

VI-077 - AVALIAÇÃO DO POTENCIAL DE ATENUAÇÃO NATURAL DE SOLOS CONTAMINADOS COM BENZENO, TOLUENO E XILENO (BTX)

Patrícia Procópio Pontes⁽¹⁾

Engenheira Química pela Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG). Mestre e Doutora em Saneamento, Meio Ambiente e Recursos Hídricos pela UFMG. Professora do Departamento de Química do Centro Federal de Educação Tecnológica de Minas Gerais (CEFET-MG).

Mariana Diniz Viana

Graduanda em Química Tecnológica pelo Centro Federal de Educação Tecnológica de Minas Gerais (CEFET-MG). Bolsista de Iniciação Científica da FAPEMIG.

Juliana Calábria de Araújo

Bacharel em Ciências Biológicas pela Universidade Federal do Rio de Janeiro (UFRJ). Mestre e Doutora em Engenharia Hidráulica e Saneamento pela Universidade de São Paulo (USP). Professora do Departamento de Engenharia Sanitária e Ambiental da UFMG

Carlos Augusto de Lemos Chernicharo

Engenheiro Civil e Sanitarista pela Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG). Doutor em Engenharia Ambiental pela Universidade de Newcastle upon Tyne –UK. Professor Associado do Departamento de Engenharia Sanitária e Ambiental da UFMG.

Endereço⁽¹⁾: Av. Amazonas, 5253 – Nova Suiça – Belo Horizonte – MG – CEP 30480-000 - Brasil – Tel: (31) 3319 7151 – Fax: (31) 3319 7142 – e-mail: patricia@des.cefetmg.br

RESUMO

Acidentes ambientais têm ocorrido devido à exploração e comercialização de petróleo, causando graves danos ao meio ambiente e à saúde humana. Os derrames acidentais de hidrocarbonetos de petróleo são motivo de grande preocupação na atualidade, principalmente devido à alta toxicidade dos hidrocarbonetos monoaromáticos (benzeno, tolueno e xileno - BTX). A presente pesquisa avaliou o potencial de biodegradação de solos contaminados com BTX com 20 a 26% de etanol, pelo processo de atenuação natural. Para a realização dos experimentos, foram utilizadas amostras de solo contaminadas artificialmente com benzeno, tolueno e xileno (BTX). Para a preparação dos microcosmos e estudo do processo de biodegradação, 20 g de solo foram adicionados em frascos de 100 ml, selados com tampa de butila e lacres de alumínio e incubados em temperatura controlada no escuro. Os contaminantes foram adicionados aos microcosmos, para atingir concentrações de 10 mg.g^{-1} . Frascos contendo solo estéril juntamente com BTX também foram incubados para servirem como controle abiótico. Os resultados obtidos indicaram a possibilidade de remoção de BTX em solos ácidos contaminados, através da atenuação natural, tendo-se observado elevada remoção dos poluentes em cerca de 40 dias de experimento. A baixa concentração de poluentes no solo, a partir de 20 dias, é um indicativo da ocorrência de biodegradação no início dos experimentos, mas a adsorção e volatilização também parecem ser mecanismos importantes para a remoção dos poluentes estudados.

PALAVRAS-CHAVE: Atenuação natural, Biodegradação, BTX, Solo contaminado.

INTRODUÇÃO

O setor petrolífero corresponde pela geração de 40% de toda a energia mundial. Acidentes ambientais têm ocorrido devido à exploração e comercialização de petróleo, causando graves danos ao meio ambiente e à saúde humana. Os derrames acidentais de hidrocarbonetos de petróleo são motivo de grande preocupação na atualidade. A contaminação de aquíferos por vazamentos de petróleo é uma das possíveis ameaças da qualidade de águas subterrâneas devido à alta toxicidade dos hidrocarbonetos monoaromáticos (Benzeno, tolueno, etilbenzeno e xileno -BTEX) (Fernandes *et al.*, 2003). Os padrões de potabilidade brasileiros estão previstos na portaria federal 518 (25.03.2004) do Ministério da Saúde, onde a concentração máxima permitida para o benzeno, tolueno, etilbenzeno e xileno são de 5 $\mu\text{g/L}$, 170 $\mu\text{g/L}$, 200 $\mu\text{g/L}$ e 300 $\mu\text{g/L}$, respectivamente.

Diante desses problemas, é de grande importância avaliar as técnicas de remediação de áreas contaminadas por hidrocarbonetos de petróleo. Dentro os métodos de remediação empregados com sucesso ao longo dos anos, e que são aceitos em todo o mundo pelas agências reguladoras, pode-se citar a injeção de ar na zona saturada

(*air sparging*), a extração de vapores, a biorremediação, as barreiras reativas e a atenuação natural monitorada. O uso da biodegradação é uma das técnicas de maior destaque entre os ambientalistas como a maneira adequada de se eliminar contaminantes da água e do solo. Existem diversos trabalhos na literatura sobre biorremediação de solos contaminados com hidrocarbonetos de petróleo. Não obstante, estudos detalhados sobre a biodegradação da gasolina no solo quando ela apresenta etanol em sua composição são raros ou inexistentes.

Estudos da biodegradação de hidrocarbonetos de petróleo têm demonstrado a possibilidade de aplicação de tratamento aeróbio e anaeróbio para esse tipo de composto orgânico (Moura *et al.*, 2005). Além disso, a avaliação de fatores que podem limitar o processo de biodegradação antes de se utilizar um tratamento biológico se faz necessária (Yerushalmi *et al.* 2003). O estudo da degradação de hidrocarbonetos de petróleo em solos contaminados com óleo diesel através da atenuação natural, bioestimulação (estímulo do crescimento de microrganismos por diferentes fatores tais como introdução de oxigênio, nutrientes e correção de pH) e bioaumentação (aplicação de microrganismos degradadores enriquecidos em laboratório, devido à ausência ou baixa concentração de microrganismos no próprio local) indica uma maior eficiência da bioaumentação e da atenuação natural para a biodegradação do óleo diesel (Bento *et al.*, 2003).

A biodegradação da gasolina brasileira, com um percentual entre 20 e 26% volume/volume de etanol, apresenta um favorecimento para a biodegradação aeróbia do etanol e da biodegradação anaeróbia da gasolina, pois o etanol é substrato preferencial dos microrganismos, podendo ocasionar o consumo total do oxigênio dissolvido presente no meio para a sua degradação (Nunes *et al.*, 2005). De acordo com Cunha *et al.* (2009), o etanol presente na gasolina, apesar de aumentar a atividade microbiana, contribui para diminuir a biodisponibilidade do BTEX (devido a sua retenção no solo), tornando portanto sua degradação mais lenta. Assim, de acordo com pesquisas já realizadas, observa-se a necessidade de mais estudos sobre o processo de biodegradação para se determinar a melhor maneira de se tratar derrames da mistura gasolina-ethanol, de modo a contornar o efeito negativo do etanol.

A presente pesquisa avaliou o potencial de biodegradação de solos contaminados com benzeno, tolueno e xileno com 20 a 26% de etanol, utilizando-se uma das técnicas de biorremediação, que é a atenuação natural. Os objetivos desse trabalho foram: (i) avaliar o potencial de biorremediação de solos contaminados com benzeno, tolueno e xileno (BTX), através do processo de atenuação natural, e (ii) verificar o efeito da adição de etanol no processo de biodegradação.

MATERIAIS E MÉTODOS

CARACTERIZAÇÃO DO SOLO

A amostragem do solo foi realizada na região oeste da cidade de Belo Horizonte, em Minas Gerais, em local isento de contaminação por hidrocarbonetos de petróleo, e sua caracterização foi realizada em relação aos parâmetros de umidade, pH, nitrogênio, fósforo, matéria orgânica, cálcio, óxido de silício, alumínio, ferro (EMBRAPA, 2009). Realizou-se, ainda, a contagem de bactérias heterotróficas totais.

ESTUDO DO PROCESSO DE ATENUAÇÃO NATURAL

O estudo do processo de atenuação natural foi conduzido de maneira a se avaliar o potencial de biodegradação nas diferentes condições de contaminação do solo para hidrocarbonetos de petróleo, a uma temperatura de 20 °C. Para a realização dos experimentos, foram utilizadas amostras de solo contaminadas artificialmente com benzeno, tolueno, xileno (BTX), que são os componentes de gasolina de maior importância ambiental, devido a sua toxicidade e maior mobilidade no meio ambiente.

Para a preparação do microcosmo e estudo da biodegradação, foram utilizadas amostras de 20 g de solo, adicionadas a frascos de 100 mL, selados com tampa de butila e lacre de alumínio e incubadas em temperatura controlada no escuro. Os contaminantes foram adicionados aos microcosmos, para atingir concentrações de 10 mg.g⁻¹, e foram utilizados frascos contaminados, porém com amostras de solo estéreis para o controle abiótico. O solo foi esterilizado através da adição de formaldeído (37 %). Na Tabela 1, apresenta-se a descrição das condições experimentais.

Tabela 1: Descrição dos experimentos de biodegradação

Experimento	Descrição
1	Solo + BTX* (BTX)
2	Solo + BTX* + 20 % de etanol (BTX 20)
3	Solo + BTX* + 26 % de etanol (BTX 26)
4	Solo + BTX* + formaldeído (frasco controle)
5	Solo + BTX* + 20 % de etanol + formaldeído (frasco controle 20)
6	Solo + BTX* + 26 % de etanol + formaldeído (frasco controle 26)

*Mistura BTX (10 mg.g⁻¹): 6,7% benzeno, 33,6% tolueno, 59,7% xileno

MONITORAMENTO

Após 1, 20, 40, 100 e 168 dias de incubação, as amostras de solo foram analisadas para determinação da concentração de hidrocarbonetos totais de petróleo (TPH). A amostra era homogeneizada, transferida para balão de destilação, acidificada com ácido tartárico até pH=3 e destilada, utilizando-se condensador reto com a extremidade inferior adaptada a uma coifa mergulhada em cerca de 2 mL de acetonitrila HPLC. Após a separação da fase orgânica, um volume dessa fase era pipetado e transferido para tubo de ensaio, contendo cerca de 0,5g de sulfato de sódio anidro. Em seguida, adicionava-se no cromatógrafo para análise. As análises de hidrocarbonetos no solo foram realizadas por cromatografia líquida, com cromatógrafo HPLC Agilent 1120 compact LC, Coluna C18 25 cm, fluxo 1mL.min⁻¹, fase móvel: 76:24 (acetonitrila e água), comprimento de onda: 245 nm.

Análises microbiológicas de determinação do número total de bactérias heterotróficas presentes no solo foram realizadas de acordo com o *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater* (2005) nas amostras de solo dos microcosmos contaminados, no início e no final do experimento.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

CARACTERIZAÇÃO DO SOLO

Os resultados de caracterização do solo utilizado nos experimentos de biodegradação são apresentados na Tabela 2. O solo utilizado é típico do Cerrado apresentando pH ácido, baixo teor de matéria orgânica e elevado teor de alumínio. Sua capacidade de retenção de água é relativamente baixa. A relação C:N:P é de 22,4:1,8:1.

Tabela 2: Resumo dos resultados obtidos para a caracterização do solo

Parâmetro	Resultado
Umidade	20 %
PH	4,8
Matéria Orgânica	0,74 %
Carbono orgânico total	1,12 %
Nitrogênio Total	0,09 % (900 mg.kg ⁻¹)
Fósforo	0,05 % (529,82 mg.kg ⁻¹)
Alumínio total	6,13 %
Cálcio	0,029 % (295,81 mg.kg ⁻¹)
Ferro	3,15 %
Óxido de silício	73,0 %
Bactérias Heterotróficas Totais	3,90x10 ⁴ UFC/g

EXPERIMENTOS DE BIODEGRADAÇÃO

Os resultados obtidos nos experimentos contendo solo contaminado com BTX para os diferentes tempos de incubação para os frascos contaminados (BTX) e frascos estéreis contaminados (frascos controle) são apresentados nas Figuras 1 a 3, enquanto que a contagem de bactérias heterotróficas totais durante o período experimental é apresentada na Figura 4.

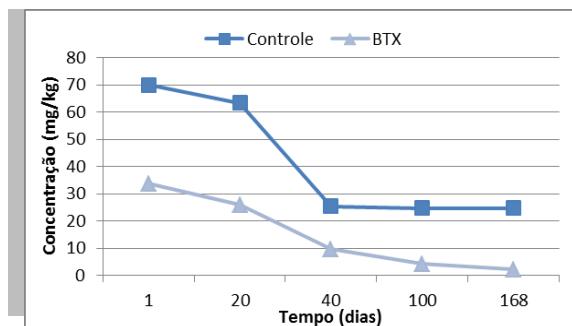


Figura 1: Concentração de benzeno (mg.kg⁻¹) em função do tempo para solo contaminado com BTX

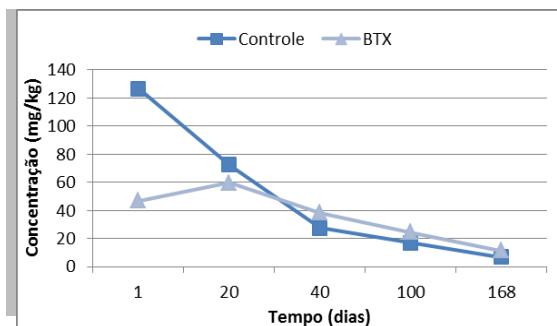
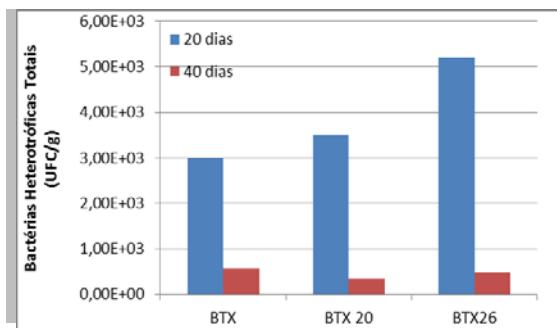
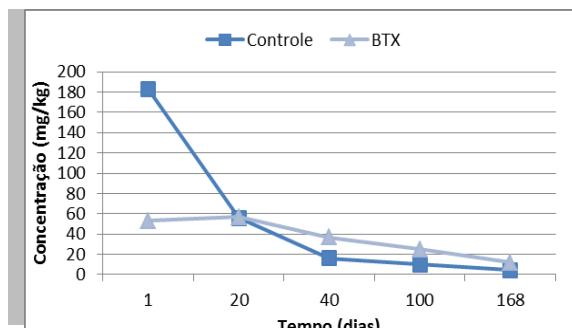


Figura 2: Concentração de tolueno (mg.kg⁻¹) em função do tempo para solo contaminado com BTX



A análise das Figuras 1 a 3 indicou a ocorrência de baixas concentrações de poluentes no solo após um período experimental de 40 dias, tendo-se observado menores concentrações de poluentes após 24 horas de incubação (tempo 1) nos frascos contaminados em relação aos frascos contaminados estéreis (frascos controle). No caso do benzeno, foi possível observar concentrações inferiores a 20 mg.kg^{-1} após 40 dias de monitoramento, enquanto para tolueno e xileno essas concentrações foram observadas após 100 dias de monitoramento. Observa-se, ainda, que a maior parte dos contaminantes já havia sido removida após 24 horas de período experimental. Para o benzeno, foi possível observar maiores concentrações do poluente no frasco de controle abiótico durante todo o período experimental, indicando a ocorrência de biodegradação, mas os mecanismos de adsorção e volatilização também parecem ter contribuído para a remoção do poluente do solo.

Para tolueno e xileno, as maiores concentrações dos poluentes no controle abiótico no início do experimento são indicativas de ocorrência de biodegradação durante até 20 dias de experimento, porém os mecanismos de adsorção e volatilização parecem ser os mais importantes para a remoção desses poluentes. Resultados semelhantes foram obtidos por Spinelli *et al.* (2005) que observaram, após 26 dias de degradação, concentração de hidrocarbonetos nos frascos controle próxima àquelas dos frascos contendo hidrocarbonetos de petróleo, indicando que a contribuição da microbiota para o processo de biodegradação ocorreu no período inicial dos experimentos. Os pesquisadores observaram, ainda, a formação de compostos intermediários, tais como C8 e C9 aromáticos, após 12 dias de degradação.

A contagem de bactérias heterotróficas totais (Figura 4) indicou uma redução de unidades formadoras de colônia durante o período experimental, sugerindo a presença de microrganismos degradadores de hidrocarbonetos no solo e a eliminação dos microrganismos que não conseguiram se adaptar à presença dos poluentes. Deve-se salientar que os experimentos foram realizados em pH ácido e, mesmo no pH natural do solo, foi possível remover os poluentes. As modificações do pH do solo e o aumento no teor de nutrientes podem ser estudadas como alternativa para aumento na eficiência de remoção dos poluentes.

Os resultados obtidos nos experimentos contendo solo contaminado com BTX, acrescido de 20 e 26% de etanol, são apresentados nas Figuras 5 a 10.

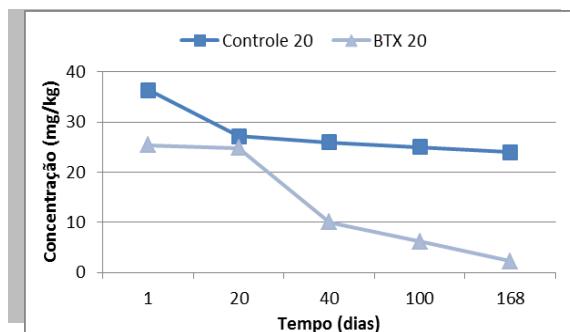


Figura 5: Concentração de benzeno em função do tempo para solo contaminado com BTX e 20% de etanol (BTX 20)

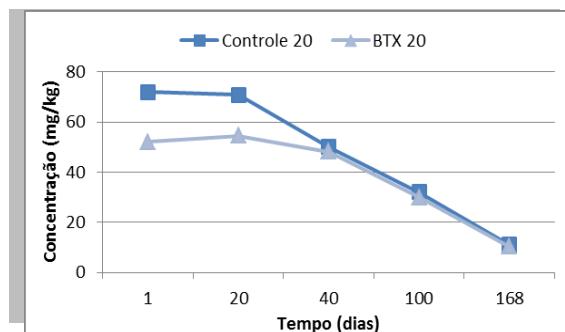


Figura 6: Concentração de tolueno em função do tempo para solo contaminado com BTX e 20% de etanol (BTX 20)

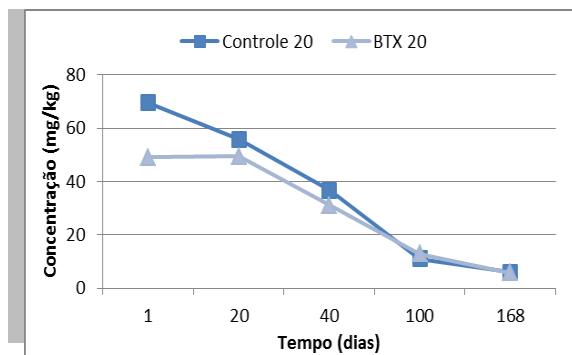


Figura 7: Concentração de xileno em função do tempo para solo contaminado com BTX e 20% de etanol (BTX 20)

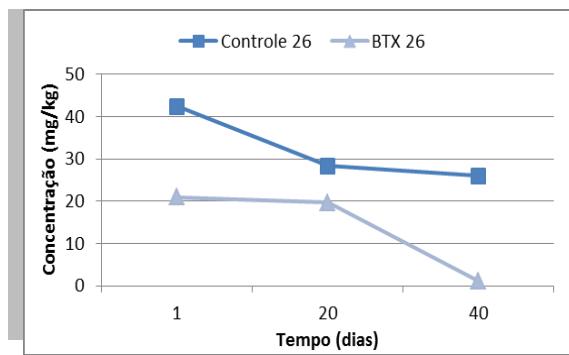


Figura 8: Concentração de benzeno em função do tempo para solo contaminado com BTX e 26% de etanol (BTX 26)

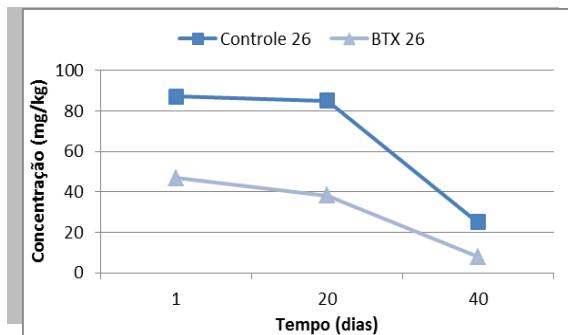


Figura 9: Concentração de tolueno em função do tempo para solo contaminado com BTX e 26% de etanol (BTX 26)

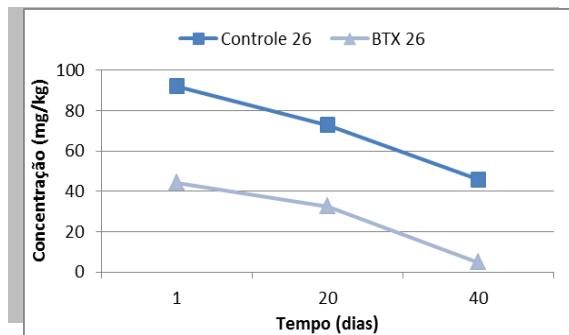


Figura 10: Concentração de xileno em função do tempo para solo contaminado com BTX e 26% de etanol (BTX 26)

Nos experimentos de atenuação natural com adição de 20 % de etanol (Figuras 5 a 7), observa-se uma menor concentração inicial de poluente nos frascos controle em relação ao que havia sido observado nos experimentos sem adição de etanol. Esse fato sugere que a adição de etanol pode ter favorecido uma maior volatilização inicial de BTX (Finotti et al, 2009). Foi possível observar, ainda, um pequeno diferencial de concentrações em relação aos frascos de controle abiótico e frascos contaminados durante todo início do período experimental, para tolueno e xileno, predominando a adsorção e volatilização como mecanismos de remoção dos poluentes do solo.

Para o benzeno (Figura 5), o diferencial de concentrações aumentou para maiores períodos experimentais (entre 40 e 168 dias de experimento). Isso pode indicar que, após a biodegradação do etanol (considerando-se que ele seja o substrato preferencial), a maior atividade microbiana tenha favorecido a biodegradação do benzeno.

Nos experimentos com adição de 26% de etanol (Figuras 8 a 10), as concentrações observadas para BTX após 40 dias de período experimental ($1,13 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ de benzeno, $8,06 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ de tolueno e $5,04 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ de xileno) foram muito menores em relação ao mesmo período para os experimentos sem adição de etanol ($9,6 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ de benzeno, $38,3 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ de tolueno e $36,5 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ de xileno) e com adição de 20% de etanol ($10,08 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ de benzeno, $48,12 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ de tolueno e $31,2 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ de xileno). Foi possível observar, ainda, que durante todo o período experimental as concentrações no frasco controle foram superiores às concentrações nos frascos com biodegradação, indicando que, nesses experimentos, a biodegradação deve ter ocorrido durante todo o período experimental, e que a adição de 26% de etanol pode ter favorecido a degradação dos compostos, devido à ocorrência de uma maior biodisponibilidade.

A partir da análise dos resultados, pode-se observar que as concentrações de BTX foram próximas nos experimentos contendo solos contaminados sem adição de etanol e com adição de 20% de etanol, para os

períodos experimentais estudados, mas, nos frascos em que se adicionou 26% de etanol, observou-se uma menor concentração de poluentes no solo para 40 dias de experimento.

CONCLUSÕES

Os resultados obtidos indicaram a possibilidade de remoção de BTX em solos ácidos contaminados, através da atenuação natural, tendo-se observado uma elevada remoção dos poluentes para cerca de 40 dias de degradação. A baixa concentração de poluentes no solo, a partir de 20 dias, pode indicar a ocorrência de biodegradação dos poluentes no início dos experimentos, mas a adsorção e volatilização também contribuem para a remoção dos poluentes do solo.

Foi possível observar que as concentrações de BTX foram próximas nos experimentos contendo solos contaminados sem adição de etanol e com adição de 20% de etanol, para os períodos experimentais estudados. Não obstante, verificou-se que a adição de 26% de etanol, favoreceu a maior biodegradação dos poluentes.

O decréscimo observado na contagem de microrganismos no solo durante os experimentos, não afetou a biodegradação do poluente, sugerindo que os microrganismos que restaram no solo eram potenciais degradadores de hidrocarbonetos.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem à FAPEMIG – Fundação de Amparo a Pesquisa do Estado de Minas Gerais pelo financiamento da pesquisa.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRAFICAS

1. AWWA/APHA/WEF. *Standard Methods for Examination of Water and Wastewater*, 21th. Ed. 2005.
2. BENTO, F.M., CAMARGO, F.A O, OKEKE, B., FRANKENBERGER-JÚNIOR, W.T. Bioremediation of soil contaminated by diesel oil. *Brazilian Journal of Microbiology*. v.34, 2003.
3. CUNHA, P.O., VARGAS JR, E.A, GUIMARÃES, J.R.DD., LAGO, G.P., ANTUNES, F. S., SILVA,M.I.P. Effect of ethanol on the biodegradation of gasoline in an unsaturated tropical soil. *International Biodeterioration & Biodegradation*. v.63 p.208-216, 2009.
4. EMBRAPA - EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA Serviço Nacional de Levantamento e Conservação de Solos. *Manual de Métodos de Análises de Solos*. Rio de Janeiro, 2009.
5. FERNANDES, M, CORSEUIL, H.X. Atenuação natural de hidrocarbonetos em um aquífero contaminado com gasolina com etanol. In: *CONGRESSO BRASILEIRO DE ENGENHARIA SANITÁRIA E AMBIENTAL*, 21, Anais... João Pessoa, 2003.
6. FINOTTI, A R., TEIXEIRA, C.E., FEDRIZZI, F., CALGLIARI, J., NASCIMENTO FILHO, I. Avaliação da influência do etanol sobre o grau de volatilização BTEX em solos impactados por derrames de gasolina/etanol *Engenharia Sanitária e Ambiental*. v.14 n.4, p. 443-448, 2009.
7. MOURA, F.E., LEITE, V.D., PRASAD, S. Biodegradação aeróbica de hidrocarbonetos de petróleo. In: *CONGRESSO BRASILEIRO DE ENGENHARIA SANITÁRIA E AMBIENTAL*, 23, Anais... Campo Grande, 2005.
8. NUNES, C.C., CORSEUIL, H.X. A importância da biodegradação anaeróbica em aquíferos impactados por gasolina e etanol. In: *CONGRESSO BRASILEIRO DE ENGENHARIA SANITÁRIA E AMBIENTAL*, 23, Anais... Campo Grande, 2005.
9. SPINELLI, L. F., SCHNAID, F., SELBACH, P. A, BENTO, F.M., OLIVEIRA, J. R. Enhancing bioremediation of diesel oil and gasoline in soil amended with an agroindustry sludge. *J. Air Waste Manag Assoc*, v. 55, n 4, p.421-9, 2005.
10. YERUSHALMI, L., ROCHELEAU, S., CIMPOIA, S., SARRAZIN, M., SUNAHARA, G., PEISAJOVICH, A, LECLAIR, G., GUIOT, S.R. Enhanced biodegradation of petroleum hydrocarbons in contaminated soils. *Bioremediation Journal*, v. 7, p.37-51, 2003.