

AVALIAÇÃO DA BIOTRATABILIDADE DE SOLOS CONTAMINADOS POR HIDROCARBONETOS DE PETRÓLEO

Christiane Trigueiros Macedo

Bolsista de Inic. Científica, Quím. Industrial, UFF

Adriana Ururahy Soriano

Orientadora, Eng^a. Química, D. Sc.

RESUMO

Neste trabalho foram realizados ensaios de caracterização físico-química de dois solos (REFINARIA e TERMINAL) contaminados por hidrocarbonetos de petróleo, assim como experimentos para avaliação da biotratabilidade dos

mesmos. Tais etapas visaram a verificação da aplicabilidade dos conceitos de biorremediação para fins de descontaminação dos referidos solos.

1. INTRODUÇÃO

A contaminação de solos por hidrocarbonetos é um problema constantemente enfrentado pelas indústrias petroleiras, uma vez que vazamentos de substâncias oleosas em larga escala ocorrem freqüentemente. No entanto, pouco se sabe ainda à respeito da biotratabilidade destes solos, sobretudo daqueles de natureza argilosa. Resumidamente, os hidrocarbonetos podem ser degradados através de três vias metabólicas distintas: respiração aeróbica, respiração anaeróbica e fermentação; verifica-se, no entanto, que a biodegradação de hidrocarbonetos ocorre mais frequentemente em condições de aerobiose⁽¹⁾. Alguns fatores podem afetar a taxa de biodegradação dos hidrocarbonetos de petróleo em solo, tais como temperatura (as taxas de biodegradação aumentam com o aumento da temperatura, sendo que o valor ideal oscila entre 30 e 40°C), pH (um valor próximo à neutralidade favorece o processo, devido a maior resistência microbiana), concentração de nutrientes (o ajuste da razão carbono/ nitrogênio/ fósforo estimula a biodegradação), suprimento de oxigênio (condições aeróbicas), disponibilidade de matéria orgânica (fonte

de energia para microorganismos heterotróficos, maioria em solos), além das características do próprio solo e da natureza das interações solo/contaminante^(2,3,4). Desta forma, antes do estabelecimento de uma alternativa de tratamento para um dado solo, deve-se avaliar a tratabilidade do mesmo, sob diferentes condições.

1.1. Fundamentos teóricos

Uma vez que os microorganismos utilizam o oxigênio em sua cadeia respiratória gerando CO₂ (ciclo de Krebs), a quantificação da emissão deste gás possibilita uma estimativa da atividade do consórcio microbiano envolvido no processo de biodegradação de compostos orgânicos. Em condições aeróbicas, a matéria orgânica disponível como fonte de energia para os microorganismos é transformada em CO₂ e água (produtos de sua completa mineralização) com grande liberação de energia. Esta energia, conservada e disponibilizada sob a forma de ATP, possibilita o crescimento celular, já que pode ser utilizada na síntese de proteínas, entre outros biopolímeros. Muitas espécies de microorganismos são capazes de consumir hidrocarbonetos de petróleo, utilizando-os como fonte de energia (para síntese de ATP) e de carbono (para síntese de biomoléculas). Neste caso, parte da matéria orgânica é incorporada à biomassa (cerca de 50%) e parte é transformada em CO₂ (50% restantes). O conhecimento deste fenômeno celular permite estimar, através da quantificação do gás liberado (CO₂), O total de contaminante consumido^(1,5). Esta ferramenta foi empregada no presente trabalho para fins de avaliação do potencial degradador dos microorganismos presentes nos próprios solos contaminados estudados.

2. OBJETIVO

Caracterizar dois solos, REFINARIA e TERMINAL, contaminados por hidrocarbonetos de petróleo (óleo combustível e óleo cru, respectivamente) e realizar ensaios de biodegradabilidade, a fim de avaliar a biotratabilidade dos mesmos, sob diferentes condições (com e sem bioestimulação).

3. MATERIAIS E MÉTODOS

3.1. Caracterização das amostras

Duas amostras de solos distintos foram utilizadas neste estudo; um proveniente de um terminal e outro proveniente de uma refinaria, sendo este último uma composição de um solo com alto nível de contaminação (34%) e outro com baixa contaminação (66%). Com base em análises químicas, físicas e microbiológicas realizadas previamente, partiu-se para a determinação dos teores de umidade, capacidade de campo e pH nessas duas amostras.

- Determinação do pH: Pesou-se cerca de 10g do solo em um frasco erlenmeyer, adicionou-se 25mL de água ao recipiente e agitou-se em “shaker” por 1h. Após a agitação, fez-se a leitura do pH (eletrodo de pH).

- Determinação de umidade: Pesou-se cerca de 10g de solo homogeneizado em um bécher, que foi acondicionado em estufa à 110°C por 24h. Após a secagem do solo, determinou-se novamente sua massa (peso constante), para então calcular o seu teor de umidade através da fórmula:

$$\% \text{ umidade} = (m \text{ água} / m \text{ solo úmido}) \times 100, \text{ onde:}$$
$$m \text{ água} = m \text{ solo úmido} - m \text{ solo seco}$$

- Determinação da capacidade de campo: Pesou-se em uma proveta uma certa quantidade de solo, suficiente para formar uma pequena coluna. Adicionou-se água ao solo, gota a gota, até que percolasse toda a coluna de solo chegando ao fundo da proveta. Pesou-se novamente o frasco, que foi acondicionado por 24h em estufa a 110°C. Após a secagem do material, determinou-se sua capacidade de campo através da fórmula:

$$\text{Capacidade de campo (\%)} = (m \text{ água retida} / m \text{ solo úmido}) \times 100, \text{ onde:}$$
$$m \text{ água retida} = (m \text{ solo úmido} + m \text{ água adicionada}) - (m \text{ solo seco})$$

OBS: Antes da determinação do teor de umidade e da capacidade de campo nos solos, o óleo presente foi extraído com CCl₄.

- Preparação das curvas de neutralização: Pesou-se cerca de 10g de solo em frasco erlenmeyer, adicionou-se 25mL de água ao recipiente e Ca(OH)₂, variando-se a massa adicionada em cada frasco a fim de obter pontos para a construção das curvas de neutralização. Agitou-se em “shaker” por 24h realizando-se em seguida a leitura do pH (eletrodo de pH).

3.2. Preparo das amostras para ensaio de biodegradação

Pesou-se, em um kitazato, 50g do solo contaminado homogeneizado e de concentração inicial de hidrocarbonetos conhecida. Foram estabelecidas três condições para este ensaio:

- Primeira condição: Frasco controle estéril, desinfetado com azida de sódio (0,3%).
- Segunda condição: Frasco bioestimulado (correção de pH e nutrientes). Neutralizou-se a amostra com hidróxido de cálcio (Ca(OH)_2), adicionado em quantidade determinada através das curvas de neutralização construídas para os dois solos. Após 24 horas, introduziram-se os nutrientes NPK, seguindo a relação C:N:P:K = 100:10:1:1, através da adição de nitrato de amônio (NH_4NO_3) e de fosfato de potássio dibásico (K_2HPO_4).
- Terceira condição: Frasco contendo o solo original (não corrigido).

Em todas as condições acima descritas, recompôs-se a umidade até 50-75% da capacidade de campo do solo (apenas o solo TERMINAL), homogeneizou-se a mistura com bastão e tampou-se o frasco com rolha, vedando a saída lateral (tubo de látex) com a pinça de Mohr. Os frascos foram incubados, em duplicata, em estufa a 30°C durante 42 dias, sendo retirados da mesma a cada 24 horas para análise cromatográfica (monitoramento da atividade respiratória microbiana por evolução de CO_2), aeração e, quando necessário, nova correção da umidade.

3.3. Análise cromatográfica do CO_2 produzido

Retirou-se 0,5mL da atmosfera interna do kitazato ("headspace") introduzindo-se uma seringa no tubo de látex, após rinsá-la por três vezes. Todas as análises foram realizadas em duplicata. As condições gerais de análise empregadas durante o ensaio encontram-se listadas abaixo.

- Equipamento: Cromatógrafo a gás HP 5890
- Vazão do gás de arraste (He): 17,5mL / min
- Vazão do gás de referência (He): 29,0 mL / min
- Temperatura do forno: 105°C
- Temperatura do injetor: 160°C
- Temperatura do detector de condutividade térmica (TCD): 220°C
- Coluna de aço inox (3m X 3mm) recheada com Chromosorb 102

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1. Caracterização da amostra

Os teores de umidade e capacidade de campo e o pH dos solos encontram-se na tabela anexa.

Tabela 1 – Umidade, capacidade de campo e pH dos solos da refinaria e do terminal

Solo	Umidade (%)	Capacidade de campo (%)	pH
REFINARIA	21,10	26,09	5,02
TERMINAL	10,74	26,88	4,23

Com base nos resultados acima, verificou-se que a umidade do solo REFINARIA já se encontrava acima da % de capacidade de campo recomendada (50-75%); portanto, apenas o solo TERMINAL sofreu uma pequena correção para igualar às condições de umidade existentes no solo REFINARIA.

4.2. Análise Cromatográfica

Os gráficos a seguir representam as curvas de evolução de CO_{2(g)} acumulado durante os 42 dias de ensaio de biodegradação, evoluções estas calculadas a partir dos somatórios das produções diárias de CO₂ para cada condição avaliada. Todos os pontos foram calculados com base no valor médio dos resultados de injeção obtidos para cada uma das duplicatas.

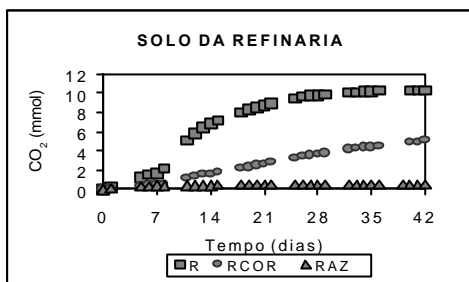


Figura 1 – Curva de evolução de CO₂ no solo REFINARIA (valores médios), onde: R= solo não corrigido; RCOR= solo com acerto de pH e nutrientes e RAZ= controle estéril.

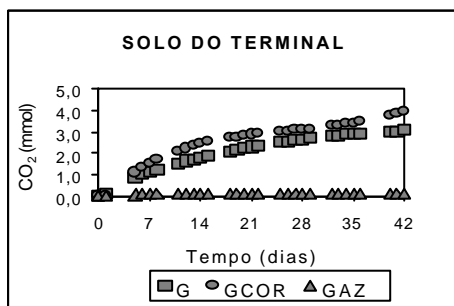


Figura 2 – Curva de evolução de CO₂ no solo TERMINAL (valores médios), onde: G= solo não corrigido; GCOR= solo com acerto de pH e nutrientes e GAZ= controle estéril.

Na figura 1, observou-se que a correção de nutrientes e pH no solo REFINARIA foi prejudicial (ou excessiva) pois a evolução acumulada de CO₂ durante o ensaio foi menor que a apresentada pelo solo que não sofreu nenhuma correção. Na figura 2, observou-se que a correção de nutrientes e de pH foi benéfica porém insuficiente para o solo TERMINAL, pois observou-se um aumento muito discreto da taxa de biodegradação. Os frascos controle de ambos, como já era esperado, não exibiram evolução de CO₂.

A fim de determinar qual fator (correção de pH e/ou de nutrientes) que efetivamente contribuiu para a baixa biodegradabilidade dos contaminantes presentes nos solos, realizou-se um ensaio complementar no qual apenas um dos fatores foi corrigido, isto é, nas amostras onde se corrigiu o pH não se corrigiu a relação de nutrientes e vice-versa. Os gráficos a seguir (Figuras 3 e 4) mostram o efeito da correção desses fatores sobre as eficiências de biodegradação dos solos, calculadas através da seguinte fórmula:

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

Onde:

$C_{\text{cons}} = 2 \times [\text{CO}_2(\text{acum. em 42 dias}) - \text{CO}_2(\text{acum. controle em 42 dias})]$;

C_i = concentração inicial de carbono no frasco
(85% p/p do total de hidrocarbonetos presente no solo)

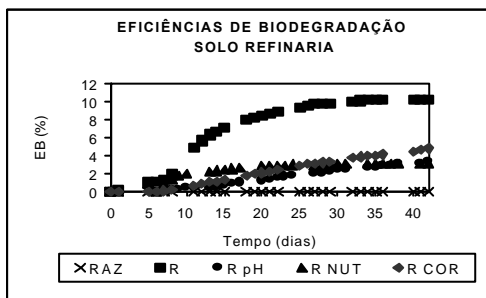


Figura 3: Curvas de eficiência de biodegradação do solo REFINARIA (valores médios), onde: RAZ= controle estéril; R= solo não corrigido; R pH= solo com acerto de pH; Rnut= solo com acerto de nutrientes; Rcor= solo com acerto de pH e de nutrientes.

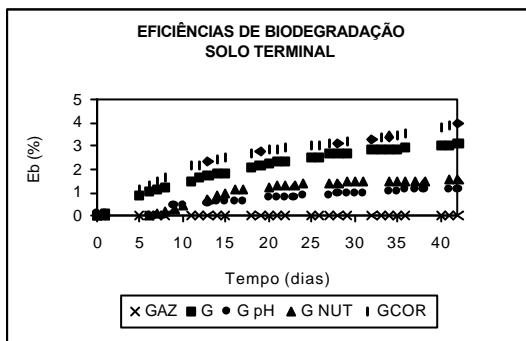


Figura 4: Curvas de eficiência de biodegradação do solo TERMINAL (valores médios), onde: GAZ= controle estéril; G= solo não corrigido; GpH= solo com acerto de pH; Gnut= solo com acerto de nutrientes; GCOR= solo com acerto de pH e de nutrientes

Na figura 3, observou-se que a eficiência de biodegradação apresentada pelo solo REFINARIA foi praticamente a mesma corrigindo-se os dois ou apenas um dos dois fatores e que ambas foram prejudiciais, pois foram inferiores a eficiência de biodegradação da amostra não corrigida. Na figura 4, verificou-se que a correção apenas do pH ou da relação de nutrientes foi prejudicial para o solo TERMINAL, já que a eficiência de biodegradação dessas amostras foi ainda menor que a da amostra sem nenhuma correção. Tais resultados permitiram concluir que o solo da REFINARIA não responde de forma positiva aos estímulos, provavelmente em função do equilíbrio estabelecido na condição não corrigida (solo original). Esta constatação pode ser em parte explicada pelo extenso período de tempo decorrido entre o derramamento do óleo e o tratamento do solo. Vale ressaltar que a heterogeneidade do solo REFINARIA dificultou a obtenção de resultados confiáveis, o que, aliado à inércia oferecida pelo sistema mediante a estimulação contribuiu para a escolha do solo TERMINAL como modelo para a continuidade do trabalho.

Embora os resultados obtidos após o estímulo para o solo TERMINAL não tenham sido da magnitude esperada, notou-se uma nítida influência positiva da prática da bioestimulação. Da mesma forma, foi visto que a correção de

pH e nutrientes, de forma conjunta, deve ser a estratégia adotada, uma vez que a correção desses fatores separadamente não proporcionou ganho na atividade microbiana. Também no solo TERMINAL verificou-se uma certa inércia do sistema, mesmo sob condições estimuladas. Tal comportamento também resulta do longo tempo decorrido entre os eventos de contaminação e tratamento do solo. A tabela que se segue mostra a eficiência de biodegradação verificada ao final dos 42 dias de testes para ambos os solos.

Tabela 2: Eficiências de biodegradação (%) para os solos REFINARIA e TERMINAL

REFINARIA		TERMINAL	
Controle	0	Controle	0
Não corrigido	10,2	Não corrigido	3,1
pH corrigido	3,3	pH corrigido	1,2
Nutrientes corrigidos	3,2	Nutrientes corrigidos	1,5
Bioestimulado	4,8	Bioestimulado	4,0

Os baixos valores de eficiência evidenciados na Tabela 2 apontam para a necessidade de se buscar estratégias para contornar a limitação observada à ação microbiana sobre os poluentes orgânicos no solo selecionado como modelo de estudo (TERMINAL). Neste sentido, encontram-se em andamento experimentos análogos aos realizados no presente trabalho, nos quais se tem investigado não apenas o efeito do tempo decorrido entre contaminação e tratamento sobre a extensão da biodegradação, mas também a influência da adição de microorganismos (bioenriquecimento) e de agentes tensoativos (surfactantes)⁽⁶⁾ no processo de biorremediação do solo escolhido como modelo (TERMINAL).

5. CONCLUSÕES

↯ A metodologia proposta se mostrou útil na avaliação do consumo de hidrocarbonetos por via microbiana, possibilitando a análise dos perfis de comportamento dos sistemas contaminados, sob diferentes condições nutricionais e de pH.

↯ A análise das quantidades de CO₂ geradas ao longo de 42 dias de teste de biodegradação, para cada uma das condições estudadas, possibilitou afirmar que o solo REFINARIA não respondeu positivamente aos estímulos, provavelmente devido ao extenso período de tempo decorrido entre o derramamento do óleo e o tratamento do solo. Para este solo, tal análise foi em muito dificultada, face à heterogeneidade do solo em questão.

↯ No solo TERMINAL a prática da bioestimulação (correção de nutrientes+pH) foi nitidamente positiva, embora o sistema tenha apresentado uma certa inércia mesmo sob condições estimuladas. Este comportamento também resulta do longo tempo decorrido entre a contaminação e o tratamento do solo.

↯ A implementação ou a proposição de um processo biológico de recuperação dos solos investigados neste trabalho requer a busca de condições de tratamento mais adequadas, apontando, portanto, para a necessidade de efetuação de testes complementares, ora em andamento. Para tal, vem sendo adotado, como modelo, o solo TERMINAL.

6. BIBLIOGRAFIA

- 1) Ururahy, A. F. P. (1998). "Biodegradação de resíduo oleoso proveniente de Refinaria de Petróleo". *Tese D.S.C., Universidade Federal do Rio de Janeiro, Escola de Química*, Rio de Janeiro, Brasil, 344p.
- 2) Leahy, J. G.; Colwell, R.R. (1990). "Microbial Degradation of Hydrocarbons in the Environment". *Microbiological Reviews*, 54 (3), 305-315.
- 3) Englert, C. J.; Kenzie, E.J. (1993). "Bioremediation of Petroleum Products in Soil" in "Princ. Prac. Pet. Contam. Soils". *API*, 40, 111-129.
- 4) Infante, C.; Gonzáles, O. (1995). "Comparacion del proceso de biodegradacion de lodos petrolizados en biorreactores y en suelos". *Vision Tecnologia*, 3 (1), 29-33.
- 5) Brock, T. D.; Madigan, M. T.; Martinko, J. M.; Parker, J. (1994). "Metabolism, Biosynthesis and Nutrition" in "Biology of microorganisms". *Prentice Hall International Editions*, 7th ed., New Jersey, U.S.A., 89-127.
- 6) Lin, S. C. (1996). "Biosurfactants: Recents Advances". *J. Chem. Tech. Biotechnol.*, 66, 109-210.