

VI-044 – ESTUDO DO POTENCIAL DE BIORREMEDIAÇÃO DE ÓLEO DIESEL EM SOLOS ÁCIDOS CONTAMINADOS ATRAVÉS DE ATENUAÇÃO NATURAL E DA UTILIZAÇÃO DE SURFACTANTES

Isabela Márcia de Carvalho Luiz⁽¹⁾

Engenheira Ambiental e Sanitarista pelo Centro Federal de Educação Tecnológica de Minas Gerais (CEFET MG).

Patrícia Procópio Pontes

Engenheira Química pela Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG). Mestre e Doutora em Saneamento Meio Ambiente e Recursos Hídricos pela UFMG. Professora do Centro Federal de Educação Tecnológica de Minas Gerais (CEFET MG).

Endereço⁽¹⁾: Av. Amazonas, 5253 – Nova Suiça - Belo Horizonte - MG - CEP: 30421-169 - Brasil - Tel: (31) 3319-7151 - e-mail: patricia@des.cefetmg.br

RESUMO

Os acidentes ambientais envolvendo hidrocarbonetos de petróleo são motivo de grande preocupação na atualidade. A contaminação de aquíferos por vazamentos de petróleo é uma das possíveis ameaças para a qualidade das águas. Compostos provenientes de óleo diesel estão entre os hidrocarbonetos de petróleo que podem causar problemas ambientais, podendo apresentar potencial carcinogênico. A presente pesquisa buscou avaliar o efeito da adição de surfactantes no processo de biorremediação de solos contaminados com óleo diesel, contribuindo para um maior entendimento e uma maior aplicabilidade de uma tecnologia de tratamento de menor custo. Para a preparação dos microcosmos e estudo do processo de biodegradação, foram utilizadas amostras de solo, em respirômetros incubados em temperatura controlada no escuro. O solo a ser utilizado nos experimentos foi obtido da Região Metropolitana de Belo Horizonte. Após a sua caracterização, o solo foi contaminado com o óleo diesel, objetivando simular a contaminação por vazamentos de resíduos. Foram realizados experimentos com e sem a adição do surfactante SDS (Dodecil Sulfato de Sódio ou Lauril Sulfato de Sódio) para avaliação do seu efeito no processo de biodegradação. A verificação do desempenho da técnica de biorremediação aplicada aos solos contaminados foi realizada através da medida da produção microbiana de CO₂. Os resultados indicaram que a adição do surfactante SDS no solo não promoveu melhoria no processo de biorremediação de solos contaminados com óleo diesel, visto que na amostra desprovida de surfactante houve uma maior degradação do óleo diesel no intervalo de tempo estudado.

PALAVRAS-CHAVE: Biorremediação, Óleo diesel, Solos contaminados.

INTRODUÇÃO

O setor petrolífero corresponde pela geração de 40% de toda a energia mundial. Acidentes ambientais ocorrem durante as etapas de exploração e comercialização de petróleo, podendo causar graves danos ao meio ambiente e à saúde humana. A contaminação de aquíferos por vazamentos de petróleo é uma das possíveis ameaças da qualidade de águas. Compostos provenientes de óleo diesel estão entre os hidrocarbonetos de petróleo que podem causar problemas ambientais. Esses compostos possuem cadeias mais longas, contribuindo para menor mobilidade e solubilidade em água, em comparação à gasolina, entretanto os PAH's (hidrocarbonetos policíclicos aromáticos), presentes no diesel, são considerados de potencial carcinogênicos podendo provocar graves problemas em caso de vazamento. De acordo com a Agência Nacional de Petróleo, no Brasil existem cerca de 40 mil postos de combustíveis, sendo a maioria desses postos construída na década de 70. Considerando uma média de vida útil de 25 anos para tanques subterrâneos, supõe-se que eles já estejam comprometidos. De acordo com a CETESB, os postos respondem a 63% das áreas contaminadas em São Paulo (SUGIMOTO, 2004). Em Minas Gerais, os postos de combustíveis (óleo diesel, gasolina) são os principais poluidores do solo. De acordo com a FEAM (Fundação Estadual do Meio Ambiente), dos 56 locais com solo contaminado no estado de Minas Gerais, 55 se originam de postos de combustíveis (FREITAS, 2009).

Estudos da biodegradação de hidrocarbonetos de petróleo têm demonstrado a possibilidade de aplicação de tratamento biológico para esse tipo de composto orgânico (MOURA *et al*, 2005), devendo-se avaliar os fatores

que podem limitar o processo de biodegradação antes de se utilizar esse tratamento (YERUSHALMI *et al*, 2003). O uso da biodegradação é uma das técnicas de maior destaque entre os ambientalistas como a maneira adequada de se eliminar contaminantes da água e do solo.

Numerosos estudos indicam que o pré-tratamento do solo com surfactantes para solubilizar compostos hidrofóbicos aumenta a biodegradação desses contaminantes. Tipo do solo, pH, capacidade de troca de cátions, tamanho, permeabilidade e tipo de contaminantes afetam a eficiência de remoção (MULLIGAN, 2001). Um estudo sobre o uso de surfactantes Tween 80 e Aerosol 80 na remediação de resíduos oleosos no solo e em águas subterrâneas foi realizado por Franzetti *et al* (2006). Nesse estudo, a sorção e biodegradabilidade dos surfactantes foram avaliadas para se delimitar as condições e limitações de seu uso. Tween 80 apresentou um alto grau de biodegradação, mas uma grande afinidade pela matriz do solo, o que limita seu uso para remediações *in situ*. Aerosol MA+ 80 apresentou baixo grau de biodegradabilidade e mineralização, levando à acumulação de compostos intermediários de degradação. Assim, o uso desse composto na remediação de aquíferos requer cuidados para evitar a perda do produto e o excesso do surfactante deve ser removido do solo.

No entanto, apesar das pesquisas existentes sobre biorremediação de solos contaminados com hidrocarbonetos de petróleo, ainda não existem estudos detalhados sobre o efeito do uso de surfactantes na biodegradação de óleo diesel no solo, sendo necessária a realização de novas pesquisas para obtenção de dados conclusivos sobre o processo.

Diante desses problemas, é de grande importância avaliar as técnicas de remediação de áreas contaminadas por hidrocarbonetos de petróleo. A presente pesquisa pretende, dessa forma, avaliar o efeito da utilização de surfactantes no processo de biorremediação de solos contaminados com óleo diesel. O estudo das técnicas de biorremediação contribuirá para um maior conhecimento de uma tecnologia de menor custo, em relação às outras existentes, podendo auxiliar futuramente na minimização de impactos decorrentes de acidentes ambientais. Assim, haverá uma prevenção da contaminação de aquíferos por vazamentos de petróleo, que constitui uma grande ameaça para a qualidade de águas subterrâneas.

MATERIAIS E MÉTODOS

CARACTERIZAÇÃO DO SOLO

O solo utilizado nos experimentos foi obtido da Região Metropolitana de Belo Horizonte. Após sua amostragem, o solo foi caracterizado em relação à granulometria, pH, umidade, COT (carbono orgânico total), nitrogênio total, fósforo total, SiO₂, Al₂O₃, Fe₂O₃ (EMBRAPA, 2009). Para a caracterização microbiológica do solo, foi realizada a contagem de bactérias heterotróficas em placas com meio R2A agar (Merck) e de bolores e leveduras, de acordo com o *Standard Methods for Examination of Water and Wastewater* (AWWA/APHA/WEF, 2005).

EXPERIMENTOS DE BIODEGRADAÇÃO

Inicialmente, realizou-se o ajuste da umidade do solo para 20%. Os sistemas em estudo foram contaminados com 5% de poluente, resultando em 50g de amostra de solo e 2,5g de óleo diesel. O surfactante aniônico utilizado nos experimentos foi o SDS (Dodecil Sulfato de Sódio ou Lauril Sulfato de Sódio) (MILLIOLI, 2009). A concentração da solução do surfactante utilizado foi de 25g.L⁻¹ e as proporções (g de surfactante/ g de solo) utilizadas foram de 0,1g de SDS por 100g de solo (0,1%) e 0,2g de SDS por 100g de solo (0,2%).

O estudo do processo de biorremediação aplicado aos solos contaminados foi realizado utilizando-se respirômetros adaptados de Bartha, os quais são utilizados para medir a produção microbiana de CO₂ durante a biodegradação. Foram utilizados 18 respirômetros para a realização dos experimentos. Os experimentos foram realizados em triplicata e conduzidos de maneira a se avaliar as situações de biorremediação para o óleo diesel no solo a uma temperatura de 25°C. Para que a contaminação fosse a mais homogênea possível, o óleo diesel foi dispensado em “movimentos circulares” sobre a área do frasco coberta pela amostra de solo já preparada objetivando simular a contaminação por vazamento de resíduos. Em alguns respirômetros foram inseridas soluções de surfactante SDS. Em cada respirômetro, introduziu-se solução de KOH, em recipientes

na parte interna do respirômetro, para absorção do CO₂ liberado na biodegradação. Os respirômetros foram imediatamente fechados e vedados com silicone.

Após a preparação dos microcosmos, os respirômetros contendo as amostras de solo foram incubados em temperatura controlada no escuro. Um resumo das condições experimentais utilizadas é apresentado na Tabela 1.

Tabela 1: Experimentos de biodegradação do óleo diesel

Experimento	Descrição
1	Solo (frasco controle)
2	Solo + óleo diesel
3	Solo + surfactante SDS 0,1%
4	Solo + surfactante SDS 0,2%
5	Solo + óleo diesel + surfactante SDS 0,1%
6	Solo + óleo diesel + surfactante SDS 0,2%

MONITORAMENTO DO PROCESSO DE BIODEGRADAÇÃO

Semanalmente, os respirômetros eram retirados da estufa para realização da medida de CO₂ produzido, através da titulação do KOH exposto ao ambiente interno do respirômetro. Durante cada titulação, o volume de HCl necessário para titular o KOH exposto no respirômetro foi medido. Ao final das titulações, uma nova solução de KOH era inserida nos respirômetros. Os respirômetros eram novamente vedados com silicone e incubados em estufa a 25°C. A determinação da produção de gás carbônico foi repetida semanalmente durante 112 dias.

A partir dos volumes de HCl obtidos durante as titulações, empregando-se a equação 1 (MELLO *et al*, 2007), calculou-se a quantidade (em mg) de CO₂ produzido no respirômetro.

$$\text{mgCO}_2 = (\text{A}-\text{B}) \times 50 \times 0,044 \times \text{C} \times \text{fc HCl} \quad \text{equação (1)}$$

onde:

A = Volume gasto para titular o teste em branco (KOH exposto ao respirômetro vazio);

B = Volume gasto para titular o KOH colocado no respirômetro com amostra (contendo CO₂ absorvido);

50 = Fator para transformar equivalente em μmol de CO₂;

0,044 = fator de conversão de μmol em mg;

C = Decinormalidade do HCl utilizado;

fcHCl = Fator de correção do HCl utilizado

Para caracterização final do solo, foram realizadas análises de óleo residual nas amostras, para determinação da eficiência de remoção do poluente do solo (AWWA/APHA/WEF, 2005). Realizou-se, ainda a caracterização microbiológica do solo.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

EXPERIMENTOS DE BIODEGRADAÇÃO

Através das análise da produção acumulada de CO₂ (Figuras 1 a 3) durante o processo de biodegradação, observa-se que dentro do intervalo considerado, houve uma maior produção de gás carbônico no frasco em que não havia a presença do surfactante (solo + óleo). Ao comparar a eficiência do surfactante nas diferentes proporções utilizadas, observa-se que o surfactante na proporção de 0,1% foi mais adequado para a degradação do óleo diesel, enquanto o surfactante na proporção de 0,2% foi menos eficaz no processo da biodegradação.

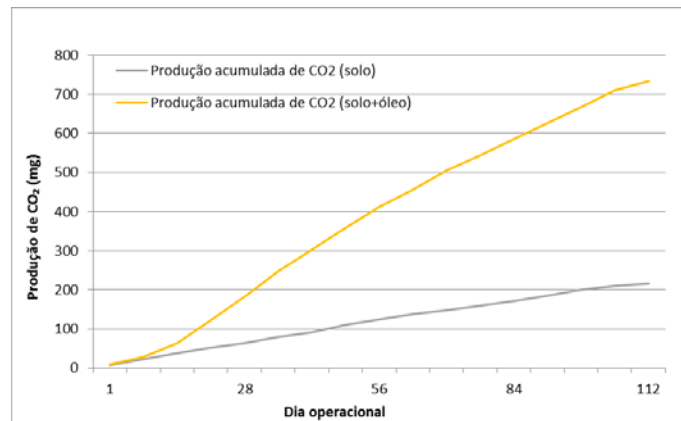


Figura 1: Produção acumulada de CO₂ no experimento com atenuação natural

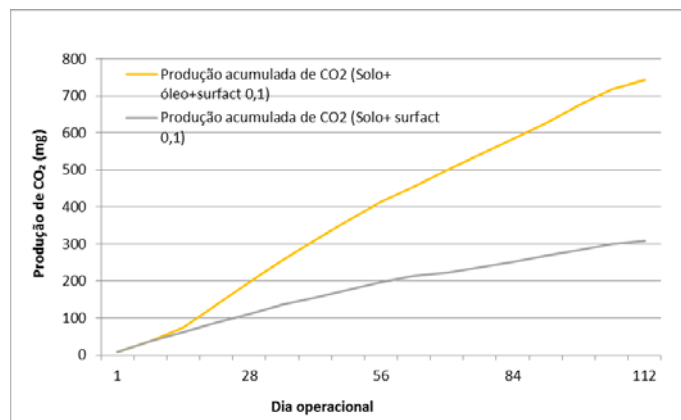


Figura 2: Produção acumulada de CO₂ nos experimentos contendo SDS 0,1%

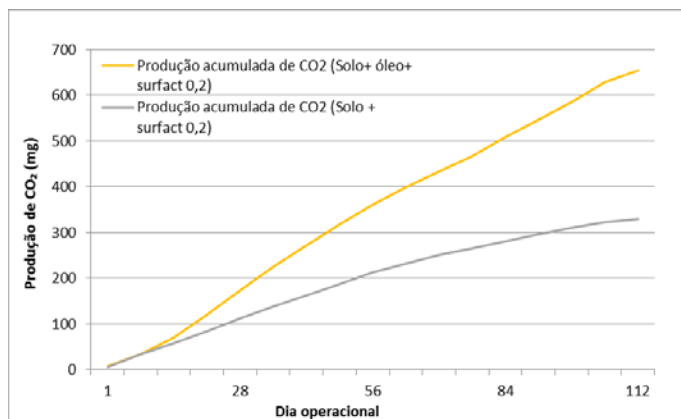


Figura 3: Produção acumulada de CO₂ nos experimentos contendo SDS 0,2%

Uma explicação para os resultados obtidos, com maior produção de gás devido à biodegradação, nos experimentos de atenuação natural, seria a possibilidade da utilização de surfactantes no processo da biorremediação promover uma toxicidade para os microrganismos do solo. Os principais efeitos tóxicos estão na ruptura da membrana celular através da interação com componentes lipídicos e na reação com enzimas fundamentais para o funcionamento das células (HELENIUS e SIMONS, 1975). O resultado também pode demonstrar uma possível preferência dos microrganismos pela degradação do surfactante em relação aos hidrocarbonetos, o que promoveria uma redução na disponibilidade de aceptores finais de elétron e de nutrientes, além de uma possível toxicidade de subprodutos de degradação do surfactante. Esse fato explicaria a maior produção de CO₂ nos frascos controle com surfactante (solo + SDS 0,1% e solo + SDS 0,2%) em relação ao frasco controle que continha apenas o solo. Assim, apesar do solo utilizado no presente estudo apresentar pH ácido, a atenuação natural apresentou-se como mais eficiente em relação ao processo com adição de surfactantes.

Os resultados desse estudo assemelham-se aos obtidos por Margesin e Schinner (1998) que avaliaram a biodegradação de óleo diesel em um solo à temperatura de 10°C com e sem a adição de SDS em diferentes concentrações (0%, 0,005%, 0,01%, 0,05%, 0,1%). A biodegradação apresentou-se mais efetiva sem a adição de SDS, sendo progressivamente inibida com concentrações maiores de SDS.

O mesmo resultado foi obtido por Millioli (2009) que constatou que a adição de SDS ao solo contaminado por óleo cru não melhorou os índices de biodegradação em relação ao experimento controle, apresentando remoção de HTP (Hidrocarbonetos Totais de Petróleo) entre 20 e 26% e sugerindo que a microbiota do solo não foi capaz de se adaptar a adição do SDS ao óleo cru.

Entretanto, Margesin (2000) observou em seus experimentos que, após 32 dias a 10 °C, o teor residual de hidrocarbonetos na ausência de SDS foi de 43% da contaminação inicial, enquanto 55%, 57%, 67% e 77% foram obtidos na presença de 50, 100, 500 e 1000 mg SDS / kg de solo, respectivamente, indicando que baixas concentrações de SDS podem favorecer o processo. Não foi observado efeito inibidor do SDS na microbiota do solo, indicando a possibilidade de aplicação do SDS em baixas concentrações para favorecer a biosegradação.

CARACTERIZAÇÃO FINAL DO SOLO

Os dados referentes à caracterização microbiológica e aos percentuais de óleo residual nas amostras de solo estão apresentados na Tabela 2.

Tabela 2: Caracterização microbiológica das amostras e os percentual de óleo residual das amostras contendo óleo diesel

Parâmetro Amostras	Bactéria heterotróficas totais (UFC.g⁻¹)	Bolores e leveduras (UFC. g⁻¹)	Óleo residual (%)
Solo	2,6x10 ⁴	2,8x10 ⁵	-
Solo + óleo	1,1x10 ⁴	2,4x10 ⁵	2,17
Solo + surfactante (0,1)	1,2x10 ⁴	3,0x10 ⁵	-
Solo + óleo + surfactante (0,1)	4,5x10 ³	2,3x10 ⁵	3,06
Solo + surfactante (0,2)	1,2x10 ⁴	2,9x10 ⁵	-
Solo + óleo + surfactante (0,2)	2,3x10 ³	2,3x10 ⁴	3,10

Através da análise da Tabela 2, percebe-se que a amostra contendo solo + óleo apresentou a menor concentração de óleo residual no final do experimento (2,17%). Já a amostra contendo solo + óleo + surfactante 0,2% contém um maior teor de óleo residual (3,10%). Isso confirma que o maior percentual de degradação do óleo diesel ocorreu na amostra de solo + óleo e o menor percentual de degradação do óleo diesel ocorreu na amostra contendo solo + óleo + surfactante 0,2%. As eficiências de remoção de óleo do solo foram de 57% para o experimento sem adição de surfactante e aproximadamente 38% nos experimentos com adição de surfactante.

A contagem de bactérias heterotróficas totais apresentou menores valores nos experimentos com óleo e surfactante, entretanto apenas a adição de surfactante nos frascos controle não afetou a contagem desses microrganismos em relação ao solo sem surfactante. No caso da contagem de bolores e leveduras, observou-se uma redução na sua contagem apenas nos experimentos com adição de óleo e 0,2 % de surfactante.

CONCLUSÕES

Os resultados obtidos indicam que a adição do surfactante SDS no solo não promoveu melhoria no processo de biorremediação de solos contaminados com óleo diesel, visto que, na amostra com atenuação natural, houve uma maior degradação do óleo diesel dentro do intervalo de tempo estudado. Assim, mesmo no caso de solos ácidos, a atenuação natural apresenta-se como melhor opção em relação ao processo com adição do surfactante SDS.

Apesar da ineficácia da adição de surfactantes em solos contaminados com óleo diesel, a concentração do surfactante no solo na proporção de 0,1% apresentou melhores resultados na biodegradação do óleo quando comparada a concentração de 0,2%. Dessa forma, percebe-se que o aumento da concentração de SDS no solo reduz a capacidade de degradação dos microrganismos. A utilização de menores proporções do surfactante poderia ser estudada como alternativa para melhoria do processo de degradação.

AGRADECIMENTOS

As autoras agradecem à FAPEMIG e ao Centro Federal de Educação Tecnológica de Minas Gerais pelo auxílio na realização da pesquisa.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. AWWA/APHA/WEF. *Standard Methods for Examination of Water and Wastewater*, 2005
2. EMBRAPA - EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA Serviço Nacional de Levantamento e Conservação de Solos. Manual de Métodos de Análises de Solos. Rio de Janeiro, 2009.
3. FRANZETTI, A.; GENNAROA, P.; BEVILACQUAB, A.; PAPACCHINIC, M.; BESTETTIA, G. Environmental features of two commercial surfactants widely used in soil remediation. *Chemosphere*. V. 62, n. 9, 2006.
4. FREITAS, H. Contaminação do solo no sudeste preocupa órgãos. Disponível em <http://noticias.terra.com.br/brasil/interna/0,,OI3704884-EI306,00.html>. Acesso em 20 mar. 2013.
5. HELENIUS, A. e SIMONS, K.; Solubilization of membranes by detergents. 1975.
6. MARGESIN, R. Potential of cold-adapted microorganisms for bioremediation of oil-polluted Alpine soils. *International Biodeterioration & Biodegradation*, v. 46, p.3-10, 2000.
7. MARGESIN, R. e SCHINNER, F. Biodegradation of diesel oil by cold adapted microorganisms in presence of sodium dodecyl sulfate. *Chemosphere*, v. 38, n. 15, p. 3463-3472, 1999.
8. MELLO, L.G; MORITA, M.D; MANFREDINI, S; RIVEIRA, G.N.I. Viabilidade da aplicação do método respirométrico de Bartha para determinação da biodegradação de poluentes ou resíduos em latossolos. *Engenharia Sanitária e Ambiental*, v.12, n.1, 2007.
9. MILLIOLI, V.S. Avaliação da potencialidade da utilização de surfactantes na biorremediação de solo contaminado com hidrocarbonetos de petróleo. Tese de doutorado. Rio de Janeiro, 2009.
10. MOURA, F.E.; LEITE, V.D.; PRASAD, S. Biodegradação aeróbia de hidrocarbonetos de petróleo. In: Congresso Brasileiro de Engenharia Sanitária e Ambiental, 23, Campo Grande, Anais. Rio de Janeiro: ABES, 2005.

11. MULLIGAN, C.N., YONG, R.N., GIBBS, B.F. Surfactant-enhanced remediation of contaminated soil: a review. *Engineering Geology*, v. 60, n. 1-4, p. 371-380, 2001.
12. SUGIMOTO, L. Sensores detectam e monitoram contaminação de águas subterrâneas. *Jornal da Unicamp*, 22 a 28 de novembro de 2004.
13. YERUSHALMI, L., ROCHELEAU, S., CIMPOIA, S., SARRAZIN, M., SUNAHARA, G., PEISAJOVICH, A., LECLAIR, G., GUIOT, S.R. Enhanced biodegradation of petroleum hydrocarbons in contaminated soils. *Bioremediation Journal*, v.7, p. 37-51, 2003.