

Avaliação preliminar da biodegradabilidade de tensoativos aniônicos em água do mar

(Biodegradability of anionic surfactants in sea water)

Ricardo Rodrigues Mastroti¹, Eduinetty Ceci Pereira Moreira de Sousa¹,
Denis Moledo de Souza Abessa¹ & Vânia Sass²

¹Instituto Ocenográfico da Universidade de São Paulo
(Caixa Postal 66149, 05315-970 São Paulo, SP, Brasil)

²Bioagri Biotecnologia Agrícola
(Caixa Postal 573, 13412-000 Piracicaba, SP, Brasil)

-
- **Abstract:** In order to evaluate the biodegradability of four anionic surfactants (LAS, SDS, n-SDBS, STPBS) in sea water, 19-day biodegradation tests were conducted, according to the method required by the Health Ministry for approval of commercial products. This method was modified for testing in sea water, as it originally had been described for freshwater. The modifications were considered sufficient as the microorganisms remain active till the end of the test. The results suggested that the biodegradation process was slower in sea water than in freshwater.
 - **Resumo:** Com a finalidade de avaliar a biodegradabilidade de quatro tensoativos aniônicos (ASSL, DSS, n-DBSS, TPBSS) em água do mar, foram realizados testes, de 19 dias, seguindo o método exigido pelo Ministério da Saúde para a aprovação de produtos comerciais. Esse método sofreu modificações para que pudesse ser realizado em água do mar uma vez que foi originalmente descrito para água doce. Essas modificações foram consideradas satisfatórias uma vez que o inóculo manteve-se ativo até o final do teste. Com base nos resultados dos testes, há evidências de que o processo de biodegradação ocorre mais lentamente em água do mar do que em água doce.
 - **Descriptors:** Anionic Surfactants, Biodegradability, LAS, SDS, n-SDBS, STPBS.
 - **Descritores:** Tensoativos Aniônicos, Biodegradabilidade, ASSL, DSS, n-DBSS, TPBSS.
-

Introdução

Tensoativos ou surfactantes são substâncias químicas sintéticas largamente utilizadas na produção de detergentes, produtos de limpeza e cosméticos. São utilizados também para a produção de pesticidas, herbicidas, tintas, plásticos e nas indústrias têxteis, de mineração e de alimentos (Lewis, 1991). Devido ao seu uso difundido, os surfactantes são freqüentemente encontrados em

efluentes municipais, bem como nos corpos hídricos receptores, sejam esses dulcícolas ou marinhos (Lewis, 1992).

Os surfactantes do tipo aniônico são os mais utilizados (Ramade, 1987; Lewis, 1990; Augier, 1991) podendo representar até 75% do consumo total (Huston, 1973). Por isso, esta classe de surfactantes representa a forma mais comum de poluição por detergentes (Abel, 1974).

O primeiro país a criar uma lei específica para detergentes foi a Alemanha. Em 1964, foi

aprovada a "Primeira Lei Alemã de Detergentes" que proibia a comercialização de produtos com biodegradabilidade inferior a 80% (Malz, 1973). Outros países como Estados Unidos, França, Reino Unido, Itália e Japão criaram leis semelhantes.

No Brasil, inicialmente, a Portaria 112 de 14 de maio de 1982 do Ministério da Saúde determinava que "as substâncias tensoativas aniônicas, utilizadas na composição de saneantes de qualquer natureza devem ser biodegradáveis" (Brasil, 1982). Porém, critérios precisos que definissem o termo "biodegradáveis" não foram estabelecidos. Mais recentemente, o Ministério da Saúde publicou a Portaria 120 de 24 de novembro de 1995 que estabelece "a metodologia a ser adotada para determinação da biodegradabilidade de tensoativos aniônicos utilizados na composição de saneantes ou tensoativos puros" (Brasil, 1995). Ainda, segundo esta Portaria, "o produto é considerado satisfatório quando o grau de biodegradação do tensoativo testado for igual ou superior ao grau de biodegradação definido para o n-DBSS (n-dodecil benzeno sulfonato de sódio) considerado como referência de biodegradabilidade para este teste". Apesar de bastante clara e precisa, a Portaria do Ministério da Saúde só prevê a realização de testes para água doce.

Considerando-se que no Brasil, a maioria da população e das atividades industriais estão localizadas na costa ou próximas a esta (Silva *et al.*, 1997) e ainda que o tratamento de efluentes urbanos é, muitas vezes, ineficiente ou, até mesmo, inexistente, é esperado que o ambiente marinho apresente contaminação por surfactantes provenientes destes despejos. Os escassos levantamentos sobre o teor de tensoativos em águas marinhas brasileiras confirmam esta hipótese (CETESB, 1978; Silveira *et al.*, 1982; Aidar *et al.*, 1997).

Vários autores estudaram a biodegradação de surfactantes em águas marinhas ou estuarinas, entre eles, Sigoillot & Nguyen (1991, 1992), Terzic *et al.* (1992a, 1992b). Entretanto, no Brasil há apenas o trabalho de Pereira *et al.* (1981)*. O presente trabalho tem por objetivos realizar testes de biodegradabilidade em água do mar seguindo o método, originalmente proposto para água doce, pelo Ministério da Saúde e, ainda, comparar os resultados obtidos nesses testes com outros anteriormente encontrados para água doce.

(*) Pereira, N.; Malagrino, W. & Tommasi, L. R. Potencial de biodegradação de detergentes aniônicos das águas do Estuário de São Vicente (SP). In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA PARA O PROGRESSO DA CIÊNCIA, 33. Salvador, 1981. Resumos. Salvador, SBPC. p. 517.

Material e métodos

Os testes foram conduzidos na BIOAGRI-Biotecnologia Agrícola Ltda., Piracicaba-SP, e tiveram duração de 19 dias (11 a 29 de setembro de 1996). Estes testes foram realizados em duplicata e seguiram o método descrito na Portaria 120 de 24 de novembro de 1995 do Ministério da Saúde (Brasil, 1995), com duas modificações para a realização em água do mar. A primeira modificação foi a utilização de inóculo (microorganismos) de origem marinha ao invés de dulcícola, e a segunda modificação foi a utilização de água do mar filtrada em membrana Millipore HA com porosidade de 0,45µm como água de diluição ao invés de água deionizada.

A água do mar foi coletada no dia 08 de setembro de 1996, nas proximidades da Ilha Anchieta, Ubatuba-SP (23°31'S 45°05' W) e armazenada em galões plásticos.

Para a obtenção do inóculo marinho, foram coletados, no dia 10 de setembro de 1996, seis litros de água do mar na Praia do Perequê, Guarujá-SP. Essa praia foi escolhida por tratar-se de um local onde esgotos domésticos são lançados ao mar *in natura*, propiciando o aparecimento de microorganismos. Esse material foi acondicionado em sacos plásticos e mantido sob aeração constante até o início do teste.

Foram testados quatro tensoativos aniônicos: n-dodecilbenzeno sulfonato de sódio (n-DBSS), tetrapropileno benzeno sulfonato de sódio (TPBSS), alquilbenzeno sulfonato de sódio linear (ASSL) da Hoescht do Brasil S.A. (pureza 95 ± 1%) e dodecil sulfato de sódio (DSS) da Bio Rad Laboratories, Richmond, CA, USA (pureza 98 ± 1%).

O n-DBSS e o TPBSS representam, respectivamente, o padrão de tensoativo biodegradável e biorresistente definido pelo Ministério da Saúde. O ASSL é o surfactante aniônico mais comum na formulação de detergentes de uso doméstico em todo o mundo (Takada & Ishiwatari, 1987; Gledhill *et al.*, 1991; Sigoillot & Nguyen, 1992; Larson & Woltering, 1995). O DSS é um tensoativo frequentemente utilizado como substância de referência em testes de toxicidade.

Para cada um dos quatro surfactantes, foram preparadas duas réplicas de 500 ml de solução a 5 mg/L. Estas soluções foram então inoculadas com os microorganismos e mantidas a 24 ± 1°C sob agitação constante de 80 rpm em frascos âmbar.

Alíquotas de 10 ml foram retiradas no 5°, 8°, 10°, 12°, 14°, 16° e 19° dias de incubação e analisadas espectrofotometricamente seguindo o método das "substâncias ativas ao azul de metileno" (SAAM), descrito na Portaria 120 de 24 de novembro do Ministério da Saúde do Brasil. Esse

método baseia-se na formação de um complexo entre o azul de metileno (catiônico) e os tensoativos aniônicos que após a extração com clorofórmio deve ser analisado em espectrofotômetro para quantificação do tensoativo. Para realização dessas análises foi utilizado um espectrofotômetro UV-VIS HACH DR-2000.

Foram então calculadas as porcentagens de biodegradação através da equação:

$$Pt = \frac{Ci - Ct \times 100\%}{Ci}$$

onde:

Pt = porcentagem de biodegradação no tempo t

Ci = concentração inicial da solução (mg/L)

Ct = concentração da solução no tempo t (mg/L)

Resultados

As médias das porcentagens de biodegradação dos tensoativos foram locadas em um gráfico em função do tempo, em dias (Fig. 1).

O ASSL e o DSS apresentaram, ao final do experimento uma taxa de biodegradação próxima àquela obtida para o padrão de biodegradável (n-DBSS), indicando que essas substâncias não são biorresistentes. O TPBSS apresentou um percentual de biodegradação bastante inferior, atingindo ao final do experimento 39,2 %.

Os 4 tensoativos apresentaram degradação entre o 16° e o 19° dias (Fig. 1). Essa degradação, realizada pelos microorganismos presentes no inóculo marinho, indica que estes mantiveram sua atividade até o final dos testes.

Discussão

A utilização do inóculo marinho para a realização de testes de biodegradabilidade em água do mar mostrou-se viável, uma vez que os microorganismos foram capazes de degradar os tensoativos e mantiveram-se ativos até o final do teste.

As taxas de biodegradação encontradas para n-DBSS, ASSL e DSS ao final do experimento foram superiores a encontrada para TPBSS (Fig. 1). Esse resultado era esperado uma vez que tensoativos com cadeia de alcanos ramificada, como o TPBSS, apresentam uma menor biodegradabilidade.

Em dezenas de outros testes realizados com água doce pela BIOAGRI* em condições semelhantes, o n-DBSS atingiu aproximadamente 90% de biodegradação no 8° dia de incubação. Porém, em água do mar, nenhum dos surfactantes de cadeia linear (n-DBSS, ASSL e DSS) atingiu 65% de biodegradação mesmo no 19° dia de incubação. A taxa de biodegradação encontrada para n-DBSS ao final do teste em água do mar (64,5%) foi bastante inferior a normalmente encontrada para água doce (94 a 99%). Esse resultado, apesar de preliminar, sugere que a biodegradação de tensoativos aniônicos ocorre mais lentamente em água do mar.

Essa diferença pode ser resultante de uma menor atividade dos microorganismos marinhos em relação aos dulcícolas. Terzic *et al.* (1992a) já haviam notado que as bactérias provenientes da camada de água doce de um estuário apresentam maior eficiência na degradação de ASSL do que bactérias originárias de uma camada mais salina do mesmo estuário.

Segundo Terzic *et al.* (1992b), não há critérios confiáveis para distinguir bactérias terrestres de bactérias marinhas; entretanto, esses mesmos autores encontraram indícios de que as bactérias que degradam o ASSL são de origem terrestre. Sigoillot & Nguyen (1992) também acreditam que haja participação de bactérias de origem terrestre no processo de biodegradação de detergentes.

Considerando que as bactérias de origem terrestre realmente exercem um papel relevante na biodegradação dos surfactantes em meio aquático e que, entre essas, somente as halotolerantes são capazes de sobreviver em água do mar, uma maior biodegradabilidade pode ser esperada para água doce em virtude dessa pressão seletiva.

Os trabalhos realizados até o momento são insuficientes para afirmar que os microorganismos presentes na água doce são mais eficientes do que os marinhos na biodegradação de surfactantes, ou ainda, que esse processo ocorre mais lentamente em água do mar. Novos testes devem ser realizados a título de confirmar essa hipótese.

Nos países em desenvolvimento, como o Brasil, grande parte dos efluentes lançados ao mar não passam por tratamentos eficazes. Entretanto, a avaliação de risco ambiental (environmental risk assessment) realizada para muitos produtos de comercialização global é feita considerando-se o tratamento de efluentes existente nos países desenvolvidos. Além disso, a falta de recursos financeiros para modernização das estações de tratamento de esgotos (ETE) demanda uma medida

(*) Dados não publicáveis por força de sigilo industrial.

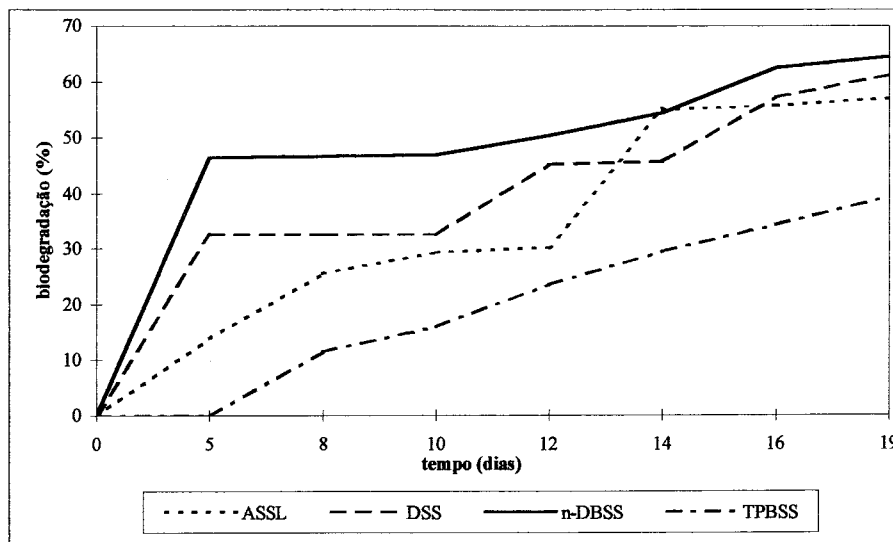


Fig. 1. Curvas da biodegradação dos tensoativos ASSL, SDS, n-DBSS e TPBSS.

de rápida implantação e pouco onerosa. Uma possível solução pode ser o aumento no tempo de residência, em água doce, dos efluentes em tratamento antes do seu lançamento no ambiente marinho. Essa medida pode ser conseguida através da construção de tanques com fluxo em "zig-zag" ou lagoas propiciando uma maior biodegradação dos tensoativos além de promover uma maior volatilização e/ou decaimento de outras substâncias antes do seu lançamento ao mar. Durante esse período de residência, os efluentes devem ser mantidos sob aeração, uma vez que as bactérias capazes de degradar os surfactantes são estritamente aeróbicas (Sigoillot & Nguyen, 1992).

No Brasil, todos os produtos que contenham tensoativos aniônicos precisam ser avaliados quanto a sua biodegradabilidade, segundo os critérios estabelecidos pelo Ministério da Saúde. Para tanto, várias empresas foram credenciadas para realizar testes padronizados e emitir laudos com valor legal. Contudo, os critérios estabelecidos pelo Ministério da Saúde carecem de uma revisão. O método das SAAM, indicado na Portaria 120 de 24 de novembro de 1995, foi descrito na década de 50 (Longwell & Maniece, 1955). Além de obsoleto, trata-se de um método simples, porém não específico, isto é, pode sofrer interferências de outras substâncias que não sejam surfactantes aniônicos. Várias outras substâncias naturais ou artificiais podem apresentar afinidade e complexar-se com o azul de metileno influenciando, deste modo, o resultado do teste (Larson & Woltering, 1995).

Além disso, o método das SAAM considera apenas a biodegradação primária (ω e β -oxidação), isto é, a degradação parcial da cadeia de alcanos (Fig. 2). Após essa degradação inicial, as moléculas

de surfactante perdem a afinidade pelo azul de metileno e, por isso, não são mais detectadas, porém, as substâncias resultantes dessa degradação apresentam toxicidade e, portanto, devem ser consideradas. Para que haja a biodegradação total (mineralização) do surfactante, após a ω e β -oxidação, devem ocorrer ainda, a dessulfonação e a quebra do anel benzênico (Fig. 2). Após todo esse processo, o surfactante é degradado em metano e/ou dióxido de carbono, minerais e água, substâncias que não apresentam toxicidade.

Atualmente, métodos mais modernos e confiáveis estão disponíveis como, por exemplo, o método da cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) (Cavalli *et al.*, 1996) ou o método ISO 9439 (ISO, 1990). Cavalli *et al.* (1996) sugerem a utilização do método da CLAE por ser capaz de determinar a concentração de subprodutos da biodegradação do surfactante. Através desse método é possível acompanhar todo o processo de biodegradação até a mineralização do produto. Ainda, segundo Larson & Woltering (1995), esse método combina rapidez, sensibilidade e seletividade, sendo ideal para análises de rotina ou com grande número de amostras.

A escolha do método das SAAM é justificada pelo Ministério da Saúde devido ao baixo custo e à fácil realização dos testes. Entretanto, de pouco valem esses argumentos se o objetivo maior, proteger os recursos naturais, não for plenamente atingido. A utilização desse método no presente trabalho serviu para mostrar mais uma inconsistência do método, o que é considerado "seguro" para água doce pode não representar o mesmo nível de "segurança" para o ambiente marinho.

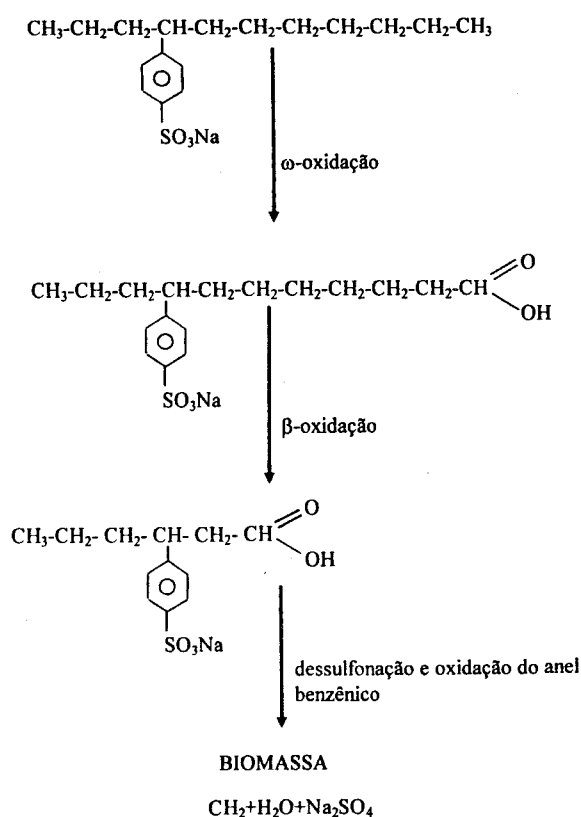
(adaptado de Cavalli *et al.*, 1996)

Fig. 2. Esquema simplificado da biodegradação do ASSL.

Idealmente, devemos desenvolver métodos e critérios específicos para as condições brasileiras. Quando isso não for possível, os métodos e critérios adotados por agências ambientais de outros países devem, imprescindivelmente, sofrer cuidadosas adaptações.

Considerando que a biodegradação é o processo que determina o destino e a distribuição de surfactantes e tantas outras substâncias no ambiente aquático (Terzic *et al.*, 1992a), mais atenção deve ser dada a esse processo, tanto por parte da classe científica, como por parte dos legisladores.

Agradecimentos

Os autores agradecem à Profa. Dra. Elizabeth Aidar e à Profa. Dra. Elisabete S. Braga G. Saraiva pelas críticas e sugestões, à BIOAGRI Biotecnologia Agrícola Ltda pelo apoio dado a esse trabalho, ao Dr. Luciano Cavalli do Regulatory and Environmental Affairs Departament de Milão pelas sugestões, aos funcionários da Biblioteca "Prof. Dr.

Gelso Vazzoler" pela revisão das referências bibliográficas, aos Assessores pelas valiosas contribuições e ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pela bolsa de mestrado concedida a Ricardo Rodrigues Mastroti.

Referências bibliográficas

- Abel, P. D. 1974. Toxicity of synthetic detergents to fish and aquatic invertebrates. *J. Fish Biol.*, 6(3):279-298.
- Aidar, E.; Sigaud-Kutner, T. C. S.; Nishihara, L.; Schinke, K. P.; Braga, M. C. C.; Farah, R. E. & Kutner, M. B. B. 1997. Marine phytoplankton assays: effects of detergents. *Mar. environ. Res.*, 43(1-2):55 - 68.
- Augier, H. 1991. Impact des détergents sur l'environnement marin. *Revue int. Océanogr. Méd.*, (101 /104):236-243.

- Brasil. Ministério da Saúde. 1982. Portaria, nº 112. Referente substâncias tensoativas aniônicas, utilizadas na composição de saneantes de qualquer natureza, devem ser biodegradáveis. Brasília, Diário Oficial da República Federativa do Brasil. p.10904, Seção 1, pt.1.
- Brasil. Ministério da Saúde. 1995. Portaria, nº 120. Estabelece o "Método para determinação da biodegradabilidade de tensoativos aniônicos", com validade em todo o Território Nacional. Brasília, Diário Oficial da República Federativa do Brasil. p.19323, Seção 1, pt.1.
- Cavalli, L.; Cassani, G. & Lazzarin, M. 1996. Biodegradation of linear alkylbenzene sulphonate (LAS) and alcohol ethoxylate (AE). *Tenside Surfactants Deterg.*, 33(2):158-165.
- CETESB. Companhia de Tecnologia de Saneamento Ambiental. 1978. Poluição das águas no Estuário e Baía de Santos. Relatório Técnico. São Paulo, CETESB. 2 v.
- Gledhill, W. E.; Saeger, V. W. & Trehy, M. L. 1991. An aquatic environmental safety assessment of linear alkylbenzene. *Environ. Toxicol. Chem.*, 10(2):169-178.
- Huston, E. J. 1973. Discussion: Synthetic detergents constituents and eutrophication. In: Jenkins, S. H. ed. *Water quality: management and pollution control problems*. Oxford, Pergamon Press. p. 285-288.
- ISO. International Organization for Standardization. 1990. *Water quality: Evaluation in an aqueous medium of the ultimate aerobic biodegradability of organic compounds - Methods by analysis of released carbon dioxide*. London, ISO. 176p.
- Larson, R. J. & Woltering, D. M. 1995. Linear alkylbenzene sulfonate (LAS). In: Rand, G. M. ed. *Fundamentals of aquatic toxicology: effects, environmental fate and risk assessment*. Washington, Taylor & Francis. p. 859-882.
- Lewis, M. A. 1990. Chronic toxicities of surfactants and detergent builders to algae: a review and risk assessment. *Ecotoxicol. Environ. Saf.*, 20(2):123-140.
- Lewis, M. A. 1991. Chronic and sublethal toxicities of surfactants to aquatic animals: a review and risk assessment. *Water. Res.*, 25(1):101-113.
- Lewis, M. A. 1992. Review paper: The effects of mixtures and other environmental modifying factors on the toxicities of surfactants to freshwater and marine life. *Water. Res.*, 26(8):1013-1023.
- Longwell, J. & Maniece, W. D. 1955. Determination of anionic detergents in sewage, sewage effluents, and river water. *Analyst*, 80:167-171.
- Malz, F. 1973. Synthetic detergents and water: The solution of the problem in Germany. In: Jenkins, S. H. ed. *Water quality: management and pollution control problems*. Oxford, Pergamon Press. p. 293-306.
- Ramade, F. 1987. *Ecotoxicology*. 2nd ed. New York, John Wiley. 262p.
- Sigoillot, J. C. & Nguyen, M. H. 1991. Metabolisme des souches bactériennes impliquées dans la dégradation des tensio-actifs en milieu marin. *Revue int. Océanogr. Méd.*, (101/104):265-269.
- Sigoillot, J. C. & Nguyen, M. H. 1992. Complete oxidation of linear alkylbenzene sulfonate by bacterial communities selected from coastal seawater. *Appl. environ. Microbiol.*, 58(4):1308-1312.
- Silva, E. M.; Peso-Aguiar, M. C.; Navarro, M. F. T. & Chastinet, C. B. A. 1997. Impact of petroleum pollution on aquatic coastal ecosystems in Brazil. *Environ. Toxicol. Chem.*, 16:100-111.
- Silveira, M. A. V.; Pereira, N. & Tommasi, L. R. 1982. Resultados preliminares sobre os teores de detergentes aniônicos na Baía e Estuário de Santos. *Bolm Inst. oceanogr.*, S Paulo, 31(2):95-99.
- Takada, H. & Ishiwatari, R. 1987. Linear alkylbenzenes in urban riverine environments in Tokyo: distribution, source, and behavior. *Environ. Sci. Technol.*, 21: 875-883.

Terzic, S.; Hrsak, D. & Ahel, M. 1992a. Enrichment and isolation of linear alkylbenzenesulphonate (LAS) degrading bacteria from estuarine and coastal waters. *Mar. Pollut. Bull.*, 24(4):199-204.

Terzic, S.; Hrsak, D. & Ahel, M. 1992b. Primary biodegradation kinetics of linear alkylbenzene sulphonates in estuarine waters. *Water. Res.*, 26(5):585-591.

(Manuscrito recebido 19 março 1998; revisado 11 novembro 1998; aceito 10 dezembro 1998)