

RECURSOS HÍDRICOS IMPACTADOS POR HIDROCARBONETOS POLIAROMÁTICOS: AVALIAÇÃO DE COMPOSTOS NÃO RESOLVIDOS POR CROMATOGRAFIA LÍQUIDA E ENSAIOS ECOTOXICOLÓGICOS POR BACTÉRIA LUMINESCENTE, EM SEDIMENTO FLUVIAL COM PRESENÇA DE ÓLEO COMBUSTÍVEL 1A

João Eduardo Addad

Engenheiro geólogo, doutor pelo DEGEO-UFOP. Professor dos cursos de Engenharia Ambiental e Engenharia de Petróleo da UNISANTOS. Atua como consultor e executor de serviços em avaliação e remediação de áreas contaminadas, tratamento de efluentes por alagados construídos e hidrogeologia.

Endereço: Av Conselheiro Nébias 300, Vila Mathias, Santos, SP, 11015-002. E-mail: joao.addad@unisantos.br

RESUMO

A análise de hidrocarbonetos poliaromáticos (HPAs), envolvendo compostos de dois a seis anéis, é usualmente realizada por cromatografia líquida. A bactéria luminescente *Vibrio fischeri* é utilizada em testes de toxicidade aguda. Estes procedimentos foram utilizados na avaliação de trecho fluvial impactado por derrame de óleo combustível 1A - OC1A. Amostras de sedimento foram coletadas após dois anos do acidente rodoviário que gerou o derramamento. As análises de cromatografia líquida foram realizadas sem *clean-up*, para permitir a verificação de compostos não resolvidos. Os ensaios ecotoxicológicos foram realizados submetendo as bactérias a eluatos de sedimentos coletados nos locais impactados, com posterior leitura da luminescência. Os resultados indicaram que as amostras de sedimento apresentaram cargas elevadas de HPAs, além de nível de toxicidade significativo, mesmo após o tempo decorrido, atingindo um Fator de Toxicidade 8. Além do atendimento emergencial, com remoção física do produto, os locais de ocorrência de acidentes envolvendo produtos perigosos devem ser monitorados por meio de ensaios de toxicidade e pela adoção de outras formas de abordagem, principalmente quando envolverem trechos a montante de pontos de captação para abastecimento e substâncias de elevada persistência ambiental.

PALAVRAS-CHAVE: recursos hídricos, mananciais superficiais, ensaios ecotoxicológicos.

INTRODUÇÃO

Pela limitada capacidade de degradação de hidrocarbonetos derivados de petróleo em lançamentos ambientais de grande volume ou recorrentes, uma contaminação pode levar um longo intervalo de tempo até degradar-se a níveis considerados ambientalmente aceitáveis. Recursos hídricos são receptores particularmente vulneráveis a impactos originados na liberação indevida de contaminantes, com agravantes em trechos de captação para abastecimento.

Nos últimos anos, diversos trabalhos têm abordado a degradação de compostos presentes em frações mais pesadas de derivados de petróleo, particularmente os hidrocarbonetos poliaromáticos ou HPAs (Maciel-Souza et al., 2006; Mariano et al. et al., 2007; Hamdi et al., 2007) e sua ação tóxica e mutagênica (Umbuzeiro et al., 2006; Shemer e Linden, 2007). Os HPAs são compostos por anéis aromáticos condensados, apresentando baixas solubilidade e degradabilidade. Características como hidrofobicidade e alta partição em matéria orgânica os tornam pouco biodisponíveis à biodegradação, enquanto que os grupos diol-epóxi formados pela sua eventual metabolização parcial, determinam uma potencial mutagenicidade e toxicidade.

Considerando a possível presença residual de HPAs em cenários de pós-atendimento emergencial de acidentes rodoviários de transporte de combustíveis na faixa composicional de óleos combustíveis, OCs, este trabalho aborda este tipo de situação através de levantamento de campo e amostragem em local de um acidente rodoviário, com derramamento de cerca de 30.000 L de OC 1A em corpo fluvial. A situação foi trabalhada de

modo convencional por atendimento emergencial, com recolhimento do produto e destinação do sedimento-solo identificado como diretamente impactado pelas equipes, dentro de 72 horas pós-evento.

Óleos combustíveis, OCs, são frações residuais da destilação das correntes mais leves, durante o processamento de petróleo. Estes óleos apresentam composição variável e complexa, resultante de temperaturas entre 120 e 600 °C e de blendagens de processo. Podem apresentar densidades maiores que a água e elevada porcentagem de HPAs, atingindo 40%. OCs são utilizados para geração térmica em fornos e caldeiras, motores estacionários e motores de navio, sob diversas denominações comerciais.

OBJETIVOS

São objetivos deste trabalho a amostragem de um local de acidente de grandes proporções e a caracterização do perfil composicional das amostras de solo pós-atendimento emergencial, por HPLC, de modo a permitir a verificação, nos cromatogramas, da assinatura da degradação de HPAs, assim como a realização de testes de toxicidade aguda com *Vibrio fischeri* para avaliar a presença de metabólitos ou níveis residuais dos HPAs, e seus impactos potenciais. Através deste ensaio ecotoxicológico, é possível detectar a concentração do agente-teste (amostra) que causa inibição da bioluminescência emitida, expressa por meio do Fator de Toxicidade, FT.

MATERIAIS E MÉTODOS

Foram realizadas coletas por sondagem no leito fluvial, com auxílio de sondas de 40 mm lançadas a partir de bote a motor, em uma faixa fluvial de aproximadamente 10 metros de extensão, marcada como trecho de tombamento da carreta de transporte. A evidência positiva de que o trecho amostrado correspondia ao ponto de impacto foram resíduos oleosos recuperados nas partes externas das sondas. Quatro amostras de sedimento foram recuperadas no trecho de interesse. Duas amostras foram coletadas a 500 m do trecho, respectivamente a montante e a jusante. As amostras de sedimento foram armazenadas em potes de vidro e mantidas sob refrigeração até seu processamento em laboratório, recebendo a identificação apresentada na Tabela 1. Por motivos éticos, a localização do trecho amostrado não será divulgada.

Para as extrações nas amostras de sedimento, foram utilizados 10 ml de metanol em 5 gramas de sólido, sob banho de ultrassom. As amostras não passaram por *clean-up* para permitir a verificação de compostos não resolvidos, metabólitos e compostos com presença parcial de anéis condensados, possibilitando uma análise semi-quantitativa desta carga. Os extratos resultantes foram mantidos em freezer até a injeção. O sistema HPLC Varian foi calibrado a partir de padrões dos 16 HPAs prioritários: antraceno, acenafteno, fluoranteno, acenaftileno, fluoreno, pireno, benzo(a)antraceno, benzo(b)fluoranteno, benzo(k)fluoranteno, benzo(g,h,i)perileno, benzo(a)pireno, criseno, dibenzo(a,h)antraceno, fenantreno, indeno(1,2,3-c,d)pireno e naftaleno.. Foi adotado o método gradiente, com corridas de 45 minutos e passagem dos solventes: água Milli-Q, metanol e acetonitrila, em uma coluna Pursuit PAH, com fase polimérica com resolução específica para HPAs.

Alíquotas das amostras originais foram então submetidas ao protocolo padrão do ensaio de bioluminescência com auxílio do conjunto LUMISTox300 / LUMISTherm e utilização da cepa NRRL B-11177 de *Vibrio fischeri*. Foi realizada a solubilização das amostras de solo através do uso de incubadora-agitadora à temperatura ambiente por uma hora, transferência do sobrenadante para um tubo falcon, centrifugação e filtração da amostra resultante em membrana de sílica de modo a evitar a adsorção hidrofóbica de compostos de interesse em filtros de celulose ou de polímeros comuns. Na preparação final das amostras, foram ajustados o pH e a salinidade, e realizado o *screening*. As amostras foram então submetidas ao procedimento padronizado do ensaio. Em cada ensaio, as bactérias liofilizadas foram reativadas e ressuspensas adicionando-se 1 mL de solução tampão. Aguardou-se 15 minutos para equilíbrio térmico da solução no termobloco do aparelho LUMISTox. Em seguida pipetou-se 0,1 mL da suspensão bacteriana a 12 mL de solução NaCl 2%, e aguardou-se mais 15 minutos para estabilização da solução. Os testes de sensibilidade foram realizados com Zn²⁺ (na forma de ZnSO₄.H₂O) a uma concentração de 4,40 mg/L. O resultado de cada amostra analisada foi correlacionado com um controle negativo de solução de NaCl a 2%. Os resultados foram expressos em FT, que representa o menor valor de diluição da série progressiva no qual a porcentagem de inibição da luminescência, após o tempo de exposição, é inferior a 20%.

Tabela 1: Identificação das amostras coletadas.

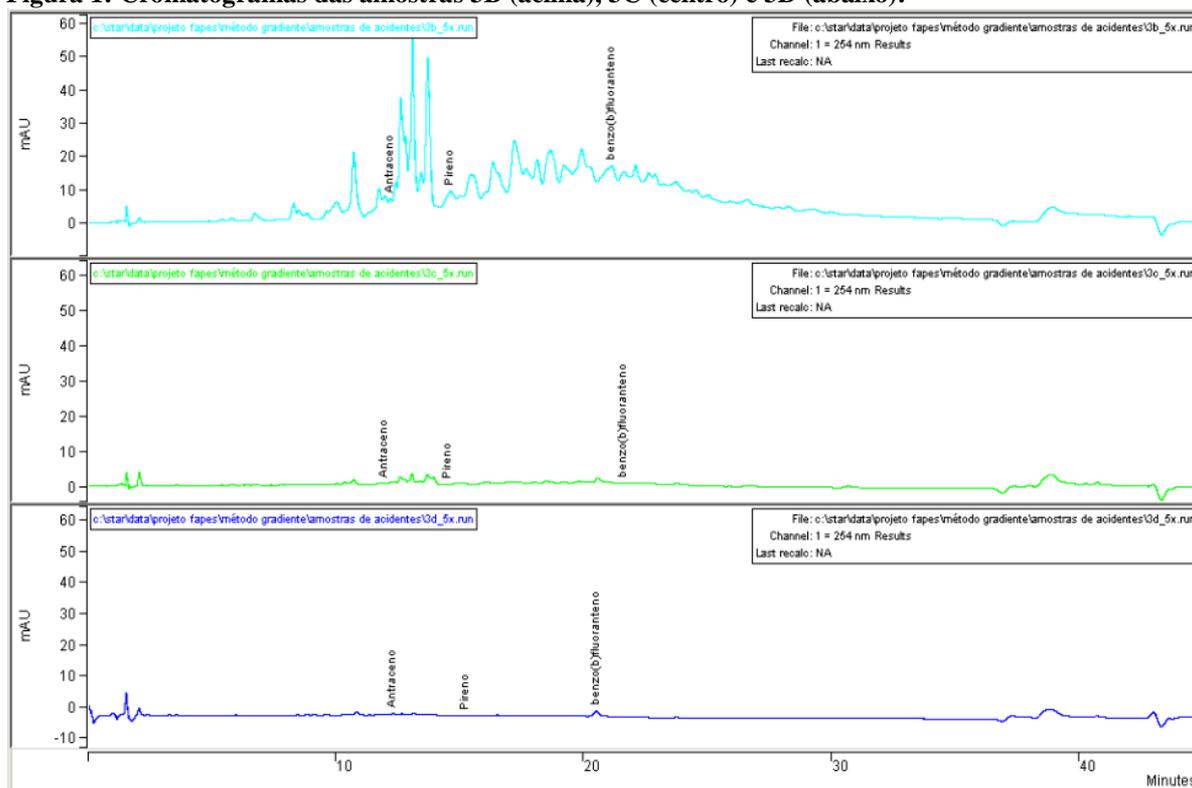
3A	sedimento fluvial no local do acidente
3B	sedimento fluvial no local do acidente
3C	sedimento fluvial no local do acidente
3D	sedimento fluvial no local do acidente
3E	sedimento fluvial, ~500 m a montante do local do acidente
3F	sedimento fluvial, ~500 m a jusante do local do acidente

RESULTADOS

Na faixa fluvial impactada pelo derramamento de óleo combustível, foi observado que pontos distantes de poucos metros apresentaram resultados muito diferentes, determinados pela distribuição heterogênea das manchas de óleo que ainda estavam presentes no leito, como na amostra 3B (primeiro cromatograma da Figura 1).

O cromatograma da amostra 3B apresenta uma elevação entre 10 e 25 minutos. Esta elevação corresponde à carga de HPAs, somada a componentes não resolvidos por métodos cromatográficos usuais, como: HPAs alquilados, compostos heterocíclicos de O, N ou S (respectivamente, benzofuranos, quinolinas e benzotiofenos), assim como metabólitos menos degradados.

Figura 1: Cromatogramas das amostras 3B (acima), 3C (centro) e 3D (abaixo).



O mesmo comportamento heterogêneo foi observado nos resultados de ecotoxicologia. Como pode ser notado na Tabela 2, sob uma diluição de 1:2, as amostras do trecho impactado (3A a 3D) apresentaram porcentagem de inibição de luminescência entre 23,36% e 57,10%. Nota-se também que a amostra coletada a montante do ponto de impacto (3E) apresentou um valor menor de inibição de luminescência, enquanto que a amostra coletada a jusante (3F) apresentou 19,21%, aproximando-se das coletadas no trecho.

Tabela 2: Fatores de toxicidade em diluição preliminar de 1:2.

Pontos	Diluição	% inibição
3A	1:2	23,36
3B	1:2	57,10
3C	1:2	24,50
3D	1:2	22,27
3E	1:2	8,56
3F	1:2	19,21

A sequência de diluições para as amostras de maior porcentagem de inibição em diluição 1:2, 3B e 3C, são apresentadas nas Tabelas 3 e 4, respectivamente. Pode-se notar que na Tabela 3, foi atingido um efeito de inibição menor que 20% na diluição 1:8, enquanto que na Tabela 4, o mesmo efeito ocorreu após uma diluição de 1:4. Estes valores correspondem aos Fatores de Toxicidade de 8, para a amostra 3C, e de 4, para a amostra 3D.

Tabela 3: Diluições da amostra 3B.

Diluição	% inibição
1:512	23,36
1:256	57,10
1:128	24,50
1:64	22,27
1:32	8,56
1:16	19,21
1:8	12,83
1:4	21,94

Tabela 4: Diluições da amostra 3C.

Diluição	% inibição
1:6	9,53
1:4	14,91
1:3	20,02
1:2	21,89

CONCLUSÃO

As ferramentas utilizadas indicaram concordância na presença de contaminantes, em níveis geradores de efeitos positivos tóxicos. O mesmo ponto de amostragem (3B) apresentou elevados níveis de hidrocarbonetos poliaromáticos e de compostos não resolvidos, além de elevada porcentagem de inibição de luminescência e Fator de Toxicidade 8.

O atendimento emergencial não resultou na adequação do trecho fluvial a uma condição de ausência de risco. Em acidentes envolvendo substâncias oleosas de densidade maior do que a água, manchas de contaminação podem permanecer no sedimento após os procedimentos padronizados para óleos leves.

RECOMENDAÇÕES

Além do atendimento emergencial, com remoção física do produto, os locais de ocorrência de acidentes envolvendo produtos perigosos devem ser monitorados por meio de ensaios de ecotoxicidade, procedimentos analíticos mais específicos e pela adoção de outras formas de abordagem, principalmente quando envolverem trechos a montante de pontos de captação para abastecimento e substâncias de elevada persistência ambiental.

Caso não seja tecnicamente viável assegurar a eliminação de riscos relacionados a efeitos tóxicos e/ou mutagênicos associados a impactos em corpos hídricos, deve-se considerar a restrição à captação de água nestas situações.

AGRADECIMENTOS

O autor agradece à FAPES (processo 35563630/2006) pelo auxílio financeiro e ao Laboratório de Análises Ambientais do Instituto Estadual de Meio Ambiente e Recursos Hídricos do Espírito Santo, IEMA, pelo suporte na realização das análises.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. HAMDI, H. et al. Solid-phase bioassays and soil microbial activities to evaluate PAH-spiked soil ecotoxicity after a long-term bioremediation landfarming. *Chemosphere*, v. 70, p. 135-143, 2007.
2. MACIEL-SOUZA, M. C. et al. Chemical and microbiological characterization of mangrove sediments after oil-spill *Brazilian Journal of Microbiology*, v. 37, p. 262-266, 2006.
3. MARIANO, A.P. et al. Monitoramento de indicadores geoquímicos de degradação óleo diesel. *Engenharia Sanitária e Ambiental*, v. 12, p. 296-304, 2007.
4. SHEMER, H., LINDEN, K. G. Aqueous photodegradation and toxicity of the polycyclic aromatic hydrocarbons. *Water Research*, v. 41, p. 853 - 861, 2007.
5. UMBUZEIRO, G.A. et al. Evaluation of the water genotoxicity from Santos Estuary. *Environment International*, v. 32, p. 359 - 364, 2006.