

AVALIAÇÃO DA TÉCNICA DE BIOAUMENTO NO TRATAMENTO DE SOLO IMPACTADO POR PETRÓLEO

Hugo Monteiro de Magalhães

Bolsista de Inic. Científica, Química Bacharel e Licenciatura, UFF

Cláudia Duarte da Cunha

Orientadora, Eng^o. Química, M. Sc.

RESUMO

Dentre várias tecnologias de tratamentos de solos impactados por petróleo, a biorremediação destaca-se por ser o principal processo natural de remoção das várias frações desse contaminante do meio ambiente. Duas diferentes técnicas podem ser aplicadas no processo de biorremediação: bioestimulação e bioaumento. Neste trabalho, foi utilizada a técnica do bioaumento para tratamento de um solo impactado por petróleo há 4 anos.

Quatro sistemas foram testados variando o tamanho do inóculo do consórcio microbiano e a relação C:P. A adição do inóculo menor e a relação C:P menor, apresentou uma eficiência de biodegradação de 15,43% através da geração de CO₂ e uma remoção de 44,6% do óleo, através dos valores de TPH obtidos, apresentando potencial de utilização no processo de biorremediação do solo em estudo.

1. INTRODUÇÃO

Explorado comercialmente desde meados do século XIX, o petróleo foi usado, por muitas décadas, para iluminação e, em menor escala, como lubrificante. A invenção do motor de combustão interna e sua adoção rápida em todas as formas de transporte ampliaram o emprego desse recurso natural, aumentando a demanda e com isso, a produção, o transporte, a estocagem e a distribuição tanto do óleo cru quanto dos seus derivados. Todas essas atividades envolvem riscos de poluição. A poluição pode ser dada de forma acidental(derramamentos e vazamentos) ou de forma proposital (despejos indiscriminados de efluentes e resíduos, gases e particulados de chaminés industriais).

Dentre as várias tecnologias disponíveis para tratamento destes locais contaminados, a biorremediação, aproveita justamente a capacidade dos microrganismos em degradar substâncias orgânicas produzindo através da mineralização, CO₂ e água. Ela pode ser definida como a utilização de microrganismos para remover poluentes ambientais de solos, águas e sedimentos. Sendo assim considerada, a biorremediação, é o principal processo natural de remoção das várias frações de petróleo do meio ambiente.

Dois diferentes técnicas podem ser usadas no processo de biorremediação de ambientes contaminados. A primeira delas é a bioestimulação que consiste no favorecimento das condições ambientais (valor de pH teor e disponibilidade de nutrientes inorgânicos e aceptores finais de elétrons, dentre outros) para estimular a ação dos microrganismos presente no material contaminado. Outra técnica é a do bioaumento, na qual são introduzidos microrganismos com capacidade de degradar determinados poluentes. Essas espécie são selecionadas e introduzidas no meio para auxiliar na conversão desses poluentes em substâncias menos tóxicas.

Algumas destas tecnologias de tratamento, podem ser classificadas em duas categorias: *in situ* e *ex situ*. No caso das medidas *in situ*, o tratamento do solo contaminado é feito no próprio local. Já a *ex situ* consiste em escavar o solo contaminado para aplicar o tratamento em outro local.

Não existe uma regra para a escolha do tipo de tratamento de locais contaminados. Cada caso deve ser analisado individualmente, avaliando suas particularidades. A aceitação da biorremediação como uma tecnologia viável de remediação, porém, ainda depende da relação custo/benefício e os métodos empregados precisam ter no máximo os mesmos valores dos tratamentos químicos e físicos existentes.

2. OBJETIVO

O Presente trabalho teve como objetivo, utilizar a técnica do bioaumento para tratamento de solo contaminado por petróleo definindo o melhor tamanho de inóculo e a melhor concentração de fósforo para se obter uma melhor eficiência de biodegradação.

3. MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 Solo

O solo utilizado nos experimentos de biodegradação, foi contaminado há 4 anos devido a ocorrência de um vazamento de um oleoduto, em Guararema – São Paulo. O teor inicial de hidrocarbonetos totais de petróleo (TPH_{inicial}) era de 23,05mg/g.

3.2 Descrição do Sistema

Para realização dos ensaios de biodegradação, foram utilizados kitsatos de 250mL com rolhas de borracha/silicone com um tubo de látex fixado à saída lateral a qual foi vedada com uma pinça de Mohr, como pode ser visualizado na Figura1.



Figura1: Aparato experimental utilizado nos teste de biodegradação.

Foram adicionados 50g de solo contaminado, homogenizado e com pH corrigido para um valor próximo à neutralidade. O teor de umidade foi ajustado para 50% da capacidade de campo. Os frascos foram mantidos em estufa à 30°C por 37 dias.

3.3 Preparo das Amostras

Alguns procedimentos padrões foram adotados no preparo das amostras, tais como:

3.3.1 Secagem do Solo

Pelo fato do solo ser estocado em geladeira, este apresentava uma alta umidade. Como pretendiam-se realizar os experimentos nos solos contendo

um teor de umidade, de 50% da Capacidade de Campo, foi necessária a secagem a temperatura ambiente para ajuste após adição de inóculo e nutrientes.

3.3.2 Correção do pH

A Correção do pH foi feita adicionando-se $\text{Ca}(\text{OH})_2$ em quantidade suficiente para elevar o pH para próximo da neutralidade através de uma curva de calibração elaborada anteriormente.

3.3.3 Inóculo

Foram testados dois tamanhos de inóculo distintos do consórcio microbiano constituído por *Rhodotorula glutinis* e *Nocardia nova* a saber: 10^8 e 10^{10} UFC/g solo.

As cepas foram crescidas separadamente em meio mineral contendo óleo cru como única fonte de carbono. Após o tempo necessário para cada uma atingir a fase exponencial de crescimento, de acordo com a análise obtida em fase preliminar, alíquotas foram retiradas e diluídas para obtenção da concentração desejada.

3.3.4 Correção de Nutriente

A correção de fósforo foi realizada utilizando solução de fosfato dibásico de potássio (K_2HPO_4). As seguintes relações C:P 100:1 e 100:2, foram utilizadas nos experimentos.

3.3.5 Aeração

Pelo fato do processo em estudo ser aeróbico, fez-se a aeração dos sistemas em intervalo de 48h, com objetivo de suprir a demanda de oxigênio requerida pelos microrganismos, bem como expulsar o CO_2 gerado após monitoramento do mesmo. Esse processo foi realizado por meio de injeção de ar comprimido aos frascos por dois minutos.

3.4 Determinações Quantitativas

Algumas determinações quantitativas foram realizadas durante a condução dos ensaios.

3.4.1 Análise Cromatográfica do CO₂ Produzido:

Com o auxílio da seringa, do tipo Gas Tight, apropriada para análises cromatográficas gasosas, foram injetadas no Cromatógrafo gás HP 5890, amostras de 0,5mL das atmosferas internas dos kitsatos (*headspaces*) referentes às condições analisadas.

As condições gerais empregadas nas análises encontram-se listadas:

- ⇒ Vazão do Gás de Arraste (He): 17,5mL
- ⇒ Vazão do Gás de Referência (He): 29,0mL
- ⇒ Temperatura do Forno: 105°C
- ⇒ Temperatura do Injetor: 110°C
- ⇒ Temperatura do Detetor de condutividade Térmica (TCD): 220°C
- ⇒ Coluna de Aço Inox (3mx3m) Recheada com Chromosorb 102

O monitoramento do CO₂ gerado, foi feito por cromatografia gasosa e a eficiência de biodegradação dos contaminantes calculada através da fórmula:

$$EB (\%) = (C_{\text{consumido}} \times 100) / C_i$$

onde: $C_{\text{consumido}} = 2 \times (\text{CO}_2 \text{ acumulado} - \text{CO}_2 \text{ acumulado no controle})$; C_i = concentração inicial de carbono = 85% da concentração inicial de TPH.

3.4.2 Quantificação dos Microrganismos Heterotóficos Totais:

A quantificação da população microbiana heterotrófica total foi feita a partir do plaqueamento em meio orgânico sólido pela técnica de *pour plate*. Foram adicionados 5g de solo em 50mL de solução salina (NaCl 0,9%) e fez-se a agitação da suspensão em *shaker* por 1 hora a 30°C. Após agitação, então, foi feito o plaqueamento adicionando 0,1ml de diluições adequadas da

suspensão salina nas placas. Incubou-se por 48 horas a 30°C e contou-se o número de unidades formadoras de colônias (resultados expressos em UFC/g_{solo})

3.4.3 Determinação de Hidrocarbonetos Totais de Petróleo:

Esta foi uma análise complementar que foi realizada por Cromatografia Gasosa de Alta Resolução, conforme o Método EPA 8015B, realizada por um laboratório externo (Analytical Solution).

3.5 Ensaio de Biodegradação

Os experimentos de biodegradação foram realizados variando-se o tamanho de inóculo e a relação C:P, em quatro sistemas de tratamento a saber:

- ⇒ Sistema 1: Tamanho de inóculo de 10^8 UFC/g solo e relação C:P 100:1
- ⇒ Sistema 2: Tamanho de inóculo de 10^{10} UFC/g solo e relação C:P 100:1
- ⇒ Sistema 3: Tamanho de inóculo de 10^8 UFC/g solo e relação C:P 100:2
- ⇒ Sistema 4: Tamanho de inóculo de 10^{10} UFC/g solo e relação C:P 100:2

Os experimentos foram realizados em duplicata, sendo também utilizados mais dois frascos de sacrifício para determinação quantitativa inicial e final de microrganismos heterotróficos totais.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados de CO₂ gerado para cada sistema nos ensaios de biodegradação, estão apresentados na figura 2.

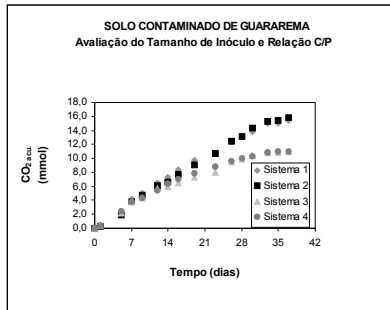


Figura 2: Curva de evolução de CO₂

Verifica-se um acréscimo de CO₂ liberado para as 4 condições, até o 28º dia de teste, aproximadamente. Após esse tempo, observa-se um início de estabilização para os sistemas 3 e 4 (relação C:P maior), o que não procede para os sistemas 1 e 2 (relação C:P menor) que geram CO₂ de forma crescente durante todo período de teste (37 dias).

Essa tendência reforça a possibilidade de obtenção de maiores eficiências de biodegradação em períodos superiores a 37 dias. Possivelmente, o fator limitante do processo de biodegradação está associado à sorção do poluente à matriz do solo, resultante do intemperismo, além da relevante fração recalcitrante que permanece no solo após 4 anos de contaminação.

Baseado na quantidade de CO₂ gerado e acumulado para cada sistema, fez-se o cálculo da eficiência de biodegradação, cujos resultados finais seguem apresentados na tabela 1 e figura 3.

Tabela 1 – Resultado das Eficiências de Biodegradação para cada sistema em 37 dias.

Sistemas	EB%
1	15,43
2	15,83
3	10,94
4	11,03

Sistema 1= inóculo 10⁸UFC/g solo e relação C:P 100:1; sistema 2= inóculo 10¹⁰UFC/g solo e relação C:P 100:1; sistema 3 = inóculo 10⁸UFC/g solo e relação C:P 100:2; sistema 4= inóculo 10¹⁰UFC/g solo e relação C:P 100:2

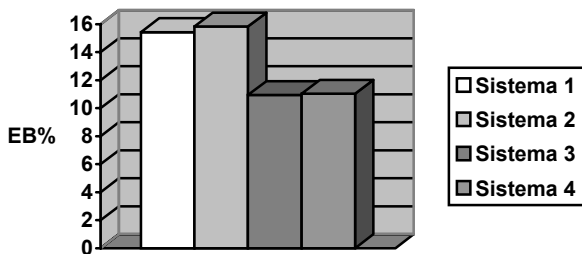


Figura 3: Gráfico das Eficiências de Biodegradação

Observou-se uma maior eficiência de biodegradação para os sistemas 1 e 2 que utilizaram menor concentração de fósforo, frente aos sistemas 3 e 4 que utilizaram uma maior concentração de fósforo, independente do tamanho de inóculo, comprovando o efeito inibitório do fósforo quando corrigido para relação C:P de 100:2. Como não houve diferença significativa entre os resultados obtidos com os dois tamanhos de inóculo testados, o uso do inóculo menor se torna mais atraente em função do menor custo envolvido com a sua utilização. O valor obtido com a quantificação dos hidrocarbonetos totais de petróleo para o sistema 1, selecionado como a melhor condição, foi de 13,86 mg/g solo, mostrando uma redução de 44,6% em relação ao valor de TPH inicial, confirmando os resultados obtidos com a geração de CO₂.

Segue na tabela 2, os valores das contagens de microrganismos heterotróficos totais no início e no final do experimento.

Tabela 2 – Contagem de Microrganismos Heterotróficos Totais.

Condições	Microrganismos Heterotróficos Totais	
	Inicial (UFC/gsolo)	Final (UFC/gsolo)
Solo	$1,05 \times 10^6$	-----
Sistema 1	$1,86 \times 10^8$	$8,06 \times 10^6$
Sistema 2	$1,00 \times 10^{10}$	$6,20 \times 10^6$
Sistema 3	$1,86 \times 10^8$	$2,20 \times 10^7$
Sistema 4	$1,00 \times 10^{10}$	$7,80 \times 10^7$

Sistema 1= inóculo 10^8 UFC/g solo e relação C:P 100:1; sistema 2= inóculo 10^{10} UFC/g solo e relação C:P 100:1; sistema 3 = inóculo 10^8 UFC/g solo e relação C:P 100:2; sistema 4= inóculo 10^{10} UFC/g solo e relação C:P 100:2

Pelos valores da contagem de microrganismos heterotróficos totais, observou-se um decréscimo da população microbiana em todos os sistemas testados em relação ao valor inicial, mas atingiu valores próximos ou superiores ao da microbiota indígena do solo no tempo 0 h. A queda do número de microrganismos, após longo tempo de biodegradação, é comumente observada e pode estar relacionada com a diminuição da capacidade de determinados microrganismos em degradar o contaminante. Essa queda mais pronunciada da população microbiana pode refletir, em parte, uma maior susceptibilidade às condições adversas encontradas após 37 dias de experimento, ou seja, relação nutricional não favorável ou incapacidade de metabolizar compostos mais recalcitrantes, dentre outros.

5. CONCLUSÕES

- ⇒ Para o consórcio microbiano constituído de *Rhodotorula glutinis* e *Nocardia nova*, o melhor tamanho de inóculo obtido foi o de 10^8 UFC/ g solo em função de não ter havido diferenças significantes entre os dois valores testados na concentração ótima de fósforo.
- ⇒ A correção do teor de fósforo para a relação C:P 100:2 apresentou efeito inibitório, sendo portanto a relação C:P 100:1, a melhor a ser utilizada nos ensaios de biodegradação.

⇒ A adição do inóculo de 10^8 UFC/ g solo do consórcio microbiano constituído de *Rhodotorula glutinis* e *Nocardia nova* na relação C:P de 100:1, apresentou uma eficiência de biodegradação de 15,43% através da geração de CO₂ e uma remoção de 44,6% através dos valores de TPH obtidos apresentando potencial de utilização no processo de biorremediação do solo em estudo.

BIBLIOGRAFIA

- TRINDADE, J. V. O. (2002). "Avaliação das técnicas de bioaumentação e bioestimulação no processo de biorremediação de solocontaminadopor 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 thought the adition of macro and micro nutrients in PAH contaminated soil", International biodeteriantion & biodegradetion, 44, 55-64.