

# EMPREGO DE BIORREATOR NÃO CONVENCIONAL NO TRATAMENTO DE SOLO CONTAMINADO POR PETRÓLEO

Renata S. Raimundo

Bolsista de Inic. Científica, Química Bacharel, UFF

Andréa C. de Lima Rizzo

Orientadora, Eng<sup>o</sup>. Química, M. Sc.

## RESUMO

A biorremediação de solos, quando comparada com processos químicos e físicos, é uma alternativa ecologicamente mais segura e eficiente para reduzir a poluição por contaminantes orgânicos. Esta tecnologia é baseada na utilização de microrganismos para transformar os poluentes em substâncias com pouca ou nenhuma toxicidade. Este processo pode tornar-se ainda mais

efetivo através da utilização de aditivos tais como: nutrientes, mais microrganismos, surfatantes, enzimas comerciais, dentre outros. Este trabalho visou avaliar a eficiência de remoção de petróleo do solo contaminado, proveniente de Guararema, utilizando tais aditivos em um protótipo de biorreator, que proporciona a melhor incorporação dos mesmos.

## 1. INTRODUÇÃO

Nos tempos atuais, as técnicas de biorremediação tornaram-se alternativas promissoras para o tratamento de solos contaminados por substâncias orgânicas. Este processo de biodegradação é baseado na capacidade de populações microbianas (endógenas) de modificar ou decompor determinados poluentes. Os microrganismos utilizam o carbono orgânico destes poluentes como fonte de energia, obtendo como produto final CO<sub>2</sub> e H<sub>2</sub>O pela via aeróbica, e formação de biomassa (TROQUEST *et al.*, 2003).

A biorremediação pode ser desenvolvida *in situ*, sem remoção do solo, ou *ex-situ*, pela remoção do solo contaminado (NANO *et al*, 2003). As tecnologias de biorremediação *in-situ* ("bioventing", "biosparging" e fitorremediação) possuem um baixo custo relativo quando comparadas às tecnologias *ex-situ* ("landfarming", biopilhas e biorreatores), entretanto há uma grande

dificuldade de aplicá-las na recuperação de solos impactados por petróleo e/ou derivados quando estes apresentam características argilosas, bastante comuns no Brasil. Dentre as tecnologias *ex-situ*, a utilização de biorreatores apresenta maior aplicabilidade no tratamento de solos contaminados de natureza argilosa, permitindo o monitoramento efetivo do processo, maior controle das variáveis (valor de pH, temperatura, umidade, etc.) e melhor incorporação de aditivos. Além disso, os biorreatores são sistemas completamente fechados que permitem o controle de emissões e possibilita, na maioria dos casos, a redução do tempo de processo (RAIMUNDO e RIZZO, 2002).

Algumas técnicas de biorremediação podem ser utilizadas em todas as tecnologias, visando à otimização do processo de degradação dos poluentes pelos microrganismos. Dentre estas se destacam: adição de nutrientes (bioestímulo), que aumenta a atividade microbiana nativa; adição de linhagens microbianas exógenas degradadoras (bioaumento); adição de surfatantes, que auxilia a metabolização dos compostos poluentes, facilitando o transporte destes substratos orgânicos para o interior das células microbianas ou diminuindo as interações superficiais contaminante/solo; ou ainda a adição de enzimas comerciais, que favorecem a oxidação de moléculas de difícil degradação em moléculas de fácil assimilação pelos microrganismos.

Neste trabalho foram realizados quatro testes em protótipo de biorreator de fase sólida, proposto pela equipe do projeto e confeccionado pela equipe da oficina do CETEM (RAIMUNDO e RIZZO, 2002). Estes testes visaram avaliar o efeito de aditivos na degradação do óleo cru no solo, tais como: nutrientes (nitrogênio e/ou fósforo), biossurfatante do tipo ramnolipídeo, enzimas comerciais (CONCEIÇÃO *et al.*, 2003) e inóculo de fungo filamentoso *Aspergillus versicolor* (PEREIRA e LEMOS, 2003). As condições gerais adotadas para os referidos testes no biorreator, foram as melhores condições estudadas anteriormente através de ensaios em microcosmos. O acompanhamento dos testes por eficiência em termos de remoção de hidrocarbonetos totais de petróleo (TPH) indicou a adição do biossurfatante como melhor condição testada, fornecendo uma eficiência de 60,79%, seguida pela adição de nutrientes (bioestímulo) com uma eficiência de 37,5% de remoção de TPH.

## 2. OBJETIVO

O presente trabalho teve como objetivo principal avaliar a eficiência de remoção do petróleo de um solo contaminado (Guararema, SP) a fim de verificar a influência da adição de nutrientes, biossurfatante, enzimas comerciais e inoculo fúngico, no processo de biorremediação utilizando biorreator.

## 3. MATERIAIS E MÉTODOS

### 3.1. Solo empregado

Foram utilizadas amostras de solo areno-argiloso contaminado, por óleo cru, fornecidas pelo CENPES/Petrobrás. O solo contaminado foi devidamente homogeneizado e foram determinadas as características físico-químicas, inorgânicas e orgânicas mais relevantes. O resultado desta caracterização do solo, realizada em conjunto pela equipe do CETEM e pela equipe do CENPES/Petrobrás, se encontra na Tabela 1 a seguir:

**Tabela 1: Principais características físico-químicas, inorgânicas e orgânicas do solo contaminado empregado.**

<b>Propriedade</b>	<b>Valor</b>
pH	5.0
Capacidade de Campo - CC	37,04%
TPH's	26,26g/kg
HPA's	4,37g/kg
Óleos e Graxas	3,17%
Matéria Orgânica	8,27%
N (g/kg)	0,5
P (g/kg)	0,006
K (g/kg)	6,07

Entre o derramamento de óleo (dez/1998) e a amostragem (jul/2001) do solo contaminado utilizado no desenvolvimento dos experimentos descritos neste trabalho, transcorreram aproximadamente três anos. De julho de 2001 até a realização dos experimentos, as amostras de solo foram mantidas sob refrigeração.

### 3.2. Descrição dos Testes

Os testes foram conduzidos em um protótipo de biorreator (Figura 1) no qual o solo contaminado era mantido sob agitação através do movimento rotacional do eixo central (4 rpm). A taxa de ocupação de 40%, correspondente a 8Kg de solo seco, foi determinada como carga máxima aplicável, durante a avaliação da resistência do corpo do tambor fixo, confeccionado em acrílico para a melhor visualização do comportamento do solo durante a realização dos testes (RAIMUNDO e RIZZO, 2002).

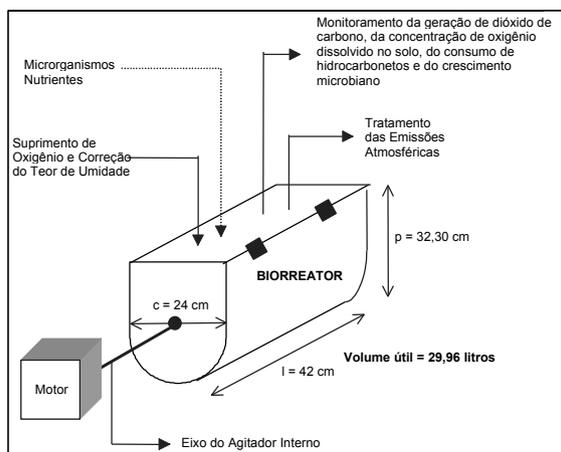


Figura 1: Esquema representativo do biorreator de fase sólida empregado nos testes de biodegradação

No 1º, 2º e início do 3º teste, a agitação do solo foi realizada durante 7 horas diárias, com exceção dos finais de semana e feriados quando o sistema de agitação era desligado por questões de segurança. Já após o 21º dia do 3º teste, o desgaste excessivo das pás do eixo central, corroborado com a

aglomeração excessiva do solo, levou a redução do tempo de agitação para ciclos de 15 minutos a cada hora, durante 7 horas diárias. Esta condição foi adotada posteriormente também para o 4º teste. Todos os testes foram conduzidos por um período de 42 dias.

As condições específicas, para cada um dos ensaios realizados no biorreator, são descritas a seguir, e foram selecionadas em função dos resultados promissores alcançados nos testes em microcosmos.

**Tabela 2: Condições testadas no biorreator**

<b>Condições</b>	<b>1º Teste</b>	<b>2º Teste</b>	<b>3º Teste</b>	<b>4º Teste</b>
Umidade inicial (%CC)	50	50 <sup>(a)</sup>	50	100
pH <sup>(b)</sup>	7	7	7	4,76 <sup>(c)</sup>
Relação C:N:P	100:1:2,4	100:1:2,4	100:1:2,4	100:20: 0,0045
Correção de P	KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	-
Correção de N	-	-	-	Extrato de Levedo
Biossurfatante JBR215	-	10% p/p	-	-
Enzima Comercial (HC 2000)	-	-	0,16mL/50g solo seco <sup>(d)</sup>	-
Inóculo fúngico <sup>(e)</sup>	-	-	-	25% v/v

(a) posterior correção para 100% da capacidade de campo, devido à aglomeração excessiva; (b) pH corrigido com Ca(OH)<sub>2</sub>; (c) pH natural do solo; (d) dosagem recomendada pelo fornecedor do produto; (e) fungo filamentosos *Aspergillus versicolor*.

### **3.3. Monitoramento dos Testes**

#### **3.3.1. Aeração**

Tendo em vista que o processo de biodegradação empregado é aeróbico, fez-se a aeração do biorreator diariamente durante uma hora (vazão de 20L/min), com o objetivo de suprir a demanda de oxigênio requerida pelos microrganismos. A vazão de ar alimentada ao sistema foi monitorada, através da leitura direta em medidor de vazão da marca OMEL, modelo LAMBDA nº51975G com capacidade de 4 a 45 l/min.

### **3.3.2. Consumo Energético**

Durante o período de agitação do solo no biorreator, foi realizado o monitoramento do consumo energético, expresso em termos de kWh, através da leitura direta em medidor da marca INEPAR, modelo D.58J.

### **3.3.3. Umidade**

Semanalmente, para todos os quatro testes realizados, foram retiradas amostras de solo do reator (amostras compostas de diversos pontos do reator) para acompanhamento do teor de umidade, através do método gravimétrico (secagem em estufa a 60°C/16h). Em caso de perda de umidade, esta era reposta de forma a atingir o teor de umidade inicial específico de cada teste.

### **3.4. Concentração de Hidrocarbonetos Totais de Petróleo (TPH)**

O monitoramento da concentração de hidrocarbonetos totais de petróleo (TPH) foi realizado no início e no final do primeiro teste e, semanalmente, nos demais testes. Amostras homogêneas eram removidas adequadamente do interior do reator, secas em estufa a 60°C por 16 horas, maceradas e encaminhadas para análise de TPH no laboratório do CENPES/PDEDS/BTA. A metodologia de quantificação de TPH adotada foi baseada no método USEPA 8015B empregando a técnica de cromatografia gasosa com detector de ionização de chama (CG/FID).

### **3.5. Teste de Toxicidade**

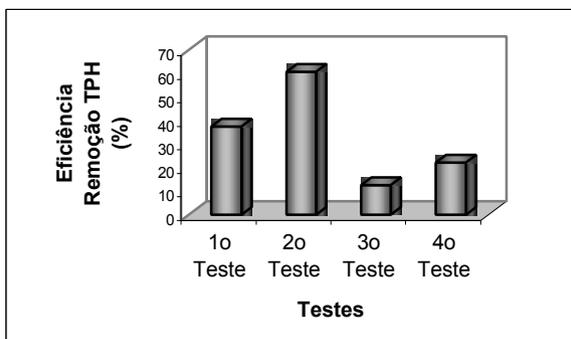
A toxicidade das amostras de solo no início e ao final dos testes conduzidos no biorreator foi determinada através do teste de toxicidade aguda pelo Sistema Microtox empregando-se como organismo teste uma cultura de *Vibrio fischeri*. Os ensaios foram realizados em laboratório externo (TECAM) e baseou-se na Norma Técnica CETESB L5.227.

## **4. RESULTADOS E DISCUSSÃO**

Nos três primeiros testes, a técnica de bioestímulo foi aplicada através da correção apenas de fósforo (adição de  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ ), de forma a se obter uma relação C:P de 100:1. Não houve adição de nitrogênio, uma vez que testes anteriores realizados em microcosmos indicaram que o teor deste macronutriente existente naturalmente no solo contaminado (C:N = 100:2,5)

já era suficiente para a manutenção da atividade microbiana responsável pela degradação dos poluentes orgânicos (TRINDADE,2002).

A avaliação da eficiência do processo de biodegradação foi expressa em termos de remoção de hidrocarbonetos totais de petróleo, através da quantificação dos poluentes orgânicos no decorrer dos testes (Figura 2).



**Figura 2: (a) Eficiências de Remoção de TPH obtidas nos 4 testes em biorreator; (b) Eficiências de Remoção de OG obtidas nos 4 testes em biorreator.**

A avaliação dos resultados dos testes realizados em biorreator, tomando-se como base os resultados de TPH (Figura 2 (a)), demonstrou que a adição do biossurfatante comercial JBR215 ao solo contaminado (2º Teste) forneceu a melhor eficiência de remoção, correspondente a 60,79% de degradação do teor de TPH inicial presente no solo. Este valor representa um aumento de 62% em relação ao valor obtido no 1º Teste (Bioestimulo, 37,5%). A adição da enzima comercial HC 2000 (3º Teste) não apresentou um resultado satisfatório no teste em biorreator, visto que a eficiência de remoção de TPH obtida foi de 12,60%, sendo inferior ao resultado do 1º Teste. Comportamento semelhante foi observado para a adição do inoculo fúngico (4º Teste), onde se obteve uma remoção de 22,12% de TPH.

De uma forma geral, a condução do processo no biorreator teve como consequência uma elevação nas eficiências de biodegradação dos poluentes, em relação aos ensaios em microcosmos, comprovando, assim, a importância da movimentação do material para que ocorra melhor incorporação dos nutrientes e/ou aditivos, melhor distribuição da umidade e, conseqüentemente uma maior atividade microbiana degradativa. A única

exceção ocorreu na condição onde houve adição de inóculo do fungo filamentosso *Aspergillus versicolor* (4º Teste). Neste caso, a eficiência de remoção do poluente no biorreator foi inferior a obtida em microcosmos (75% de eficiência de biodegradação, calculada em termos de evolução de CO<sub>2</sub>), sendo justificada pela agitação do solo, que pode ter causado o rompimento dos micélios observados no início do experimento (parte superior do reator, bem como em volta dos eixos das palhetas), afetando significativamente o metabolismo do fungo filamentosso.

Ao final dos quatro testes, amostras de solo foram enviadas para laboratório externo (TECAM) para realização de teste de toxicidade aguda pelo Sistema Microtox. O objetivo deste teste é estabelecer a toxicidade da amostra para a bactéria marinha *Vibrio fischeri*, após 15 minutos de exposição a 15°C, através da estimativa da concentração que causa 50% de redução na quantidade de luz emitida pela cultura de bactérias (concentração efetiva mediana ou CE50;15'), com intervalo de confiança de 95%. Os resultados obtidos são apresentados na Tabela 3.

**Tabela 3 – Resultados dos Testes de Toxicidade pelo Sistema Microtox dos Ensaio Realizados em Biorreator**

	CE50;15' Inicial	CE50;15' Final
1o Teste – Bioestimulação	14,60%	16,82 %
2o Teste - Biosurfatante	14,60%	0,009517%
3o Teste – Enzima comercial	14,60%	19,73%
4o Teste - Fungos	14,60%	5,98%

Observa-se que, tanto para o 1º como para o 3º teste houve uma queda na toxicidade aguda do solo contaminado (15,20% e 35,14%, respectivamente) após os tratamentos, comprovando, assim, a redução da concentração dos contaminantes orgânicos responsáveis pela toxicidade inicial do solo contaminado. No entanto, os resultados obtidos para o 2º e 4º Testes foram inconsistentes, visto que a amostra final apresentou uma toxicidade superior à da amostra de solo contaminado antes do tratamento. O resultado do 2º teste pode ser explicado pela disponibilização/solubilização de compostos orgânicos de maior toxicidade após a adição do biosurfatante, porém o acompanhamento do número de heterotróficos totais não demonstrou o aumento da toxidez destes compostos, já que a população microbiana aumentou de 10<sup>6</sup> UFC/g de solo para aproximadamente 10<sup>9</sup> UFC/g de solo. A divergência entre estes resultados indica que, talvez, este não seja o método

mais adequado para a análise do solo em estudo, principalmente por empregar um microrganismo marinho e não um organismo natural do ambiente terrestre. Por esse motivo, novas amostras de solo contaminado antes e após os testes realizados em biorreator serão encaminhadas a TECAM para determinação da toxicidade empregando-se minhocas como organismos teste.

Cabe destacar, que os testes realizados neste trabalho finalizaram um projeto inicial de proposição de um protótipo de biorreator não convencional, para tratamento de solos contaminados. Tais testes visaram otimizar o tratamento no biorreator através da incorporação de aditivos, anteriormente testados em microcosmos (sistema estático). Desta forma, a condição que forneceu o melhor resultado de eficiência de remoção do poluente foi a qual adicionou-se ao solo o biossurfatante (60,79%), mesmo tendo esta um valor de toxicidade inconsistente, que deverá ser avaliado através de um teste mais adequado.

## **5. CONCLUSÕES**

- ◆ Dentre as técnicas e/ou condições aplicadas ao tratamento do solo de no protótipo de biorreator, aquela que usou a aplicação do biossurfatante comercial JBR215 (dosagem 10% p/p) foi a que apresentou maior eficiência em termos de remoção de hidrocarbonetos totais de petróleo (TPH), 60,79%, sendo seguida pela aplicação da técnica de bioestímulo que resultou numa remoção de 37,5% de TPH.
- ◆ O tratamento do solo contaminado por petróleo empregando biorreator acarretou o aumento da remoção dos poluentes orgânicos, comprovando, assim, que a movimentação do material foi fundamental para que ocorresse maior incorporação dos nutrientes e/ou aditivos, bem como uma melhor distribuição da umidade, propiciando, conseqüentemente, condições para uma maior atividade dos microorganismos degradadores.
- ◆ O Sistema Microtox mostrou que houve uma redução da toxicidade do solo contaminado nas condições experimentais do 1º e do 3º teste no biorreator (15,20% e 35,14%, respectivamente). Porém, novos testes para determinação da toxicidade das amostras de solo, empregando-se minhocas como organismos teste, devem ser empregados para uma avaliação mais apropriada.
- ◆ A partir dos resultados obtidos neste trabalho, pode-se afirmar que a configuração do protótipo de biorreator proposta, apresenta-se como um

ponto de partida viável para que se desenvolva uma tecnologia capaz de ser aplicada no tratamento de solos contaminados por petróleo. No entanto, deve-se buscar uma configuração mais adequada ao tratamento do solo quando se adiciona inoculo fúngico de forma a não causar o rompimento dos micélios.

## **6. BIBLIOGRAFIA**

- CONCEIÇÃO, D. E., RIZZO, A. C. L. e CUNHA, C. D. (2003). "Avaliação do uso de produtos comerciais no processo de biodegradação de petróleo em solo". *XI Jornada de Iniciação Científica do CETEM/MCT*.
- NANO, G., BORRONI, A. e ROTA, R. (2003). "Combined slurry and solid phase bioremediations of diesel contaminated soil". *J. Hazardous Materials*, **B100**, 79-94.
- PEREIRA, L. T. C. e LEMOS, J. L. S. (2003.) "O fungos filamentosos, uma opção em estudo para a biorremediação". *XI Jornada de Iniciação Científica do CETEM/MCT*.
- RAIMUNDO, R. S. e RIZZO, A. C. L. (2002). "Utilização de Biorreatores no Tratamento de Solos Contaminados por Hidrocarbonetos de Petróleo". *X Jornada de Iniciação Científica do CETEM/MCT*.
- TRINDADE, P.V.O. (2002). "Avaliação das técnicas de bioaugmentação e bioestimulação no processo de biorremediação de solo contaminado por hidrocarbonetos de petróleo". *Tese M. Sc., Universidade Federal do Rio de Janeiro, Escola de Química, Rio de Janeiro, Brasil, 127p*.
- TROQUEST, J., LARROCHE, C. e DUSSAP, C.G. (2003). "Evidence for the occurrence of an oxygen limitation during soil bioremediation by solid-state fermentation" *Biochemical Engineering Journal*, **13**, 103-112.