

UTILIZAÇÃO DE SURFATANTES ANIÔNICOS NA BIORREMEDIAÇÃO DE SOLO CONTAMINADO POR HIDROCARBONETOS DE PETRÓLEO

Leticia Cotia dos Santos

Bolsista de Inic. Científica, Eng. Química, UFRJ

Valéria Souza Millioli

Orientadora, Eng^a. Química, M. Sc.

RESUMO

Neste trabalho foram selecionados dois surfatantes aniônicos, sendo um sintético e o outro biológico (tipo raminolipídeos) a fim de se comparar qual desses surfatantes melhorariam o índice de biodegradação de solo contaminado com hidrocarbonetos de petróleo. Os ensaios de biodegradação foram conduzidos com enriquecimento de nutrientes e com teor de umidade a 50 % da capacidade de campo (C/C) do solo. As concentrações dos surfatantes utilizadas foram: 50 %

do valor da CMC (Concentração Micelar Crítica) e 100 % do valor da CMCA (Concentração Micelar Crítica Aparente). Os ensaios foram monitorados por geração de CO₂ em cromatografia gasosa durante 42 dias. Ao final dos ensaios, verificou-se que o surfatante sintético apresentou maior índice de biodegradação em relação ao biológico quando a concentração de ambos era 100% do valor da CMCA. Não se verificou melhora na biodegradação em concentrações abaixo da CMC.

1. INTRODUÇÃO

Em todo mundo, mais de 10 bilhões de toneladas por ano de petróleo são produzidas e estima-se que 0,6% desta produção mundial termine poluindo os oceanos. Nenhuma estimativa comparável foi feita em relação à poluição terrestre por hidrocarbonetos de petróleo. Entretanto, considerando que a maior parte do petróleo é produzida, refinada e utilizada sobre a terra, é de se esperar um valor similar ou maior do que o citado para o ambiente marinho (Exame, 2001 apud Borges, 2001).

A descoberta de que certas bactérias que vivem nos sedimentos marinhos, inclusive na areia das praias ou em solos, podem degradar os componentes do petróleo abriu a possibilidade de usar métodos biológicos para o tratamento de derrames (Crapez et al., 2002) e de solos contaminados. Os baixos custos energéticos requeridos para as transformações bioquímicas, capazes de diminuir o impacto dos contaminantes orgânicos ao meio ambiente, associados a possibilidade de tratamento no sítio contaminado, são fatores que tornam a biorremediação um processo atrativo e economicamente viável (Prince & Sambasivam, 1993; Weber & Corseuil, 1994 apud Borges, 2001).

O baixo nível de disponibilidade dos hidrocarbonetos (baixa solubilidade em água, alta fixação sobre a matriz do solo, e pouca transferência dos poluentes adsorvidos da fase sólida para fase aquosa) é um dos fatores limitantes no processo de biorremediação em solos contaminados (Volkering et al., 1995). Uma maneira possível de se aumentar a disponibilidade destes hidrocarbonetos por ação microbiana é a aplicação de surfatantes. A melhora na biodegradação dos COHs (Compostos Orgânicos Hidrofóbicos) pelo uso de surfatantes, pode ser vista, principalmente, pela desorção dos COHs sorvidos no solo e pelo aumento da solubilidade dos COHs por surfatantes em concentrações igual ou maior que o valor da CMC (Ou, 2000).

2. OBJETIVO

O objetivo deste trabalho foi estudar a utilização de surfatantes aniônicos para auxílio na biorremediação de solo contaminado com hidrocarbonetos de petróleo.

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, no qual foi retirada a amostra para estes ensaios. A amostra, de aproximadamente 30Kg, foi retirada em outubro de 2001 em 13 pontos distintos do dique de armazenamento e em três diferentes

profundidades. O solo foi homogeneizado, quarteado e estocado em lotes de 5kg cada um, para posterior análise.

3.2. Caracterização do solo

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

Tabela 1 - Caracterização do solo 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	Plasticidade	38 %	UFRRJ
P	0,001g/Kg	UFRRJ	TPH	26,26mg/g	CENPES
K	0,084g/Kg	UFRRJ	HPA's	4,37mg/g	CENPES
Matéria Org	8,54 %	CETEM	O&G	3,21 %	CENPES
Areia Total	59 %	UFRRJ	Capacidade Campo-C/C	38,5 %	CETEM
Argila Total	24 %	UFRRJ	Silte	19 %	UFRRJ

3.3. Surfatantes

Escolheu-se dois surfatantes aniônicos: Bio Solve (100 % concentrado - sintético) e JBR 215 (Jeneil - 15 % concentrado de raminolípídeos - biológico). As concentrações utilizadas foram baseadas na determinação da CMC e da CMCA de cada um. Utilizou-se concentrações a 50 % do valor da CMC (0,5xCMC) e 100 % do valor da CMCA (1xCMCA). Optou-se pela concentração abaixo da CMC (0,5xCMC) para investigar se estas melhorariam o processo de biodegradação pois, segundo Alexander (1994) alguns surfatantes são capazes de melhorar a solubilidade dos hidrocarbonetos em concentrações abaixo do valor da CMC. Utilizou-se

a concentração 100% do valor da CMCA (1xCMCA) por representar o início de formação de micelas no sistema solo-água-compostos hidrofóbicos (S-A-CH) e consequentemente o início da solubilização dos hidrocarbontetos neste sistema.

3.4. Ensaio de Biodegradação

Os ensaios de biodegradação foram conduzidos em 5 diferentes condições vistas na Tabela 2 a seguir:

Tabela 2- Condições empregadas nos testes com surfatantes:

Condição	Solo (50 g)	Surfatantes	Concentração em 9,6 mL (50% da C/C)	Correção nutrientes/pH/ Umidade
1	Contaminado (controle)	-	-	SIM
2	Contaminado	Bio Solve	0,5xCMC	SIM
3	Contaminado	Bio Solve	1xCMCA	SIM
4	Contaminado	JBR 215 (Jeneil)	0,5xCMC	SIM
5	Contaminado	JBR 215 (Jeneil)	1xCMCA	SIM

3.4.1. Cálculo da eficiência de biodegradação

Muitas espécies de bactéria do solo conseguem metabolizar hidrocarbontetos derivados do petróleo reduzindo a CO₂ e H₂O (produtos de sua completa mineralização). Cerca de 50% da matéria orgânica é incorporada à biomassa e os outros 50% são transformados em CO₂, podendo, dessa forma, quantificar, através da geração de CO₂, o total de contaminante consumido.

As Eficiências de Biodegradação (EB's) dos solos foram calculadas através da seguinte 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's (26,26 mg/g)

* Controle sem enriquecimento de nutrientes ? do controle da Tabela 2

3.4.2. Preparo das amostras

Conduziu-se os ensaios pesando-se 50g de solo seco contaminado, com a concentração inicial de hidrocarbonetos conhecida (26,26 mg/g), em kitassato. Neutralizou-se a amostra com hidróxido de cálcio ($\text{Ca}(\text{OH})_2$) e adicionou-se, após 48h, os nutrientes seguindo a relação C:N:P 100:1:1 (condições ótimas estabelecidas em outros ensaios), através da adição de nitrato de amônio (NH_4NO_3) e de fosfato de potássio dibásico (K_2HPO_4). As concentrações dos surfatantes foram adicionadas em 9,6mL de água (quantidade relativa a 50% C/C para 50g de solo). Homogeneizou-se a mistura com um bastão e tampou-se o frasco com rolha de silicone, vedando a saída lateral (tubo de latex) com pinça de Mohr. Os frascos foram incubados com duplicata, em estufa à 30° C durante 42 dias, sendo retirados a cada 24h ou 48h para análise cromatográfica, aeração e, quando necessário, nova correção de umidade.

3.5. Metodologias Analíticas

3.5.1. Análise da CMC

Os surfatantes são grupos de agente ativos de superfície. São moléculas anfipáticas consistindo de um grupo cabeça hidrofílico (polar) e um grupo cauda hidrofóbico (não polar). Formam agregados em solução chamados micelas e a formação destas, ocorre quando atinge-se a Concentração Micelar Crítica (CMC).

Analisou-se a tensão superficial de diferentes concentrações de surfatantes (0,0001 à 3% (v/v)) em tensiômetro K10T da marca KRUSS. Plotou-se um gráfico de tensão superficial versus concentração de surfatantes e tomou-se por CMC a concentração para a qual o valor da tensão superficial era mínimo.

3.5.2. Análise da CMCA

Segundo Sun & Puri (1999) o menor valor da tensão superficial de uma determinada concentração de surfatante em sistemas solo-água é denominado de Concentração Micelar Crítica Aparente (CMCA). O ensaio descrito a seguir permitiu verificar o comportamento dos surfatantes num sistema S-A-CH.

Os ensaios, para análise da CMCA, foram conduzidos em diferentes concentrações de surfatantes (0,001 à 4%(v/v)). As soluções de surfatantes foram misturadas ao solo numa proporção 1:10 (solo:solução). As misturas, contendo o solo e as soluções de surfatantes, foram postas num agitador mecânico por 30 minutos em alta rotação. Após agitação, centrifugou-se a mistura numa rotação de 3.000 rpm por 7 minutos. Filtrou-se a solução sobrenadante em membrana de éster de celulose com tamanho de poro de 0,45 μm . determinou-se a CMCA da mesma forma descrita anteriormente para a CMC.

3.5.3. Quantificação do CO₂

Empregando-se uma agulha cromatográfica foram injetadas, no cromatógrafo a Gás HP 5890, amostras de 0,5 mL das atmosferas internas dos kitassatos .As leituras foram feitas em duplicata e os resultados expressos pelas médias dos valores obtidos. As respostas cromatográficas foram dadas em % de área de integração e, desta forma, fez-se necessária a construção de curvas de calibração relacionando estas porcentagens com o número de mmols de CO₂ produzido da reação estequiométrica entre Na₂CO₃ e HCl, conforme metodologia descrita por Ururahy (1998). As condições gerais de análise empregadas durante o processo encontram-se listadas a seguir:

- Vazão do gás de arraste (He): 17.89 mL/min

- Vazão do gás de referência (He): 17,89 mL/min
- Temperatura do detector: 220°C
- Temperatura do forno auxiliar : 74°C
- Temperatura do injetor : 110°C
- Coluna de aço inox (3m/3mm) recheada com Chromosorb 102

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1. Surfatantes: resultados das análises da CMC e CMCA

Em baixas concentrações, os surfatantes são completamente solúveis em água. Aumentando-se estas, as moléculas do surfatante associam-se para formar agregados extremamente pequenos chamados de micelas. 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). A Tabela 3 mostra os valores obtidos da CMC da CMCA de cada surfatante.

Tabela 3 - Valores da CMC e CMCA dos surfatantes aniônicos:

Surfatante	CMC (mg/L)	CMCA (g/L)
Bio Solve	100	5
JBR 215 (Jeneil)	43	1

Apesar de ambos os surfatantes serem aniônicos observa-se que o sintético (Bio Solve) apresentou maior valor de CMC em relação ao biológico. Estas características dos biossurfatantes de possuírem baixos valores de CMC vem sendo observada por vários autores (Stelmack et al., 1999; Banat, 1995). Os surfatantes que possuem menor valor de CMC são mais apreciáveis por não haver necessidade de utilizá-los em grande quantidade.

A formação de micelas ocorreu bem acima do valor da CMC para ambos os surfatantes, no sistema solo-água-compostos hidrofóbicos (Tabela 3). Há vários fatores que podem ter influenciado o aumento da concentração neste sistema, destacando-se a matéria orgânica que foi solubilizada. Em relação ao valor da CMCA, o surfatante sintético apresentou maior valor que o biológico.

4.2. Avaliação dos resultados das eficiências de biodegradação (EB's)

Após conduzidos os ensaios de biodegradação, observou-se que os mesmos apresentaram baixos índices de biodegradação (Figura 1), provavelmente devido a presença de compostos recalcitrantes aliados ao processo gradativo de intemperização do solo que ocorreu entre o derramamento e o tratamento deste.

Em concentrações acima da CMC (1xCMCA), o surfatante sintético conduziu melhores índices de biodegradação (10,2%) em relação ao biológico (8,7%) e ambos indicaram aumento de 33 e 14 % respectivamente em relação ao controle (7,6 %). Segundo Haigh (1996), os surfatantes aumentam a solubilidade dos compostos hidrofóbicos em concentrações acima da CMC.

Ressalta-se ainda que o surfatante sintético foi utilizado numa concentração bem acima do biológico (5 vezes maior em relação ao valor da CMCA). Sendo assim, apesar do mesmo ter conduzido maior índice de EB, este pode ter causado maior toxicidade ao solo e/ou degradação preferencial do surfatante. Faz-se, então, necessário um estudo mais profundo da aplicação desses surfatantes na biorremediação de solos contaminados com hidrocarbonetos de petróleo.

Os surfatantes podem ser úteis na biorremediação de solos, porém, devem ser adicionados em baixas concentrações, a fim de evitar não somente a elevação do custo de tratamento, como também o risco de lixiviação dos poluentes e a própria inibição da população microbiana degradadora dos hidrocarbonetos (Aronstein & Alexander; 1993 apud Soriano, 2000).

Abaixo da CMC (0,5xCMC), não se observou melhora na biodegradação em relação ao controle (Figura 1). Segundo Stelmack et al. (1999) nenhuma melhora na solubilidade dos hidrocarbonetos foi observada em concentrações abaixo da CMC, embora, muitas pesquisas demonstrem que somente a presença de surfatantes em concentrações muito baixas melhoram a biodegradação dos hidrocarbonetos de petróleo (Haigh, 1996; Deshpande et al., 1999).

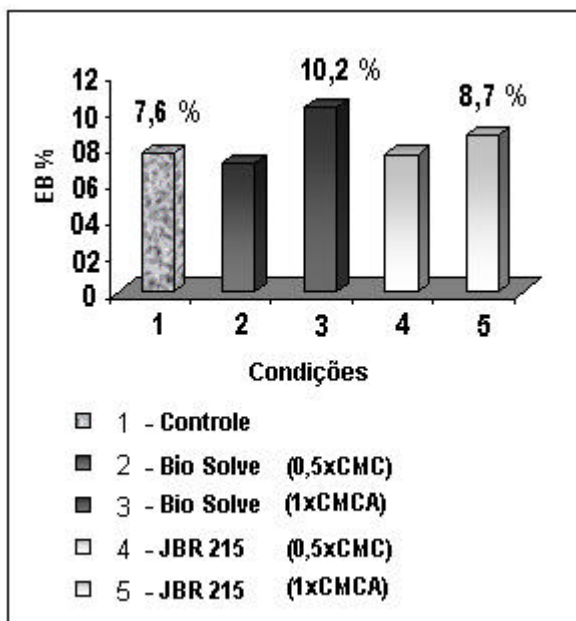


Figura1: Efeito da adição de surfatantes no solo contaminado de Guararema

5. CONCLUSÕES

? A determinação da CMC e CMCA, no presente trabalho, foi necessária para que se conhecesse as características de cada surfatante a ser utilizado e as melhores condições para sua utilização. Entende-se que quando um surfatante possui alto valor de CMC e/ou CMCA deve-se adicionar maiores concentrações deste, em relação a outro com valores mais baixos.

? O solo estudado apresentou baixos índices de biodegradação (entre 7,6 a 10,2 %), tanto na presença quanto na ausência de surfatantes, provavelmente devido a elevada toxicidade e/ou recalcitrância dos compostos presentes no mesmo.

? Após os 42 dias de ensaios verificou-se aumento na eficiência de biodegradação, em relação ao controle, quando as concentrações de ambos os surfatantes eram bem acima do valor da CMC (1xCMCA). Nestas condições, o surfatante sintético e o biológico apresentaram eficiências de biodegradação de 33 e 14 % respectivamente em relação ao controle.

? Não se observou melhora na biodegradação em concentrações de surfatantes abaixo da CMC (0,5xCMC).

? Faz-se necessário estudos em laboratório buscando maior eficiência na remoção de óleo cru, visando minimizar o impacto das substâncias recalcitrantes no ambiente e criando condições favoráveis ao crescimento e atividades bacterianas utilizando-se os surfatantes.

6. BIBLIOGRAFIA

- ALEXANDER, M. (1994). "Biodegradation and Bioremediation". Academic Press. Califórnia. 302p.
- BANAT, I.M. "Biosurfactants production and possible uses in microbial enhanced oil recovery and oil pollution remediation: A review". Bioresource Technology. vol. 51. pp. 1-12. 1995.
- BOGNOLO, G. (1999). "Biosurfactants as emulsifying agents for hydrocarbons. Colloids and Surfaces". vol. 152. pp. 41-52.
- BORGES, R.M.H. (2001). "Biodegradação em solo argiloso contaminado com petróleo". Orientadores: Denize Dias de Carvalho Freire e Magali Christe

- Cammarota. Rio de Janeiro: UFRJ/EQ., 180p. Dissertação (Mestrado em ciências).
- CRAPEZ, M.A.C.; BORGES, A.L.N.; BISPO, M.S.; PEREIRA, D.C (2002). "Biorremediação: Tratamento para derrames de petróleo". *Ciência Hoje*. Vol.32. No 179. pp.32-37.
- DEL'ARCO, J. P. (1999). "Degradação de hidrocarbonetos por bactérias e fungos em sedimento arenoso". Orientador: Francisca Pessôa de França. Rio de Janeiro: UFRJ/EQ., 171p. Dissertação (Mestrado em ciências).
- DESHANDE, S. SHIAU, B.J.; WADE, D.; SABATINI, D.A. and HARWELL, J.H. (1999). "Surfactants selection for enhancing ex situ soil washing". *Pergamon*. vol. 33, n.º 2, pp. 551-360.
- HAIG, S.D. A (1996) "review of the interation of surfactants with organic contaminants in soil". *The Science of the Total Environment*. vol. 185. Pp. 161-170.
- OU, Z.Q. (2000). "Separate and combinate environmental behaviour of surfatants and polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs)" In: <http://tumb1.biblio.tu-muenchen.de/publ/diss/ww/2000/ou.pdf>. Acessado em março 2002.
- ROCHA, C.; SAN-BLAS, F.; SAN-BLAS, G.; and VIERMA, L. (1992). "Biosurfatants production by two isolates of *Pseudomas aeruginosa*". *World J. Microbil. Biotech.*, vol. 8, pp. 125-128.
- SORIANO, A.U., (2000). "Tratamento de solos argilosos contaminados por hidrocarbonetos de petróleo". Relatório de Atividades Apresentado ao CNPq, para Renovação de Bolsa Modalidade RD, Processonº 300479/99-9, Área - Engenharia Química (cadastro na biblioteca do CETEM/MCT como Relatório Técnico - RT43/2000).
- STELMACK, P.L.; GRAY, M.R. and PICKARD, M.A. (1999). "Bacterial Adhesion to soil contaminants in the presence of surfactants". *Applied and Environmental Microbiology*. vol. 65. No. 1. pp. 163-168.
- SUN, X. & PURI, R.K. (1999). "Surfatant-enhanced solubility and mobility of polycyclic aromatic hydrocarbons in soil". *Proceedings of the 12th Annual Conference on Hazardous Waste Research*.
- URURAHY, A. F.P. (1998). "Biodegradação de resíduo oleoso proveniente de refinaria de petróleo". Universidade Federal do rio de Janeiro, Escola de Química, Rio de Janeiro, Brasil, 344p.
- VOLKERING, F., BREURE, A.M., van ANDEL, J.G. and RULKENS, W.H. (1995). "Influence of nonionic surfactants on bioavallability and biodegradation of polycyclic aromatic hydrocarbons". *Appl. Environ. Microbiol.* vol. 61 pp. 1699-1705.