

Avaliação do uso de produtos comerciais no processo de Biodegradação de petróleo em solo.

Denner Evangelio de Conceição.

Bolsista de Nivel Médio, Tec. em Processos Conservação e Gerenciamento Ambiental, CEFETEQ - URJ

Andrea Camardella de Lima Rizzo.

Orientadora, Eng^a. Química, M. Sc.

Claudia Duarte da Cunha.

Orientadora, Eng^a. Química, M. Sc.

RESUMO.

O mundo atual esta cada vez mais dependente do petróleo e de seus derivados para a manutenção de sua atividade industrial. Durante o transporte do petróleo e/ou seus derivados podem vir a ocorrer derramamentos ocasionando contaminação de solos, rios, etc. Com a crescente consciência ambiental que se estabelece nesse início de século e com a importância cada vez maior que o setor industrial tem dado ao meio ambiente, a técnica de

biorremediação se apresenta como alternativa extremamente viável para o tratamento de solos contaminados por hidrocarbonetos de petróleo. Neste sentido o presente trabalho tem o intuito de avaliar o uso de produtos comerciais no processo de descontaminação de solo contaminado por óleo cru. Para tal foram estudados quatro produtos contendo em suas formulações enzimas, surfatantes, micronutrientes e/ou microorganismos degradadores.

1. INTRODUÇÃO.

1.1 BIORREMEDIAÇÃO DE SOLOS.

A Biorremediação de solos consiste no uso de microorganismos como bactérias, fungos filamentosos e leveduras para degradar substâncias, muitas vezes perigosas para os seres humanos, transformando-as em produtos com pouca ou nenhuma toxicidade, principalmente CO₂ e água. Os microorganismos metabolizam substâncias orgânicas, das quais obtêm

nutrientes e energia, sendo que para isso devem estar ativos para poderem desempenhar sua tarefa de biorremediação.

Diferentes microorganismos degradam diferentes substâncias e alguns sobrevivem em condições extremamente adversas. Devido à elevada diversidade de compostos em solos contaminados por petróleo, ou frações do mesmo, estudos de biorremediação cada vez mais específicos têm se mostrado de suma importância para o tratamento de ambientes contaminados, visto que se podem encontrar moléculas de difícil e de fácil degradação (OLIVEIRA, 2001).

1.2 BIOAUMENTO E BIOESTIMULAÇÃO DE SOLOS CONTAMINADOS.

Desde meados dos anos 90, as estratégias de biorremediação têm sido adotadas como uma maneira extremamente eficaz e de baixo custo para o tratamento de solos contaminados com petróleo. Existem duas principais técnicas de utilização da biorremediação (LIEBEG e CUTRIGHT, 1999):

- Bioestimulação: na qual há aumento da população microbiana nativa pela adição de nutrientes e aceptores finais de elétrons.
- Bioaumento: na qual há o aumento da microbiota nativa através da inoculação de mais microorganismos ou de linhagens microbianas exógenas, ajustando -se as condições nutricionais.

As diferentes estratégias visam aumentar a população microbiana criando condições ambientais propícias para o seu desenvolvimento. A medida corretiva a ser adotada depende de vários fatores, dentre eles os tipos de microorganismos presentes, as condições do local como: pH, umidade, quantidade de nitrogênio, potássio, fósforo, concentração e toxicidade dos contaminantes.

Hoje muitos produtos são lançados no mercado com o intuito de auxiliar o tratamento de solos contaminados por petróleo. Esses produtos apresentam em sua composição básica micronutrientes, enzimas de ação externa e surfatantes que facilitam, e estimulam a ação microbiana sobre os poluentes. As enzimas de ação externa atuam favorecendo a oxidação de moléculas de difícil degradação em moléculas de fácil assimilação pelos microorganismos.

Existem dois tipos básicos de enzimas, que na presença de O₂, atuam na oxidação de hidrocarbonetos: as *monoxigenases* (que atuam sobre os *n-alcenos*) e as *dioxigenases* (que atuam sobre os *compostos aromáticos e cíclicos*). Já os surfatantes, atuam de maneira a "*biodisponibilizar*" o óleo para que este seja mais facilmente degradado pela microbiota. Alguns produtos comerciais apresentam em sua formulação microrganismos exógenos com o objetivo de "bioaumentar" o solo a ser tratado e melhorar as condições de degradação.

As técnicas de bioaumento que empregam a adição de microrganismos exógenos devem ser muito bem avaliadas, devido aos riscos ambientais que a inserção de um microrganismo não nativo, ao solo de uma determinada região pode gerar. Por esse motivo as técnicas de biorremediação que empregam apenas o uso da microbiota nativa podem vir a produzir resultados eficazes e de menor impacto ao meio ambiente.

2. OBJETIVO.

O Objetivo deste trabalho foi verificar a eficácia da utilização de quatro produtos comerciais, no processo de biorremediação de solo contaminado por hidrocarboneto de petróleo.

3. MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 AMOSTRAS DE SOLO

O solo utilizado nos experimentos foi o de Guararema - SP, contaminado por derramamento de óleo cru em dezembro de 1998. As amostras utilizadas foram as coletadas em outubro de 2000 (denominadas de 2ª remessa).

3.2 CONDIÇÕES DE ENSAIO

Os testes de biodegradação foram realizados em kitsatos de 250 ml, contendo 50 g de solo com teor de umidade correspondente à 50% da capacidade de campo. Foi realizada a correção de pH do solo (pH 7,0) e

ajuste das relações nutricionais C:N:P para 100:2.5:1. O teor de hidrocarbonetos presentes no solo é de 25,03 mg de TPH/g de solo seco.

Os produtos foram utilizados nas concentrações definidas pelos fabricantes e cujos valores estão apresentados na tabela 1.

Tabela 1. Condições de análise dos produtos.

Condições	Quantidades adicionadas de produto/ Kg de solo
Produto 1	11,4g / Kg de solo.
Produto 2	22,4 mL / Kg de solo.
Produto 3	11,6g / Kg de solo.
Produto 4	100 mL / Kg de solo.

3.3 QUANTIFICAÇÃO DA EVOLUÇÃO DE CO₂

O acompanhamento da atividade microbiana foi feito de forma indireta, através da quantificação de CO₂ gerado, por cromatografia gasosa.

Recolheu-se do sistema um volume de 500 µl da atmosfera interna dos kitsatos (headspace), contendo o CO₂, gerado pelas amostras para a análise cromatográfica.

O aparelho utilizado foi o cromatógrafo HP 5890 serie II, cujas condições de análise são as seguintes:

Vazão do gás de arraste: (He) 17.89 mL/min

Vazão do gás de referência: (He) 17.89 mL/min

Temperatura do detector: (TCD) 220°C

Temperatura do forno auxiliar: 74°C

Temperatura do forno: 105°C

Temperatura do injetor: 110°C

Coluna de aço inox (3m X 3mm) , recheada com chromossorb 102

Através dos valores em mmols do CO₂ gerado ao longo do experimento, calculou-se a Eficiência de Biodegradação da seguinte forma:

Massa de carbono biodegradado totalmente = 2 x Massa de carbono proveniente do CO₂ gerado

$$EB\% = \frac{(\text{massa de carbono biodegradado totalmente}) \times 100}{(\text{massa de carbono orgânico total})}$$

3.4 QUANTIFICAÇÃO DOS MICROORGANISMOS HETEROTRÓFICOS TOTAIS.

A quantificação dos microrganismos heterotróficos totais foi feita a partir do plaqueamento em meio orgânico sólido pela técnica de “pour plate” como descrito por (TRINDADE, 2002). Foram adicionados 5g de solo em erlenmeyer contendo 50mL de solução salina (NaCl 0,9%) e fez-se agitação em shaker por 1hora a 30°C. Após agitação, foi feito o plaqueamento adicionando-se 0,1 mL de diluições adequadas da suspensão salina nas placas. Incubou-se por 48 horas a 30°C e contou-se o numero de unidades formadoras de colônias (resultados expressos em UFC/g de solo).

3.5 MATÉRIA ORGÂNICA

O teor de matéria orgânica presente no solo foi determinado através de análise gravimétrica realizada com os solos (método de ignição), utilizando mufla a 1000°C por um período de 1 hora.

Com os resultados obtidos foram calculadas as eficiências de remoção de matéria orgânica (ERMO%) da seguinte forma:

$$\text{ERMO\%} = \frac{\text{M. O (Inicial)} - \text{M. O (Final)}}{\text{M.O (Final)}}$$

Onde M.O corresponde ao teor de matéria orgânica presente.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

A partir dos valores de CO₂ (mol) acumulado, ao longo do período de teste, para cada uma das condições testadas, calculou-se as eficiências de biodegradação, e os resultados obtidos são apresentados na figura 1.

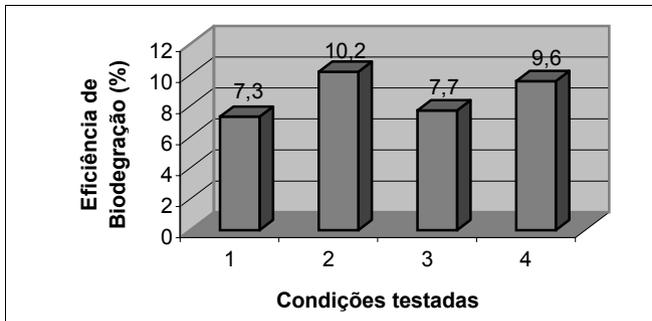


Figura 1. Eficiência de biodegradação das condições testadas.

De acordo com o observado na figura 1, a condição que apresentou a maior eficiência de biodegradação foi a nº 2 (10,2%), onde empregou-se um produto que não continha em sua formulação microrganismos exógenos. Entretanto, a condição nº 4 apresentou uma eficiência de biodegradação de 9,6%, muito próxima a observada na condição nº 2, sendo que o produto utilizado apresenta em sua composição microrganismos provenientes de outros sítios. As outras condições apresentaram eficiências de biodegradação mais baixas, condição nº 1 (7,3%) e condição nº 2 (7,7%).

Os fabricantes indicavam que as reaplicações desses produtos deveriam ser semanais, porém foi constatado que a perda de umidade no sistema em uma semana era muito pouca, sendo apenas necessário que se fizesse a reposição do produto quinzenalmente no caso das condições 1,2 e 3, e na condição 4, só foi feita apenas uma aplicação durante todo o período de teste.

A figura 2 apresenta a curva representativa da evolução de CO₂ para a condição nº 2, identificada como melhor condição testada.

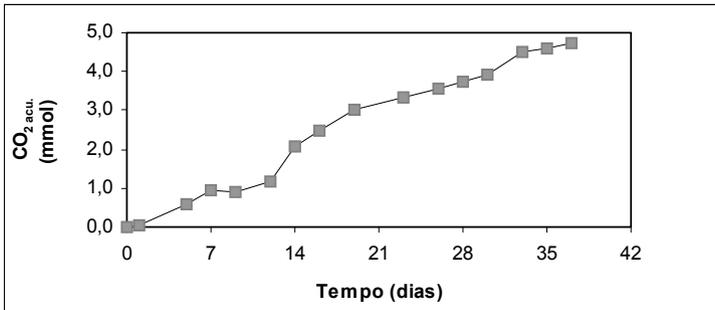


Figura 2. Evolução de CO₂ na condição nº 2.

Ao avaliarmos o gráfico percebemos uma evolução contínua e crescente do teor de CO₂ ao longo dos 37 dias de teste, indicando a possibilidade de se obter valores maiores de eficiência de biodegradação, em um período superior aos 37 dias em que os testes foram conduzidos.

Devido aos valores elevados de eficiência de biodegradação encontrados para a condição nº 2, uma amostra de solo foi enviada para quantificação de

hidrocarbonetos totais de petróleo (TPH) em laboratório externo, obteve-se um resultado de 13,7 mg de TPH/g de solo seco o que representa uma redução de 45,27% do teor inicial (25,03 mg de TPH/g de solo seco).

Na tabela 2 podemos observar os valores obtidos na contagem de microrganismos heterotróficos totais.

Tabela 2. Contagem de microrganismos heterotróficos totais.

Condição	Microorganismos heterotróficos inicial (UFC/g solo)	Microorganismos heterotróficos Final (UFC/g solo)
Produto 1	4,87E+09	3,80E+07
Produto 2	1,42E+07	5,79E+07
Produto 3	1,42E+07	4,55E+07
Produto 4	5,01E+09	2,04E+08

Obs: As condições nº 1 e 4 apresentam em sua composição inicial microrganismos exógenos nas seguintes concentrações: 4,87E+09 e 5,01E+09 UFC/ g solo, respectivamente

Avaliando os dados apresentados na tabela acima, vemos que houve um decréscimo no número de microrganismos heterotróficos nas condições nº 1 e 4 ao final do teste citado. As explicações para esse decréscimo podem ser: a competição entre os microrganismos presentes ou as condições existentes no teste foram pouco favoráveis ao crescimento destes microrganismos exógenos tendo possivelmente ocorrido o crescimento da própria microbiota nativa, presente em concentração inicial de 1,42E+07 UFC/g de solo.

Já nas condições nº 2 e 3 sem adição de microrganismos exógenos, vemos um ligeiro crescimento da microbiota nativa, sendo que a condição 2 apresentou maior eficiência de biodegradação.

De forma a facilitar a análise da eficiência de biodegradação das condições testadas em termos de remoção de matéria orgânica, faz-se necessária a divisão em duas categorias de produtos testados, aquela em que houve a incorporação de microrganismos exógenos e aquela em que não houve incorporação de microrganismos exógenos.

Nas figuras 3 e 4 são apresentados, os gráficos da eficiência de remoção de matéria orgânica dos dois grupos citados acima.

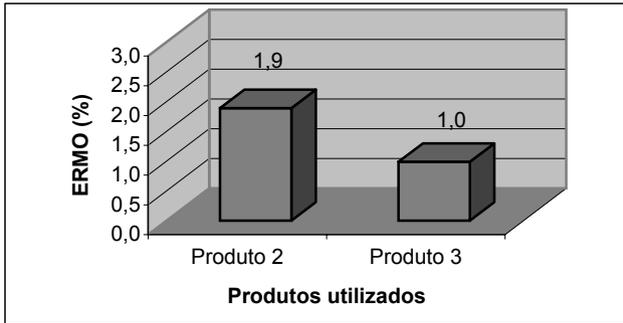


Figura 3. Gráfico da Eficiência de remoção de matéria orgânica dos produtos sem incorporação de microrganismos exógenos.

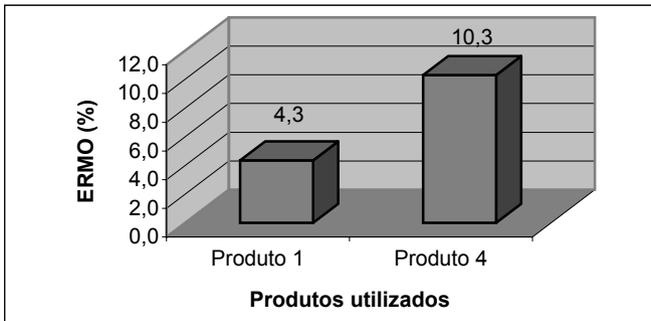


Figura 4. Gráfico da Eficiência de remoção de matéria orgânica dos produtos com incorporação de microrganismos exógenos.

Analisando-se os gráficos acima, vemos que dentre os produtos que não apresentam incorporação de biomassa ao solo, o que apresentou melhor eficiência de remoção de matéria orgânica foi o produto 2 (1,9%) e dentre os produtos com incorporação de microrganismos exógenos foi o produto 4 (10,3%). Mesmo os resultados tendo que ser comparados em grupos, devido

as diferentes características dos produtos adicionados, pode-se perceber que as das condições que apresentaram as maiores eficiências de remoção de matéria orgânica dentro de seu grupo, isto é, a condição nº 2 para o grupo com incorporação de biomassa, e a condição nº 4 para o grupo sem incorporação de biomassa, foram justamente as duas condições que apresentaram maiores eficiências de biodegração por CO₂ (10,2% e 9,6% respectivamente).

5. CONCLUSÕES

Dentre os produtos estudados os que obtiverem as maiores eficiências de biodegração foram os produtos 2 e 4, (10,2% e 9,6%). Apesar da pequena diferença nos resultados, o produto nº 2 apresenta-se como mais atrativo, pois não ocorre incorporação de microrganismos exógenos, gerando assim um menor risco ao meio ambiente.

A partir dos resultados obtidos com a análise de matéria orgânica, foi possível apenas perceber dentro dos dois grupos avaliados que as condições nº 2 e 4, apresentaram as maiores eficiências de remoção de matéria orgânica da mesma forma como apresentaram as maiores eficiências de biodegração por CO₂.

Mesmo que em termos gerais o produto nº 2 tenha sido melhor que os outros, é importante que futuramente também se faça análise de TPH das outras condições, para que se tenha resultados completos e definitivos afim de comparar suas eficiências.

BIBLIOGRAFIA

- de OLIVEIRA, F.J.S (2001)"Biorremediação de solo Arenoso Contaminado por Óleo Cru" Tese M. Sc., Universidade Federal do Rio de Janeiro, Escola de Química, Rio de Janeiro, 110 p.
- TRINDADE J. V. O., (2002). "Avaliação das técnicas de bioaugmentação e bioestimulação no processo de biorremediação de solo contaminado por hidrocarbonetos de petróleo.", Universidade Federal do Rio de Janeiro, Escola de Química.
- LIEBEG, E. W. e CUTRIGHT, T. J. (1999). "the investigation of Enhanced Biorremediation through the Addition of Macro and Micro Nutrients in PAH Contaminated Soil". *International Biodeteriation & Biodegradation*, **44**, 55-64.