

BIOCHAR DE PALHA DE CAFÉ (350 °C) MITIGA A CITOTÓXICIDADE DA ATRAZINA NO SOLO

Maria Nilza Corrêa Martins, Augusto César Santos Oliveira, Elias Terra Werner, Renato Ribeiro Passos, Tatiana da Silva Souza.

Universidade Federal do Espírito Santo, Alto Universitário, S/N, Guararema, 29500-000, Alegre-ES, Brasil, maria.n.martins@edu.ufes.br, augusto.acso@gmail.com, elias.werner@ufes.br, renato.passos@ufes.br, tatiana.s.souza@ufes.br

Resumo

O biochar tem se destacado como alternativa sustentável para a adsorção de poluentes. O objetivo do estudo foi avaliar o potencial do biochar de palha de café produzido a 350°C para reduzir os efeitos citotóxicos de um solo contaminado com o herbicida atrazina, em condições de laboratório. O biochar foi testado a 5%, 10% e 15%. Os parâmetros analisados foram o índice mitótico, a frequência de anormalidades cromossômicas e a integridade da membrana de raízes de *Allium cepa*. O solo contaminado com atrazina aumentou a frequência de alterações cromossômicas e desestruturou a membrana plasmática, comprometendo a viabilidade celular. Já os tratamentos contendo biochar reduziram esses danos a níveis próximos ao controle. Concluímos que o biochar de palha de café a 350°C é promissor para reduzir a toxicidade de herbicidas, como a atrazina, e protegendo organismos expostos.

Palavras-chave: Herbicida. Remediação. Biocarvão. Aberrações cromossômicas. Viabilidade celular.

Área do Conhecimento: Ciências Biológicas (Biologia Geral)

Introdução

O biochar é um material sólido obtido pela pirólise de biomassa em condições de baixa disponibilidade de oxigênio, apresentando propriedades químicas e estruturais que variam conforme a temperatura de produção (Passos *et al.*, 2016). Entre as matérias-primas utilizadas, a palha de café se destaca por ser abundante e conferir características promissoras para uso ambiental.

O biochar tem sido considerado uma alternativa sustentável para a remediação de poluentes orgânicos, atuando como adsorvente em solos e ambientes aquáticos (Rostami *et al.*, 2021). A eficiência do biochar depende da temperatura de pirólise, que modifica sua porosidade, área superficial e teor de carbono, favorecendo a imobilização de compostos tóxicos, como herbicidas (Chang *et al.*, 2022; Ogura *et al.*, 2021).

A atrazina, amplamente utilizada na agricultura, é reconhecida por seus efeitos adversos em organismos não-alvo. A espécie *Allium cepa* destaca-se como bioindicador ambiental por permitir a detecção de compostos com efeitos citotóxicos, genotóxicos e mutagênicos (Rank; Nielsen, 1994; Camilo-Cotrim *et al.*, 2022). Neste contexto, o objetivo deste estudo foi avaliar a capacidade do biochar de palha de café, pirolizado a 350 °C, de mitigar os efeitos citotóxicos da atrazina em solo, por meio da análise do índice mitótico, das anormalidades cromossômicas e da viabilidade celular.

Metodologia

O biochar utilizado neste estudo foi produzido a partir de palha de café por pirólise lenta a 350°C, em reator metálico hermeticamente fechado (SPPT-V60) adquirido juntamente ao Laboratório de Física do Solo do Centro de Ciências Exatas e Engenharias (CCAEE) da Universidade Federal do Espírito Santo (UFES). Após o processamento, a amostra passou por maceração e peneiramento em malha de 0,5mm. A análise da morfologia e da composição elementar do biocarvão foi realizada por meio de Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV), Espectroscopia de Energia Dispersiva (EDS) e

A Ciência do NANO e seu impacto transformador no MACRO

análise de área e porosidade por fissorção de N₂ (parâmetro área superficial BET (Brunauer, Emmett e Teller).

O solo utilizado na análise foi um Latossolo Vermelho-Amarelo do horizonte A, coletado a uma profundidade de 0–20 cm em local sem histórico de aplicação de defensivos agrícolas. Após a coleta, o solo foi homogeneizado, peneirado em malha de 2 mm e armazenado em temperatura ambiente. A caracterização físico-química do solo foi realizada no Laboratório de Análise de Solos da UFES. A CRA do solo foi calculada e ajustada para 60%, conforme o método descrito por Niva e Brown (2019). Brevemente, 5 g de solo foram saturados com água, drenados e posteriormente secos a 105°C por 24 horas. Com base nesses dados, aplicou-se a seguinte fórmula:

$$CRA (\%) = \frac{\text{peso úmido} - \text{peso seco}}{\text{peso seco}} \times 100$$

O herbicida utilizado foi o Herbitrin 500 BR (ADAMA), contendo 500 g/L (50,0% m/v) de atrazina (6-cloro-N²-etil-N⁴-isopropil-1,3,5-triazina-2,4-diamina) e 598,8 g/L (59,8% m/v) de outros ingredientes. A concentração aplicada no solo foi de 16 mg/kg de atrazina, de modo a simular um cenário crítico de contaminação.

Para a avaliação dos efeitos citogenotóxicos, 40 g de solo controle (S) ou tratado foram distribuídos em placas de Petri. Os tratamentos constituíram em: a) solo contaminado com atrazina (SA); b) solo com biochar a 5%, 10% ou 15% (SB5, SB10 e SB15, respectivamente) e c) solo contaminado com atrazina e biochar a 5%, 10% ou 15% (SAB5, SAB10 e SAB15, respectivamente). O ensaio foi montado em triplicata. Após 96 h de exposição, as radículas, com cerca de 15 mm, foram coletadas, fixadas em etanol e ácido acético (3:1, v/v) e armazenadas em refrigerador. Para a confecção das lâminas, as raízes foram submetidas à hidrólise em HCl 5N por 20 minutos à temperatura ambiente, a região meristemática foi seccionada, corada comorceína acética a 2% por 10 minutos, coberta com lamínula e macerada. Foram analisadas 10 lâminas por tratamento (500 células/lâmina) em microscópio óptico (400x). Os parâmetros avaliados incluíram o índice mitótico – parâmetro de citotoxicidade (IM) e a indução de anormalidades mitóticas e cromossômicas (CA) – parâmetro de genotoxicidade, calculados de acordo com as fórmulas:

$$IM (\%) = \frac{\text{número de células em divisão}}{\text{total de células observadas}} \times 100$$

$$CA (\%) = \frac{\text{número de células com anormalidades mitóticas e cromossômicas}}{\text{total de células observadas}} \times 100$$

Para o ensaio de viabilidade celular, as raízes de *A. cepa* foram coradas com uma solução aquosa de azul de Evans (0,25% p/v) por 15 min e posteriormente lavadas com água destilada até a retirada do excesso do corante. A seguir, 5 raízes (1 cm) foram suspensas em 4 ml de N,N-dimetilformamida por 2h à temperatura ambiente e centrifugadas por 3 min a 3000 rpm para a extração do corante das células. A absorbância do extrato foi quantificada a partir da leitura por espectrofotometria (IL-226-nm Kazuaki) a 600 nm. Quanto maior a densidade óptica, maior quantidade de corante extraído das raízes e, portanto, maior o dano (Ghosh *et al.*, 2015).

Os dados que apresentaram distribuição normal pelo teste de normalidade de Shapiro-Wilk foram analisados mediante ANOVA com posterior teste de Tukey (p<0.05). Os dados que não apresentaram normalidade foram analisados pelo teste de Kruskal-Wallis seguido pelo teste de Dunn (p<0,05). O *software* utilizado para a análise estatística e elaboração das figuras foi o *GraphPad Prism* versão 10.5.0.

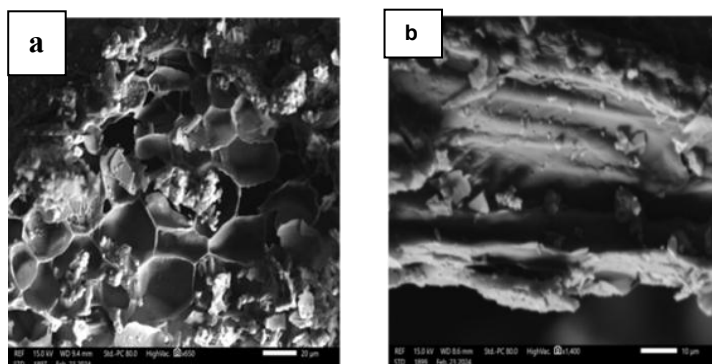
Resultados

Os resultados da análise do solo indicaram uma classificação textural média, com uma combinação equilibrada de areia, silte e argila, proporcionando boa capacidade de retenção de água e nutrientes, além de adequada drenagem. A caracterização química revelou que o solo é levemente ácido (pH 5.46), condição considerada ideal para a maioria das culturas. A matéria orgânica (MO) apresentou um valor de 26,89 g/kg.

A Ciência do NANO e seu impacto transformador no MACRO

A análise do MEV mostrou que o biochar exibiu estruturas porosas e irregulares, com superfícies caracterizadas por fissuras e paredes celulares preservadas, indicando degradação térmica parcial dos componentes orgânicos, como celulose e hemicelulose, e retenção de voláteis (Figura 1a e 1b).

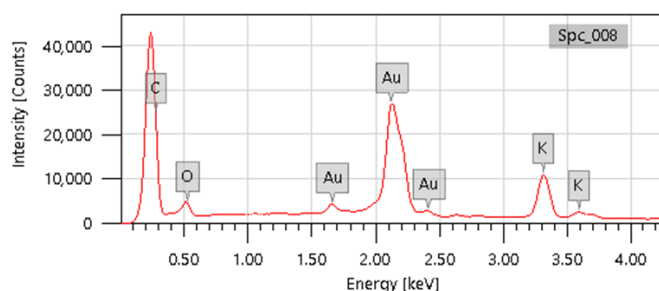
Figura 1. Micrografias por técnica MEV aplicado no biochar em temperatura de 350°C (A e B).



Fonte: Elaborada pelos autores (2025)

O espectro EDS do biochar mostra predominância de carbono e oxigênio, indicando uma matriz carbonosa ainda rica em grupos oxigenados, típica de biochars de baixa temperatura. Aparecem também picos de potássio, provenientes da fração mineral/cinzas do resíduo vegetal, o que sugere caráter mais alcalino e presença de sítios inorgânicos. Picos rotulados como Au não pertencem à amostra; derivam do revestimento de ouro usado para condução no MEV. De acordo a análise de área e porosidade por fissorção de N₂ (parâmetro área superficial BET) o biochar apresentou as características de área superficial BET 2,12 m² g⁻¹ e volume total de poros 0,0059 cm³ g⁻¹, os dados caracterizam um material predominantemente mesoporoso.

Figura 2. Espectro EDS do biochar em temperatura de 350°C.

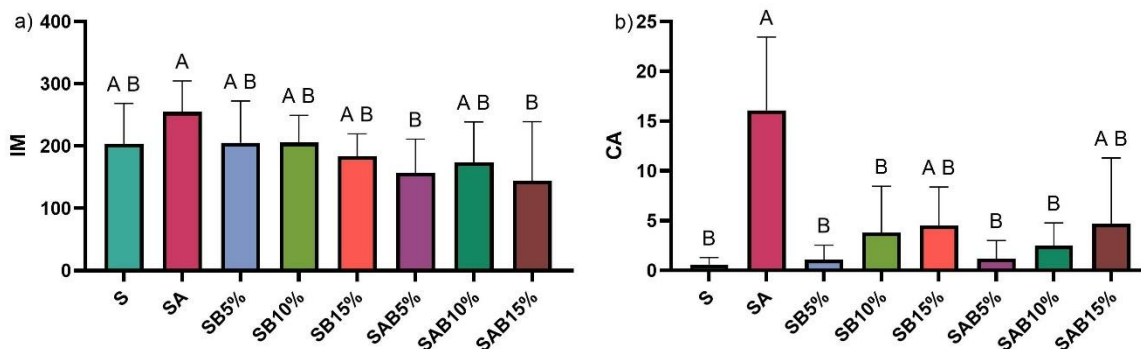


Fonte: Elaborada pelos autores (2025)

O resultado obtido para o índice mitótico (IM) é apresentado na Figura 3^a. Nenhum tratamento diferiu significativamente do controle. A análise das anormalidades cromossômicas é apresentada na Figura 3^b. SA aumentou a frequência de alterações cromossômicas em comparação com o solo controle (S). Para os demais tratamentos, a frequência de alterações induzidas não diferiu de S. SAB5 e SAB10 reduziram a frequência de anormalidades em relação à atrazina, retornando a níveis próximos ao controle. A média de anormalidades induzidas por SAB15 ficou próxima de S, mas, devido à alta variabilidade, foi estatisticamente indistinguível também de SA. Imagens das principais alterações observadas são apresentadas na Figura 4.

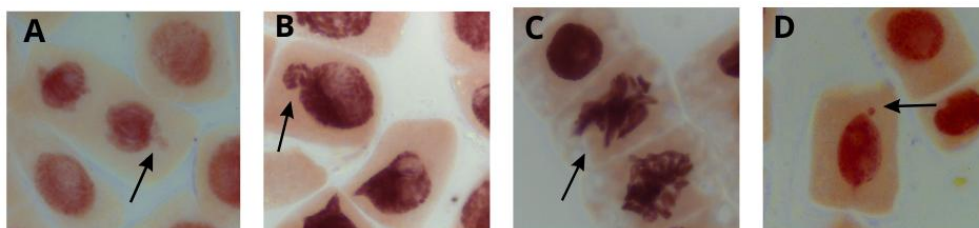
Figura 3. Efeito do biochar na citogenotoxicidade de solo contaminado com atrazina. a) Índice mitótico. b) Frequência de anormalidades cromossômicas. Os dados são expressos como médias $\pm$ DP. Letras diferentes diferem estatisticamente entre si ($p < 0,05$)

A Ciência do NANO e seu impacto transformador no MACRO



Fonte: Elaborado pelos autores (2025)

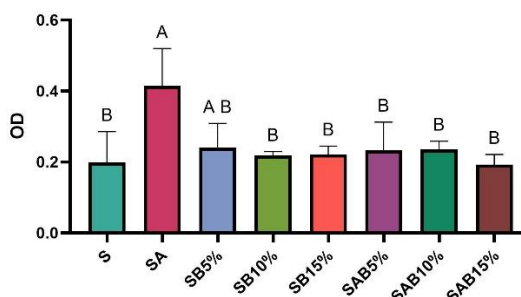
Figura 4. Principais alterações induzidas em *A. cepa* após exposição a solo contaminado com atrazina. A) Cromossomos Vagantes. B) Broto Nuclear. C) Aderência Cromossômica. D) Micronúcleo.



Fonte: Elaborado pelos autores (2025).

SA também reduziu a viabilidade celular em relação a S enquanto para os demais tratamentos foram reportados valores estatisticamente iguais ao controle.

Figura 5. Viabilidade celular corante azul de Evans



Fonte: Elaborado pelos autores (2025).

Discussão

A capacidade de adsorção da atrazina é dependente principalmente do pH e do teor de matéria orgânica do solo. Solos mais ácidos e com maior conteúdo de matéria orgânica tendem a adsorver mais atrazina (Roman *et al.* 2005). O solo analisado apresentou pH 5.46 (acidez média) e

A Ciência do NANO e seu impacto transformador no MACRO

moderada quantidade de matéria orgânica (26.89 g/kg) (Prezotti e Guarçoni 2013), indicando moderada a baixa capacidade de sorção da atrazina, o que tende a favorecer a biodisponibilidade desse herbicida e, consequentemente, aumentar sua capacidade de causar efeitos adversos à biota.

De fato, o solo contaminado com atrazina (SA) aumentou a frequência de anormalidades cromossômicas nas células do meristema radicular de *A. cepa*. Esses resultados estão em consonância com outros estudos que demonstraram o potencial genotóxico da atrazina em plantas (Souza *et al.* 2023; Bibi *et al.*, 2019).

SA também reduziu a viabilidade das células radiculares. O corante azul de Evans só é capaz de atravessar membranas estruturalmente danificadas. A perda da integridade da membrana indica morte celular (Ghosh *et al.*, 2015). Esses resultados corroboram os achados de Bibi *et al.* (2019). Após exposição à atrazina, os autores reportaram danos à membrana de células radiculares e foliares de *Zea mays* e redução da viabilidade celular devido a peroxidação lipídica.

O biochar tem se destacado como alternativa econômica e ambientalmente eficaz para a remediação da contaminação por poluentes orgânicos, devido suas propriedades estruturais e adsorventes, fortemente influenciadas pela temperatura de pirólise (Lima *et al.*, 2022). Nos tratamentos com biochar de palha de café a 350 °C observou-se redução da genotoxicidade induzida pela atrazina, com frequências de anomalias cromossômicas próximas às do solo controle. Resultado similar foi obtido para o ensaio de viabilidade celular. Esse efeito é coerente com as características do biochar. A predominância de mesoporos favorece acessibilidade e difusão da atrazina a sítios ativos (Sbizarro *et al.*, 2021). Um elevado conteúdo de carbono (C) e oxigênio (O) nas cinzas é um indicador de matéria orgânica que sofreu decomposição e oxidação, resultando na formação de grupos funcionais polares (como carboxilas e hidroxilas) e estruturas aromáticas, que, em conjunto, criam afinidade por moléculas orgânicas como a atrazina. Esses fatores, resultam em menor fração dissolvida/biodisponível de atrazina no poro do solo. Em consequência, tem-se a redução da dose interna efetiva em *A. cepa* e, portanto, a redução da frequência de danos citogenotóxicos observada nos bioensaios.

Conclusão

Os resultados indicam que o biochar de palha de café produzido a 350°C apresentou estrutura porosa e composição química adequada para adsorção da atrazina no solo, resultando na redução dos danos citotóxicos e genotóxicos.

Referências

BANSAL, R. C.; GOYAL, M.. **Activated carbon adsorption**. CRC press, 2005.

BIBI, S.; KHAN, S.; TAIMUR, N.; DAUD, M. K.; AZIZULLAH, A. **Responses of morphological, physiological, and biochemical characteristics of maize (*Zea mays* L.) seedlings to atrazine stress**. *Environmental Monitoring and Assessment*, v. 191, n. 717, 2019. DOI: 10.1007/s10661-019-7867-4.

CAMILO-COTRIM, C. F.; BAILÃO, E. F. L. C.; ONDEI, L. S.; CARNEIRO, F. M.; ALMEIDA, L. M. What can the *Allium cepa* test say about pesticide safety? A review. **Environmental Science and Pollution Research International**, v. 29, n. 32, p. 48088–48104, 2022. DOI: <https://doi.org/10.1007/s11356-022-20695-z>.

CHANG, J., et al. Toxicological effects, environmental behaviors and remediation technologies of herbicide atrazine in soil and sediment: A comprehensive review. **Chemosphere**, v. 307, part 3, p. 136006, 2022. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2022.136006>.

GOUJON, E.; STA, C.; TRIVELLA, A.; GOUPIL, P.; RICHARD, C.; LEDOIGT, G. Genotoxicity of sulcotrione pesticide and photoproducts on *Allium cepa* root meristem. **Pesticide Biochemistry and Physiology**, vol. 113, no. 1, p. 47–54, Jul. 2014. DOI: 10.1016/j.pestbp.2014.06.002.

LI, Y.; SHEN, F.; GUO, H.; WANG, Z.; YANG, G.; WANG, L.; ZHANG, Y.; ZENG, Y.; DENG, S. *Phytotoxicity assessment on corn stover biochar, derived from fast pyrolysis, based on seed germination, early growth, and potential plant cell damage*. **Environmental Science and Pollution Research**, 2015. DOI: 10.1007/s11356-015-4115-5

A Ciência do NANO e seu impacto transformador no MACRO

Lima JZ, Ogura AP, da Silva LCM, Nauerth IMR, Rodrigues VGS, Espíndola ELG, Pelinsom JP Marques (2022) Biochar-pesticides interactions: An overview and applications of wood feedstock for atrazine contamination. **Journal of Environmental Chemical Engineering** 10(5): 108192. <https://doi.org/10.1016/j.jece.2022.108192>.

NIVA, C.C; BROWN, G.G. **Ecotoxicologia Terrestre Métodos e aplicações dos ensaios com oligoquetas**. Brasília, DF: Embrapa, 2019.

OGURA, A. P. et al. A review of pesticides sorption in biochar from maize, rice, and wheat residues: Current status and challenges for soil application. **Journal of Environmental Management**, v. 300, p. 113753, 2021.

PASSOS, R. R.; SILVA, R. W.; BARBOSA, C. F.; MENDONÇA, E. S.; RANGEL, O. J. P. Resíduos potenciais para a produção de biocarvão. In: FERREIRA, A.; LOPES, J. C.; FERREIRA, M. F. S.; SOARES, T. C. V. **Tópicos Especiais em Produção Vegetal VI**. 1. ed., Alegre, ES : CAUFES, Cap. 25, p. 530-553, 2016.

PREZOTTI, L. C.; GUARÇONI, A. M. **Guia de interpretação de análise de solo e foliar**. Vitória, ES: Incaper, 2013. 104 p.

RANK, J.; NIELSEN, M.H. Evaluation of the Allium anaphase-telo phase test in relation to genotoxicity screening of industrial wastewater. **Mutat Res/Environ Mutagen Relat Sub**, v. 754, p. 17–24, 1994. DOI: 10.1016/0165-1161(94)90004-3.

ROMAN, E. S.; VARGAS, L.; RIZZARDI, M. A.; HALL, L.; BECKIE, H.; WOLF, T. M. **Como funcionam os herbicidas: da biologia à aplicação**. Passo Fundo: Gráfica Editora Berthier, 2005.

ROSTAMI, S., et al.. Current methods and technologies for degradation of atrazine in contaminated soil and water: A review. **Environmental Technology & Innovation**, 24, 102019. DOI: 10.1016/j.eti.2021.102019.

SBIZZARO, M.; SAMPAIO, S. C.; DOS REIS, R. R.; DE ASSIS BERALDI, F.; ROSA, D. M.; DE FREITAS MAIA, C. M. B.; BORBA, C. E. Effect of production temperature in biochar properties from bamboo culm and its influences on atrazine adsorption from aqueous systems. **Journal of Molecular Liquids**, v. 343, p. 117667, 2021.

SOUZA, V. V. de; SOUZA, T. da S.; CAMPOS, J. M. S. de; OLIVEIRA, L. A. de; RIBEIRO, Y. M.; HOYOS, D. C. de M.; XAVIER, R. M. P.; CHARLIE-SILVA, I.; LACERDA, S. M. dos S. N. Ecogenotoxicity of environmentally relevant atrazine concentrations: A threat to aquatic bioindicators. **Pesticide Biochemistry and Physiology**, v. 189, 105297, 2023. DOI: 10.1016/j.pestbp.2022.105297.

Agradecimentos

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