ANAIS DO VI SIMPÓSIO
LUSO BRASILEIRO DE ENGENHARIA
SANITÁRIA E AMBIENTAL

Florianópolis - SC, 12 a 16 de junho de 1994

Vol.1 - TRABALHOS TÉCNICOS - TOMO I

CIP-Brasil. Catalogação-na-fonte
Sindicato Nacional dos Editores de Livros, RJ

S621a

Simpósio Luso Brasileiro de Engenharia Sanitária e Ambiental (6 : 1994 : Florianópolis, SC)
Anais / do VI Simpósio Luso Brasileiro de Engenharia Sanitária e Ambiental, vol. 1, Tomo I ; promoção ABES - Associação Brasileira de Engenharia Sanitária e Ambiental, APRH - Associação Portuguesa dos Recursos Hídricos ; realização ABES, Seção Santa Catarina . — Rio de Janeiro : ABES, 1994.

Conteúdo: Trabalhos Técnicos
ISBN 85-7022-113-4

1. Engenharia Ambiental - Congresso. 2. Engenharia Sanitária - Congressos. I.Associação Brasileira de Engenharia Sanitária e Ambiental. II. Associação Portuguesa dos Recursos Hídricos. III. Título.

CDD - 628.06081
94-0378 CDU - 628:061.3(81)

INFLUÊNCIA DO RECEPTOR DE ELETRONS NA BIOREMEDIAÇÃO DE ÁGUAS SUBTERRÂNEAS CONTAMINADAS POR DERRAMAMENTOS DE GASOLINA

HENRY XAVIER CORSEUIL (*)

CURRICULO

(*) Graduado em Engenharia Civil pela Universidade Federal de Santa Maria (1980). Mestre em Recursos Hídricos e Saneamento pelo Instituto de Pesquisas Hidráulicas da Universidade Federal do Rio Grande do Sul (1984). PhD. em Engenharia Ambiental pela The University of Michigan, Ann Arbor, MI, EUA (1992). Professor Adjunto do Departamento de Engenharia Sanitária e Ambiental da Universidade Federal de Santa Catarina (1985). Area de interesse de pesquisa: degradação de composto orgânicos tóxicos no meio ambiente.

ENDEREÇO: Departamento de Engenharia Sanitária e Ambiental
Universidade Federal de Santa Catarina
Campus Universitário
Centro Tecnológico
Cep: 88040-900 - Florianópolis - SC

RESUMO

Derramanentos de gasolina e outros combustíveis hidrocarbonetos têm causado graves problemas de contaminação do lençol freático. Entre os compostos constituintes da gasolina que causam maiores problemas ambientais estão os hidrocarbonetos monoaromáticos benzeno, tolueno, etilbenzeno e xileno (compostos BTEX) que, em função de sua mobilidade no solo e solubilidade em água, primeiro irão contaminar as águas subterrâneas. Uma das técnicas mais utilizadas no tratamento de derramamentos de combustíveis é a in situ bioremediação. Este trabalho estuda o efeito dos receptores de elétrons, oxigênio e nitrato, na biodegradação dos compostos BTX. Os resultados indicaram que são necessários 1.85, 1.8 e 1.75 mg de oxigênio para degradar, respectivamente, um mg de benzeno, toluene e xileno, e que a degradação em condições aeróbicas pode ocorre em concentrações de oxigênio dissolvido inferiores a 2.0 mg/l. Além disso, observou-se que os microorganismos presentes no solo do aquífero não foram capazes de trocar de receptores de elétrons após a completa depleção de oxigênio. No entanto, o uso de nitrato como fonte de nitrogênio em programas de bioremediação é mais adequado que o uso de amônia para evitar que as reações de nitrificação utilizem a pequena quantidade de oxigênio disponível no subsolo.

Introdução

Derramamentos de tanques de armazenamento de combustíveis tem causado graves problemas de contaminação do ambiente subsuperficial. De acordo com o Escritório de Substâncias Tóxicas da EPA, 30 a 40% dos 800.000 tanques de combustíveis nos Estados Unidos estão vazando. No Brasil as preocupações ligadas ao potencial de contaminação das águas substerrâneas por derramamento de combustíveis vem crescendo principalmente na Grande São Paulo onde existem aproximadamente 2.500 postos de abastecimento de combustíveis representando 12% dos postos no país. Considerando que a vida útil dos tanques de armazenamento é de aproximadamente quinze a vinte anos, mais da metade destes tanques podem estar com vazamentos (Oliveira et al., 1990).

Entre os contaminantes de maior importância, no caso de um derramamento de gasolina, estão os hidrocarbonetos monoaromáticos benzeno, tolueno, etilbenzeno e xileno (compostos BTEX) que são considerados tóxicos ou carcinogênicos. Em função dos altos coeficientes de partição octanol/água, estes compostos são mais solúveis que os demais constituintes da gasolina e portanto frequentemente encontrados em águas subterrâneas.

Muitas alternativas estão disponíveis para resolver o problema de contaminação de águas subterrâneas. Estas alternativas podem ser desenvolvidas para controlar o movimento de uma pluma (zona de água subterrânea contaminada), e/ou para completamente descontaminar a água e o solo. Processos físicos de tratamento, como adsorção em carvão ativado e "air stripping", processos químicos, como oxidação e redução, e processos biológicos, como lodos ativados e in-situ estimulação dos microorganismos endógenos, chamada bioremediação, são frequentemente empregados (Corseuil, 1992).

A bioremediação de materiais sub-superficiais contaminados com compostos orgânicos vem sendo avaliada mundialmente como uma das técnicas mais promissoras no controle de resíduos perigosos. O processo normalmente envolve a estimulação de microorganismos presentes no sub-solo para degradar os contaminantes no própio local, embora em alguns casos sejam utilizados microorganismos com capacidades metabólicas específicas (Corseuil and Weber, 1993). A meta final da bioremediação é a conversão de resíduos orgânicos em biomassa e sub-produtos inertes inócuos do metabolismo microbiano como o CO_2, CH_4 e sais inorgânicos.

Em estudos de bioremediação de áreas contaminadas por derramamentos de gasolina um dos fatores limitantes na tranformação dos contaminantes é a disponibilidade do receptor terminal de elétrons. Oxigênio tem geralmente sido usado como receptor de elétrons na maioria dos locais contaminados por hidrocarbonetos (Barker et al., 1987). No entanto, a baixa

solubilidade do oxigênio molecular na água (aproximadamente 8 mg/l) dificulta a sua transferência para água. Maiores concentrações podem ser obtidos com o uso de oxigênio puro ou peróxido de hidrogênio, mas o uso destes compostos pode causar problemas de colmatação próximos ao poço de injeção em função do rápido crescimento microbiano e da oxidação de ferro e manganês (Spain et al., 1989).

Usando reações estoiquiométricas, a quantidade de oxigênio necessária para mineralizar benzeno, tolueno e xileno é respectivamente 3.08, 3.13 e 3.15 mg de oxigênio/mg do composto. Com a depleção de oxigênio presente na água subterrânea, o estabelecimento de condições anaeróbicas tende a diminuir o metabolismo de degradação dos compostos BTX e mesmo concentrações de oxigênio dissolvido abaixo de 2 mg/l podem afetar a taxa de biodegradação (Chiang et al., 1989). Nitrato tem sido investigado e indicado ser uma fonte efetiva de energia para a degradação dos hidrocarbonetos aromáticos (Dolfing et al., 1990). O seu uso é conveniente porque o nitrato é altamente solúvel em água e portanto pode ser facilmente misturado com a pluma.

O objetivo deste trabalho é avaliar o efeito dos receptores de elétrons, oxigênio e nitrato, na degradação dos compostos BTX. Pretende- se determinar a quantidade exata de oxigênio necessária para microorganismos endógenos mineralizar os compostos BTX em condições aeróbicas. Além disso, deseja-se avaliar a capacidade da população microbiana trocar de receptores de elétrons, de oxigênio para nitrato, quando o oxigênio disponível for completamente consumido.

Materiais e métodos

Os experimentos de laboratório foram realizados usando microcosmos com solo obtido de uma planta de produção de gas natural em Kalkaska, Michigan, EUA, onde ocorreu um grande derramamento de gasolina. As amostras foram coletadas de uma área não contaminada do aquífero e armazenadas a temperatura de 5°C. Análises do solo subsuperficial indicaram que o aquífero continha 98% de areia e o conteúdo de carbono orgânico da areia era de 0.07%. Benzeno, tolueno ou xileno (BTX), misturados em uma solução sintética contendo nutrientes necessários para o crescimento adequado dos microorganismos, foram usados como substratos individuais em vários experimentos. Nitrato foi usado como única fonte de nitrogênio para evitar o crescimento de microorganismos nitrificantes e para testar a capacidade dos microorganismos endógenos de trocarem de receptor de elétrons após a utilização de todo o oxigênio disponível.

Os reatores de areia, preparados em colunas de vidro com diâmetro de 2.54 cm, eram operados em fluxo ascendente. Uma carga de areia de 50 gramas era usada em cada experimento, o que correspondia a uma altura de

aproximadamente 6.1 cm. Estudos em condições abióticas realizadas utilizando-se uma solução de 200 mg/l de azida de sódio como inibidor da degradação dos compostos BTX indicaram que as perdas por volatilização ou inadequada coleta das amostras eram inferiores a 5%. As soluções contendo as concentrações desejadas dos compostos estudados eram bombeadas com uma bomba peristáltica Miniplus 2 (Gilson Medical Eletronics, S.A., França). Experimentos eram realizados a temperatura ambiente (22°C), e velocidade intersticial de 2m/dia, que está na faixa do movimento forçado de águas subterrâneas normalmente usados em programas de bioremediação.

Os compostos BTX eram analisados por cromatografia gasosa precedido por separação em aparelho "purge-and-trap" (Environchem modelo 810A, Environchem, Inc., Kemblesville, PA). O oxigênio dissolvido era medido com um medidor de oxigênio (YSI modelo 5300, Yellow Spring, OH), equipado com um sistema de micro-fluxo. As análises de nitrato eram realizadas em cromatógrafo iônico Dionex série 4500.

Resultados

Para se testar a influência dos receptores de elétrons, vários experimentos foram realizados em condições limitantes de oxigênio. As figuras 1-3 mostram as curvas de degradação para benzeno, tolueno e (*o+p*) xileno, usados como substratos individuais em diferentes experimentos, e também apresentam a quantidade de oxigênio que está sendo utilizada pela população endógena em função do número de volumes de leito tratados. A concentração afluente dos hidrocarbonetos monoaromáticos era de 9 mg/l e a concentração de oxigênio dissolvido era sempre mantida entre 7.0 e 8.0 mg/l. Os resultados destes experimentos indicaram que as curvas de degradação do substrato atingiram um equilíbrio estável após 150 volumes de leito (4.5 dias) nas colunas alimentadas com tolueno e xileno, e após 250 volumes de leito (7.5 dias) na coluna alimentada com benzeno. Neste estágio, quase todo o oxigênio presente no afluente estava sendo consumido pela população microbiana endógena do solo de Kalkaska.

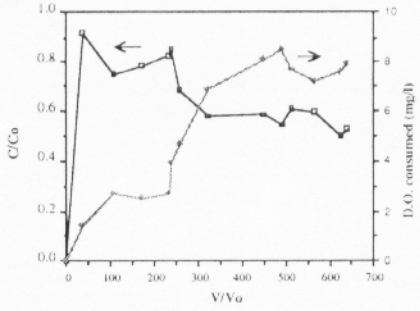

Figura 1- Curvas de degradação de benzeno (C_{so}= 9 mg/l) e de consumo de oxigênio dissolvido (C_o= 8 mg/l) em areia de Kalkaska

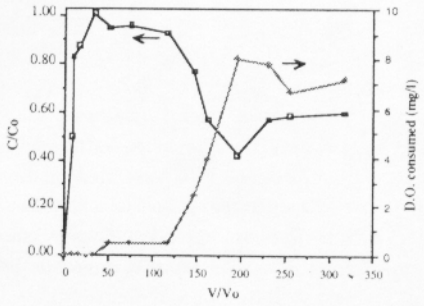

Figura 2- Curvas de degradação de tolueno (C_{so}= 9 mg/l) e de consumo de oxigênio dissolvido (C_o= 7.8 mg/l) em areia de Kalkaska

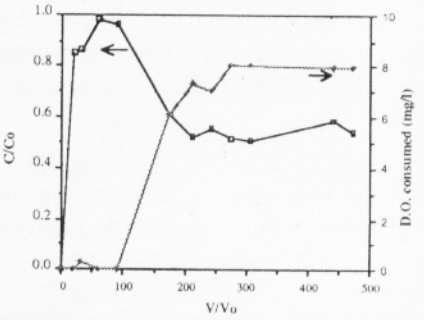

Figura 3- Curvas de degradação de xileno (C_{so}= 9 mg/l) e de consumo de oxigênio dissolvido (C_o= 8 mg/l) em areia de Kalkaska

Nestes experimentos feitos a condições limitantes de oxigênio, análises de nitrato indicaram que os microorganismos não trocaram de receptor de elétrons após a depleção de oxigênio. Somente 1 a 2 mg/l de nitrato estava sendo consumido nos reatores de areia, e este consumo pode ser atribuído a redução assimilatória de nitrato, uma vez que o nitrato era a única fonte de nitrogênio presente na solução sintética.

A taxa de degradação dos hidrocarbonetos monoaromáticos em condições anóxicas (onde o receptor de elétrons é o nitrato) é muito mais lenta que em condições aeróbicas (Dolfing et al., 1990). Novos experimentos foram realizados para se avaliar se um período mais longo ou se a adição de amônia como fonte de nitrogênio pudesse encorajar os microorganismos a usar o nitrato como receptor de elétrons após a depleção de oxigênio. Duas colunas alimentadas com benzeno foram operadas por mais de um mês nas mesmas condições apresentadas anteriormente porém, nenhuma mudança foi observada. Além da dificuldade dos microorganismos degradarem os compostos BTX em condições anóxicas, nenhum composto intermediário foi observado em análises de cromatografia gasosa e HPLC.

O conhecimento da exata quantidade de oxigênio necessária para a degradação de um mg de contaminante (neste caso os compostos BTX), é importante em programas de bioremediação in situ e também em modelos matemáticos mais complexos de simulação do transporte de contaminantes em águas subterrâneas. A determinação da razão entre oxigênio consumido para substrato degradado, chamado de coeficiente F em alguns modelos matemáticos (Corseuil, 1992), foi calculada pela integração das áreas, respectivamente, acima e abaixo das curvas de hidrocarbonetos e oxigênio. Nestes cálculos, foi levado em consideração o efeito do mecanismo de adsorção e o consumo de oxigênio devido a matéria orgânica presente no material do aquífero. Os resultados da integração das curvas indicaram que são necessários 1.85, 1.80, e 1.75 mg de oxigênio para degradar respectivamente, 1 mg de benzeno, tolueno e xileno (0.21, 0.17, e 0.15, respectivamente, em mol por mol).

Alguns pesquisadores (Chiang et al., 1989) tem indicado que a degradação dos hidrocarbonetos monoaromáticos a níveis de oxigênio dissolvido inferiores a 2.0 mg/l é mínima ou inexistente. Para testar se o valor F encontrado para concentrações elevadas de compostos BTX seria ainda válido para baixas concentrações de doadores e receptores de elétrons, uma outra coluna foi alimentada com 100 µg/l de benzeno e 0.6 mg/l de oxigênio dissolvido (figura 4). Todas as demais condições foram semelhantes aos experimentos anteriores. Contradizendo outras pesquisas, a figura 4 mostra que a concentração efluente de benzeno era inferior a 1 ppb após 2.5 dias (80 volumes de leito) e o consumo de oxigênio era bastante pequeno, seguindo a mesma taxa obtida nos experimentos a altas concentrações de hidrocarbonetos.

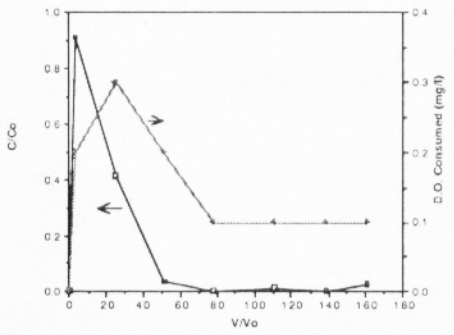

Figura 4- Curvas de degradação de benzeno (C_{so}= 100 ug/l) e de consumo de oxigênio dissolvido (C_o= 0.6 mg/l) em areia de Kalkaska

Conclusões

Os resultados demonstraram a importância do receptor de elétrons na degradação de compostos químicos componentes da gasolina e outros combustíveis hidrocarbonetos. Os experimentos em colunas com compostos BTX, usados como fonte única de carbono em condições limitantes de oxigênio, mostraram que a biodegradação cessou após um certo período devido a falta de oxigênio. O suprimento de duas fontes de receptores de elétrons, oxigênio e nitrato, indicou que, no período de um mês, os microorganismos presentes na areia de Kalkaska não foram capazes de utilizar o nitrato como receptor de elétrons. Neste estudo, a não degradação dos compostos BTX na presença de nitrato como receptor de elétrons pode ser atribuído ao intervalo de tempo dos experimentos. Provavelmente, para que a biodegradação seja detectada, períodos muito mais longos sejam necessários para o crescimento de um número suficiente de microorganismos denitrificantes.

Embora o nitrato não tenha sido usado nestes experimentos com receptor de elétrons após a depleção completa do oxigênio, o seu uso em programas de bioremediação de áreas contaminadas por gasolina é ainda mais adequado do que o uso de amônia como fonte de nitrogênio. A adição de amônia em águas subterrâneas pode resultar em uma reação de nitrificação, que pode consumir os baixos níveis de oxigênio disponíveis no subsolo.

Os problemas ligados a dificuldade de bioremediação de áreas contaminadas por gasolina no Brasil podem ser maiores que em outros países. No caso de um derramamento, a presença do etanol, que é misturado em 22% com a gasolina, pode aumentar a solubilidade dos compostos BTX na água e também competir pelo melhor receptor de elétrons disponível que é o oxigênio. Estudos das interações entre o etanol e os compostos BTX na bioremediação de áreas contaminadas por derramamentos de gasolina estão sendo iniciados nos laboratórios do Departamento de Engenharia Sanitária e Ambiental da Universidade Federal de Santa Catarina.

Referências Bibliográficas

Barker, J.F., G.C. Patrick and D. Major (1987), "Natural Attenuation of Aromatic Hydrocarbons in a Shallow Sand Aquifer," *Groundwater Monitoring Review*, Winter, 64.

Chiang,C.Y., J.P. Salanitro, E.Y. Chai, J.D. Colthart and C.L. Kein (1989), "Aerobic Biodegradation of Benzene, Toluene and Xylene in a Sandy Aquifer- Data Analysis and Computer Modeling," *Ground Water*, 27,6, 823-834

Dolfing,J. , J. Zeyer, P. Binder-Eicher, and R.P. Schwarzenbach (1990), "Isolation and characterization of a bacterium that mineralizes toluene in the absence of molecular oxygen," *Arch Microbiol*, 154:336-341.

Corseuil, H.X. (1992), "Enhanced Degradation of Monoaromatic Hydrocarbons in Sandy Aquifer Materials by Inoculation Using Biologically Active Carbon Reactors," *Ph.D. Dissertation*, The University of Michigan, EUA.

Corseuil, H.X. and Weber, W.J.,Jr. (1993) "Enhanced Degradation of Monoaromatic Hydrocarbons in Sandy Aquifer Materials," Em: *Proceedings da Third International Conference on Waste Management in the Chemical and Petrochemical Industries* (IAWQ), Salvador, Outubro/93.

Spain, J.C., J.D. Milligan, D.C. Downey and J.K. Slaughter (1989), "Excessive Bacterial Decomposition of H_2O_2 During Enhanced Biodegradation," Ground Water, 27, 163.

Oliveira, E.; Cleary, R.W.; Cunha, R.C.A.; Pacheco, A. (1990), "Gasoline Hydrocarbons: Groundwater Pollution Potential in Metropolitan São Paulo," *Preprints: International Seminar of Pollution, Protection and Control of Groundwater*, IAWPRC. P. Alegre, Brazil. p. 92-103.