

# **AVALIAÇÃO DA CONCENTRAÇÃO ÓTIMA DE BIOSURFACTANTE NO PROCESSO DE BIORREMEDIAÇÃO DE SOLO CONTAMINADO POR ÓLEO CRU**

**Letícia Cotia dos Santos**

Bolsista de Inic. Científica, Eng. Química, UFRJ

**Valéria Souza Millioli**

Orientadora, Eng. Química, M. Sc.

## **RESUMO**

*Foi avaliada neste trabalho a potencialidade do uso de um surfactante biológico do tipo ramnolipídeo no processo de tratamento de solo contaminado com óleo cru. Para tal fim, foram conduzidos ensaios em cinco diferentes concentrações de biossurfactante: 1, 2, 4, 6 e 10% (p/p), bem como um controle bioestimulado. Os ensaios foram conduzidos em células de tratamento utilizando 300g de solo com umidade ajustada para 50% da C/C (capacidade de campo) suplementados com nutrientes (C:P – 100:1) e com pH ajustado em 7,0. Estes ensaios foram incubados em estufa a 30°C durante 120 dias, sendo retirados periodicamente para análise de pH, medição da tensão*

*superficial, aeração e, quando necessário, nova correção de nutrientes, pH e umidade, sendo avaliados através da remoção de óleos e graxas (O&G). Os resultados obtidos indicaram que o tratamento 3 (biossurfactante na concentração 4% (p/p)) apresentou melhor percentual de remoção de óleos e graxas (41,6%). Em contrapartida, a análise de custo apontou como melhor resultado o tratamento 1 (1% (p/p) de biossurfactante), que resultou numa remoção de O&G de 21,4% e um custo de US\$ 482/tonelada de solo tratado, quando comparado ao tratamento 3 que apresentou um custo 4 vezes maior (US\$ 1928,57/tonelada de solo tratado), porém com, aproximadamente, o dobro de remoção de O&G (41,6%).*

## **1. INTRODUÇÃO**

Ao longo dos anos diversas técnicas (físicas, químicas e biológicas) vem sendo desenvolvidas para retirada do petróleo derramado ou para redução de seus efeitos sobre o ecossistema visto que a poluição causada por este

e por seus derivados tem sido um dos principais problemas enfrentados nas últimas décadas.

Baseados na descoberta de que os microrganismos endógenos que vivem nas areias das praias ou em solos podem degradar os hidrocarbonetos de petróleo presentes nestes locais, muitas pesquisas vêm sendo realizadas na área de biorremediação que, dentre as tecnologias desenvolvidas, se destaca por ser um processo atrativo e economicamente viável. Os baixos custos necessários nas transformações bioquímicas, capazes de reduzir e até mesmo eliminar os contaminantes, associados à possibilidade do tratamento no próprio local de contaminação são fatores que favorecem a atratividade das tecnologias de biorremediação. Esta tecnologia vem sendo largamente utilizada para tratar solos contaminados por óleo cru. Esses tratamentos podem ser feitos *in situ* (no próprio local de contaminação) ou *ex-situ* que requer a transferência do solo para outro local para que seja feito o tratamento (Pala, 2002).

Entretanto, os hidrocarbonetos, por serem agentes hidrofóbicos, tendem a ficar sorvidos na matriz do solo causando uma limitação à ação dos microrganismos e conseqüentemente, à técnica de biorremediação. Neste contexto, a utilização de um agente tensoativo pode aumentar os índices de biodegradação do óleo cru, visto que os problemas relativos à baixa solubilidade em água, a alta fixação e a pequena transferência desses poluentes da fase sólida para a fase aquosa são minimizados. A melhora na biodegradação em solos contaminados com óleo cru usando-se surfactantes, pode ser vista, principalmente, através da dessorção do óleo cru sorvido no solo e pelo aumento da solubilidade dos mesmos quando os surfactantes são utilizados em concentrações iguais ou superiores aos valores da CMC (Concentração Micelar Crítica) de cada um(OU, 2000).

## **2. OBJETIVO**

O objetivo do presente trabalho foi avaliar a potencialidade do uso de um biossurfactante no tratamento de solo contaminado com óleo cru e fazer uma análise de custo (relacionada somente à adição do biossurfactante no solo) a fim de verificar as melhores condições a serem usadas em ensaios posteriores.

### 3. MATERIAIS E MÉTODOS

#### 3.1 O solo: local de contaminação e amostragem

O solo estudado é proveniente de Guararema (SP) onde ocorreu um vazamento em 29/12/1998. Após o derrame, o solo foi colocado em diques de armazenamento, dos quais foram retiradas as amostras para estes ensaios em outubro de 2001 através de 13 pontos distintos em três diferentes profundidades. O solo foi homogeneizado, quarteadado e estocado em lotes de 5kg cada um em temperatura  $\pm 4^{\circ}\text{C}$ , para posterior análise.

#### 3.2. Caracterização do solo

O solo estudado foi caracterizado pela UFRRJ, CETEM e CENPES obtendo-se os seguintes resultados segundo a Tabela 1, a seguir:

Tabela 1 - Caracterização do solo contaminado de Guararema:

Parâmetro	Teor(Solo)	Feita por:	Parâmetro	Teor(Solo)	Feita por:
C orgânico	46g/kg	UFRRJ	pH	5,1	UFRRJ
N	1,0 g/Kg	UFRRJ	TPH	26,26mg/g	CENPES
P	0,001g/Kg	UFRRJ	HPA's	4,37mg/g	CENPES
K	0,084g/Kg	UFRRJ	O&G	3,21 %	CENPES
Matéria Org.	8,54 %	CETEM	Capacidade Campo-C/C	38,5 %	CETEM

#### 3.3. Biossurfactante

A escolha do biossurfactante a ser utilizado foi feita com base em estudos anteriores (Santos *et al.* 2003). Utilizou-se o biossurfactante JBR 215 (15% concentrado de ramnolípídeos - fabricado pela JENEIL) em diferentes concentrações.

### 3.4. Ensaios de Biodegradação:

Os ensaios de biodegradação foram conduzidos em 6 diferentes condições vistas na Tabela 2 a seguir:

**Tabela 2- Condições empregadas nos testes com biossurfactante:**

Condição	Solo (50 g)	Concentração do Biossurfactante	Correção nutrientes/pH/ Umidade
Controle	Contaminado	-	SIM
1	Contaminado	1% p/p	SIM
2	Contaminado	2% p/p	SIM
3	Contaminado	4% p/p	SIM
4	Contaminado	6% p/p	SIM
5	Contaminado	10% p/p	SIM

#### 3.4.1. Preparo dos ensaios de biorremediação

Conduziram-se os ensaios pesando-se 300g de solo seco contaminado, em células de tratamento (9X9X8 cm). Todas as amostras foram neutralizadas com hidróxido de cálcio ( $\text{Ca}(\text{OH})_2$ ), suplementadas com nutrientes seguindo a relação C:P 100:1, sendo e a umidade ajustada para 50 % da C/C (capacidade de campo). Adicionou-se o biossurfactante JBR 215 conforme apresentado na Tabela 2. Homogeneizou-se a mistura com um bastão e tamparam-se as células de tratamento. Os ensaios foram incubados em estufa à 30° C, durante 120 dias, sendo retirados periodicamente para análise de pH, medição da tensão superficial, aeração e, quando necessário, nova correção de nutrientes, pH e umidade.

### 3.5. Metodologias Analíticas

#### 3.5.1. Análise da Tensão Superficial

Em baixas concentrações, os surfactantes são completamente solúveis em água. Aumentando-se estas, as moléculas do surfactante associam-se para

formar agregados extremamente pequenos chamados de micelas, reduzindo a tensão superficial do sistema.

Em intervalos de 30 dias eram retiradas amostras de 4g de cada ensaio e preparava-se uma suspensão aquosa com 10% (p/v). Esta suspensão era agitada em shaker por 16h, centrifugada (3000 rpm por 10 min) e filtrada em membrana de éster de celulose com tamanho de poro de 0,45  $\mu\text{m}$  a fim de eliminar os sólidos em suspensão, reduzindo, conseqüentemente, o erro da análise. Posteriormente media-se a tensão superficial de cada uma das amostras em tensiômetro KT10 da marca kruss.

### **3.5.2. Determinação da CMCA**

Segundo Sun & Puri (1997) A menor concentração que reflete na menor tensão superficial em sistemas solo-água é denominado de Concentração Micelar Crítica Aparente (CMCA). O ensaio descrito a seguir permitiu verificar o comportamento dos surfactantes num sistema S-A-CH (Solo – água – compostos orgânicos hidrofóbicos).

Para determinação de concentração micelar crítica aparente foram feitas soluções com concentrações variadas de biossurfactante entre 0,001% e 4% (V/V). Com cada uma das soluções preparou-se uma suspensão 10% em peso de solo por volume de solução. As amostras foram agitadas, centrifugadas e filtradas conforme descrito no item anterior. Plotou-se um gráfico de tensão superficial versus concentração do biossurfactante e tomou-se por CMCA a concentração para a qual o valor da tensão superficial era mínimo.

### **3.5.3. Determinação de pH**

Para medição de pH eram feitas suspensões utilizando-se 20g de solo contaminado para 50 ml de água, segundo metodologia da Embrapa (1997). Essa medição foi feita a cada intervalo de 30 dias e o pH, do solo, ajustado sempre que necessário.

### **3.5.4. Determinação de Óleos e Graxas**

O teor de óleos e graxas no solo foi quantificado por gravimetria utilizando método de extração com ultrassom (Rizzo & Raimundo, 2003). O método apresentado é adequado para quantificação de lipídeos biológicos e

hidrocarbonetos minerais e baseia-se na solubilidade destes constituintes num solvente orgânico (extrator).

## **4. RESULTADOS E DISCUSSÃO**

### **4.1. Remoção de óleos e graxas (% O&G)**

O método utilizado determina o teor de hidrocarbonetos minerais presentes no solo. Torna-se, então, possível avaliar a quantidade de hidrocarbonetos degradada ao se observar a quantidade de hidrocarbonetos presentes antes e após o tratamento do solo contaminado.

A Figura 1 mostra os resultados de remoção de O&G, no solo contaminado, nas seis diferentes condições ao longo do tempo (120 dias). Os experimentos 1, 5 e o controle bioestimulado apresentaram uma estabilização na remoção de O&G após 60 dias, sendo que no ensaio 4 foi observada uma leve tendência à estabilização após 80 dias de tratamento. A remoção de O&G, dos experimentos 2 e 3, mantiveram-se crescentes ao longo dos 120 dias, indicando a possibilidade de remoção do óleo em tratamentos mais longos.

A Figura 2 mostra o percentual de remoção de O&G após os 120 dias de tratamento. O experimento 3, apresentou maior percentual de remoção de óleos e graxas (41,6%). Entretanto, nos ensaios 4 e 5 foram observadas quedas no percentual de remoção de óleo (29,5 e 36,7%) em relação a melhor condição (experimento 3). Nestas condições (4 e 5) foram observadas aglomerações excessivas do biossurfactante em decorrência da umidade do solo ter sido ajustada em 50% da C/C. Tal aglomeração pode ter contribuído para diminuição da oxigenação no solo, prejudicando a ação dos microrganismos aeróbios. Outro fator a ser considerado é que altas concentrações de surfactantes podem apresentar alta toxicidade ao sistema. Ressalta-se, ainda, que os percentuais de biodegradação nos cinco tratamentos com adição de biossurfactante no solo contaminado variaram entre 21,4 – 41,6%, sendo estes, bem acima do resultado do controle bioestimulado (5%), o que comprova a eficiência da utilização do biossurfactante.

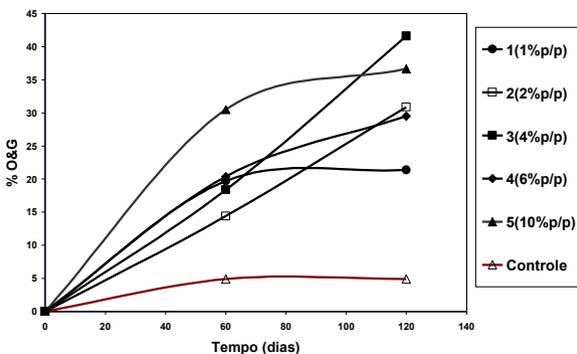


Figura 1: Percentual de remoção de óleo cru nas 5 condições ao longo do tratamento.

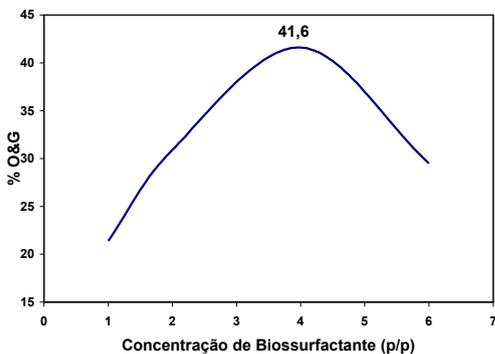
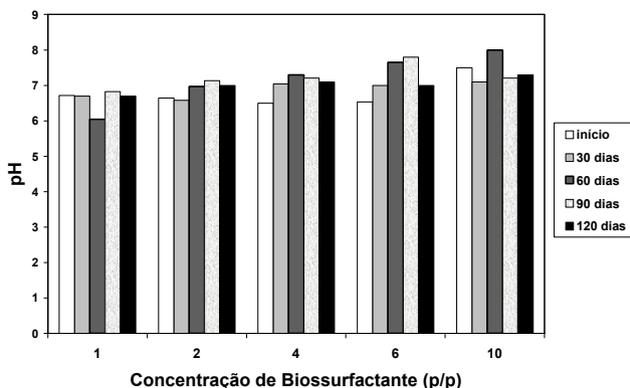


Figura 2- Porcentagem de remoção de O&G nas 5 condições ao fim do tratamento.

#### 4.2. Verificação da variação do pH

Todas as amostras foram neutralizadas no início do tratamento e os valores de pH não variaram muito ao longo do tempo como é mostrado na Figura 3, a seguir:



**Figura 3: Variação de pH ao longo do tratamento nos experimentos com adição de biossurfactante**

A verificação do pH ao longo do tempo foi importante, tendo em vista que o pH próximo à neutralidade é ideal para a ação dos microrganismos.

#### **4.3. Verificação da tensão superficial X Concentração Micelar Crítica Aparente**

Como já dito anteriormente, a menor concentração em que há formação de micelas, chama-se Concentração Micelar Crítica (CMC) e num sistema solo-água-compostos hidrofóbicos (S-A-CH), chama-se Concentração Micelar Crítica Aparente (CMCA). O valor encontrado para a CMCA do Biossurfactante JBR 215 foi 1g//L (Figura 4).

No início do tratamento a tensão superficial variou com o inverso da concentração como é mostrado na Figura 5. Após 30 dias, os valores da tensão superficial aumentaram e ficaram próximos de 66,4 que, de acordo com a Figura 4, é o ponto onde a concentração de biossurfactante é nula (somente sistema sol-água), indicando que o biossurfactante foi rapidamente consumido. Tal constatação é importante porque nos permite observar o tempo de ação do biossurfactante no processo de biorremediação e que o mesmo é um tensoativo biodegradável.

Baseando-se nestes resultados sugere-se, para experimentos posteriores, que o biossurfactante seja adicionado em doses homeopáticas em intervalos iguais consistindo em processos em batelada alimentada, já que

os mesmos são prontamente degradados no início do tratamento. Porém, não se pode negar que a ação dos mesmos quando adicionados somente no início do tratamento pode trazer benefícios ao processo de biodegradação do solo conforme observado nos tratamentos 2 e 3 (Figura 1).

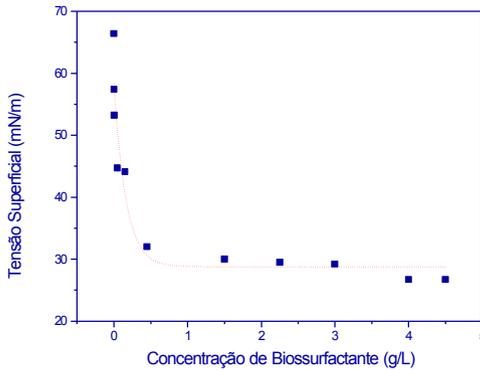


Figura 4: Análise da CMCA do Biossurfactante (g/L)

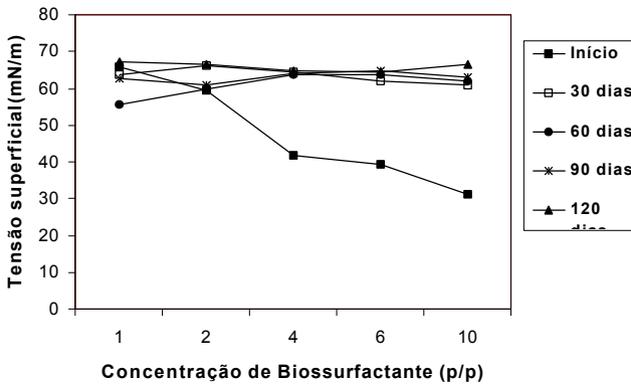


Figura 5: Variação da Tensão Superficial ao longo dos 120 dias de tratamento

#### 4.4. Análise do custo de biossurfactante

Tendo em vista os resultados de remoção de óleos e graxas após 120 dias de experimentos, foram avaliados os custos de cada tratamento.

A Tabela 3, a seguir, mostra os valores do custo de tratamento por tonelada de solo contaminado nas cinco diferentes concentrações de biossurfactante. O cálculo foi feito utilizando-se como preço por litro de biossurfactante JBR 215 – US\$ 54 e densidade - 1,12g/cm<sup>3</sup>.

**Tabela 3: Custo de Tratamento por tonelada de solo**

Tratamento	Concentração (%p/p)	Custo (US\$)	% O&G
1	1	482,14	21,4
2	2	964,3	30,9
3	4	1928,57	41,6
4	6	2892,8	29,49
5	10	4821,4	36,67

Em relação ao custo da adição do biossurfactante ao solo, foi observado que embora o tratamento 1 tenha apresentado somente 21,4% de remoção de O&G, foi considerado economicamente mais viável pois apresentou um custo de US\$ 482/tonelada de solo, quando comparado ao tratamento 3 que apresentou um custo 4 vezes maior e apenas o dobro de remoção de O&G (41,6%). Ainda, baseando-se nestes resultados, sugere-se que o tratamento do solo seja feito em bateladas de 60 dias já que no tratamento 1, observou-se que, após esse tempo, houve estabilização na remoção de O&G (Figura 1). Dessa forma, poder-se-ia obter melhores resultados com custos menores.

#### 5. CONCLUSÕES

- Realizaram-se cinco diferentes tratamentos com adição de biossurfactante e os resultados obtidos, por determinação de óleos e graxas, mostraram que a concentração igual a 4% (p/p) apresentou bons percentuais (41,6%) de remoção de óleo (hidrocarbonetos).

- Os índices de biodegradação dos experimentos que tiveram adição de biossurfactante variaram entre 21,4 – 41,6%, resultados bem acima do controle bioestimulado (5%).
- A partir da análise da tensão superficial verificou-se que o biossurfactante é degradado nos primeiros trinta dias de tratamento, sugere-se então, que, em ensaios posteriores, deve-se adicionar o agente tensoativo em doses pequenas em intervalos constantes de tempo.
- Análise de custo apontou como melhor resultado o tratamento 1 (1% (p/p) de biossurfactante), tendo apresentado uma remoção de O&G de 21,4% com um custo de US\$ 482/tonelada em comparação com o tratamento 3 que resultou num custo 4 vezes maior (US\$ 1928,57/tonelada se solo tratado) e apenas o dobro de remoção de O&G (41,6%).

## **6. BIBLIOGRAFIA**

- EMBRAPA. Manual de Métodos de análise de solo. 2a edição, Rio de Janeiro. 1997.
- NITSCHKE, M. PASTORE, G.M.(2002). "Biossurfactantes: propriedades e aplicações". Química Nova, vol. 25, No. 5, pp. 772-776.
- OU, Z.Q. (2000). "Separate and combine environmental behaviour of surfactants and polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs)" In: <http://tumb1.biblio.tu-muenchen.de/publ/diss/www/2000/ou.pdf>. Acessado em março 2002.
- RIZZO, A.C.L.; RAIMUNDO, R. (2003). "Determinação de óleos e graxas, em solo, por gravimetria empregando método de extração com ultrassom". IT2003-001-00 – Instrução de Trabalho elaborada para o CETEM.
- SANTOS, L.C.dos; RIBEIRO, V.M.; MILLIOLI, V.S.(2003). "Efeito da adição de surfactantes na biorremediação de solo contaminado com óleo cru utilizando-se reator de lama". Apresentado na 26ª Reunião Anual do SBQ (Sociedade Brasileira de química). Resumo. Poços de Caldas - MG – Brasil de 26 a 29 de maio de 2003.
- PALA, D.M. (2002). "Estudo da biorremediação de solo impactado por óleo cru". Orientadores: Geraldo Lippel Sant'Anna Jr. e Denize Dias de Carvalho Freire. Rio de Janeiro: COPPE/UFRJ. 114p. Dissertação (Mestrado em ciências).