Arsand (Orientador)  
Doutor em Química Analítica pela Universidade Federal de Santa Maria (UFSM)

Prof. Dr. Fábio Clasen Chaves  
Ph.D. em Biologia Vegetal pela Rutgers, The State University of New Jersey

Prof. Dr. Ednei Gilberto Primel  
Doutor em Química Analítica pela Universidade Federal do Rio Grande (FURG)

Prof. Dr. Jander Monks  
Doutor em Ciência e Tecnologia dos Alimentos pela Universidade Federal de Pelotas (UFPel)

## **Agradecimentos**

São muitas pessoas que gostaria/deveria agradecer. Mas vou listar aquelas que efetivamente tiveram alguma participação nesta caminhada.

À Universidade Federal de Pelotas, em especial ao Curso de Mestrado Profissional em Ciência e Tecnologia de Alimentos, pela oportunidade dada em realizar o mestrado, aliando conhecimentos acadêmicos e a prática agroindustrial. Espero que o curso continue por muitos anos e que marque época, pois é muito importante a solução de problemas práticos da indústria com o auxílio da pesquisa acadêmica.

Ao Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Sul-rio-grandense (IFSul), pela disponibilização dos laboratórios, reagentes e vidrarias utilizadas nos meus experimentos.

À Universidade Federal do Rio Grande (FURG), em especial ao Laboratório de Análise de Compostos Orgânicos e Metais (LACOM) da Escola de Química e Alimentos, nas pessoas da Sergiane Caldas e Ednei Primel, pela disponibilização dos padrões dos herbicidas e realização das análises de cromatografia.

À Estação Marinha de Aquicultura da Universidade Federal do Rio Grande (FURG), na pessoa do Marcelo D'Oca, pela disponibilização das 3 cepas de microalgas utilizadas na dissertação.

Ao meu orientador Daniel Arsand. Já são quase 4 anos que nos conhecemos, desde a época da Pós-Graduação no IFSul. Cada vez mais percebo nossas semelhanças no modelo de trabalho e dos nossos gostos musicais e culinários. Queria dizer que foi um prazer inenarrável ser teu orientado. Além de orientador, fosse meu psicólogo em várias oportunidades. Amplexos!

Aos meus pais Guerda e Vilmar que entenderam as minhas rabugices nos fins de semana e pelo apoio incondicional, que só os pais podem dar. Amo muito vocês. Minha gratidão, meu respeito, minha admiração e minha devoção, que são intransponíveis em palavras.

À minha irmã Elsa Kuhn Klumb, que sempre me entendeu e compreendeu as minhas angústias. Com ela que dividi grandes momentos nestes dois anos do Mestrado. Saiba que admiro bastante a tua garra e persistência. Tua ajuda foi fundamental.

À minha amiga Fabiane, que, assim como eu, teve muitas angústias nessa caminhada, mas foi a amiga/colega com quem mais troquei figurinhas, visto que estávamos no mesmo balaio. Nossas conversas foram muito boas para a sequência da caminhada.

Às minhas amigas Ana e Roberta que, sempre que possível, nos nossos encontros cafezísticos, fizeram meus momentos tensos se transformarem em distração, pelo menos por um tempo. Muito obrigado por torcerem por mim e por cada palavra de incentivo.

Aos meus patrões Wolney e Osvaldo por não me deixarem parado nestes 9 anos de Sanitec, onde aprendi e aprendo muito a cada dia. Minha gratidão a vocês.

Finalmente, mas não menos importante, ao jogo Pokémon GO que me fez desestressar em várias oportunidades e à grande bebida denominada café, importantíssima por me manter ativo para escrever esta dissertação.

## Resumo

KLUMB, Alberto Kuhn. **Biossorção passiva dos herbicidas clomazone e imazetapir por microalgas.** 2018. 71 f. Dissertação (Mestrado Profissional em Ciência e Tecnologia de Alimentos) - Programa de Pós-graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 2018.

O Rio Grande do Sul teve um aumento de 15% na área de cultivo das principais culturas plantadas nos últimos 10 anos. Devido ao volume de produção e à área de cultivo, o arroz é um dos grãos de maior importância econômica para o Brasil. Dentre os herbicidas mais utilizados estão o clomazone e o imazetapir que, por estarem no meio ambiente, podem ser lixiviados para as águas superficiais ou transportados até as águas subterrâneas. Eles podem ser considerados como Contaminantes Emergentes, pois não são regulados pela legislação, apesar de ser conhecida a adversidade ao ambiente. Uma vez no meio aquático, os herbicidas podem influenciar negativamente na qualidade ambiental e alterar o funcionamento do ecossistema. Devido à grande área superficial e à presença de múltiplos sítios de ligação dos bioadsorventes, em potencial as microalgas, objetivou-se estudar a biossorção dos herbicidas clomazone e imazetapir de soluções aquosas sob condições controladas nas microalgas *Chaetoceros muelleri*, *Desmodesmus sp.* e *Scenedesmus obliquus*. Os experimentos foram realizados com auxílio de planejamento fatorial (Planejamento Composto Central), com variações no pH (5,6 a 8,4) e concentração de cloretos (59 mg L<sup>-1</sup> a 341 mg L<sup>-1</sup>), visando determinar os parâmetros significativos no processo de absorção e do abatimento das concentrações iniciais de 20 µg L<sup>-1</sup> de clomazone e 100 µg L<sup>-1</sup> de imazetapir. Os resultados indicam que o pH e a concentração do eletrólito suporte influenciam na performance das microalgas na biossorção dos herbicidas, e que a microalga *Desmodesmus sp* mostra potencial para ser usada no tratamento de águas, ao passo que as microalgas *Chaetoceros muelleri* e *Scenedesmus obliquus* no tratamento de efluentes, considerando as variáveis independentes estudadas com as maiores eficiências de remoção. Os resultados apontam que mecanismos sugeridos à biossorção dos dois herbicidas, elucidados nas evidências das bibliografias com similaridades ao sistema estudado, são a difusão, dipolo-induzido, interação-π, ligações de hidrogênio, interação eletrostática e interação eletrostática pontual.

**Palavras-chave:** adsorção; clomazone; imazetapir; *Chaetoceros muelleri*; *Desmodesmus sp.*; *Scenedesmus obliquus*.

## Abstract

KLUMB, Alberto Kuhn. **Passive biosorption of clomazone and imazethapyr herbicides by microalgae.** 2018. 71 f. Dissertation (Master Degree in Ciência e Tecnologia de Alimentos) - Programa de Pós-graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 2018.

Rio Grande do Sul state had an increase by 15% in the area of cultivation of the main crops planted in the last 10 years. Due to the volume of production and the area under cultivation, rice is one of the grains of most economic importance for Brazil. Among the most commonly used herbicides are clomazone and imazethapyr that, present in the environment, can be leached into surface water or transported to groundwater. They can be considered as Emerging Contaminants, as they are not regulated by legislation, although adversity is known to the environment. Once on aquatic environment, herbicides can negatively influence environmental quality and alter ecosystem functioning. Due to the large surface area and the presence of multiple binding sites of bioadsorbents, potential microalgae, the objective was to study the biosorption of clomazone and imazethapyr herbicides from aqueous solutions under controlled conditions by microalgae *Chaetoceros muelleri*, *Desmodesmus sp.* and *Scenedesmus obliquus*. The experiments were carried out with the aid of factorial experiment design (Composite Central Design), with variations in pH (5.6 to 8.4) and chloride concentration (59 mg L<sup>-1</sup> to 341 mg L<sup>-1</sup>), to determinate the parameters significant differences in the adsorption and reduction of the initial concentrations of 20 µg L<sup>-1</sup> of clomazone and 100 µg L<sup>-1</sup> of imazethapyr. The results indicate that the pH and the concentration of the supporting electrolyte influence the performance of the microalgae in the herbicide biosorption, and that the microalgae *Desmodesmus sp* shows potential to be used in water treatment, while the *Chaetoceros muelleri* and *Scenedesmus obliquus* microalgae in the wastewater treatment, considering the independent variables studied with the highest removal efficiencies. The results indicate that mechanisms suggested to the biosorption of the two herbicides, elucidated in the evidences of the bibliographies with similarities to the system studied, are diffusion, dipole-induced, π-interaction, hydrogen bonds, electrostatic interaction and punctual electrostatic interaction.

**Key-words:** adsorption; clomazone; imazethapyr; *Chaetoceros muelleri*; *Desmodesmus sp.*; *Scenedesmus obliquus*.



## Lista de figuras

Figura 1 – Comercialização de agrotóxicos e herbicidas no Rio Grande do Sul entre 2009 e 2016 (FONTE: IBAMA, 2017). .....	16
Figura 2 – Estruturas químicas dos herbicidas: a) clomazone; b) imazetapir.....	18
Figura 3 – Representação esquemática dos experimentos: a) preparação da solução aquosa fortificada com os herbicidas; b) experimento em reator, centrifugação, filtração e análise em cromatografia líquida de alta eficiência .....	24
Figura 4 – Diagramas de Pareto para a bioadsorção de clomazone pelas microalgas <i>Chaetoceros muelleri</i> (a), <i>Desmodesmus sp.</i> (b) e <i>Scenedesmus obliquus</i> (c) e para a bioadsorção de imazetapir pelas microalgas <i>Chaetoceros muelleri</i> (d), <i>Desmodesmus sp.</i> (e) e <i>Scenedesmus obliquus</i> (f) .....	30
Figura 5 – Superfícies de resposta para a bioadsorção de clomazone pelas microalgas <i>Chaetoceros muelleri</i> (a), <i>Desmodesmus sp.</i> (b) e <i>Scenedesmus obliquus</i> (c) e para a bioadsorção de imazetapir pelas microalgas <i>Chaetoceros muelleri</i> (d), <i>Desmodesmus sp.</i> (e) e <i>Scenedesmus obliquus</i> (f).....	33
Figura 6 – Proposição de mecanismos envolvidos na adsorção do clomazone pela microalga <i>Chaetoceros muelleri</i> .....	40
Figura 7 – Proposição de mecanismos envolvidos na adsorção do clomazone pela microalga <i>Desmodesmus sp.</i> .....	42
Figura 8 – Proposição de mecanismos envolvidos na adsorção do clomazone pela microalga <i>Scenedesmus obliquus</i> .....	43
Figura 9 – Molécula de imazetapir nos seus três estados (ANDERSON et al., 2016). .....	43
Figura 10 – Proposição de mecanismos envolvidos na adsorção do imazetapir pela microalga <i>Chaetoceros muelleri</i> . .....	45
Figura 11 – Proposição de mecanismos envolvidos na adsorção do imazetapir pela microalga <i>Desmodesmus sp.</i> .....	46
Figura 12 – Proposição de mecanismos envolvidos na adsorção do imazetapir pela microalga <i>Scenedesmus obliquus</i> . .....	47

## Lista de tabelas

Tabela 1 - Utilização de clomazone e imazetapir na Bacia do rio Piratini/São Gonçalo/Mangueira no ano agrícola 2009/2010 em diferentes culturas e no arroz.....	17
Tabela 2 – Características físico-químicas dos herbicidas clomazone e imazetapir .	19
Tabela 3 - Padrões de qualidade para águas superficiais no Brasil e em alguns países .....	19
Tabela 4 - Delineamento experimental para avaliação da mudança do pH e da concentração de cloretos para remoção de resíduos de herbicidas em água deionizada para cada cepa.....	26
Tabela 5 – Níveis com as maiores eficiências de remoção de clomazone e imazetapir por cada microalga, com as respectivas desejabilidades globais .....	36
Tabela 6 – Proposição dos mecanismos de adsorção dos herbicidas clomazone e imazetapir por cada uma das microalgas, nas condições com maior adsorção .	50

## Sumário

1. INTRODUÇÃO.....	12
2. OBJETIVOS.....	14
2.1 Objetivo geral .....	14
2.2 Objetivos específicos.....	14
3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA .....	15
3.1 Classificação e usos de herbicidas no Rio Grande do Sul .....	15
3.2 Clomazone e imazetapir: classificação e principais usos .....	17
3.3 Herbicidas e problemas ambientais.....	18
3.4 Processos avançados para remoção de resíduos de herbicidas em meio aquoso .....	21
3.5 Utilização de microalgas na remoção de contaminantes em meio aquoso .....	22
4. MATERIAL E MÉTODOS .....	24
4.1 Fluxograma dos experimentos .....	24
4.2 Biomassa e herbicidas .....	24
4.3 Avaliação da influência da variação do pH e da concentração de cloretos na biossorção de herbicidas em meio aquoso .....	25
4.4 Predição dos mecanismos de adsorção.....	27
4.5 Avaliação estatística.....	28
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO .....	29
5.1 Avaliação da modificação do pH e da concentração de cloretos na adsorção dos herbicidas .....	29
5.2 Superfícies de resposta e modelos matemáticos para biossorção dos herbicidas pelas microalgas .....	32
5.3 Melhores condições para adsorção dos herbicidas por cada microalga .....	36

5.4	Predição dos mecanismos de adsorção dos herbicidas nas microalgas.....	38
5.5	Mecanismos de bioadsorção dos herbicidas clomazone e imazetapir pelas três microalgas.....	49
6.	CONCLUSÃO.....	51
	REFERÊNCIAS.....	52
	APÊNDICES.....	63

## 1. INTRODUÇÃO

Em grande parte das lavouras de arroz irrigado, a aplicação de herbicidas é seguida pela inundação da área e, dependendo do manejo de água adotado e da precipitação pluvial, os herbicidas podem persistir por maior tempo no ambiente e serem transportados para fora da área de cultivo, contaminando os mananciais hídricos a jusante da lavoura (SANTOS et al., 2008). Dentre os 10 herbicidas mais utilizados no cultivo de arroz na Bacia do rio Piratini/São Gonçalo/Mangueira, aparecem com destaque o crescimento do uso do clomazone e o imazetapir (RIO GRANDE DO SUL, 2010).

Na última década, muitos estudos foram realizados a respeito da toxicidade desses herbicidas em organismos aquáticos, em concentrações da ordem dos miligramas ou microgramas por litro. Os efeitos adversos relatados são diversos: deformações morfológicas cerebrais (neurotoxicidade); alteração na atividade de acetilcolinesterase no cérebro e coração de peixes; e decréscimo na integridade do DNA de espermatozoides (MIRON et al., 2008; MORAES et al., 2011; HARAYASHIKI et al., 2013; ROY et al., 2016).

Além da preocupação com o ambiente, agências reguladoras no Brasil e no mundo exigem o monitoramento de alguns herbicidas para consumo humano de água potável. A detecção de determinado herbicida em água influencia na tomada de decisão das autoridades regulamentadoras diante da necessidade de determinar ou rever os níveis de determinado contaminante (SANTOS et al., 2013).

Os processos de tratamento biológicos e físico-químicos convencionais reduzem significativamente os níveis de contaminantes nas águas, porém muitas vezes ineficazes devido ao caráter refratário dos poluentes que podem ser tóxicos para os microrganismos utilizados no tratamento (ORELLANA-GARCÍA et al., 2014).

As tecnologias de tratamento para minimizar os riscos ambientais a custos razoáveis tornam-se necessárias devido à tendência mundial quanto às restrições ambientais, cada vez mais rigorosas, sobre a presença de poluentes/contaminantes em efluentes e águas. Ao longo da última década, vários autores estudaram diferentes processos para a remoção de herbicidas em águas residuais. A maioria dos estudos foi focada na avaliação de Processos Oxidativos Avançados (POAs), eletroflotação e biosorção/eletrolise (ISHIKI et al., 2005; NUNES et al., 2015; CHAIR et al., 2016;

RUBÍ-JUAREZ et al., 2016; CHAIR et al., 2017). Nos últimos anos, há um crescente interesse em técnicas alternativas de baixo custo, como a adsorção, especialmente com a utilização de bioadsorventes, como as microalgas (SAAVEDRA et al., 2018).

As técnicas de utilização de microalgas inativas e imobilizadas para remoção de contaminantes têm sido aprimoradas. Dentre as vantagens frente ao uso de microalgas ativas, destacam-se: capacidade de tratar rapidamente grandes volumes de efluentes; custos operacionais mais baixos; desnecessidade de meio de crescimento e nutrientes; recuperação significativa do material adsorvido e reutilização da biomassa de algas, e; redução no nível de risco de resíduos, além de evitar o uso de tecnologias químicas nocivas que poderia causar poluição secundária (BAGHADADI et al., 2016).

O termo bioadsorção passiva refere-se à utilização de biomassa inativa das microalgas para adsorção de contaminantes em solução aquosa, que ocorrem com mais rapidez e em diversas condições físico-químicas em comparação com a bioadsorção ativa, que depende da atividade metabólica da microalga (NAJA & VOLESKY, 2011; ABBAS et al., 2014).

Algumas características em água ou efluentes, tais como a concentração de cloretos e o pH, podem influenciar na performance das microalgas, mesmo quando inativa, favorecendo a bioadsorção dos mesmos na parede celular das microalgas e provocar a ionização dos herbicidas, que possuem grupos polares e ionizáveis (OLIVEIRA et al., 2004; CIRAK et al., 2013).

Assim, a hipótese deste trabalho é a possibilidade que as microalgas *Chaetoceros muelleri*, *Desmodesmus sp.* e *Scenedesmus obliquus* inativas retenham os herbicidas clomazone e imazetapir de soluções aquosas, através de bioadsorção passiva, para direcionar o uso das mesmas em tratamento de água e/ou efluentes e indicar os potenciais problemas ambientais, caso estejam presentes no ambiente aquático.

## 2. OBJETIVOS

### 2.1 Objetivo geral

Estudar a bioadsorção passiva dos herbicidas clomazone e imazetapir de soluções aquosas sob condições controladas do meio aquoso utilizando as microalgas *Chaetoceros muelleri*, *Desmodesmus sp.* e *Scenedesmus obliquus*.

### 2.2 Objetivos específicos

- Avaliar a influência da variação do pH e da concentração de cloretos na bioadsorção passiva dos herbicidas por microalgas em condições controladas em água deionizada;
- Elaborar a superfície de resposta para a bioadsorção passiva dos dois herbicidas para cada cepa de microalga, com a respectiva modelação matemática, determinando-se os níveis com maior adsorção dos mesmos;
- Indicar quais microalgas inativas se enquadrariam ao tratamento de água ou ao tratamento de efluentes, levando em consideração as variáveis otimizadas;
- Apontar os prováveis mecanismos envolvidos na bioadsorção dos herbicidas na parede celular da biomassa seca das microalgas.

### 3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

#### 3.1 Classificação e usos de herbicidas no Rio Grande do Sul

O termo “Agrotóxico” é definido pela Lei Federal nº 7802/1989, sendo o produto e o agente de processos físicos, químicos e biológicos destinado ao uso nos setores de produção e nas pastagens com a finalidade de alterar a composição da fauna ou da flora, a fim de preservá-las da ação danosa de seres vivos considerados nocivos. O agrotóxico pode ser empregado como desfolhante, dessecante, estimulador e inibidor de crescimento (BRASIL, 1989).

O termo agrotóxico inclui inseticidas (controle de insetos), fungicidas (controle de fungos), fumigantes (combate às bactérias do solo), algicida (combate a algas), avicidas (combate a aves), nematicidas (combate aos nematoides), acaricidas (combate aos ácaros), herbicidas (combate às plantas invasoras), dentre outros (BAIRD & CANN, 2011).

Os herbicidas são substâncias químicas capazes de selecionar populações de plantas. Esta seleção se refere à atuação desses produtos, provocando a morte de certas plantas e de outras não. A etimologia da palavra vem do latim *Herba* (planta) e *caedere* (matar) (ZIMDAHL, 2007).

O Brasil é hoje o maior consumidor de agrotóxicos do mundo e, à proporção que avança a produção agrícola, tem avançado também o consumo deles (CARVALHO et al., 2017). Para assegurar maior produtividade, o uso de agroquímicos, especialmente herbicidas, tem sido largamente adotado (SANTOS et al., 2008). A Figura 1 traz a quantidade de agrotóxicos comercializados no Rio Grande do Sul entre os anos de 2009 a 2016, com ênfase aos herbicidas, cujos princípios ativos representaram o maior percentual de comercialização.



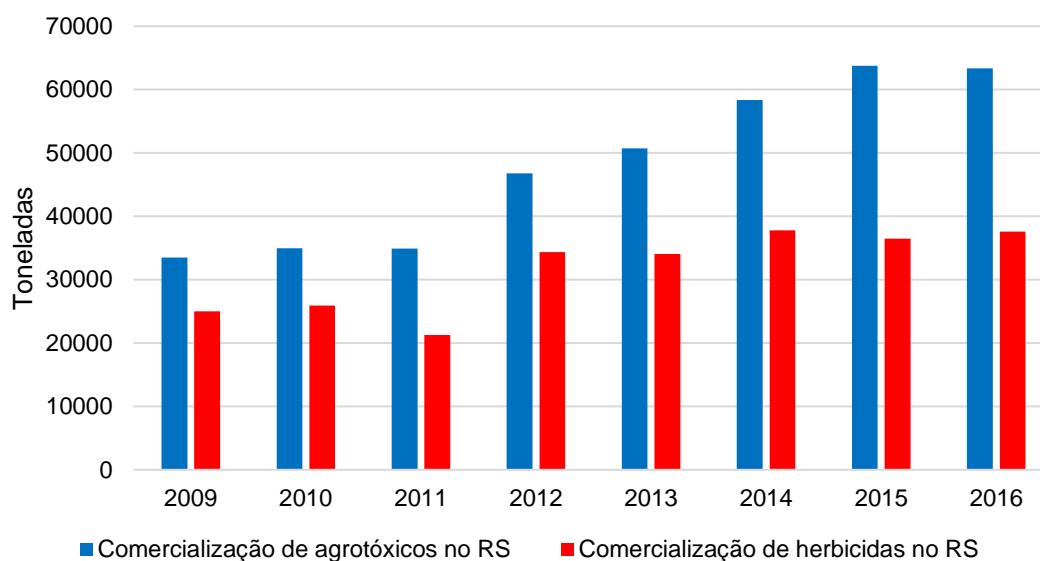


Figura 1 – Comercialização de agrotóxicos e herbicidas no Rio Grande do Sul entre 2009 e 2016 (FONTE: IBAMA, 2017).

O Rio Grande do Sul teve um aumento de 15% na área de cultivo das principais culturas plantadas nos últimos 10 anos. Devido ao volume de produção e à área de cultivo, o arroz é um dos grãos de maior importância econômica para muitos países em desenvolvimento. O Brasil, que ocupa a oitava posição no ranking mundial de produção de arroz, tem no Rio Grande do Sul a base de sustentação da produção nacional do cereal, com participação aproximada de 60%, e cerca de 25 % dessa produção é destinada à parboilização (PARAGINSKY et al., 2014; SOSBAI, 2014; IBGE, 2017; CONAB, 2017).

A bacia hidrográfica do rio Piratini/São Gonçalo/Mangueira possui uma área de drenagem de 20.441,69 km<sup>2</sup>, englobando vários municípios, situando-se no sudeste do Estado do Rio Grande do Sul (RIO GRANDE DO SUL, 2010). Pelas características da região da referida bacia hidrográfica, a produção de arroz irrigado se destaca em área plantada quando comparada com outras culturas, correspondendo a 15% da área de plantio de arroz no estado (SOSINSKI, 2009).

Conforme "Levantamento do Uso e da Criticidade dos Agrotóxicos Usados no Estado do Rio Grande do Sul" realizado em 2010, dentre os herbicidas mais utilizados na Bacia do rio Piratini/São Gonçalo/Mangueira estão o clomazone e o imazetapir. O clomazone é mais utilizado para as culturas do arroz e do fumo, ao passo que o imazetapir é utilizado exclusivamente no arroz (RIO GRANDE DO SUL, 2010). A

Tabela 1 mostra o total de cada herbicida utilizado na bacia para as culturas relatadas anteriormente.

Tabela 1 - Utilização de clomazone e imazetapir na Bacia do rio Piratini/São Gonçalo/Mangueira no ano agrícola 2009/2010 em diferentes culturas e no arroz.

Princípio ativo	Arroz	Outros	Total
Clomazone	25.878,3 L	5.018,0 L	30.896,3 L
Imazetapir	11.623,7 L	0,0 L	11.623,7 L

FONTE: RIO GRANDE DO SUL, 2010.

### 3.2 Clomazone e imazetapir: classificação e principais usos

O clomazone (2-[(2-clorofenil)metil]-4,4-dimetil-3-isoxazolidinona) é o único princípio ativo de herbicida do grupo químico das isoxazolidinonas, sendo usado no controle seletivo de ervas daninhas e latifoliadas na pré e na pós-emergência em algumas culturas, tais como: arroz, soja, algodão, tabaco, pimenta, abóbora e cana de açúcar. Ele atua inibindo a ação da enzima 1-deoxi-D-xilulose-5-fosfato-sintase (DOXP sintase), que participa da rota de biosíntese dos carotenoides nas plantas. Para o arroz, o clomazone além de ser usado na pós-emergência, também pode ser empregado pré-emergência, isoladamente ou em conjunto com o glifosato (ZIMDAHL, 2007; ANDRES et al., 2013).

O imazetapir (ácido 5-etil-2-(4-isopropil-4-metil-5-oxo-4,5-dihidro-1H-imidazol-2-il)nicotínico) é um herbicida do grupo químico das imidazolinonas que atua na inibição da enzima acetolactato sintetase (ALS), essencial no processo de síntese de aminoácidos (valina, leucina e isoleucina), provocando a diminuição na síntese de proteínas e de DNA. Ele é usado de modo seletivo no controle de ervas daninhas e latifoliadas. Atua na pós-emergência da cultura do arroz e de soja (ZIMDAHL, 2007; KALOUMENOS et al., 2015).

A Figura 2 mostra as estruturas químicas dos herbicidas clomazone (a) e imazetapir (b).

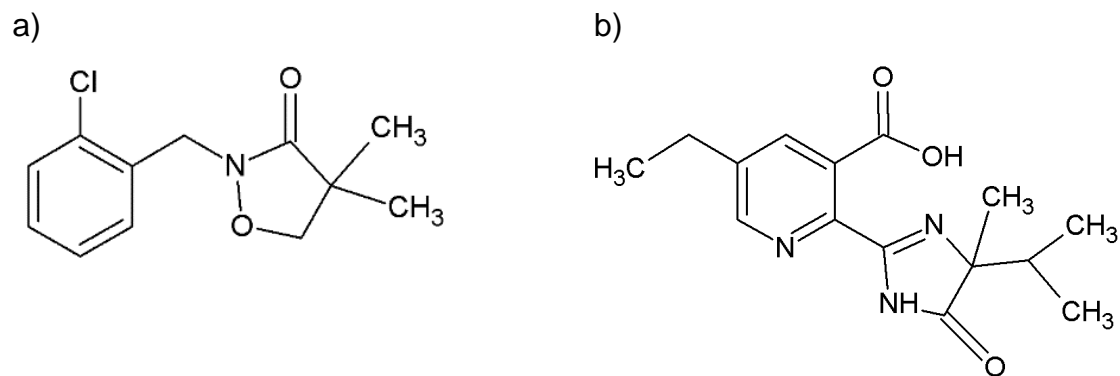


Figura 2 – Estruturas químicas dos herbicidas: a) clomazone; b) imazetapir.

No Brasil, dois Ministérios, com suas devidas competências, devem estabelecer e monitorar o limite máximo de resíduos e o intervalo de segurança dos agrotóxicos e afins, tal qual definido no Decreto 4074/2002: Ministério da Saúde, através da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), em relação aos perigos à saúde humana, e Ministério do Meio Ambiente – Instituto Brasileiro de Meio Ambiente dos Recursos Naturais Renováveis (IBAMA), relativo aos impactos ambientais. Já o Ministério da Agricultura, além do registro do produto, deve verificar a eficiência agrônômica dos agrotóxicos (BRASIL, 2002).

### 3.3 Herbicidas e problemas ambientais

O conhecimento dos parâmetros físico-químicos mais relevantes dos herbicidas é importante para compreender o comportamento ambiental dos compostos (CALDAS et al., 2011). Um herbicida pode contaminar o ambiente aquático quando a solubilidade em água for maior que  $0,030 \text{ g L}^{-1}$ , o coeficiente de partição de carbono orgânico ( $K_{oc}$ ) menor que  $300 \text{ cm}^3 \text{ g}^{-1}$ , constante da lei de Henry ( $K_H$ ) menor do que  $10^{-2} \text{ Pa m}^3 \text{ mol}^{-1}$  e tempo de meia vida em água maior do que 25 semanas (COVA et al., 1990). A Tabela 2 mostra as características físico-químicas dos herbicidas clomazone e imazetapir (MERVOCH et al., 1995; SANTOS et al., 2008; WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2010; CESSNA et al., 2012; MACBEAN, 2012).

Tabela 2 – Características físico-químicas dos herbicidas clomazone e imazetapir

Herbicida	Solubilidade em água	Tempo de meia vida em água	K <sub>oc</sub>	K <sub>H</sub>
	g L <sup>-1</sup>	dias	cm <sup>3</sup> g <sup>-1</sup>	Pa m <sup>3</sup> mol <sup>-1</sup>
Clomazone	1,1	28 a 84	150	4,19 10 <sup>-3</sup>
Imazetapir	1,4	1,6 a 6,2	7	1,3 10 <sup>-2</sup>

Os herbicidas são potenciais contaminantes ambientais devido à intensificação da produção agrícola e porque os mesmos são aplicados diretamente no solo ou na água de irrigação, podendo ser lixiviados para as águas superficiais ou transportados até as águas subterrâneas (HATRÍK & TEKEL, 1996; CESSNA et al., 2012). Uma vez no meio aquático, os herbicidas podem influenciar negativamente na qualidade ambiental e alterar o funcionamento do ecossistema, através da redução na diversidade de espécies, modificando cadeias alimentares, mudando os padrões de fluxo de energia e do ciclo de nutrientes, além da alteração na estabilidade e resiliência (BARRIGOSSI et al., 2004; PÉRES et al., 2011).

As agências regulamentadoras regem as diretrizes para os limites máximos de diversos produtos fitossanitários, tanto para qualidade das águas superficiais quanto para potabilidade. Por exemplo, nos Estados Unidos, a *Environmental Protection Agency* (EPA) determina estes limites em função de testes ecotoxicológicos, da utilização do contaminante e da ocorrência da molécula no manancial (SANTOS et al., 2013).

A Tabela 3 mostra os padrões de classificação das águas superficiais no Brasil e em alguns países para os herbicidas estudados.

Tabela 3 - Padrões de qualidade para águas superficiais no Brasil e em alguns países

Herbicida	Água potável				Águas superficiais			
	Brasil	Canadá	Estados Unidos	União Europeia	Brasil	Canadá	Estados Unidos	União Europeia
	(µg L <sup>-1</sup> )				(µg L <sup>-1</sup> )			
Clomazone	-	-	-	0,1*	-	-	-	0,1*
Imazetapir	1500	-	-	0,1*	-	-	-	0,1*

FONTE: European Parliament and Council, 1998; European Parliament and Council, 2000; Brasil, 2005; Environment Canada, 2014; Rio Grande do Sul, 2014; Brasil, 2017; Environmental Protection Agency, 2017; Federal-Provincial-Territorial Committee on Drinking Water, 2017

\* O padrão pela “*European Parliament And Council*” determina que a soma de todas as concentrações de pesticidas seja de, no máximo, 0,5 µg L<sup>-1</sup>.

A União Europeia possui padrões de qualidade para água potável, ao contrário dos Estados Unidos e Canadá. No Brasil, existem padrões de potabilidade para alguns

herbicidas, como o glifosato, porém não há para clomazone e imazetapir. No Rio Grande do Sul, há uma Portaria com parâmetros adicionais à potabilidade, incluindo o monitoramento do imazetapir. O clomazone não possui padrões porque, ainda, não é conhecido o NOAEL, Nível de Efeito Adverso Não Observado (UMBUZEIRO, 2012; RIO GRANDE DO SUL, 2014; BRASIL, 2017).

A União Europeia é o único local onde há padrões de qualidade de águas superficiais, o que não ocorre em países desenvolvidos como Estados Unidos e Canadá. Já no Brasil, apesar de serem listados os padrões para alguns herbicidas, aromáticos e compostos clorados, como glifosato, benzeno e diclorometano, para clomazone e imazetapir inexistem. Desta forma, estes dois herbicidas podem ser considerados como Contaminantes Emergentes, pois não são regulados pela legislação, apesar de ser conhecida a adversidade ao meio ambiente (BRASIL, 2005; ESCAPA et al., 2017).

Alguns países regulamentam o lançamento de herbicidas em efluentes. No Japão, o padrão de lançamento de glifosato em efluentes de arroz irrigado é de 4.000  $\mu\text{g L}^{-1}$ . Já em Taiwan, o máximo para qualquer herbicida em efluente industrial ou esgoto doméstico tratado é de 1.000  $\mu\text{g L}^{-1}$  (HAMILTON et al., 2003).

Não há padrões para lançamento de resíduos de herbicidas em efluentes na legislação federal e no estado do Rio Grande do Sul, apesar da legislação nacional listar controle de alguns aromáticos, solventes e compostos clorados; e da legislação estadual citar alguns Poluentes Orgânicos Persistentes, como inseticidas e fungicidas. A resolução estadual, porém, lista que no processo de licenciamento, o empreendedor deve informar todas as substâncias que podem estar presentes nos efluentes, mesmo as não presentes nas listas, sob pena de anulação da licença expedida. Além disso, poderão ser estabelecidos critérios mais restritivos para lançamento de efluentes em função de aspectos do corpo receptor (RIO GRANDE DO SUL, 2017).

A toxicidade aguda do princípio ativo dos herbicidas pode ser avaliada através da constatação do início dos sintomas adversos incluindo a morte do bioindicador utilizado. Nos últimos anos, porém, alguns estudos estão sendo realizados com exposições a longo prazo e com doses individuais baixas da substância tóxica, avaliando a toxicidade crônica ou genotoxicidade, conduzindo os organismos à mutagenicidade, à carcinogenicidade ou à letalidade (NWANI et al., 2011).

Freitas et al. (2017) testaram diferentes temperaturas associadas às concentrações de clomazone variando de 10  $\mu\text{g L}^{-1}$  a 100  $\mu\text{g L}^{-1}$  em girinos de

*Physalaemus nattereri* e *Rhinella schneideri* e comprovaram efeitos da temperatura e do clomazone na menor concentração testada no desenvolvimento dos anfíbios, acelerando o processo de metamorfose que pode alterar a performance fisiológica e deixá-los não competitivos.

Em estudo de Moraes et al. (2011) foi observado que em exposição de uma formulação de imazetapir e imazapic (98,5 e 20,9  $\mu\text{g L}^{-1}$ , respectivamente) houve alterações no tecido muscular de *Cyprinus carpio* depois de 7 dias, quando a atividade de acetilcolinesterase diminuiu, chegando à inibição desta enzima aos 90 dias de exposição.

Devido aos efeitos nocivos aos organismos aquáticos, especificamente aos bioindicadores de toxicidade, torna-se necessária a diminuição, remoção ou degradação dos herbicidas em meio aquoso (FENG et al., 2013).

### **3.4 Processos avançados para remoção de resíduos de herbicidas em meio aquoso**

Resíduos de herbicidas podem ser encontrados em águas residuais da indústria e nas operações de trabalho agrícola, como no enxágue dos equipamentos de pulverização e dos recipientes de pesticidas vazios, lavagem de frutas e verduras pós colheita (NASCIMENTO et al., 2007).

Usualmente, as águas contaminadas por herbicidas têm uma elevada Demanda Química de Oxigênio (DQO) e são difíceis de degradar diretamente pelo tratamento bioquímico convencional. Novas tecnologias para remoção de resíduos de vários tipos de herbicidas estão sendo desenvolvidas, tais como a eletroflotação, biosorção/eletrólise, oxidação fotoeletroquímica (FENG et al., 2013; NUNES et al., 2015; CHAIR et al., 2016; CHAIR et al., 2017). O processo de eletrocoagulação com eletrodo de alumínio foi utilizado para remoção de clomazone em estudo de Benincá et al. (2016). Com o intuito de aumentar a biodegradabilidade do efluente da fabricação de clomazone, Feng et al. (2013) testaram com sucesso os métodos combinados de oxidação eletroquímica e contator biológico.

Para o imazetapir, Stathis et al. (2011) testaram POAs, tais como irradiação de luz ultravioleta (UV), ozônio ( $\text{O}_3$ ), peróxido de hidrogênio ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ), fotocatalise por dióxido de titânio ( $\text{TiO}_2/\text{UV}$ ) além de suas combinações. A combinação de  $\text{TiO}_2/\text{UV} + \text{H}_2\text{O}_2$  foi caracterizada como a metodologia de mais rápida degradação e formação de pequenas moléculas até a mineralização.

O uso destes procedimentos são caros e/ou requerem grandes investimentos em infraestrutura, além de que alguns são específicos para determinados contaminantes. Dessa forma, há um crescente interesse em técnicas alternativas de baixo custo, como a adsorção. Dentre os materiais mais estudados para a adsorção de herbicidas em soluções aquosas encontram-se membranas poliméricas, boipolímeros de quitosana e alginato, carvão ativado e nanotubos de óxido de zinco (STREAT & HORNER, 2000; MORAES et al., 2013; CARNEIRO et al., 2015; KAUR et al., 2017). Devido à grande área superficial e à presença de múltiplos sítios de ligação, os bioadsorventes, em potencial as microalgas, estão sendo estudados nos últimos anos (SAAVEDRA et al., 2018).

### **3.5 Utilização de microalgas na remoção de contaminantes em meio aquoso**

A combinação do tratamento de efluentes e a consequente produção de biomassa de microalgas é um uso potencial para uma solução viável de garantia econômica e com benefícios ao meio ambiente no desenvolvimento de biocombustíveis e outros produtos (JEBALI et al., 2015).

As microalgas são organismos unicelulares, procariotos e eucariotos fotossintéticos e heterotróficos. Estes microrganismos estão presentes nos mais diversos locais do planeta, tais como ambientes marinhos, de água doce e no solo (DEMIRBAS & DEMIRBAS, 2010; FAGERSTONE et al., 2011).

As microalgas *Chaetoceros muelleri* (marinha), *Desmodesmus sp.* (água doce) e *Scenedesmus obliquus* (água doce) são muito utilizadas para a fabricação de biodiesel, remoção de nutrientes em águas residuais e remoção de metais em efluentes (CHEN et al., 2014; WANG et al., 2014, ZHANG et al., 2016 VENDRUSCOLO et al., 2016).

Apesar da grande capacidade dos sistemas de tratamento por microalgas para remoção de carga orgânica e nutrientes, muitos estudos estão sendo realizados com o foco na remoção de microcontaminantes, como compostos fenólicos, surfactantes, biocidas, pesticidas e hidrocarbonetos aromáticos policíclicos, podendo removê-los por evaporação, fotodegradação, biodegradação ou no crescimento microalgal. Outros estudos focam na adsorção de contaminantes, tais como metais pesados e corantes em efluentes (BIRUNGI & CHIRWA, 2015; MATAMOROS & RODRÍGUEZ, 2016; WANG, et al., 2016).

A adsorção superficial, ou bioadsorção, é definida como um processo passivo, rápido, reversível e independente realizado por microrganismos ativos ou inativos. Este processo físico-químico é representado pelo desequilíbrio das forças superficiais e pelo contato de uma superfície sólida com uma fase líquida, formando uma camada superficial de soluto sobre o adsorvente e resultando na acumulação de constituintes por interações físico-químicas de alguns materiais com componentes celulares de espécies biológicas (VENDRUSCOLO et al., 2016).

O termo bioadsorção passiva refere-se à utilização de biomassa inativa para adsorção de contaminantes em solução aquosa, ou seja, a remoção destes contaminantes se dá independente da atividade metabólica celular do microrganismo. A bioadsorção passiva é mais rápida que a ativa, justamente por não depender da atividade metabólica (NAJA & VOLESKY, 2011).

As vantagens da bioadsorção passiva são a utilização de biomateriais renováveis, capacidade de tratar grandes quantidades de águas residuais devido à cinética de adsorção, operação em uma ampla gama de condições físico-químicas e baixo custo operacional (ABBAS et al., 2014).

A bioadsorção acontece devido a grupos funcionais nas paredes das microalgas que podem adsorver materiais solúveis em água. Além da adsorção química, podem ocorrer mecanismos de adsorção física (BIRUNGI & CHIRWA, 2015).

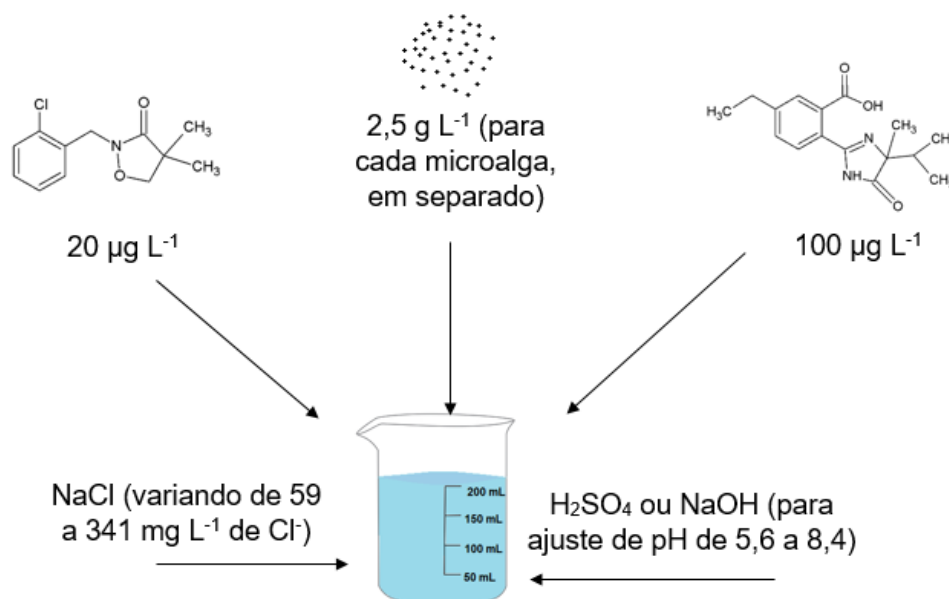


## 4. MATERIAL E MÉTODOS

### 4.1 Fluxograma dos experimentos

A Figura 3 esquematiza os experimentos feitos neste trabalho

a)



b)

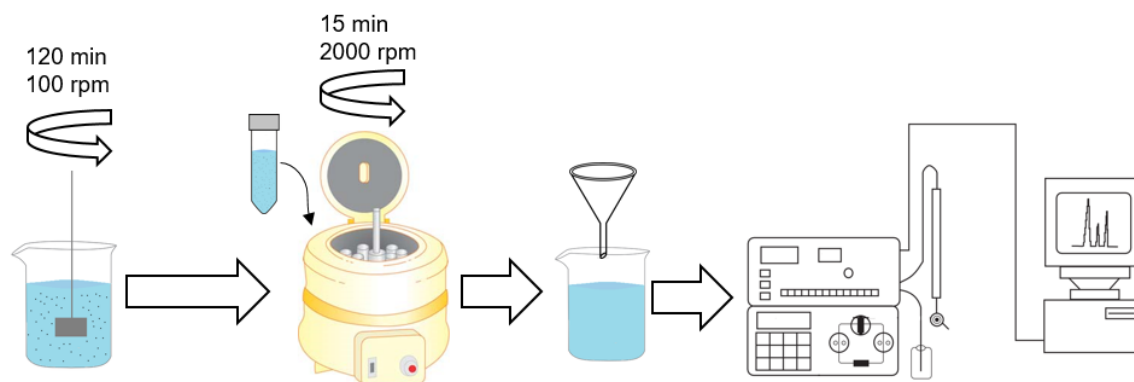


Figura 3 – Representação esquemática dos experimentos: a) preparação da solução aquosa fortificada com os herbicidas; b) experimento em reator, centrifugação, filtração e análise em cromatografia líquida de alta eficiência

### 4.2 Biomassa e herbicidas

Foram utilizadas 3 cepas de microalgas: *Chaetoceros muelleri*, *Desmodesmus sp.* e *Scenedesmus obliquus*. Estas cepas foram isoladas pelo Laboratório de Cultivo de Algas da Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC) e desenvolvidas em

fotobiorreatores na Estação Marinha de Aquacultura da Universidade Federal do Rio Grande (FURG). As células microalgais foram separadas do meio de cultura e a biomassa congeladas a -18 °C. As microalgas foram inativadas por calor, em estufa, a 100°C durante 24 horas, conforme metodologia descrita por Monteiro et al. (2009).

Os herbicidas utilizados tinham pureza de grau para cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC) de 97% para o clomazone e 99,9% para o imazetapir, os dois da marca Sigma-Aldrich®. Foram feitas soluções estoque de cada herbicida, com concentração de 1000 mg L<sup>-1</sup> em metanol, também grau HPLC da marca JT Baker.

#### **4.3 Avaliação da influência da variação do pH e da concentração de cloretos na bioadsorção de herbicidas em meio aquoso**

A eficiência do processo de bioadsorção de clomazone e imazetapir por microalgas foi avaliada usando-se soluções aquosas enriquecidas com os princípios ativos na presença de microalgas em suspensão.

Os experimentos foram feitos com auxílio de planejamento fatorial (Planejamento Composto Central, CCD – do inglês *Composite Central Design*). Os parâmetros avaliados foram pH e concentração de cloretos. Os níveis avaliados para pH variaram de 5,6 a 8,4 e a concentração de cloretos de 59 a 341 mg L<sup>-1</sup>, usando cloreto de sódio (NaCl) como eletrólito suporte e hidróxido de sódio (NaOH) e ácido sulfúrico (H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) para ajuste do pH.

A eficiência do processo de remoção foi calculada com a Equação 1.

$$\varphi = \frac{(C_0 - C_f)}{C_0} 100\% \quad (\text{Equação 1})$$

onde “ $\varphi$ ” é a eficiência de remoção em percentual (%), “C<sub>0</sub>” é a concentração inicial do composto e “C<sub>f</sub>” é a concentração final do composto a ser avaliado.

As concentrações iniciais de clomazone e imazetapir em cada experimento foram de 20 µg L<sup>-1</sup> e 100 µg L<sup>-1</sup>, respectivamente, que são 20 vezes maiores que os limites de detecção do método cromatográfico de cada herbicida. Os abatimentos das concentrações dos herbicidas foram tomados como parâmetro para avaliar a

eficiência do processo. A Tabela 4 apresenta os fatores e os níveis aplicados nos experimentos.

Tabela 4 - Delineamento experimental para avaliação da mudança do pH e da concentração de cloretos para remoção de resíduos de herbicidas em água deionizada para cada cepa.

Fatores		Níveis				
		-1,41	-1	0	+1	+1,41
	pH	5,6	6,0	7,0	8,0	8,4
	Cloretos (mg L <sup>-1</sup> )	59	100	200	300	341
Experimento (n)	pH	Cloretos				
1	(-1)	(-1)				
2	(-1)	(1)				
3	(1)	(-1)				
4	(1)	(1)				
5	(-1,41)	(0)				
6	(1,41)	(0)				
7	(0)	(-1,41)				
8	(0)	(1,41)				
9	(0)	(0)				
10	(0)	(0)				
11	(0)	(0)				
12	(0)	(0)				

A matriz obtida revela um grupo de 12 experimentos para cada uma das três cepas, contemplando experimentos fatoriais (combinações com níveis -1 e +1), centrais (nível 0) e axiais (1 de  $\pm \alpha$  e 2 e nível 0). A matriz e a análise por superfície de resposta foram feitas com auxílio do *software* Statistica<sup>®</sup> 10.0.

O equipamento para os experimentos era provido de seis provas e pás de agitação com velocidade controlada. Cada experimento consistiu em um volume de solução de 200 mL, mantido sob agitação de 100 rpm por 2 horas e com concentração de 2,5 g L<sup>-1</sup> para cada microalga inativa, separadamente. Após os experimentos, as amostras foram centrifugadas durante 15 minutos a 2000 rpm e filtradas (papel filtro Quanta<sup>®</sup> 40) para separação do material sólido e líquido (DAL MAGRO et al., 2013).

As amostras filtradas foram armazenadas em ausência da luz e a 4°C até determinações analíticas de clomazone e imazetapir para verificação da eficiência de remoção através da metodologia desenvolvida por Demoliner et al. (2010), em um Cromatógrafo Líquido de Alta Eficiência (HPLC) Waters Alliance 2695 Separations Module, equipado com uma bomba quaternária, um injetor automático e um compartimento de coluna termostática (Waters, Milford, MA, EUA). A separação cromatográfica foi realizada com uma coluna XTerra® MS C18 (3,0 mm x 50 mm d.i., 3,5 µm de espessura de filme) Waters (Milford, MA, Irlanda). Os componentes da fase foram (A) água ultra-pura + 0,01% de ácido fórmico, (B) acetonitrila + 0,01% de ácido fórmico e (C) metanol puro na proporção 46:24:30 (v / v / v), respectivamente, com eluição em modo isocrático a uma vazão de 0,5 mL min<sup>-1</sup>, resultando em um tempo de execução de 10 min. A temperatura do compartimento da coluna foi ajustada para 20°C. O volume de injeção foi de 20 µL para as amostras após pré-concentração por Extração por Fase Sólida (SPE), que possuía tubos de 500 mg de octadecilsilano (Chromabond C18ec) com diâmetro de partícula de 45 µm.

Foi utilizado um espectrômetro de massa Quattro micro API (triplo quadrupolo), equipado com uma fonte de ionização por eletrospray-Z (ESI), da Micromass (Waters, Milford, MA, EUA). O gás de secagem, bem como o gás de nebulização, foi gerado por nitrogênio a partir de ar pressurizado em um gerador de nitrogênio NG-7 (Aquila, Etten-Leur, NL). O fluxo de gás do nebulizador foi ajustado para 50 L h<sup>-1</sup> e a dessolvatação do fluxo de gás, para 350-550 L h<sup>-1</sup>. Para operação no modo MS-MS, o gás de colisão foi Argon (White Martins, Rio Grande do Sul, Brasil) com pressão de 3,5 × 10<sup>-3</sup> mbar na célula de colisão. A voltagem capilar foi de 4 kV; tensão do extrator de 2 V; temperatura da fonte de 100°C; temperatura de dessolvatação de 350°C; multiplicador de 600 V; e a faixa de varredura de 50-500 *m/z*.

#### **4.4 Predição dos mecanismos de adsorção**

Para a predição dos mecanismos de adsorção envolvidos levou-se em consideração as variáveis com maior retenção dos herbicidas, conseguidas através da análise estatística dos dados, e resultados obtidos em levantamento bibliográfico.

Conforme Molazadeh et al. (2015), a alga *Chaetoceros sp.* foi caracterizada em seus grupos funcionais e foi constatada a presença de grupos hidroxil, carboxil, amida, fosfato orgânico e amina.

A microalga *Desmodesmus sp.* F51, estudada por Ndikubwimana et al. (2015), possui como grupos principais na sua parede celular os grupos carboxil, amina e fosforil.

À semelhança da *Chaetoceros muelleri*, Chen et al. (2012) relatam que existem os grupamentos listados além do sulfonato.

#### **4.5 Avaliação estatística**

Os gráficos de Pareto foram utilizados para verificar a significância das variáveis independentes do sistema e suas relações, avaliando os seus efeitos. Os dados experimentais, obtidos pelo delineamento composto central rotacional, foram analisados por meio da metodologia de superfície de resposta, com finalidade de maximizar as variáveis independentes.

A equação polinomial foi avaliada conforme os coeficientes de regressão pelo teste F a 95% de confiança. Para avaliar-se a qualidade do modelo matemático, foram feitos os testes de análise de variância (ANOVA) com equações linear e quadrática para a descrição da região experimental estudada, através da análise de coeficientes de determinação e das médias quadráticas.

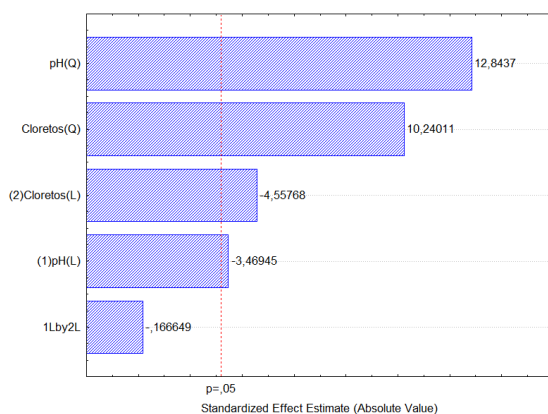
Os cálculos dos coeficientes de regressão, diagrama de Pareto, o modelo matemático para representação dos dados experimentais, análise de variância (ANOVA), gráficos de superfície de resposta e perfil das variáveis que permitem a maior adsorção foram construídos utilizando o programa Statistica® 10.0.

## 5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

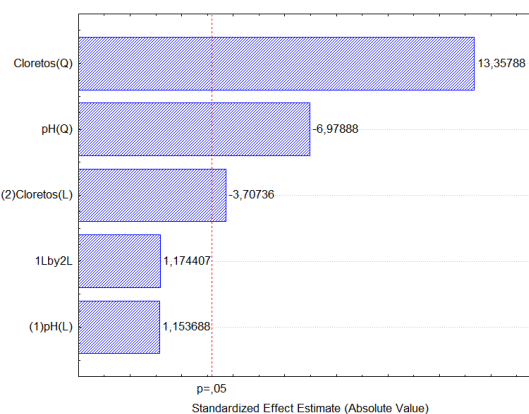
### 5.1 Avaliação da modificação do pH e da concentração de cloretos na adsorção dos herbicidas

Os diagramas de Pareto mostram os valores dos efeitos estimados para as variáveis pH (L e Q – linear e quadrático, respectivamente), cloretos (L e Q) e interação dos dois parâmetros em relação à bioadsorção de clomazone e imazetapir pelas microalgas estudadas. Os dados apresentados possibilitam a visualização dos efeitos das variáveis, avaliando se os mesmos são estatisticamente significativos no intervalo de confiança de 95% (Figura 4).

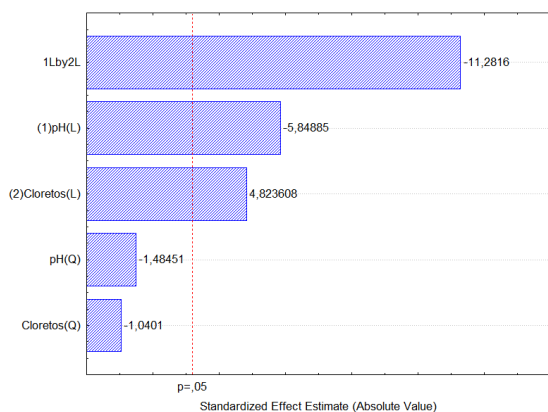
a)



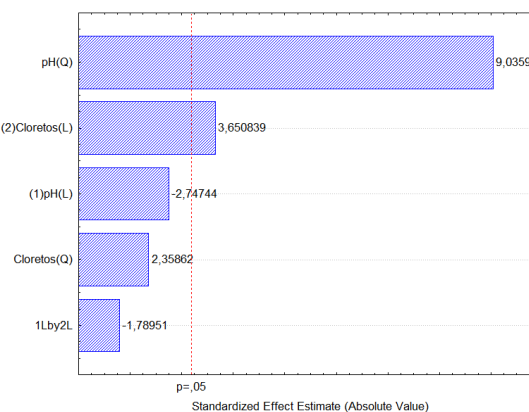
b)



c)



d)



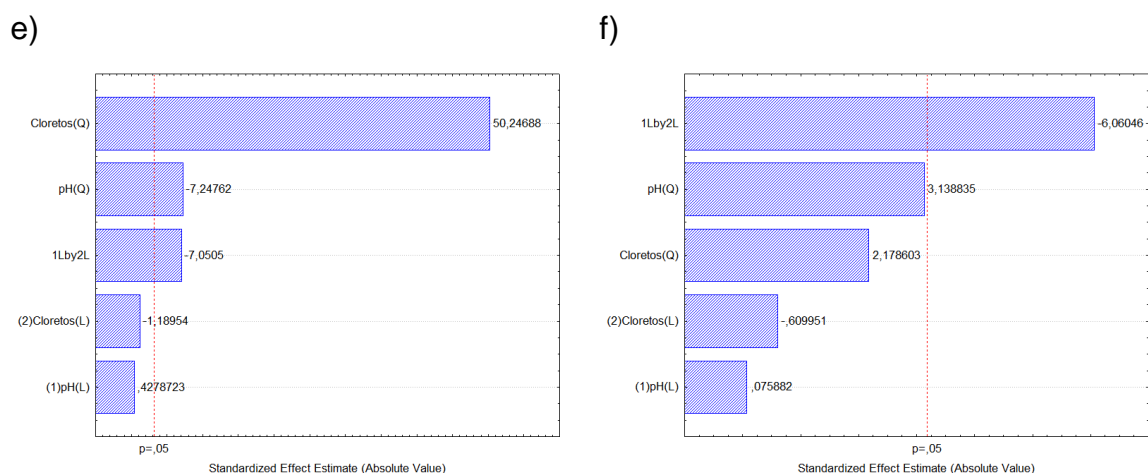


Figura 4 – Diagramas de Pareto para a bioacumulação de clomazone pelas microalgas *Chaetoceros muelleri* (a), *Desmodesmus sp.* (b) e *Scenedesmus obliquus* (c) e para a bioacumulação de imazetapir pelas microalgas *Chaetoceros muelleri* (d), *Desmodesmus sp.* (e) e *Scenedesmus obliquus* (f)

Utilizando a microalga *Chaetoceros muelleri* para a bioacumulação do herbicida clomazone (Figura 4a), verificou-se que as variáveis independentes foram significativas. O efeito mais expressivo foi observado na variável pH no modelo quadrático, que apresentou 12,84. Como o efeito é positivo, a elevação desse nível irá favorecer o aumento da bioacumulação de clomazone por esta microalga. Entretanto o efeito para as variáveis pH e concentração de cloretos no modelo linear foi negativo (-3,4 e -4,55, respectivamente). Dessa forma, é necessário que ocorra a diminuição dos níveis, independentemente, para que favoreça o aumento da bioacumulação do clomazone. Utilizando a microalga *Desmodesmus sp.* (Figura 4b), verificou-se que as variáveis independentes foram significativas no modelo quadrático. O efeito mais expressivo foi observado na variável concentração de cloretos no modelo quadrático, que apresentou um efeito de 13,36. Como o efeito é positivo, a elevação desse nível irá favorecer com o aumento da bioacumulação de clomazone por esta microalga. Entretanto, o efeito para as variáveis pH no modelo quadrático e concentração de cloretos no modelo linear foi negativo (-6,98 e -3,07, respectivamente). Dessa forma, é necessário que ocorra a diminuição dos níveis, independentemente, para que favoreça o aumento da bioacumulação do clomazone. Ainda, utilizando a microalga *Scenedesmus obliquus* (Figura 4c), verificou-se que as variáveis independentes foram significativas no modelo linear. Porém, o efeito mais expressivo é resultante da interação destas duas variáveis.

Na biossorção do herbicida imazetapir pela microalga *Chaetoceros muelleri* (Figura 4d), o efeito da variável independente pH no modelo quadrático e da concentração de cloretos no modelo linear foram significativas. O efeito mais expressivo, à semelhança para o herbicida clomazone, foi observado na variável pH no modelo quadrático, com efeito positivo de 9,03, ou seja, para remover uma maior concentração de imazetapir o nível deverá ser elevado. Utilizando-se a microalga *Desmodesmus sp* na biossorção deste herbicida (Figura 4e), as variáveis independentes pH e concentrações de cloretos foram significativas no modelo quadrático, sendo a primeira com efeito positivo (50,25) e a segunda com efeito negativo (-7,25). A interação entre as duas variáveis também foi significativa, ou seja, interfere significativamente na biossorção de imazetapir pela microalga *Desmodesmus sp*. As duas variáveis independentes na forma linear não apresentaram efeito significativo. Já com a microalga *Scenedesmus obliquus* (Figura 4f) na biossorção do imazetapir, somente a interação entre as variáveis pH e concentração de cloretos foi significativa.

Constata-se que nos três testes em que as interações entre os fatores foram significativas (biossorção de clomazone e imazetapir pela microalga *Scenedesmus obliquus* e biossorção de imazetapir pela microalga *Desmodesmus sp*), todos apresentaram efeito negativo, indicando que quando um nível for elevado, o outro deverá ser baixo. Isso indica, por exemplo, que as cargas formadas nos herbicidas com a modificação do pH interferem na adsorção na superfície do adsorvente. Caso o pH aumente, a concentração de cloretos deve ser menor para que tenha uma maior chance de interação entre as cargas formadas nas ionizações dos herbicidas e na superfície das microalgas. O inverso também é verdadeiro, ou seja, caso a concentração de cloretos seja maior, provavelmente a carga predominante da superfície da microalga seja negativa, repelindo os íons cloreto e facilitando a ligação com o herbicida em pH baixo. Rachel et al. (2017) utilizaram cloreto de cálcio como eletrólito suporte na adsorção de atrazina em carvão ativado dopado por prata, onde foi constatado que tanto os íons  $\text{Cl}^-$  quanto os íons  $\text{Ca}^{2+}$  refletem na adsorção deste herbicida. Em pH mais ácidos, a carga superficial positiva poderia favorecer a formação da ligação entre o cloreto e a superfície do adsorvente. Como essa ligação é fraca, o aumento na capacidade de adsorção da atrazina poderia ser explicada pela afinidade desse herbicida com o adsorvente. Já em pH alto, o número de sítios



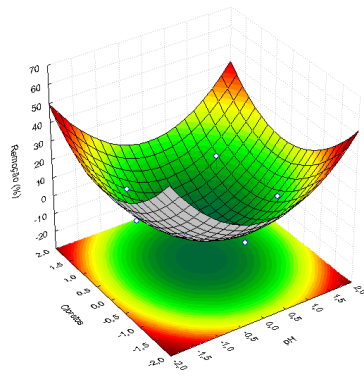
negativos no adsorvente aumenta, favorecendo a ligação com o íon cálcio, ocasionando na repulsão elétrica, diminuindo a capacidade de adsorção do herbicida.

Em estudo semelhante, Vinhal et al. (2017) concluíram que a adsorção de diquat e difenzoquat em espuma de poliuretano é fortemente dependente da modificação do pH e da força iônica da solução, ou seja, à medida que aumenta a concentração de cloreto de sódio, diminui a capacidade de remoção dos herbicidas da solução aquosa e à medida do aumento do pH (até 7,0), aumenta a adsorção dos mesmos. No estudo foi utilizado um contra-íon (dodecilsulfato de sódio) para ligar-se aos herbicidas em suas formas catiônicas, pois o adsorvente não possui muitas cargas polares na sua superfície. No caso da adição do cloreto de sódio, há a ligação do cloreto na parte protonada dos herbicidas, dificultando a adsorção.

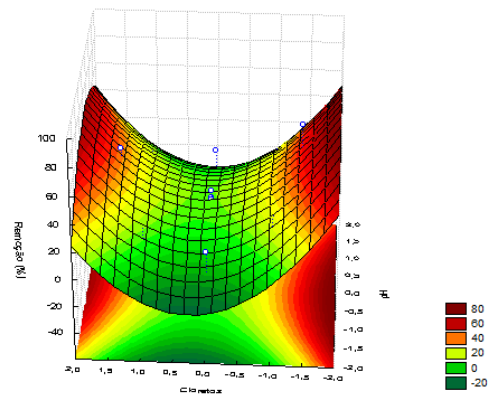
## **5.2 Superfícies de resposta e modelos matemáticos para bioadsorção dos herbicidas pelas microalgas**

A Figura 5 mostra as superfícies de resposta para a bioadsorção dos herbicidas pelas microalgas.

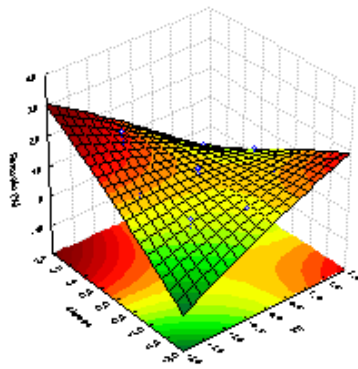
a)



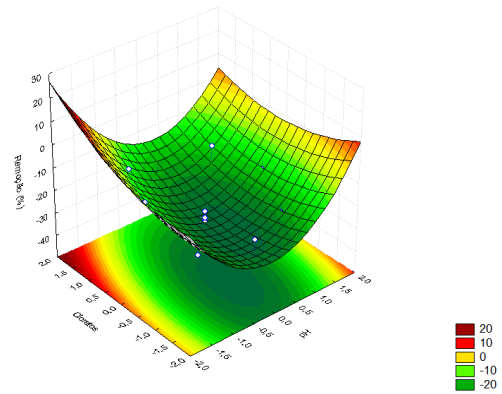
b)



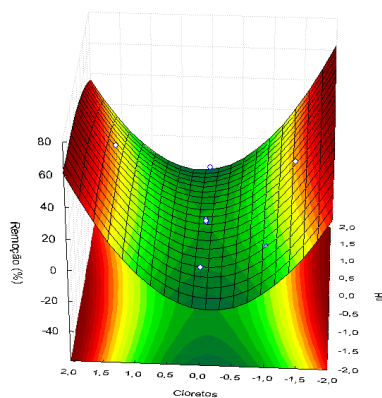
c)



d)



e)



f)

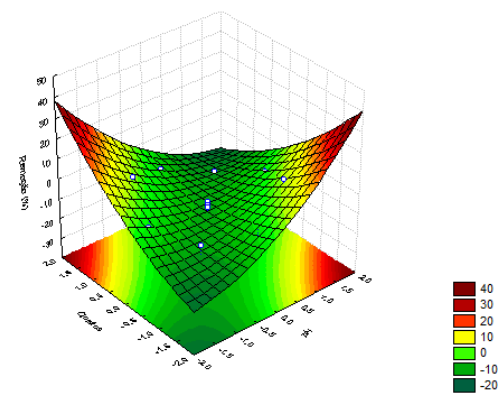


Figura 5 – Superfícies de resposta para a bioacumulação de clomazone pelas microalgas *Chaetoceros muelleri* (a), *Desmodesmus sp.* (b) e *Scenedesmus obliquus* (c) e para a bioacumulação de imazetapir pelas microalgas *Chaetoceros muelleri* (d), *Desmodesmus sp.* (e) e *Scenedesmus obliquus* (f)

As duas superfícies de resposta para a biofixação dos dois herbicidas pela microalga *Chaetoceros muelleri* apresentam o perfil de superfície com ponto mínimo. Esse tipo de superfície de resposta indica que o ponto de máxima biofixação dos herbicidas encontra-se nos extremos da superfície (BEZERRA et al., 2008).

As quatro superfícies de resposta para a biofixação dos dois herbicidas pelas microalgas *Desmodesmus sp.* e *Scenedesmus obliquus* apresentam o perfil de superfície com ponto de sela. O ponto de sela é um ponto de inflexão entre um relativo máximo e um relativo mínimo. Dessa forma, é possível encontrar a região ótima através de inspeção visual das superfícies de resposta (BEZERRA et al., 2008).

Através da estimativa dos coeficientes de regressão, que estão apresentados nos Apêndices “A” a “F”, foram elaborados os modelos matemáticos, que estão descritos nas Equações 2-7.

$$\%R_{CC} = - 9,58846 - 2,017511*A + 8,372673*A^2 - 2,650325*B + 6,67542*B^2 - 0,13684*A*B \quad (R^2 = 0,725) \quad \text{(Equação 2)}$$

$$\%R_{IC} = - 28,83262 - 2,07882*A + 7,66443*A^2 - 2,76237*B + 2,00062*B^2 - 1,91201*A*B \quad (R^2 = 0,761) \quad \text{(Equação 3)}$$

$$\%R_{CD} = + 11,60327 + 1,18157*A - 8,01263*A^2 - 3,79696*B + 15,33652*B^2 + 1,69847*A*B \quad (R^2 = 0,610) \quad \text{(Equação 4)}$$

$$\%R_{ID} = - 12,01994 + 0,13580*A - 2,57869*A^2 - 0,37754*B + 17,87778*B^2 - 3,12990*A*B \quad (R^2 = 0,778) \quad \text{(Equação 5)}$$

$$\%R_{CS} = + 11,04253 - 1,51634*A - 0,431447*A^2 + 1,25054*B - 0,30229*B^2 - 4,13013*A*B \quad (R^2 = 0,549) \quad \text{(Equação 6)}$$

$$\%R_{IS} = - 10,31128 + 0,06519*A + 3,02273*A^2 - 0,52397*B + 2,09801*B^2 - 7,35167*A*B \quad (R^2 = 0,815) \quad \text{(Equação 7)}$$

Onde:

%R CC = percentual de remoção de clomazone por *Chaetoceros muelleri*

%R IC = percentual de remoção de imazetapir por *Chaetoceros muelleri*

%R CD = percentual de remoção de clomazone por *Desmodesmus sp.*

%R ID = percentual de remoção de imazetapir por *Desmodesmus sp.*

%R CS = percentual de remoção de clomazone por *Scenedesmus obliquus*

%R IS = percentual de remoção de imazetapir por *Scenedesmus obliquus*

A = fator codificado de pH

B = fator codificado de cloretos

Todos os modelos matemáticos propostos são equações de segunda ordem (quadrático). As vantagens deste tipo de modelagem matemática são a flexibilidade e a funcionalidade em resolver problemas reais (MYERS & MONTGOMERY, 1995).

A análise de variância (ANOVA) para a adsorção dos três herbicidas pelas três microalgas está apresentada nos Apêndices “G” a “L”.

Os coeficientes de determinação ( $R^2$ ), que relacionam os valores previstos pelos modelos com os valores observados nos experimentos, para a bioadsorção de clomazone pelas microalgas *Desmodesmus sp* e *Scenedesmus obliquus* são considerados valores de efeito moderado ( $R^2$  de 0,610 e 0,549, respectivamente). Considera-se que os modelos explicam de forma razoável os dados experimentais, visto que a distribuição dos resíduos ficou bastante aleatória, ou seja, o resíduo não apresenta estrutura, confirmando que o modelo matemático está adequado aos dados observados. Já a bioadsorção de imazetapir por todas as microalgas e de clomazone pela *Chaetoceros muelleri* apresentaram  $R^2$  variando de 0,725 a 0,815, conferindo efeito forte aos modelos matemáticos (MOORE, 2009).

O maior coeficiente de determinação encontrado foi no modelo matemático para a bioadsorção de imazetapir pela microalga *Scenedesmus obliquus*, indicando que 81,5% das variações nas respostas são respondidas pelo respectivo modelo. Outra forma de verificar o ajuste do modelo é a partir das médias quadráticas. Os valores de  $F_{\text{calculado}}$ , da relação entre as médias quadráticas da falta de ajuste e do erro puro, foi maior para 5 testes, indicando falta de ajuste do modelo. Somente a adsorção de imazetapir pela microalga *Scenedesmus obliquus* teve o  $F_{\text{calculado}}$  menor do que o  $F_{\text{tabelado}}$ , obtido através da tabela de Fisher, a 95% de significância, indicando que este modelo está bem ajustado às observações.

Além disso, analisando os valores dos desvios-padrão dos Apêndices “A” a “F”, observa-se que são menores, em módulo, do que o valor real dos efeitos, confirmando que os modelos propostos descrevem bem os dados experimentais.

### 5.3 Melhores condições para adsorção dos herbicidas por cada microalga

Através dos perfis dos valores previstos e da desejabilidade para a bioadsorção dos dois herbicidas pelas três microalgas (Apêndices “M” a “R”), foi elaborada a Tabela 5 que mostra as variáveis com as maiores eficiências de remoção. A desejabilidade global pode variar de 0 a 1. Desta forma, quanto mais próximo de 1 estiver o valor obtido, mais próximos estarão os valores ótimos relacionados a cada resposta individual.

Tabela 5 – Níveis com as maiores eficiências de remoção de clomazone e imazetapir por cada microalga, com as respectivas desejabilidades globais

Herbicida	Microalga	Nível de pH	Nível de cloretos	Desejabilidade global	Eficiência de remoção (%)
Clomazone	<i>C. muelleri</i>	1,41	1,41	1	13,5
	<i>Desmodesmus sp</i>	0	-1,41	0,71	47,4
	<i>S. obliquus</i>	-1,41	1,41	0,95	21,7
Imazetapir	<i>C. muelleri</i>	-1,41	1,41	0,55	1
	<i>Desmodesmus sp</i>	0,705	-1,41	0,8	26
	<i>S. obliquus</i>	-1,41	1,41	1	13,6

Constata-se que a bioadsorção de clomazone pela microalga *Chaetoceros muelleri* e dos dois herbicidas pelas microalgas *Scenedesmus obliquus* apresentaram as maiores eficiências de remoção conforme a análise dos respectivos Diagramas de Pareto, tanto nas variáveis independentes quanto nas interações, quando for o caso.

A bioadsorção de imazetapir pela microalga *Desmodesmus sp* está com as variáveis independentes inversas ao analisado pelos Diagramas de Pareto, porém, como o efeito da interação entre as variáveis foi negativa, os níveis com maior bioadsorção estão de acordo. Já a bioadsorção deste herbicida pela microalga *Chaetoceros muelleri* também teve os níveis com maior bioadsorção com sinais opostos ao analisado nos Diagramas de Pareto.

A microalga *Desmodesmus sp.* é a mais indicada quando da utilização da mesma para descontaminação de água destinada para consumo humano. Transformando os fatores codificados para concentração e unidades de pH, a maior eficiência de remoção de clomazone e imazetapir acontece em concentração de cloretos de 59 mg L<sup>-1</sup> e em pH 7,0 e 7,7, respectivamente. Estas variáveis encontram-

se dentro do padrão organoléptico de cloretos (até 250 mg L<sup>-1</sup>) e pH (entre 6,0 e 9,5) na rede de distribuição (BRASIL, 2017). Já para a microalga *Scenedesmus obliquus*, as maiores eficiências de remoção acontecem em concentração de cloretos de 341 mg L<sup>-1</sup> e em pH de 5,4, ou seja, fora do padrão estipulado pela legislação.

As microalgas *Chaetoceros muelleri* e *Scenedesmus obliquus* são as mais indicadas para a finalização do tratamento de efluentes industriais e esgotos domésticos, por apresentarem seu maior desempenho em concentração de cloretos de 341 mg L<sup>-1</sup>. Estudos comprovam que os cloretos são um dos principais componentes inorgânicos de efluentes. Sua concentração pode ser aumentada durante o tratamento de efluentes devido à adição de produtos químicos, tais como cloreto férrico (remoção de fósforo), ácido clorídrico (ajuste de pH) e hipoclorito de sódio (desinfecção). Além disso, o processamento do alimento com a utilização de sais também contribui com a concentração de cloretos maior do que na água destinada ao consumo humano (FEIGIN et al., 1991; LEI et al., 2016).

Percebe-se que as eficiências de remoção máximas são relativas à região analisada, também chamada de região de operabilidade. Maiores eficiências de remoção poderão ser conseguidas em níveis inferiores ou superiores aos impostos nos experimentos, conforme observado nas superfícies de resposta e modelos matemáticos propostos. Porém, caso a adsorção dos herbicidas por microalgas ocorrer em tratamento de efluentes e água potável, deverão ser observados os padrões de pH antes do lançamento, ou seja, caso o pH na adsorção fique abaixo de 6 ou acima de 9, deverá ser feito o ajuste do mesmo, conforme a legislação em vigor, uma vez que não existem padrões para lançamento de cloretos em efluentes (BRASIL, 2017; RIO GRANDE DO SUL, 2017).

Ainda analisando a Tabela 5, em termos de eficiência de remoção, a adsorção de clomazone apresenta os maiores valores. Porém, referenciando em concentração, o montante de imazetapir adsorvido é maior por todas as microalgas, uma vez que as concentrações iniciais dos experimentos para cada herbicida foram diferentes, indicando uma maior probabilidade do imazetapir se ligar com o material adsorvente.

Convém destacar que a separação do sistema biossorvente/adsorbato da solução aquosa foi realizada por decantação/centrifugação/filtração, o que seria um problema a usar em uma escala real. Alguns autores, como Ndikubwimana et al. (2015) e Ummalya et al. (2017), descrevem a utilização de biofloculantes, coagulantes químicos, biopolímeros e coagulantes magnéticos para serem usados no

propósito de separação da biomassa algal, mesmo posterior ao processo de adsorção.

#### **5.4 Predição dos mecanismos de adsorção dos herbicidas nas microalgas**

Em processos que utilizam a separação de moléculas químicas por biossorventes em soluções aquosas, existem mecanismos como adsorção e absorção. Compostos com grupos químicos hidrofóbicos são facilmente atraídos pela biomassa, permeando pelas membranas e absorvido na matriz orgânica. A absorção, portanto, é significativa quando da utilização de biossorventes de massa viva (GADD, 2009), o que corrobora a adsorção como sendo o efeito principal dos experimentos deste estudo.

As capacidades de adsorção de um adsorvente são atribuídas a grupos funcionais presentes na superfície. O sorvente com baixa área superficial pode ter alta adsorção através da formação de ligações ou interações entre dois centros (SCAGLIONE & FURLONG, 2016). Assume-se que a área superficial das microalgas é pequena, pois para que seja considerada grande é necessário passar por carbonização e ativação, como nos casos de carvão ativado, conforme estudos de Ma et al. (2014) e Shang et al. (2015).

Considerando que o equilíbrio das cargas nas microalgas encontra-se no pH 7,0, devido aos constituintes das paredes celulares possuírem variados pka e pkb, as interações do clomazone e imazetapir em cada microalga, sob as condições com maior adsorção, são listados a seguir.

Na adsorção de clomazone pela microalga *Chaetoceros muelleri* destacam-se as prováveis interações do íon  $\text{Na}^+$  do eletrólito suporte aos grupamentos carregados negativamente, devido ao pH do meio (8,4). Os grupos hidroxil, carboxil e fosfato orgânico se apresentam em suas formas não ionizadas em presença de íons  $\text{H}^+$  em solução, por isso, quando em presença de íons  $\text{OH}^-$ , os oxigênios das moléculas têm a tendência em perder seus prótons deixando-as com cargas negativas.

Com a ligação dos íons  $\text{Na}^+$  com os grupamentos com cargas negativas, a carga superficial da microalga fica neutra, podendo favorecer a difusão da molécula do herbicida nos interstícios da parede celular. Pucarevic et al. (2017) relatam que o pH influencia na adsorção de atrazina em zeólitas, que possuem carga positiva na sua superfície. Foi constatado que, com o aumento do pH, a atrazina fica em sua conformação molecular sem carga, indicando que há a difusão das moléculas de

atrazina nos poros da zeólita. Tal situação pode ser transferida para a molécula de clomazone, que não possui cargas, independente do pH.

Outro modo de adsorção é chamado de efeito- $\pi$  ou interação- $\pi$  que são interações não-covalentes entre aromáticos deficientes de elétrons e podem interagir com moléculas com cargas, principalmente ânions, neutras ou até mesmo com outros sistemas  $\pi$ . A energia de ligação pode ser comparada às ligações de hidrogênio, variando de 20 a 50 kJ mol<sup>-1</sup> (MASCAL et al., 2002; SCHOTTEL et al., 2008). A interação- $\pi$  pode ter ocorrido neste experimento devido à existência de ânions na superfície da microalga que vão interagir com o anel aromático do clomazone. Os halogênios ligados ao benzeno possuem uma competição entre a ressonância (efeito doador) e indução (efeito retirador), porém a indução é o fator dominante. Neste caso, os halogênios retiram densidade de elétrons do anel, desestabilizando o complexo sigma que fica carregado positivamente, aumentando a energia de ativação (MORRISON & BOYD, 1992).

Como alguns grupamentos da superfície da microalga ainda podem estar carregados negativamente, a interação- $\pi$  também pode influenciar na adsorção do clomazone, além das ligações dipolo-induzido, que consistem em ligações fracas, de curto alcance e estão eventualmente em todas as interações adsorvente/adsorvato. Elas são importantes na adsorção de pesticidas não iônicos e não polares, conforme observado por Senesi (1992) na adsorção de alguns pesticidas em substâncias húmicas. O clomazone, mesmo sendo não iônico, é bastante polar, portanto outros tipos de ligações são mais influentes que a dipolo-induzido.

As ligações de hidrogênio, dos dois pontos de hidrogênio-receptores do clomazone com os grupamentos amina e amida também podem ocorrer.

O modelo esquemático dos mecanismos envolvidos na adsorção de clomazone pela microalga *Chaetoceros muelleri* encontra-se na Figura 6.



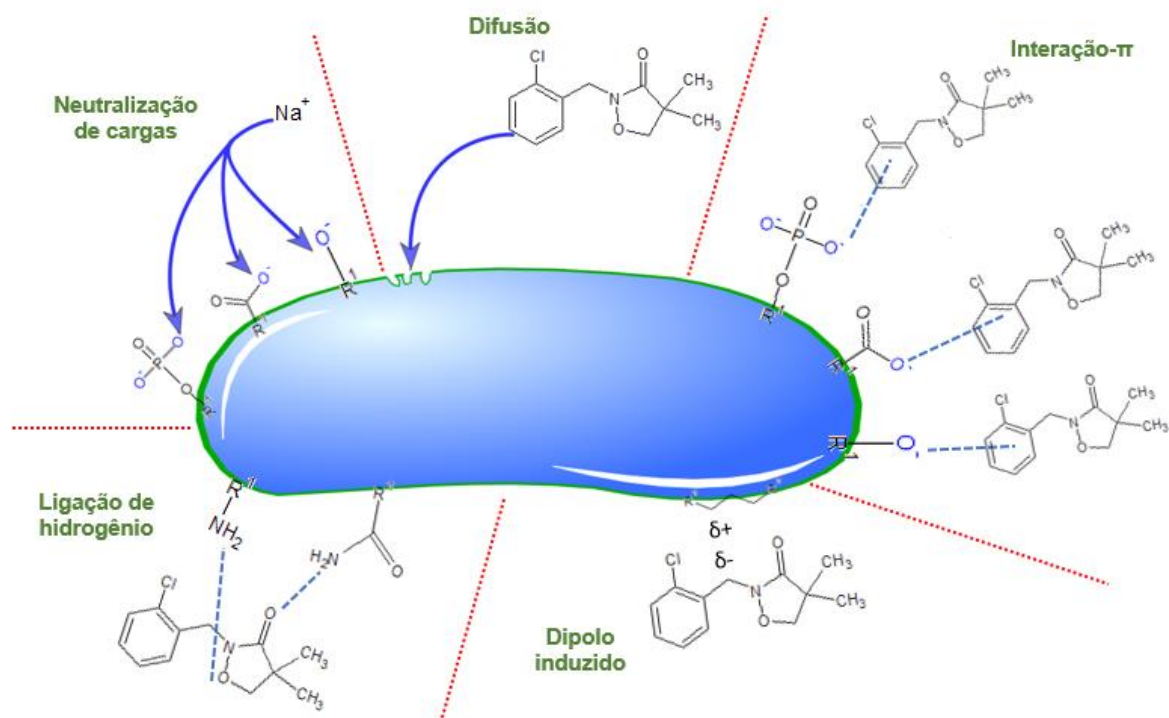


Figura 6 – Proposição de mecanismos envolvidos na adsorção do clomazone pela microalga *Chaetoceros muelleri*

Como o pH do meio para a maior biossorção do clomazone pela microalga *Desmodesmus sp.* está na neutralidade, há um equilíbrio entre os grupamentos e seus estados carregados.

A microalga *Desmodesmus sp.* F51, em pH ácido, possui uma carga superficial dominada por um grupo amino carregado positivamente, enquanto os grupos carboxil e fosforil permanecem protonados. Em pH neutro, estes últimos dois grupos são desprotonados, à medida que o grupo amino é protonado. Neste pH, a mistura destes grupos resulta em uma possibilidade de carga de superfície igual a zero (ponto isoelétrico). Já em pH alcalino, os grupos fosforil e carboxil tornam-se desprotonados e adicionam carga negativa na superfície celular.

Os íons  $\text{Cl}^-$  e  $\text{Na}^+$  poderão se ligar às cargas formadas no equilíbrio, deixando a superfície praticamente neutra, favorecendo a difusão da molécula de clomazone nos interstícios e as ligações dipolo-induzido.

Em estudo com biopolímeros de quitosana e alginato, Moraes et al. (2013) concluíram que o clomazone, em concentração aquosa com  $50 \mu\text{mol}$  do herbicida em pH 6,0, não foi adsorvido devido à ausência de cargas na molécula, indicando que as interações eletrostáticas entre os herbicidas e os adsorventes são uma das principais forças responsáveis pela adsorção, porém não são as únicas. Rachel et al. (2017)

constatarem que o herbicida atrazina possui um comportamento parecido com o clomazone. Por existir, praticamente, como uma molécula neutra, as forças fracas como as de van der Waals e interações hidrofóbicas estão envolvidas na adsorção da atrazina em carvão ativado.

Pandiarajan et al. (2018) afirmam que na adsorção de herbicidas ácido clorofenoxiacéticos, como o 2,4-D, em carvão ativado de casca de laranja, o que influencia na adsorção em diferentes pH são as cargas e não a parte clorada do herbicida.

Porém, foi constatado por Shikuku et al. (2015) que a adsorção de clomazone pode ocorrer por quimissorção e a molécula do herbicida não é adsorvida nas cavidades internas do adsorvente e sim na superfície. O adsorvente utilizado foi uma zeólita que possui cargas positivas em sua superfície (denominada de NZ-K). Foi concluído que os cátions sódio possivelmente atuam como cargas pontuais que atraem o átomo de cloro do clomazone. Em comparação a outra zeólita utilizada (FAU-X), a adsorção de clomazone foi menor provavelmente devido à posição da molécula de cloro no anel de benzeno substituído, tornando o impedimento estereoquímico ao local de ligação e a repulsão aumentada entre as moléculas adsorvidas, evidenciando que existem mais cargas positivas (sítios ativos) na superfície de NZ-K que influenciaram na adsorção do herbicida.

A interação das cargas positivas das microalgas com o cloro do clomazone, gerando a interação pontual, se dá quando o pH do meio se encontra ácido, o que ocorreu, somente, na adsorção deste herbicida pela microalga *Scenedesmus obliquus*.

As ligações de hidrogênio dos dois pontos hidrogênio receptores do clomazone podem ocorrer com as formas neutra e carregada da amina e as formas neutras dos grupamentos carboxil e fosforil.

As cargas negativas dos grupamentos carboxil e fosforil podem realizar a interação- $\pi$  com o anel aromático do clomazone. Provavelmente por haver o maior número de mecanismos, a maior eficiência de remoção para este herbicida foi encontrada neste experimento.

O modelo esquemático dos mecanismos envolvidos na adsorção de clomazone pela microalga *Desmodesmus sp.* encontra-se na Figura 7.

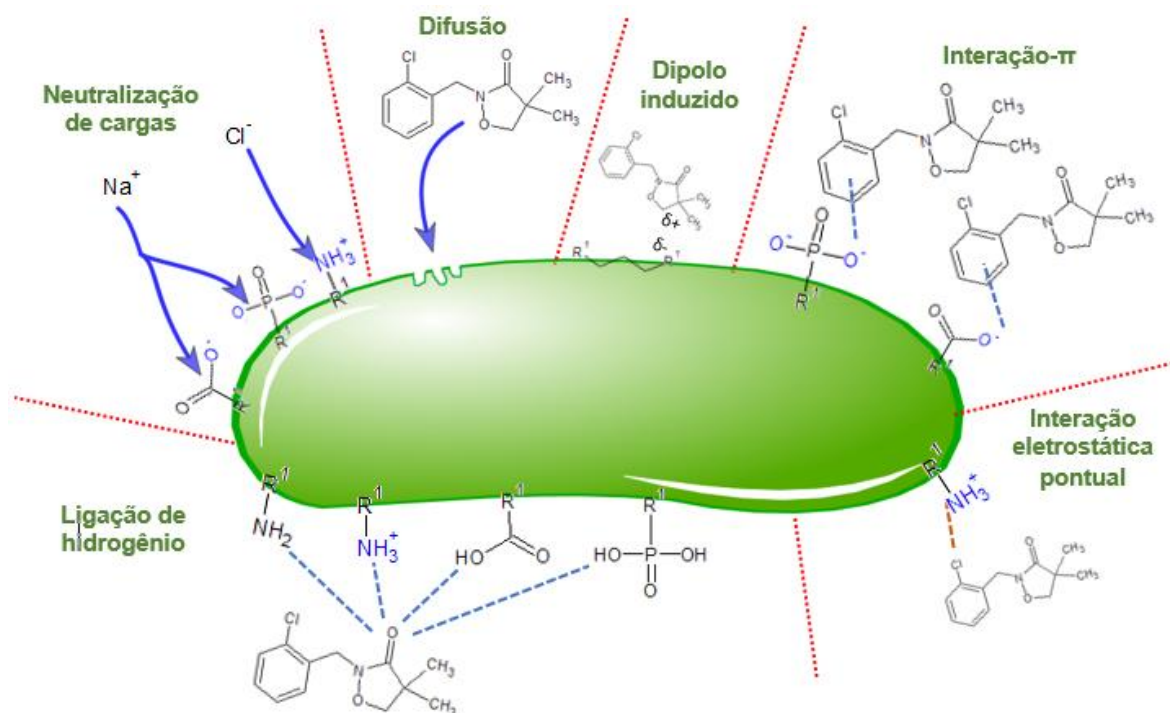


Figura 7 – Proposição de mecanismos envolvidos na adsorção do clomazone pela microalga *Desmodesmus sp.*

Na adsorção do clomazone pela microalga *Scenedesmus obliquus*, os íons  $\text{Cl}^-$  se unem às cargas positivas dos grupamentos amina e amida, deixando a superfície da microalga praticamente sem carga, favorecendo a difusão da molécula nos interstícios e as ligações dipolo-induzido. Por serem grupamentos básicos, aminas e amidas podem apresentar cargas positivas somente em presença de íons  $\text{H}^+$  (Molazadeh et al., 2015).

Além disso, pode estar envolvido o mecanismo de interação pontual entre as cargas positivas da microalga e o cloro do clomazone.

A ligação de hidrogênio pode ocorrer através dos dois pontos hidrogênio-receptores do clomazone com os grupamentos amina e amida (carregados) e carboxil, hidroxil, fosfato orgânico e sulfonato (neutros).

O modelo esquemático dos mecanismos envolvidos na adsorção de clomazone pela microalga *Scenedesmus obliquus* encontra-se explicitado na Figura 8.

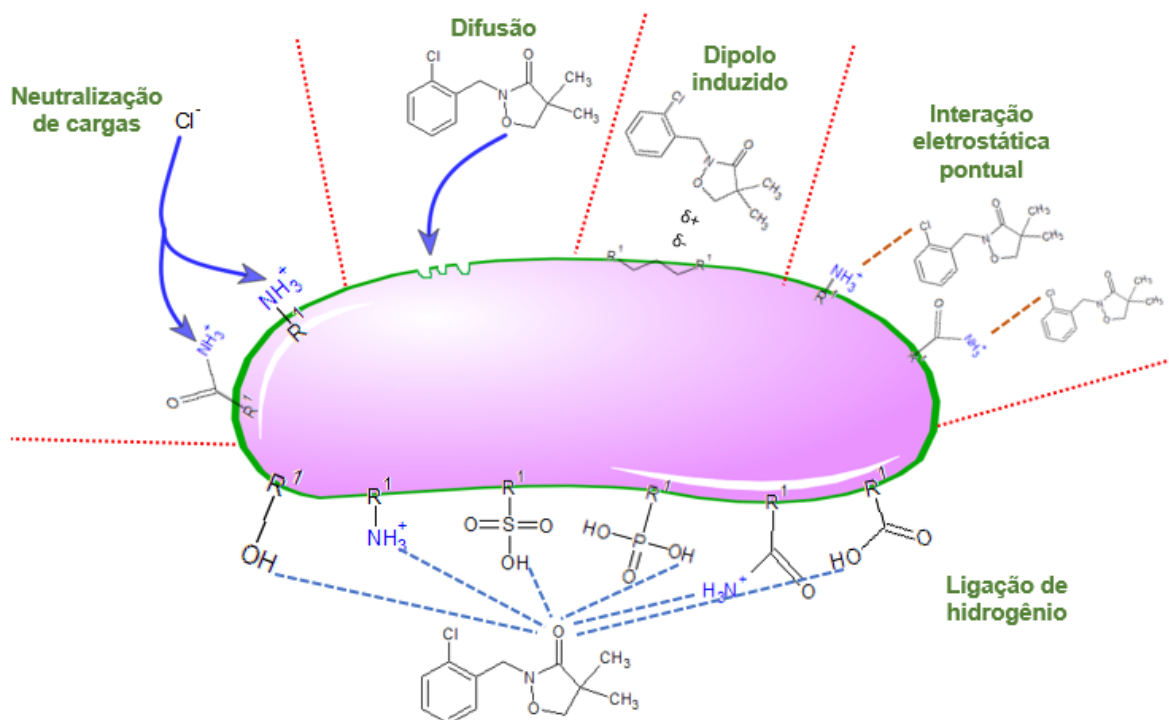


Figura 8 – Proposição de mecanismos envolvidos na adsorção do clomazone pela microalga *Scenedesmus obliquus*

O mecanismo que diferencia a adsorção do clomazone pelas 3 microalgas é atribuído à interação eletrostática pontual, uma vez que ela aparece nos dois experimentos com maior eficiência de remoção.

Na adsorção de imazetapir pela microalga *Chaetoceros muelleri*, a concentração alta de íons  $\text{Cl}^-$  compete com o ânion do imazetapir pelas cargas positivas amina e amida, e devido a isso se atribui baixa eficiência de remoção.

Os herbicidas do grupo das imidazolinonas, como o imazetapir, são considerados anfóteros, visto que possuem um ácido carboxílico e uma piridina como grupos ionizáveis, conferindo a propriedade de ácido fraco. Desta forma, em níveis elevados de pH, predomina a forma aniônica, ao passo que enquanto em pH baixo e inferior ao  $\text{pKa}$ , a molécula pode ser protonada a um cátion (OLIVEIRA et al., 2004). As formas do imazetapir conforme seus  $\text{pKa}$  encontram-se na Figura 9.

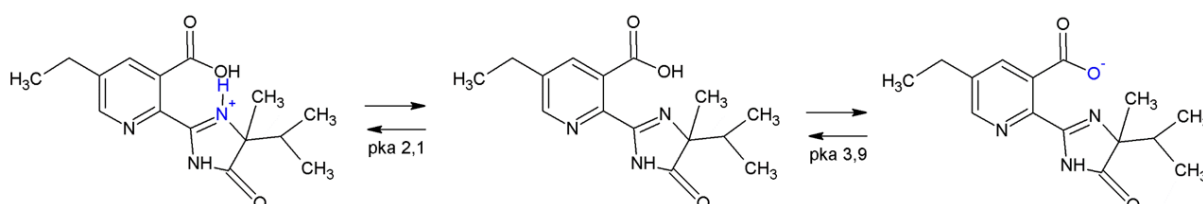


Figura 9 – Molécula de imazetapir nos seus três estados (ANDERSON et al., 2016).

Quando o imazetapir e o adsorvente estão em suas formas moleculares, estão envolvidos os mecanismos de pontes de hidrogênio ou de dispersão de London, sem a atração eletrostática. Neste último caso, a ligação entre o adsorvente e os herbicidas se daria nas porções hidrofóbicas de lipídios e hidrocarbonetos, presentes na superfície das microalgas, através da formação de um momento dipolo (HSIEH & WU, 2009; CASARIN et al., 2018).

Porém, devido à concentração inicial de imazetapir nos testes de adsorção, para que esse herbicida estivesse em maior quantidade no estado não dissociado com suas formas aniônica e catiônica, o pH da solução deveria estar entre 2,92 e 3,88, conforme transformação do pKa para pH utilizando a lei de diluição de Ostwald. Sendo assim, em todos os testes, grande parte das moléculas do imazetapir estavam em sua forma aniônica.

Com a carga superficial neutra, a pequena quantidade de imazetapir na forma molecular pode se difundir nos interstícios da membrana, além da ligação dipolo-induzido. Não há interação- $\pi$  de ânions com o anel de piridina, uma vez que os mesmos não existem na superfície.

A ligação de hidrogênio é uma importante interação polar em meio aquoso, levando a consideração de que é um tipo de ligação especial ou exclusivo em adsorção. A presença de grupos funcionais contendo oxigênio e nitrogênio, como os grupos carboxila, hidroxila e amino, sugere este tipo de ligação (TAZI et al., 2015).

As ligações de hidrogênio são feitas por grupamentos onde há um hidrogênio doador e um grupo aceptor de hidrogênio. O imazetapir possui 5 sítios aceptores de hidrogênio e 2 hidrogênios doadores ao passo que o clomazone possui 2 grupamentos aceptores de hidrogênio (CIRAK et al., 2013). Wang et al. (2017) indicam que moléculas que possuem mais hidrogênio doadores e sites receptores para ligações de hidrogênio são mais adsorvidos que aqueles que possuem menos sítios ou até mesmo não possuam nenhum, concluindo que estas ligações são mais importantes na adsorção do imazetapir.

O modelo esquemático dos mecanismos envolvidos na adsorção do imazetapir na microalga *Chaetoceros muelleri* encontra-se na Figura 10.

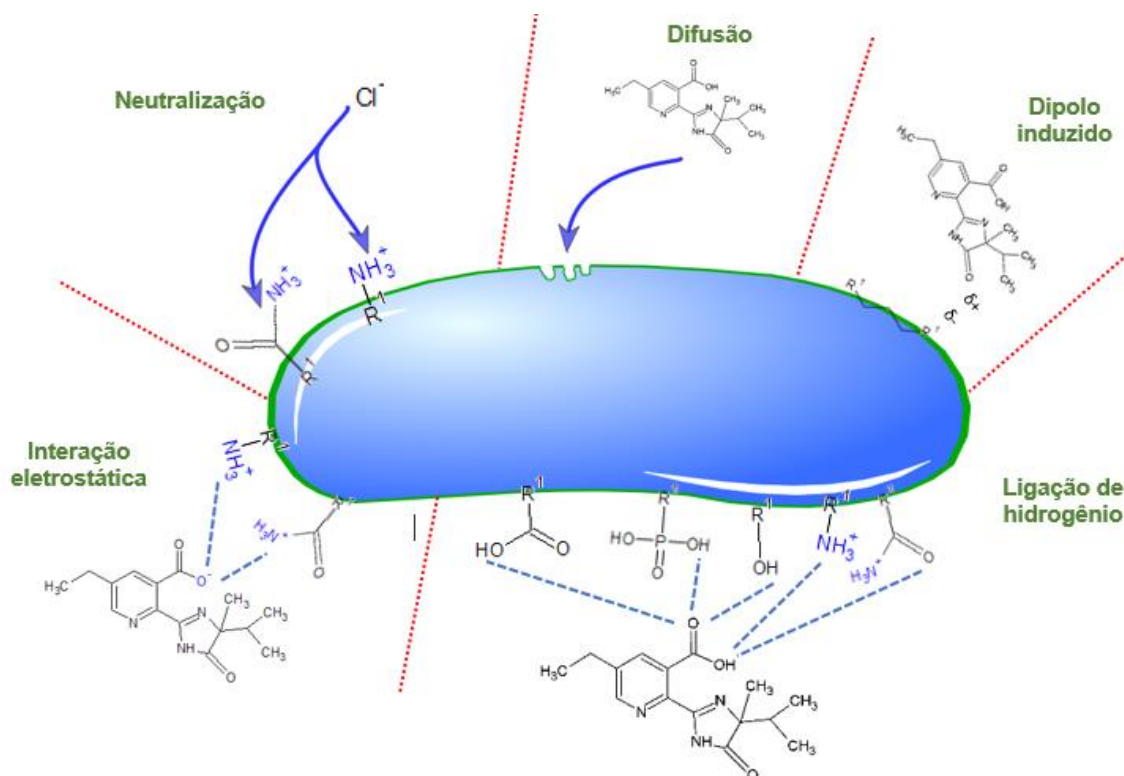


Figura 10 – Proposição de mecanismos envolvidos na adsorção do imazetapir pela microalga *Chaetoceros muelleri*.

Os mecanismos envolvidos na adsorção de imazetapir pela microalga *Desmodesmus sp.* são os mesmos da microalga *Chaetoceros muelleri*, com adição da interação- $\pi$ . Os íons  $\text{Na}^+$  se ligam aos grupamentos carboxil e fosforil, deixando a carga superficial neutra favorecendo a difusão da molécula e as ligações dipolo-induzido.

Os ânions da superfície podem fazer a interação- $\pi$  com o anel de piridina. No caso da piridina, como o nitrogênio é mais eletronegativo em relação ao carbono, as formas de ressonância do anel benzênico têm carga negativa sobre o nitrogênio e a positiva sobre um dos carbonos, o que favorece a interação com os ânions, chamada de polarização induzida (MORRISON & BOYD, 1992; SCHOTTEL et al., 2007).

Senesi (1992) propôs que o imazetapir pode interagir com ácido húmico por múltiplos mecanismos, incluindo transferência de carga e ligações iônica e de hidrogênio, tal qual proposto neste estudo, porém não citam a interação- $\pi$ .

As ligações de hidrogênio ocorrem das duas formas: os sítios ativos como aceptores ou doadores de hidrogênio e o imazetapir como doador ou aceitador de hidrogênio.

O modelo esquemático dos mecanismos envolvidos na adsorção do imazetapir na microalga *Desmodesmus sp.* encontra-se na Figura 11.

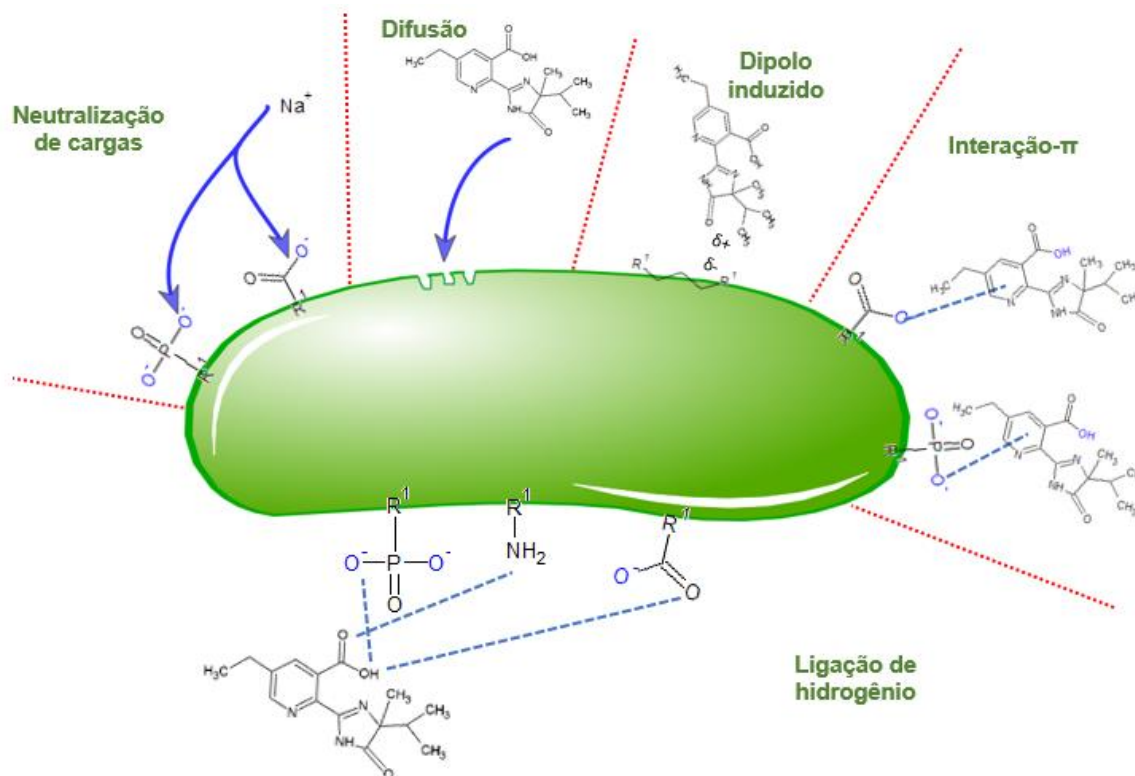


Figura 11 – Proposição de mecanismos envolvidos na adsorção do imazetapir pela microalga *Desmodesmus sp.*

Na biossorção do imazetapir pela microalga *Scenedesmus obliquus* sob as condições com maior adsorção, o imazetapir em carga negativa é atraído eletrostaticamente aos grupamentos amida e amina. Resultado semelhante foi encontrado em estudo de Ishiki et al. (2005), em que foi determinado o mecanismo de adsorção de imazetapir em óxido de titânio como adsorvente, antes da fotodegradação da molécula. Em pH abaixo de 4,0 existem moléculas carregadas positivamente no grupo imidazolil e não ocorre a adsorção visto que o óxido de titânio está carregado positivamente. Já em pH maior que 7,0, o óxido de titânio possui carga negativa e o herbicida está também está carregado negativamente no grupo carboxil, inibindo a adsorção. A vantagem da utilização das microalgas frente ao óxido de titânio é que a adsorção de imazetapir pode ocorrer a partir de pH 3,88, com a quimissorção no grupamento carboxil.

O mecanismo de ligação de hidrogênio também influencia na adsorção do imazetapir em pH ácido, que está predominantemente na sua forma aniônica. Já

Casarin et al. (2017), concluíram que quando o imazetapir adquire a sua forma neutra, é promovida a interação por ligações de hidrogênio com os grupos Si-OH e Al-OH presentes na estrutura do polímero híbrido estudado. À medida que o pH sobe, há a modificação da estrutura para um ânion, juntamente com a desprotonação dos grupos do adsorvente, prejudicando a adsorção.

As ligações de hidrogênio ocorrem das duas formas: os sítios ativos como aceptores ou doadores de hidrogênio e o imazetapir como doador ou aceitor de hidrogênio.

Os íons  $\text{Cl}^-$  podem competir pelos sítios carregados positivamente, diminuindo a capacidade de atração eletrostática do ânion de imazetapir. Essa situação favorece a neutralização das cargas, indicando a difusão da molécula de imazetapir, além da ligação dipolo-induzido. Neste caso não há interação- $\pi$  entre as cargas da microalga com o anel de piridina. O modelo esquemático dos mecanismos envolvidos na adsorção do imazetapir na microalga *Scenedesmus obliquus* encontra-se na Figura 12.

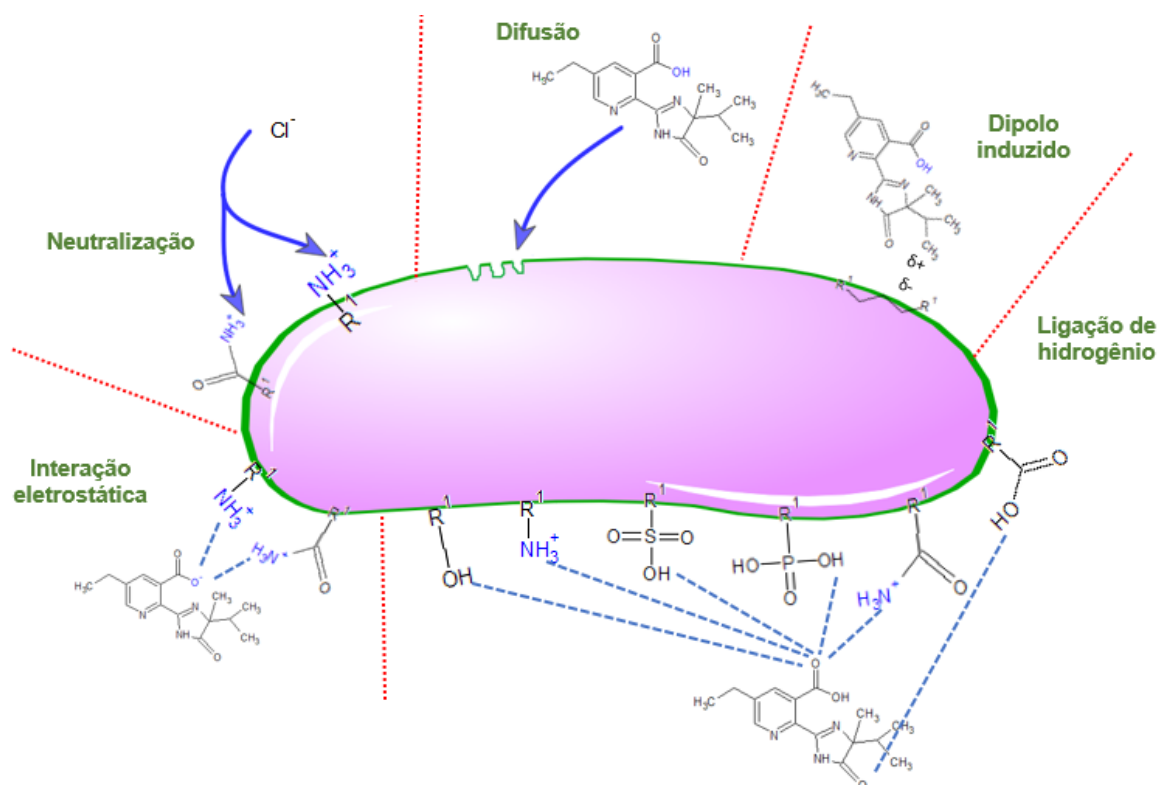


Figura 12 – Proposição de mecanismos envolvidos na adsorção do imazetapir pela microalga *Scenedesmus obliquus*.



A interação eletrostática nos experimentos pode ter ocorrido na adsorção de imazetapir pelas microalgas *Chaetoceros muelleri* e *Scenedesmus obliquus*, uma vez que o imazetapir encontra-se na sua forma aniônica e o pH para estes experimentos encontra-se em uma faixa ácida.

Tendo em consideração que o coeficiente de partição octanol/água ( $K_{ow}$ ) do clomazone é de 2,54 (MORAES et al., 2013) e do imazetapir é de 1,43 (CASARIN et al., 2018), a adsorção de imazetapir por atração eletrostática pode ser explicada por esse coeficiente, que indica que quanto mais polar é o composto, maior afinidade com os sítios ativos da superfície do adsorvente, conforme constatação de Yavari et al. (2016).

Os herbicidas podem se transformar no ambiente por dois tipos de reações: biodegradação e bioacumulação. Esta última é caracterizada por incorporação e acumulação do herbicida por processos ativos ou passivos (MÜLLER & KOHLER, 2004). Uma das grandes preocupações da atualidade é a possibilidade de bioacumulação dos pesticidas em produtores primários de ecossistemas e sua posterior propagação através da cadeia trófica (GALHANO, 2011). A relativa rápida eliminação do clomazone em minhocas indicam que o clomazone não possui grande bioacumulação em organismos de mais elevado nível trófico (CAO et al., 2015). Porém, a bioacumulação do imazetapir pode ocorrer, como nos tecidos de girinos e nos animais leiteiros que se alimentam de folhas do amendoim (POONIA et al., 2017; PÉREZ-IGLESIAS, 2018). Portanto, as interações fortes na bioadsorção dos herbicidas pelas microalgas inativas que estejam no ambiente aquático, tais como ligações de hidrogênio, interações- $\pi$  e interações eletrostáticas, podem interferir na cadeia trófica.

Cabe salientar que as menores concentrações do eletrólito suporte são reportadas na microalga de água doce *Desmodesmus sp.*, ao passo que as maiores são encontradas na microalga de água salgada *Chaetoceros muelleri*. As menores eficiências de bioadsorção dos dois herbicidas justamente ocorrem na microalga *Chaetoceros muelleri*, provavelmente por que os íons  $Na^+$  e  $Cl^-$  competem e têm preferência na atração eletrostática. Apesar da microalga *Scenedesmus obliquus* ser de água doce, alguns estudos relatam que algumas cepas já foram submetidas a stress salino visando a otimização de produção de lipídios, tornando-a adaptada e halotolerante (JI et al., 2018). Além disso, a microalga foi estudada por Xiong et al. (2017) para biorremediação de levofloxacin em efluente salino, apresentando boas perspectivas de uso, adaptando-se ao meio. Esta situação de adaptação pode ter

implicado na maior eficiência de bioadsorção de clomazone e imazetapir na maior concentração de eletrólito suporte por esta microalga.

O incremento da salinidade em uma solução aquosa aumenta também o número de íons sódio (carregados positivamente) influenciando na dessorção de  $\text{NH}_4^+$  em sedimentos (carregados negativamente na sua superfície), evidenciando o mecanismo de troca iônica. Pode-se concluir, portanto, que íons de um único elemento em concentração maior são preferencialmente atraídos nos poros dos adsorventes quando em comparação a moléculas mesmo em baixas concentrações, prejudicando a adsorção das mesmas (RYSGAARD et al. 1999). O mesmo foi observado em estudo de Green-Ruiz (2014), com uma complementação: a adsorção de mercúrio (concentração inicial de  $0,25 \text{ mg L}^{-1}$ ) em adsorvente mineral foi completamente inibida quando trabalhou-se com a salinidade de  $20 \text{ g L}^{-1} \text{ NaCl}$ , ao passo que uma remoção de 58% deste metal foi conseguida nesta mesma concentração de salinidade, porém em concentração inicial do metal de  $10 \text{ mg L}^{-1}$ . Entende-se, portanto, que há um mecanismo de competição entre os íons.

### **5.5 Mecanismos de bioadsorção dos herbicidas clomazone e imazetapir pelas três microalgas**

A Tabela 6 traz o resumo dos mecanismos de bioadsorção dos herbicidas clomazone e imazetapir atribuídos às três microalgas.

Tabela 6 – Proposição dos mecanismos de adsorção dos herbicidas clomazone e imazetapir por cada uma das microalgas, nas condições com maior adsorção

<b>Herbicida</b>	<b>Microalga</b>	<b>Mecanismos propostos</b>
Clomazone	<i>Chaetoceros muelleri</i>	* Difusão * Dipolo-induzido * Ligações de hidrogênio * Interação- $\pi$
	<i>Desmodesmus sp.</i>	* Difusão * Dipolo-induzido * Ligações de hidrogênio * Interação- $\pi$ * Interação eletrostática pontual
	<i>Scenedesmus obliquus</i>	* Difusão * Dipolo-induzido * Ligações de hidrogênio * Interação eletrostática pontual
	<i>Chaetoceros muelleri</i>	* Difusão * Dipolo-induzido * Ligações de hidrogênio * Interação eletrostática
	<i>Desmodesmus sp.</i>	* Difusão * Dipolo-induzido * Ligações de hidrogênio * Interação- $\pi$
	<i>Scenedesmus obliquus</i>	* Difusão * Dipolo-induzido * Ligações de hidrogênio * Interação eletrostática
Imazetapir	<i>Chaetoceros muelleri</i>	* Difusão * Dipolo-induzido * Ligações de hidrogênio * Interação eletrostática
	<i>Desmodesmus sp.</i>	* Difusão * Dipolo-induzido * Ligações de hidrogênio * Interação- $\pi$
	<i>Scenedesmus obliquus</i>	* Difusão * Dipolo-induzido * Ligações de hidrogênio * Interação eletrostática

## 6. CONCLUSÃO

Os resultados observados neste trabalho comprovam a possibilidade de biossorção dos herbicidas clomazone e imazetapir pelas microalgas *Chaetoceros muelleri*, *Desmodesmus sp.* e *Scenedesmus obliquus*, inativas. A variação do pH e da concentração do eletrólito suporte influenciam na performance das microalgas na biossorção dos herbicidas. O tratamento dos resultados por superfície de resposta indicou que as maiores eficiências de remoção ocorrem nos extremos da região de operabilidade dos experimentos. A modelação matemática foi considerada satisfatória, com os coeficientes de determinação variando de 0,549 a 0,815.

Considerando as variáveis estudadas nas maiores eficiências de remoção e seus padrões ante a legislação vigente no Brasil, sugere-se que a microalga *Desmodesmus sp* é indicada para o tratamento de águas, ao passo que as microalgas *Chaetoceros muelleri* e *Scenedesmus obliquus* são indicadas para o tratamento de efluentes.

Elucidando-se nas evidências das bibliografias com similaridades ao sistema estudado, os resultados apontam que mecanismos sugeridos à biossorção dos dois herbicidas podem ser: a difusão, dipolo-induzido, interação- $\pi$ , ligações de hidrogênio, interação eletrostática e interação eletrostática pontual.

## Referências

ABBAS, S. H. Biosorption of heavy metals: a review. **Journal of Chemical Science and Technology**, v. 3, p. 74-102, 2014.

ANDERSON, S. C. et al. Statistical analysis of the photodegradation of imazethapyr on the surface of extracted soybean (*Glycine max*) and corn (*Zea mays*) epicuticular waxes. **Environmental Science Processes and Impacts**, n. 18, v. 10, p. 1305-1315, 2016.

ANDRES, A. et al. Selectivity and weed control efficacy of pre- and post-emergence applications of clomazone in Southern Brazil. **Crop Protection**, n. 53, p. 103-108, 2013.

BAIRD, C.; CANN, M. **Química Ambiental**, 4. Ed. Porto Alegre: Bookman, 2011.

BAGHDADI, M.; GHAFARI, E.; AMINZADEH, B. Removal of carbamazepine from municipal wastewater effluent using optimally synthesized magnetic activated carbon: Adsorption and sedimentation kinetic studies. **Journal of Environmental Chemical Engineering**, v. 4, p. 3309–3321, 2016.

BARRIGOSI, J. A. F.; LANNA, A. C.; FERREIRA, E. **Circular Técnica nº 67 Agrotóxicos no Cultivo do Arroz no Brasil: análise do consumo e medidas para reduzir o impacto ambiental negativo**. Embrapa, Santo Antônio de Goiás-GO: 2004. 8p.

BENINCÁ, C. et al. Removal of clomazone herbicide from a synthetic effluent by electrocoagulation. **Water Science & Technology**, n. 73, p. 2944-2952, 2016.

BEZERRA, M. A. et al. Response surface methodology (RSM) as a tool for optimization in analytical chemistry. **Talanta**, v. 76, p. 965-977, 2008.

BIRUNGI, Z. S.; CHIRWA, E. M. N. The adsorption potential and recovery of thallium using green micro-algae from eutrophic water sources. **Journal of Hazardous Materials**, n. 299, p. 67 – 77, 2015.

BRASIL. **Lei nº 7.802, de 11 de julho de 1989**. Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil, Casa Civil, Brasília, DF, 12 jul. 1989. Seção 1, p. 11459.

BRASIL. **Decreto nº 4.074, de 4 de janeiro de 2002**. Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil, Casa Civil, Brasília, DF, 08 jan. 2002. Seção 1, p. 1.

BRASIL. Resolução CONAMA nº 357, de 17 de março de 2005. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Poder Executivo, Brasília, DF, 18 mar. 2005. Seção 1, p. 58-63.

BRASIL. Portaria de Consolidação nº 5, de 28 de setembro de 2017, da Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Poder Executivo, Brasília, DF, 03 out. 2017, Seção 1 suplementar, p. 1-716.

CALADO, V.; MONTGOMERY, D. **Planejamento de Experimentos Usando o Statística**. Rio de Janeiro: E-papers, 2003.

CALDAS, S.; PRIMEL, E., ZANELLA, R. Risk estimate of water contamination and occurrence of pesticide in the South of Brazil. In.: KORTEKAMP, A. (Ed.). **Herbicides and Environment**. Rijeka, Croacia: InTech, 2011. p. 471-492.

CAO, J. et al. Bioaccumulation and Elimination of the Herbicide Clomazone in the Earthworms *Eisenia fetida*. **Bull Environ Contam Toxicol**, n. 95, p. 606-610, 2015.

CARNEIRO, R. T. A. et al. Removal of glyphosate from water using biopolymer membranes. *Journal of Environmental Management*, n. 151, p. 353-360, 2015.

CARVALHO, M. M. X. et al. “Defensivos” ou “agrotóxicos”? História do uso e da percepção dos agrotóxicos no estado de Santa Catarina, Brasil, 1950-2002. **História, Ciências, Saúde – Manguinhos**, Rio de Janeiro, v. 24, n. 1, p. 75-91, 2017.

CASARIN, J. et al. Poly(methacrylic acid)/SiO<sub>2</sub>/Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> based organic-inorganic hybrid adsorbent for adsorption of imazethapyr herbicide from aqueous medium. **Reactive and Functional Polymers**, n. 121, p. 101-109, 2017.

CASARIN, J. et al. Insight into the Performance of Molecularly Imprinted Poly(methacrylic acid) and Polyvinylimidazole for Extraction of Imazethapyr in Aqueous Medium. **Chemical Engineering Journal**, v. 343, p. 583-596, 2018.

CESSNA, A. J.; ELLIOTT, J. A.; BAILEY, J. Leaching of three imidazolinone herbicides during sprinkler irrigation. **Journal of Environmental Quality**, n. 41, p. 882-892, 2012.

CHAIR, K. et al. Combining bioadsorption and photoelectrochemical oxidation of the treatment of soil-washing effluents polluted with herbicide 2,4-D. **J. Chem. Technol. Biotechnol.**, n. 92, p. 83-89, 2016.

CHAIR, K. et al. Treatment of soil-washing effluents polluted with herbicide oxyfluorfen by combined biosorption – electrolysis. **Industrial & Engineering Chemistry Research**, v. 56, n. 8, p. 1903-1910, 2017.

CHEN, C. et al. Biosorption of cadmium by CO<sub>2</sub>-fixing microalga *Scenedesmus obliquus* CNW-N. **Bioresource Technology**, n. 105, p. 74-80, 2012.

CHEN, B. et al. Fixed-bed biosorption of cadmium using immobilized *Scenedesmus obliquus* CNW-N cells on loofa (*Luffa cylindrica*) sponge. **Bioresource Technology**, n. 160, p. 175–181, 2014.

CIRAK, C.; SERT, Y.; UCUN, F. Effect of intermolecular hydrogen bonding, vibrational analysis and molecular structure of 4-chlorobenzothioamide. **Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy**, n. 113, p. 130-136, 2013.

CONAB – Companhia Nacional de Abastecimento. **Página principal – Produção de arroz**. 2017. Disponível em: <[www.conab.gov.br](http://www.conab.gov.br)> Acesso em: 24 de abril de 2018.

COVA, D.; MOLINARI, G. P.; ROSSINI, L. Focus on toxicological aspects of pesticide chemical interaction in drinking water contamination. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, n. 20, p. 234-240, 1990.

DAL MAGRO, C. et al. Biossorção passiva de cromo (VI) através da microalga *Spirulina platensis*. **Química Nova**, São Paulo, v. 36, n. 8, 2013.

DEMIRBAS A.; DEMIRBAS M.F. Algae as a new source of biodiesel. **Algae energy**. Springer. 2010. ISBN 978-1-84996-049-6.

DEMOLINER, A. et al. Development and Validation of a Method using SPE and LC-ESI-MS-MS for the Determination of Multiple Classes of Pesticides and Metabolites in Water Samples. **J. Braz. Chem. Soc.**, v. 21, N. 8, p. 1424-1433, 2010.

ENVIRONMENT CANADA. **Canadian Environmental Quality Guidelines**. 2014. Disponível em: <<http://st-ts.ccme.ca/en/index.html>> Acesso em: 21 de abril de 2018.

ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY. **National Primary Drinking Water Regulations**. 2017. Disponível em: <<https://www.epa.gov/ground-water-and-drinking-water/national-primary-drinking-water-regulations>>. Acesso em: 21 abril 2018.

ESCAPA, C. et al. Valorization of microalgae biomass by its use for the removal of paracetamol from contaminated water. **Water**, v. 9, n. 312, p. 1-9, 2017.

EUROPEAN PARLIAMENT AND COUNCIL. **Directive 98/83/EC of the quality of water intended for human consumption**. 03 nov. 1998, Official Journal of the European Union, v. L330, 1998.

EUROPEAN PARLIAMENT AND COUNCIL. **Directive 2000/60/EC of establishing a framework for community action in the field of water policy**. 23 out. 2000, Official Journal of the European Union, v. L327, 2000.

FAGERSTONE, K. D. et al. Quantitative measurement of direct nitrous oxide emissions from microalgae cultivation. **Environmental Science & Technology**, v. 45, n. 21, p. 9449-9456, 2011.

FEDERAL-PROVINCIAL-TERRITORIAL COMITEE ON DRINKING WATER. **Canadian Drinking Water Guidelines**. 2017. Disponível em: <<https://www.canada.ca/en/health-canada/services/environmental-workplace-health/reports-publications/water-quality/guidelines-canadian-drinking-water-quality-summary-table.html>> Acesso em: 21 abril de 2018.

FEIGIN, A.; RAVINA, I.; SHALHEVET, J. **Irrigation with treated effluent: management for environmental protection**. Berlin: Springer, 1991. 224 p.

FENG, Y. et al. Combined technology for clomazone herbicide wastewater treatment: three-dimensional packed-bed electrochemical oxidation and biological contact degradation. **Water Science and Technology**, n. 68, p. 257-260, 2013.

FREITAS, J. S. et al. Combined effects of temperature and clomazone (Gamit®) on oxidative stress responses and B-esterase activity of *Physalaemus nattereri* (Leiuperidae) and *Rhinella schneideri* (Bufonidae) tadpoles. **Chemosphere**, n. 185, p. 548-562, 2017.



GADD, G. M. Biosorption: critical review of scientific rationale, environmental importance and significance for pollution treatment. **Wiley Interscience**, n. 84, p. 13-28, 2009.

GALHANO, V. et al. Impact of Herbicides on Non-Target Organisms in Sustainable Irrigated Rice Production Systems: State of Knowledge and Future Prospects. In.: KORTEKAMP, A. (Ed.). **Herbicides and Environment**. Rijeka, Croacia: InTech, 2011.

GREEN-RUIZ, C. Effect of salinity and temperature on the adsorption of Hg(II) from aqueous solutions by a Ca-montmorillonite. **Environmental Technology**, v. 30, n. 1, p. 63-68, 2009.

HAMILTON, D. J. et al. Regulatory Limits for pesticide residues in water. **Pure Appl. Chem.**, v. 75, n. 8, p. 1123-1155, 2003.

HARAYASHIKI, C. A. Y. et al. Toxic effects of the herbicide Roundup in the guppy *Poecilia vivipara* acclimated to fresh water. **Aquatic Toxicology**, n. 142– 143, p. 176-184, 2013.

HATRÍK, S.; TEKEL, J. Extraction methodology and chromatography for the determination of residual pesticides in water. **Journal of Chromatography A**, n. 733, p. 217-233, 1996.

HESIEH, C.; WU, E. Cultivation of microalgae for oil production with a cultivation strategy of urea limitation. **Bioresource Technology**, v. 100, p. 3921-3926, 2009.

IBAMA – INSTITUTO BRASILEIRO DO MEIO AMBIENTE E DOS RECURSOS NATURAIS RENOVÁVEIS. **Relatórios de comercialização de agrotóxicos**. 2017. Disponível em: <<http://www.ibama.gov.br/agrotoxicos/relatorios-de-comercializacao-de-agrotoxicos#historicodecomercializacao>> Acesso em: 26 de maio de 2018.

IBGE – INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. **Produção Agrícola Municipal**. 2017. Disponível em: <<http://www.sidra.ibge.gov.br/bda/pesquisas/pam/default.asp>> Acesso em: 26 de maio de 2018.

ISHIKI, R. R.; ISHIKI, H. M.; TAKASHIMA, K. Photocatalytic degradation of imazethapyr herbicide at TiO<sub>2</sub>/H<sub>2</sub>O interface. **Chemosphere**, n. 58, p. 1461–1469, 2005.

JEBALI, A. et al. Selection of native Tunisian microalgae for simultaneous wastewater treatment and biofuel production. **Bioresource Technology**. N. 198, p. 424-430, 2015.

JI, X. et al. The effect of NaCl stress on photosynthetic efficiency and lipid production in freshwater microalga—*Scenedesmus obliquus* XJ002. **Science of the Total Environment**, n. 633, p. 593-599, 2018.

KALOUMENOS, N. S. et al. Red rice (*Oryza sativa*) cross-resistance to imidazolinone herbicides used in resistant rice cultivars grown in northern Greece. **Pesticide Biochemistry and Physiology**, n. 105, p. 177-183, 2013.

KAUR, Y. et al. Comparative performance of bare and functionalize ZnO nanoadsorbents for pesticide removal from aqueous solution. **Journal of Molecular Liquids**, n. 234, p. 94-103, 2017.

LEI, Y. et al. Selective decolorization of cationic dyes by peroxymonosulfate: non-radical mechanism and effect of chloride. **RSC Adv.**, n. 6, p. 866-871, 2016.

MA, X. et al. Preparation, Surface and Pore Structure of High Surface Area Activated Carbon Fibers from Bamboo by Steam Activation. **Materials**, n. 7, p. 4431-4441, 2014.

MACBEAN, C. **A World Compendium – The Pesticide Manual**, 17<sup>th</sup> ed. Humpshire – UK: British Crop Production Council, 2012.

MASCAL, M; ARMSTRONG, A; BARTBERGER, M. D. Anion-aromatic bonding: a case for anion recognition by pi-acidic rings. **Journal of the American Chemical Society**, n. 124, p. 6274-6276, 2002.

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**, n. 309, p. 126–132, 2016.

MERVOCH, T. L.; SIMS, G. K.; STOLLERT, E. W. Clomazone fate in soil as affected by microbial activity, temperature, and soil moisture. **Journal of Agricultural Food and Chemistry**, n. 43, p. 537-543, 1995.

MIRON, D. S. et al. Biochemical effects of clomazone herbicide on piava (*Leporinus obtusidens*). **Chemosphere**, n. 74, p. 1 – 5, 2008.

MOLAZADEH, P. et al. Adsorption of lead by microalgae *Chaetoceros* sp. And *Chlorella* sp. from aqueous solution. **Journal of Community Health Research**, n. 4, v. 2, p. 114-127, 2015.

MONTEIRO, C. M. Use of the microalgae *Scenedesmus obliquus* to remove cadmium cations from aqueous solution. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, n. 25, p. 1573-1578, 2009.

MOORE, D. S. **The basic practice of statistics**. 5<sup>th</sup> edition. New York: WH Freeman, 2009.

MORAES, B. S. et al. Toxicological responses of *Cyprinus carpio* after exposure to a commercial herbicide containing imazethapyr and imazapic. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, n. 74, p. 328-335, 2011.

MORAES, M. A. et al. Chitosan and alginate biopolymer membranes for remediation of contaminated water with herbicides. **Journal of Environmental Management**, n. 131, p. 222-227, 2013.

MORRISON, R.; BOYD, R., **Organic Chemistry**. 6 ed. New York: Prentice, 1992. 1360 p.

MÜLLER, T. A.; KOHLER, H. P. E. Chirality of pollutants – effects on metabolism and fate. **Appl. Microbiol. Biotechnology**, v. 64, p. 300-316, 2004.

MYERS, R. H.; MONTGOMERY, D. C. **Response Surface Methodology: Process and Product Optimization Using Design of Experiments**. 2 ed. New York: John Wiley & Sons, 1995. 700 p.

NAJA, G.; VOLESKY, B. **The mechanism of metal cation and anion biosorption**. In: Kotrba P., Mackova M., Macek T. (eds) *Microbial Biosorption of Metals*. Springer, Dordrecht. 2011.

NASCIMENTO, C. A. O. et al. Industrial Wastewater Treatment by Photochemical Processes Based on Solar Energy. **Journal of Solar Energy Engineering**, v. 129, p. 45-52, 2007.

NDIKUBWIMANA, T. et al. Microalgae biomass harvesting by bioflocculation-interpretation by classical DLVO theory. **Biochemical Engineering Journal**, n. 101, p. 160–167, 2015.

NUNES, R. R. et al. Electroflotation applied to the treatment of wastewaters containing chlorimuron-Ethyl, a sulfonyleurea herbicide. **Open Access Library Journal**, v. 2, 2015.

NWANI, C. D. et al. Mutagenic and genotoxic assessment of atrazine-based herbicide to freshwater fish *Channa punctatus* (Bloch) using micronucleus test and single cell electrophoresis. **Environmental Toxicology and Pharmacology**, v. 31, p. 314-322, 2011.

OLIVEIRA, M. F. et al. Sorção do herbicida imazaquin em latossolo sob plantio direto e convencional. **Pesq. Agropec. Brasileira**, v. 39, n. 8, p. 787-793, 2004.

ORELLANA-GARCÍA, F. et al. Photodegradation of herbicides with different chemical natures in aqueous solution by ultraviolet radiation. Effects of operational variables and solution chemistry. **Chemical Engineering Journal**, n. 255, p. 307–315, 2014.

PANDIARAJAN, A. et al. OPAC (Orange Peel Activated Carbon) derived from waste orange peel for the adsorption of Chlorophenoxyacetic Acid herbicides from water: Adsorption isotherm, kinetic modelling and thermodynamic studies. **Bioresource Technology**, (2018), DOI: <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2018.04.005>

PARAGINSKY, R.; et al. Technological properties and cooking of rice grains conditioned at different temperatures before parboiling. **Braz. J. Food Technol.**, n. 17, v. 2, p. 146-153, 2014.

PÉRES, G. L.; VERA, M. S.; MIRANDA, L. Effects of herbicide glyphosate and glyphosate-based formulations on aquatic ecosystems. In.: KORTEKAMP, A. (Ed.). **Herbicides and Environment**. Rijeka, Croacia: InTech, 2011. p. 343-368.

PEREZ-IGLESIAS, J. M. et al. Are the damaging effects induced by the imazethapyr formulation Pivot® H in *Boana pulchella* (Anura) reversible upon ceasing exposure? **Ecotoxicology and Environmental Safety**, n. 148, p. 1-10, 2018

POONIA, T. C.; MATHUKIA, R. K.; KARWASARA, P. K. Residues of pendimethalin, oxyfluorfen, quizalofop-ethyl and imazethapyr in groundnut and their persistence in soil. **Journal of Crop and Weed**, n. 13, v. 2, p. 194-202, 2017

PUCAREVIC, M.; STOJIC, N.; KUZMANOVSKI, I. Removal of pesticides from water using zeolites. **Kuwait J. Science**, v. 44, n. 1., p. 99-105, 2017.

RACHEL, N. Y. et al. Optimization Study of the Removal of Atrazine from Aqueous Solution on to Composite Activated Carbon-Silver Using Response Surface Methodology. **Materials Sciences and Applications**, v. 8, p. 258-272, 2017.

RIO GRANDE DO SUL. Portaria n° 320, de 24 de abril de 2014. **Diário Oficial [do] Estado do Rio Grande do Sul**, Poder Executivo, Porto Alegre, RS, 28 abr. 2014.

RIO GRANDE DO SUL. Resolução do CONSEMA n° 355, de 13 de julho de 2017. **Diário Oficial [do] Estado do Rio Grande do Sul**, Poder Executivo, Porto Alegre, RS, 19 jul. 2017.

RIO GRANDE DO SUL. **Relatório Final** – Levantamento do Uso e da Criticidade dos Agrotóxicos Usados no Estado do Rio Grande do Sul. Porto Alegre, 2010.

ROY, N. M.; CARNEIRO, B.; OCHS, J. Glyphosate induces neurotoxicity in zebrafish. **Environmental Toxicology and Pharmacology**, n. 42, p. 45–54, 2016.

RUBÍ-JUAREZ, H. et al. Removal of herbicide glyphosate by conductive-diamond electrochemical oxidation. **Applied Catalysis B: Environmental**, n. 188, p. 305–312, 2016.

RYSGAARD, S. et al. Effects of salinity on  $\text{NH}_4^+$  adsorption capacity, nitrification, and denitrification in Danish Estuarine Sediments. **Estuaries**, v. 22, n. 1, p. 21-30, 1999.

SAAVEDRA, R. et al. Comparative uptake study of arsenic, boron, copper, manganese and zinc from water by different green microalgae. **Bioresource Technology**, v. 263, p. 49-57, 2018.

SANTOS, F. M. et al. Persistência dos herbicidas imazethapyr e clomazone em lâmina de água do arroz irrigado. **Planta Daninha**, n. 4, v. 26, p. 875-881, 2008.

SANTOS, E. A. et al. Resíduos de Herbicidas em corpos hídricos – uma revisão. **Revista Brasileira de Herbicidas**, n. 2, v. 12, p. 188-201, 2013.

SCAGLIONE, P. T.; FURLONG, E. B. Rice husk as an adsorbent: A new analytical approach to determine aflatoxins in milk. **Talanta**, n. 152, p. 423-431, 2016.

SCHOTTEL, B. L.; CHIFOTIDES, H. T.; DUNBAR, K. R. Anion- $\pi$  interactions. **Chemical Society Reviews**, n. 37, p. 68-83, 2008.

SENESI, N. Binding mechanisms of pesticides to soil humic substances. **The Science of Total Environment**, n. 123/124, p. 63-76, 1992.

SHANG, H. et al. Preparing high surface area porous carbon from biomass by carbonization in a molten salt medium. **RSC Adv.**, n. 5, p. 75728-75734, 2015.

SHIKUKU, V. O. et al. A Comparison of Adsorption Equilibrium, Kinetics and Thermodynamics of Aqueous Phase Clomazone between Faujasite X and a Natural Zeolite from Kenya. **S. Afr. J. Chem.**, n. 68, p. 245–252, 2015,

SOSBAI – Sociedade Sul-Brasileira de Arroz Irrigado. **Arroz Irrigado: recomendações técnicas de pesquisa para o sul do Brasil**. Porto Alegre: Ed. Palloti, 2014. 192 p.

SOSINSKI, L. T. W. **Caracterização da Bacia Hidrográfica Mirim - São Gonçalo e o uso dos recursos naturais**. Pelotas: Embrapa Clima Temperado, 2009.

STATHIS, I. et al. Novel imazethapyr detoxification applying advanced oxidation process. **Journal of Environmental Science and Health**, v. 46, p. 449-453, 2011.

STREAT, M; HORNER, D. J. Adsorption of highly soluble herbicides from water using activated carbon and hypercrosslinked polymers. **Trans IChemE**, v. 78, p. 363-382, 2000.

TAZI, R. et al. Interactions of the Aminotriazole and Imazethapyr Herbicides with Humic Acid Extracted from Moroccan Soil. **Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences**, v. 6, n. 5, p. 227-234, 2015.

UMBUZEIRO, G. A. **Guia de Potabilidade para Substâncias Químicas**. 1. Ed. São Paulo: Editora Limiar, 2012.

UMMALYMA, S. B. et al. Bioflocculation: An alternative strategy for harvesting of microalgae – An overview. **Bioresource Technology**, n. 242, p. 227-235, 2017.

VENDRUSCOLO, F. et al. Biosorption of hexavalent chromium by microorganisms. **International Biodeterioration & Biodegradation**, p. 1 – 9, 2016.

VINHAL, J. O. et al. Adsorption of the herbicides diquat and difenzoquat on polyurethane foam: Kinetic, equilibrium and computational studies. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, n. 145, p. 597-604, 2017.

WANG, X. et al. Biomass, total lipid production, and fatty acid composition of the marine diatom *Chaetoceros muelleri* in response to different CO<sub>2</sub> levels. **Bioresource Technology**, n. 161, p. 124-130, 2014.

WANG, Y. et al. Perspectives on the feasibility of using microalgae for industrial wastewater treatment. **Bioresource Technology**, n. 222, p. 485–497, 2016.

WANG, J. et al. Preparation of a magnetic porous organic polymer for the efficient extraction of phenylurea herbicides. **Journal of Chromatography A**, v. 1519, p. 19-27, 2017.

WORLD HEALTH ORGANIZATION – WHO. **The WHO Recommended Classification of Pesticides by Hazard and Guidelines to Classification**. WHO Press, 2010. Disponível em: <[http://www.who.int/ipcs/publications/pesticides\\_hazard\\_2009.pdf](http://www.who.int/ipcs/publications/pesticides_hazard_2009.pdf)> Acesso em: 06 fev. 2017.

XIONG, J. Q. et al. Biodegradation and metabolic fate of levofloxacin via a freshwater green alga, *Scenedesmus obliquus* in synthetic saline wastewater. **Algal Research**, n. 25, p. 54-61, 2017.

YAVARI, S. et al. Sorption-desorption mechanisms of imazapic and imazapyr herbicides on biochars produced from agricultural wastes. **Journal of Environmental Chemical Engineering**, n. 4, p. 3981-3989, 2016.

ZHANG, Y. et al. Breeding of high biomass and lipid producing *Desmodesmus* sp. by Ethylmethane sulfonate-induced mutation. **Bioresource Technology**, n. 207, p. 268-275, 2016.

ZIMDAHL, R. L. **Fundamentals of weed science**. 3<sup>th</sup> ed. San Diego, CA: Academic Press, Inc. 2007. 689 p.

## Apêndices



Apêndice A – Estimativa dos efeitos e coeficientes para o planejamento composto central 2<sup>2</sup> sobre bio sorção de clomazone pela microalga *Chaetoceros muelleri*

	Efeito	Desvio padrão	t(3)	p	- 95% Cnf. Lmt	+ 95% Cnf. Lmt	Coeff.	Desvio padrão	- 95% Cnf. Lmt	+ 95% Cnf. Lmt
Média/Interação	-9,58846	0,821145	-11,6769	0,001349	-12,2017	-6,97521	-9,58846	0,821145	-12,2017	-6,97521
(1) pH (L)	-4,03502	1,163016	-3,4694	0,040363	-7,7363	-0,33379	-2,01751	0,581508	-3,8681	-0,16689
pH (Q)	16,74535	1,303779	12,8437	0,001019	12,5961	20,89455	8,37267	0,651890	6,2981	10,44728
(2) Cloretos (L)	-5,30065	1,163016	-4,5577	0,019800	-9,0019	-1,59942	-2,65033	0,581508	-4,5009	-0,79971
Cloretos (Q)	13,35084	1,303779	10,2401	0,001985	9,2016	17,50005	6,67542	0,651890	4,6008	8,75003
1L e 2L	-0,27369	1,642304	-0,1666	0,878246	-5,5002	4,95286	-0,13684	0,821152	-2,7501	2,47643

Apêndice B – Estimativa dos efeitos e coeficientes para o planejamento composto central 2<sup>2</sup> sobre bio sorção de clomazone pela microalga *Desmodesmus sp.*

	Efeito	Desvio padrão	t(3)	p	- 95% Cnf. Lmt	+ 95% Cnf. Lmt	Coeff.	Desvio padrão	- 95% Cnf. Lmt	+ 95% Cnf. Lmt
Média/interação	11,6033	1,446222	8,02316	0,004043	7,0007	16,20580	11,60327	1,446222	7,0007	16,20580
(1) pH (L)	2,3631	2,048334	1,15369	0,332198	-4,1556	8,88185	1,18157	1,024167	-2,0778	4,44093
pH (Q)	-16,025	2,296251	-6,97888	0,006038	-23,3330	-8,71757	-8,01263	1,148126	-11,6665	-4,35878
(2) Cloretos (L)	-7,5939	2,048334	-3,70736	0,034104	-14,1126	-1,07520	-3,79696	1,024167	-7,0563	-0,53760
Cloretos (Q)	30,6731	2,296251	13,35788	0,000907	23,3654	37,98075	15,33653	1,148126	11,6827	18,99038
1L e 2L	3,3969	2,892470	1,17441	0,324971	-5,8082	12,60207	1,69847	1,446235	-2,9041	6,30103

Apêndice C – Estimativa dos efeitos e coeficientes para o planejamento composto central 2<sup>2</sup> sobre bioissorção de clomazone pela microalga *Scenedesmus obliquus*

	Efeito	Desvio padrão	t(3)	p	- 95% Cnf. Lmt	+ 95% Cnf. Lmt	Coeff.	Desvio padrão	- 95% Cnf. Lmt	+ 95% Cnf. Lmt
Média/interação	11,04253	0,366091	30,1633	0,000080	9,8775	12,20759	11,04253	0,366091	9,87746	12,20759
(1) pH (L)	-3,03267	0,518507	-5,8488	0,009962	-4,6828	-1,38255	-1,51634	0,259254	-2,34140	-0,69127
pH (Q)	-0,86289	0,581264	-1,4845	0,234334	-2,7127	0,98695	-0,43145	0,290632	-1,35637	0,49347
(2) Cloretos (L)	2,50108	0,518507	4,8236	0,016980	0,8510	4,15120	1,25054	0,259254	0,42548	2,07560
Cloretos (Q)	-0,60457	0,581264	-1,0401	0,374752	-2,4544	1,24527	-0,30229	0,290632	-1,22721	0,62264
1L e 2L	-8,26027	0,732189	-11,2816	0,001494	-10,5904	-5,93012	-4,13013	0,366094	-5,29521	-2,96506

Apêndice D – Estimativa dos efeitos e coeficientes para o planejamento composto central 2<sup>2</sup> sobre bioissorção de imazetapir pela microalga *Chaetoceros muelleri*

	Efeito	Desvio padrão	t(3)	p	- 95% Cnf. Lmt	+ 95% Cnf. Lmt	Coeff.	Desvio padrão	- 95% Cnf. Lmt	+ 95% Cnf. Lmt
Média/interação	-28,832	1,068449	-26,9855	0,000112	-32,2329	-25,4323	-28,832	1,068449	-32,2329	-25,4323
(1) pH (L)	-4,1576	1,513281	-2,7474	0,070894	-8,9736	0,6583	-2,0788	0,756640	-4,4868	0,3291
pH (Q)	15,3289	1,696438	9,0359	0,002862	9,9300	20,7277	7,6644	0,848219	4,9650	10,3638
(2) Cloretos (L)	5,5247	1,513281	3,6508	0,035472	0,7088	10,3407	2,7624	0,756640	0,3544	5,1703
Cloretos (Q)	4,0013	1,696438	2,3586	0,099524	-1,3976	9,4001	2,0006	0,848219	-0,6988	4,7000
1L e 2L	-3,8240	2,136916	-1,7895	0,171473	-10,6246	2,9766	-1,9120	1,068458	-5,3123	1,4883

Apêndice E – Estimativa dos efeitos e coeficientes para o planejamento composto central 2<sup>2</sup> sobre bioissorção de imazetapir pela microalga *Desmodesmus sp.*

	Efeito	Desvio padrão	t(3)	p	- 95% Cnf. Lmt	+ 95% Cnf. Lmt	Coeff.	Desvio padrão	- 95% Cnf. Lmt	+ 95% Cnf. Lmt
Média/interação	-12,02	0,448178	-26,8196	0,000114	-13,4462	-10,5936	-12,02	0,448178	-13,4462	-10,5936
(1) pH (L)	0,2716	0,634769	0,4279	0,697601	-1,7485	2,2917	0,1358	0,317385	-0,8743	1,1459
pH (Q)	-5,1574	0,711598	-7,2476	0,005419	-7,4220	-2,8928	-2,5787	0,355799	-3,7110	-1,4464
(2) Cloretos (L)	-0,7551	0,634769	-1,1895	0,319791	-2,7752	1,2650	-0,3775	0,317385	-1,3876	0,6325
Cloretos (Q)	35,7556	0,711598	50,2469	0,000017	33,4909	38,0202	17,8778	0,355799	16,7455	19,0101
1L e 2L	-6,3198	0,896363	-7,0505	0,005864	-9,1724	-3,4672	-3,1599	0,448182	-4,5862	-1,7336

Apêndice F – Estimativa dos efeitos e coeficientes para o planejamento composto central 2<sup>2</sup> sobre bioissorção de imazetapir pela microalga *Scenedesmus obliquus*

	Efeito	Desvio padrão	t(3)	p	- 95 % Cnf. Lmt	+ 95% Cnf. Lmt	Coeff.	Desvio padrão	- 95% Cnf. Lmt	+ 95% Cnf. Lmt
Média/interação	-10,311	1,213044	-8,50034	0,003419	-14,1717	-6,45084	-10,31	1,213044	-14,1717	-6,45084
(1) pH (L)	0,1304	1,718076	0,07588	0,944290	-5,3373	5,59806	0,0652	0,859038	-2,6687	2,79903
pH (Q)	6,0455	1,926021	3,13883	0,051710	-0,0840	12,17492	3,0227	0,963010	-0,0420	6,08746
(2) Cloretos (L)	-1,0479	1,718076	-0,60995	0,584991	-6,5156	4,41974	-0,5240	0,859038	-3,2578	2,20987
Cloretos (Q)	4,1960	1,926021	2,17860	0,117503	-1,9334	10,32549	2,0980	0,963010	-0,9667	5,16275
1L e 2L	14,7033	2,426110	-6,06046	0,009015	-22,4243	-6,98238	-7,3517	1,213055	-11,2122	-3,49119

Apêndice G - ANOVA para o planejamento composto central 2<sup>2</sup> sobre bioissorção de clomazone pela microalga *Chaetoceros muelleri*

	Soma quadrática	Graus de liberdade	Média quadrática	F	p
(1) pH (L)	32,4659	1	32,4659	12,0371	0,040363
pH (Q)	444,9254	1	444,9254	164,9606	0,001019
(2) Cloretos (L)	56,0266	1	56,0266	20,7724	0,019800
Cloretos (Q)	282,8241	1	282,8241	104,8599	0,001985
1L e 2L	0,0749	1	0,0749	0,0278	0,878246
Falta de ajuste	256,8823	3	85,6274	31,7472	0,008976
Erro	8,0915	3	2,6972		
Total da soma quadrática	965,2094	11			

Apêndice H - ANOVA para o planejamento composto central 2<sup>2</sup> sobre bioissorção de clomazone pela microalga *Desmodesmus sp.*

	Soma quadrática	Graus de liberdade	Média quadrática	F	p
(1) pH (L)	11,136	1	11,136	1,3310	0,332198
pH (Q)	407,483	1	407,483	48,7048	0,006038
(2) Cloretos (L)	114,992	1	114,992	13,7445	0,034104
Cloretos (Q)	1492,839	1	1492,839	178,4331	0,000907
1L e 2L	11,539	1	11,539	1,3792	0,324971
Falta de ajuste	1535,775	3	511,925	61,1884	0,003445
Erro	25,099	3	8,366		
Total da soma quadrática	3995,594	11			

Apêndice I - ANOVA para o planejamento composto central 2<sup>2</sup> sobre bioissorção de clomazone pela microalga *Scenedesmus obliquus*

	Soma quadrática	Graus de liberdade	Média quadrática	F	p
(1) pH (L)	18,3395	1	18,33947	34,2090	0,009962
pH (Q)	1,1814	1	1,18145	2,2038	0,234334
(2) Cloretos (L)	12,4735	1	12,47355	23,2672	0,016980
Cloretos (Q)	0,5800	1	0,57995	1,0818	0,374752
1L e 2L	68,2320	1	68,23205	127,2748	0,001494
Falta de ajuste	80,7525	3	26,91751	50,2098	0,004605
Erro	1,6083	3	0,53610		
Total da soma quadrática	182,8990	11			

Apêndice J - ANOVA para o planejamento composto central 2<sup>2</sup> sobre bioissorção de imazetapir pela microalga *Chaetoceros muelleri*

	Soma quadrática	Graus de liberdade	Média quadrática	F	p
(1) pH (L)	34,4691	1	34,4691	7,54841	0,070894
pH (Q)	372,8368	1	372,8368	81,64768	0,002862
(2) Cloretos (L)	60,8640	1	60,8640	13,32862	0,035472
Cloretos (Q)	25,4034	1	25,4034	5,56309	0,099524
1L e 2L	14,6232	1	14,6232	3,20234	0,171473
Falta de ajuste	138,4138	3	46,1379	10,10377	0,044622
Erro	13,6992	3	4,5664		
Total da soma quadrática	636,4906	11			

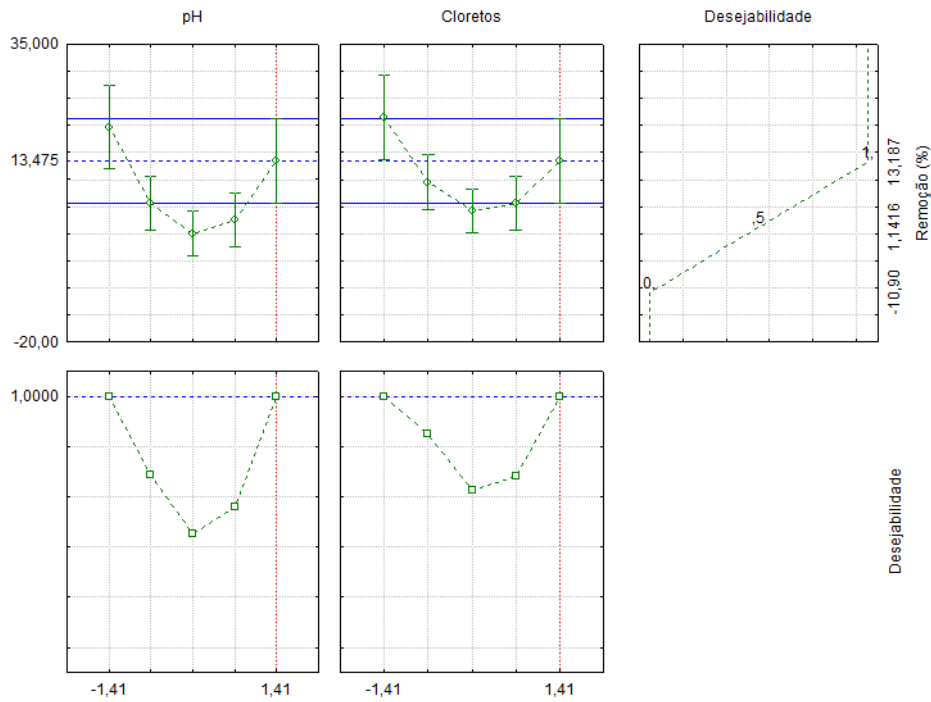
Apêndice K - ANOVA para o planejamento composto central 2<sup>2</sup> sobre bioissorção de imazetapir pela microalga *Desmodesmus sp.*

	Soma quadrática	Graus de liberdade	Média quadrática	F	p
(1) pH (L)	0,147	1	0,147	0,183	0,697601
pH (Q)	42,205	1	42,205	52,528	0,005419
(2) Cloretos (L)	1,137	1	1,137	1,415	0,319791
Cloretos (Q)	2028,552	1	2028,552	2524,749	0,000017
1L e 2L	39,940	1	39,940	49,709	0,005864
Falta de ajuste	655,655	3	218,552	272,011	0,000376
Erro	2,410	3	0,803		
Total da soma quadrática	2973,773	11			

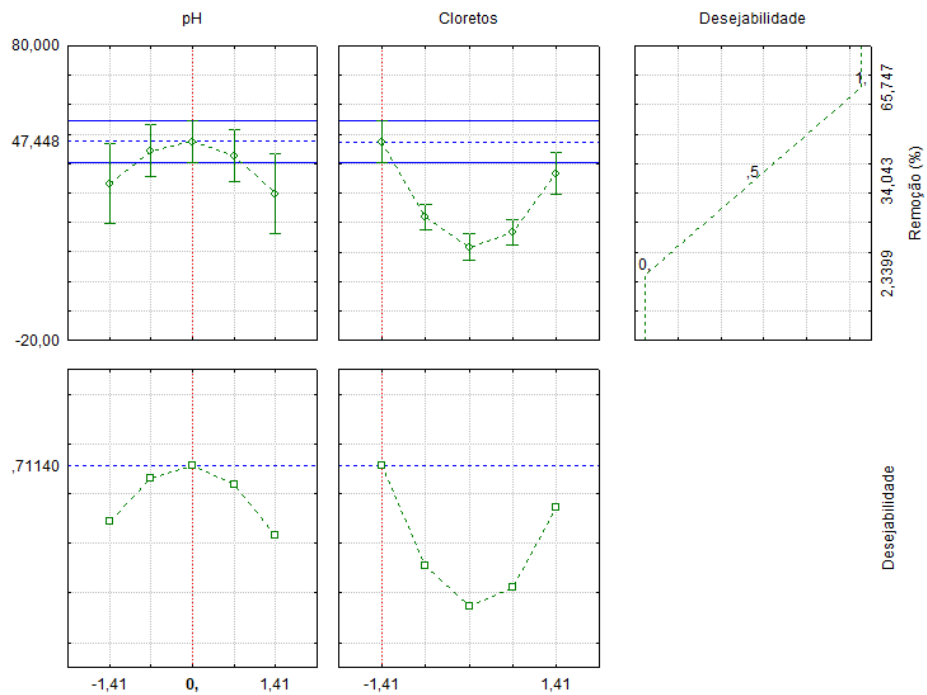
Apêndice L - ANOVA para o planejamento composto central 2<sup>2</sup> sobre bioissorção de imazetapir pela microalga *Scenedesmus obliquus*

	Soma quadrática	Graus de liberdade	Média quadrática	F	p
(1) pH (L)	0,0339	1	0,0339	0,00576	0,944290
pH (Q)	57,9906	1	57,9906	9,85228	0,051710
(2) Cloretos (L)	2,1898	1	2,1898	0,37204	0,584991
Cloretos (Q)	27,9368	1	27,9368	4,74631	0,117503
1L e 2L	216,1883	1	216,1883	36,72918	0,009015
Falta de ajuste	48,5982	3	16,1994	2,75219	0,213902
Erro	17,6580	3	5,8860		
Total da soma quadrática	357,5600	11			

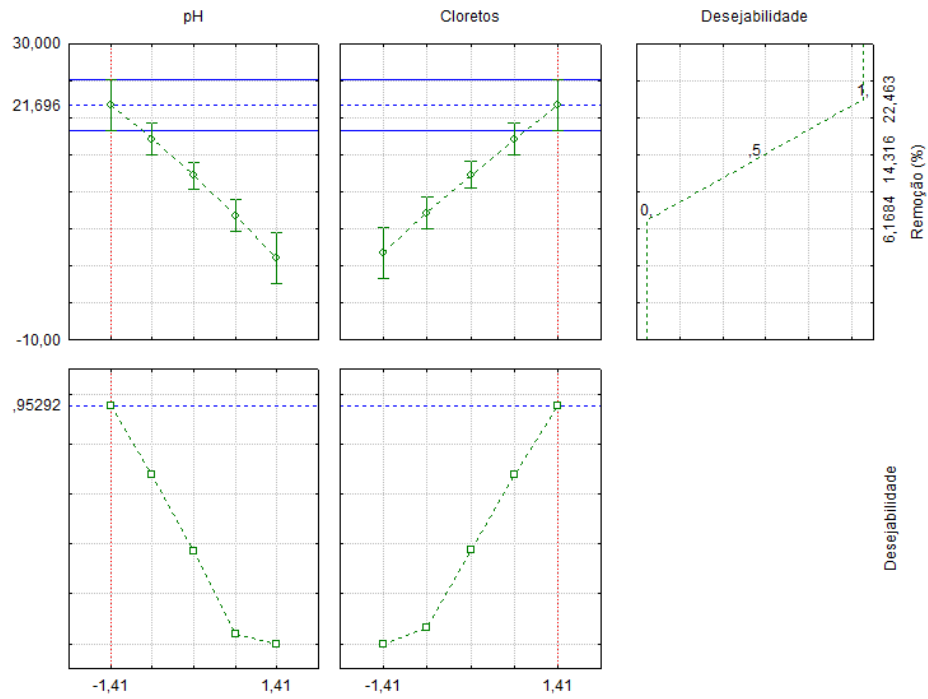
Apêndice M - Perfil dos valores previstos e da desejabilidade para a biossorção de clomazone pela microalga *Chaetoceros muelleri*



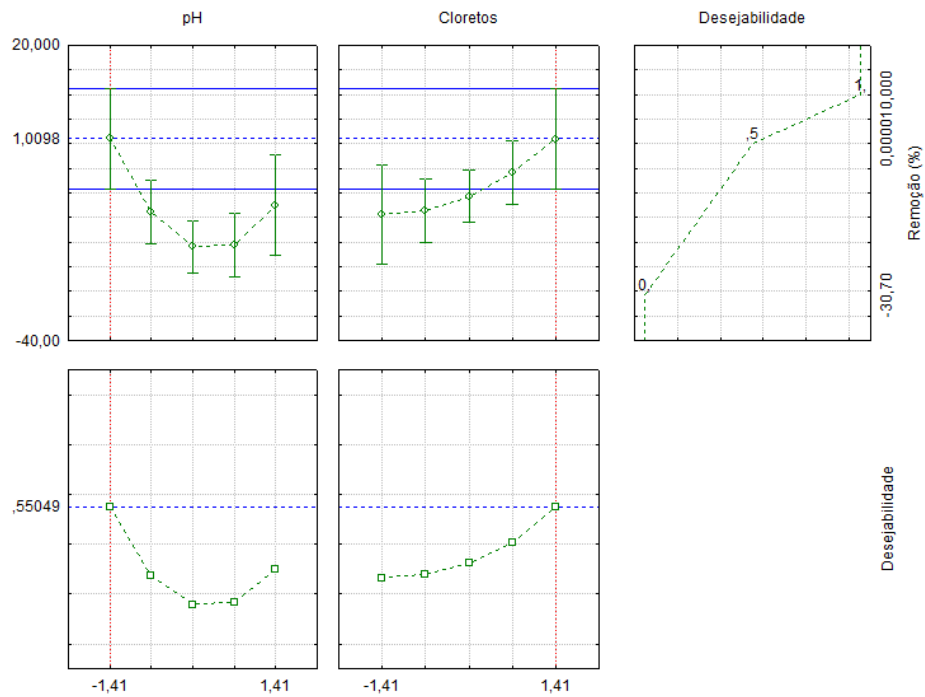
Apêndice N - Perfil dos valores previstos e da desejabilidade para a biossorção de clomazone pela microalga *Desmodesmus sp.*



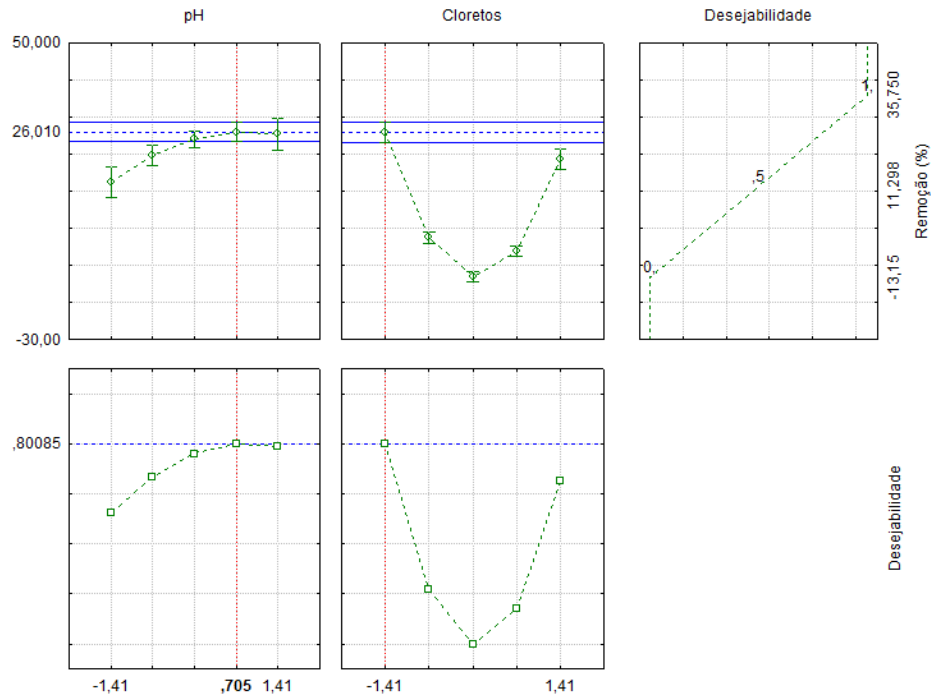
Apêndice O - Perfil dos valores previstos e da deseabilidade para a biossorção de clomazone pela microalga *Scenedesmus obliquus*



Apêndice P - Perfil dos valores previstos e da deseabilidade para a biossorção de imazetapir pela microalga *Chaetoceros muelleri*



Apêndice Q - Perfil dos valores previstos e da desejabilidade para a biossorção de imazetapir pela microalga *Desmodesmus sp.*



Apêndice R - Perfil dos valores previstos e da desejabilidade para a biossorção de imazetapir pela microalga *Scenedesmus obliquus*

