



Copyright 2004, Instituto Brasileiro de Petróleo e Gás - IBP

Este Trabalho Técnico Científico foi preparado para apresentação no 3º Congresso Brasileiro de P&D em Petróleo e Gás, a ser realizado no período de 2 a 5 de outubro de 2005, em Salvador. Este Trabalho Técnico Científico foi selecionado e/ou revisado pela Comissão Científica, para apresentação no Evento. O conteúdo do Trabalho, como apresentado, não foi revisado pelo IBP. Os organizadores não irão traduzir ou corrigir os textos recebidos. O material conforme, apresentado, não necessariamente reflete as opiniões do Instituto Brasileiro de Petróleo e Gás, Sócios e Representantes. É de conhecimento e aprovação do(s) autor(es) que este Trabalho será publicado nos Anais do 3º Congresso Brasileiro de P&D em Petróleo e Gás

DEGRADAÇÃO DO PETRÓLEO EM DERRAMES NO MAR – INTEMPERISMO X BIORREMEDIAÇÃO

Eliane Soares de Souza¹ e Jorge Alberto Trigüis²

Universidade Estadual do Norte Fluminense, Laboratório de Engenharia e Exploração de Petróleo. Rodovia Amaral Peixoto Km 163, Av. Brennand s/n, Imboacica, Macaé, Rio de Janeiro,¹ eliane@lenep.uenf.br. ² triguis@lenep.uenf.br.

Resumo – As atividades de E&P de petróleo, ao longo da costa brasileira, podem impactar o ambiente marinho em função de derrames de óleo. Logo após um derrame, processos intempéricos começam a alterar as propriedades do óleo. O conhecimento destas alterações é importante na determinação da idade de um derrame, da extensão de seu impacto e da escolha do método de limpeza. Nesta pesquisa foram conduzidas simulações de derrames de óleo em água do mar, e avaliadas as mudanças na composição química do óleo em função da sua exposição às intempéries e à técnica de biorremediação, através da aplicação de um fertilizante do tipo NPK. O monitoramento das alterações provocadas na composição do óleo foi realizado através de análises cromatográficas, ao longo de 28 dias. Os resultados mostraram que o intemperismo foi responsável pela redução de 66% dos alcanos após 4 dias e de 80% dos alcanos, fenantrenos e dibenzotiofenos metilados em 28 dias. A biorremediação contribuiu com a redução de 30% dos alcanos remanescente ao final de 4 dias do experimento. Este resultado mostrou que a biorremediação pode ser usada na recuperação de áreas costeiras contaminadas por óleo, complementando a ação do intemperismo na remoção dos principais componentes do petróleo.

Palavras-Chave: intemperismo; derrame de petróleo; biorremediação.

Abstract – The E&P petroleum activities along the Brazilian coast, may impact the marine environment by releasing oil. The weathering is a series of processes whereby the properties of the oil change after the spill. The knowledge of these changes is important to determine the time of an oil spill, how it should be cleaned up and the extension of its impact. This research includes an experiment of seawater oil spill and its bioremediation simulation, using a NPK fertilizer, monitored over a period of 28 days. The extent of oil weathering and biodegradation were determined by gas chromatography analyses. The results showed: The oil weathering was responsible for the reduction of 66% alkanes at 4 days and, 80% of alkanes, phenantrenes and dibenzothiophenes methylated at 28 days. And in addition, bioremediation contributed with a reduction of 30% in weight of the remained alkanes in the first 4 days of the experiment. Those results showed that bioremediation technique can be used in the clean up of oil contaminated coastal areas as a complement to the weathering processes to remove the main petroleum components.

Keywords: weathering, oil spill, bioremediation

1. Introdução

No Brasil, a produção de petróleo na Bacia de Campos, região norte do estado do Rio de Janeiro, é estratégica, representando mais de 80% da extração nacional. Uma de suas características é ser executada totalmente em *offshore*, através de 40 sistemas de produção distribuídos entre plataformas fixas, flutuantes e navios adaptados. O escoamento da produção da Bacia de Campos, 1,5 milhões de barris/dia, é realizado por oleodutos (20%) e o restante por navios (Cadernos Petrobrás, 2002). Essas atividades expõem a região a um risco potencial de acidentes, com vazamentos de óleo, possibilitando a contaminação de ambientes costeiros como praias e manguezais. Esse tipo de catástrofe, além do dano ao meio ambiente, pode vir a causar graves impactos na imagem das companhias produtoras de petróleo.

O comportamento de óleos derramados nos mais diversos ecossistemas, e principalmente no mar, depende da composição química do petróleo, e também, da atuação de processos como evaporação, emulsificação, dissolução, biodegradação, foto-oxidação e das interações entre óleo, sedimentos e água. A combinação destes processos é conhecida como intemperismo, o qual reduz a concentração de diferentes grupos de compostos, modificando as características químicas e físicas do petróleo (Floodgate, 1984 e Fingas, 1998).

Os processos intempéricos, que atuam sobre um óleo derramado no mar, podem ocorrer simultaneamente, mas a diferentes velocidades. A velocidade e a extensão desses processos dependem das propriedades físicas e químicas do óleo original e de condições ambientais, como: temperatura, velocidade e direção dos ventos e das correntes marinhas. A evaporação é a responsável pelas mudanças mais importantes ocorridas no óleo durante um derrame. Em poucos dias um petróleo leve, dependendo da sua composição, pode perder até 75% de seu volume e os médios até 40%. Nos ambientes tropicais, as temperaturas elevadas fazem com que a perda por evaporação dos componentes voláteis do petróleo seja mais rápida, diminuindo seus efeitos tóxicos sobre a microflora local (Fingas, 1998).

Em resumo, os compostos saturados, predominantes na maioria dos óleos, são os mais suscetíveis à evaporação, biodegradação e à dispersão. Os compostos aromáticos de baixo peso molecular são parcialmente solúveis em água, mas evaporam rapidamente após um derrame. Os hidrocarbonetos aromáticos de elevado peso molecular (HPA) não apresentam o mesmo comportamento, sendo considerados tóxicos aos organismos aquáticos, em função do seu potencial carcinogênico e neurotóxico (Fingas, 1998).

O conhecimento das alterações causadas por esses processos, sobre os óleos nacionais, no ambiente marinho costeiro tropical, é importante na identificação de um óleo e na determinação do tempo em que se encontra derramado, auxiliando na definição do responsável legal pelo derrame. O monitoramento dessas alterações também pode auxiliar na avaliação da extensão de possíveis impactos ambientais em ambientes costeiros, e ainda, na tomada de decisão sobre a melhor forma de remediar esses impactos.

Uma técnica de remediação de ambientes contaminados, relativamente nova, propõe a aceleração do processo de degradação natural do petróleo, por microrganismos que utilizam os hidrocarbonetos como fonte de carbono em seus processos metabólicos. A técnica de biorremediação é ecologicamente correta, pois não altera o equilíbrio dos ecossistemas, visando somente a biodegradação dos compostos poluentes, reduzindo sua concentração e/ou toxicidade (Atlas, 1977; Pritchard e Costa, 1991; Prince, 1993; Atlas, 1995 a e b). O sucesso da aplicação da biorremediação depende da presença de microrganismos específicos e de condições ambientais adequadas, para que a biodegradação ocorra. Os microrganismos devem ser capazes de metabolizar os constituintes do petróleo. Em muitos casos, esses organismos já fazem parte da microflora local em outras circunstâncias, em que se verifica sua carência, precisam ser adicionados (microrganismos exógenos). Parâmetros ambientais podem ser alterados ou controlados para otimizar o crescimento e as atividades metabólicas dos microrganismos. Algumas dessas condições são: presença de oxigênio e de nutrientes contendo compostos de nitrogênio e fósforo, e pH (Adamassu e Korus, 1996).

Compostos de nitrogênio são essenciais na biossíntese de proteínas e ácidos nucleicos pelos microrganismos. O fósforo é um componente vital dos ácidos nucleicos, dos fosfolipídios que compõem as membranas celulares e também desempenha um papel central no processo de transferência de energia dentro da célula (Atlas, 1977; Rosenberg *et al.*, 1996). O uso de nutrientes ricos em nitrogênio e fósforo, com o objetivo de acelerar ou estimular a biodegradação de óleos em sedimentos de praia, é muito difundido. Isto pode ser explicado pelo fato de que a concentração destes compostos, no ambiente marinho, é reduzida, pois são rapidamente assimilados pela maioria dos microrganismos (Pritchard e Costa, 1991; Pritchard *et al.*, 1992; Bragg *et al.*, 1994). A biorremediação com a aplicação de nutrientes envolve uma variedade de técnicas e produtos comerciais. Alguns dos nutrientes são desenvolvidos especificamente para uso em derrames de petróleo e outros para uso na agricultura, como os fertilizantes. Os fertilizantes agrícolas, como os do tipo NPK, misturas com diferentes proporções de compostos contendo nitrogênio, fósforo e potássio, são normalmente aplicados dissolvidos em água, sobre sedimentos contaminados. As vantagens do uso desse tipo de nutriente são a sua disponibilidade no mercado e o baixo custo. (Prince, 1993 e Atlas, 1995b).

Em face aos riscos ambientais inerentes às atividades desenvolvidas pela maior região de produção de petróleo brasileira, localizada na Bacia de Campos, litoral norte do Estado do Rio de Janeiro, e a carência de informações sobre o comportamento de óleos nacionais, quando derramados em ambiente marinho tropical, a presente pesquisa teve como objetivo: Comparar as alterações geoquímicas provocadas pela ação do intemperismo e pelo processo de biorremediação sobre um óleo quando derramado no mar. Para isso foi conduzido um experimento em mesoescala, no qual, foram simulados derrames de um óleo leve, produzido na Bacia de Campos, e monitoradas as transformações geoquímicas relacionadas à variação da concentração dos principais componentes do petróleo, ao longo de 28 dias de exposição às intempéries e, paralelamente, à biorremediação, através da adição de fertilizante agrícola do tipo NPK.

2. Metodologia

O experimento foi conduzido em três unidades de simulação de derrame de óleo no mar. As unidades de vidro com as dimensões de 60 cm de largura, 80 cm de profundidade e 20 cm de altura, foram preenchidas com 50 litros de água do mar, coletada na Praia de Cavaleiros, Macaé –RJ. As unidades foram instaladas em um galpão de 15 m², construído em madeira com as paredes laterais revestidas de tela, e coberto por telhas transparentes. Todo o conjunto foi projetado com a finalidade de facilitar a ventilação e a entrada de luz solar. Este galpão está localizado em Macaé, cidade do norte do estado do Rio de Janeiro, e foi montado na área externa do Laboratório de Engenharia e Exploração de Petróleo - LENEPE, da Universidade Estadual do Norte Fluminense – UENF.

Sobre a superfície da água contida em cada unidade foi simulado o derrame de 50 ml de petróleo leve (27°API), produzido na Bacia de Campos, perfazendo uma concentração de 1g/l de água do mar. As unidades foram equipadas com bombas para aeração da água, e simulação de ondas. A primeira unidade, contendo somente água do mar e o óleo foi chamada de controle. Nesta unidade foi avaliada a ação das intempéries sobre o óleo derramado. As outras duas unidades (duplicata) foram chamadas de unidades de biorremediação, nas quais foi adicionado o fertilizante tipo NPK, solúvel em água. A frequência de aplicação do fertilizante foi de 2 gramas nos tempos 0 e 2 dias e 1 grama no tempo 4 dias, totalizando 5 gramas de fertilizante.

Foi mantido o volume de água presente na unidade de simulação, através da adição em partes iguais de água do mar fresca e água destilada a cada 3 dias, ao longo do experimento. A variação de temperatura ambiente medida no período da execução do experimento foi de 22 – 34°C e os valores de pH da água variaram de 8,0 ± 0,2.

Nesta pesquisa foram realizadas análises geoquímicas das amostras de óleo degradado ao longo do experimento, com o objetivo de qualificar e quantificar as mudanças observadas na composição química do óleo submetido às intempéries e à biorremediação, quando comparado ao óleo originalmente derramado.

2.1. Amostragem do Óleo Degradado

Na coleta do óleo degradado ao longo do experimento foi utilizada a técnica de amostragem composta. Foram coletadas amostras de quatro locais diferentes da superfície da mancha de óleo sobrenadante. As amostras foram homogeneizadas e agrupadas formando uma única amostra composta. A quantidade de amostra coletada foi de aproximadamente 0,5 g. As amostras de óleo degradado foram coletadas nos tempos: 0, 2, 4, 7, 14, 21 e 28 dias, e levadas para as determinações geoquímicas.

2.2. Análises Geoquímicas

O monitoramento da degradação de *n*-alcanos e isoprenóides foi feito por cromatografia gasosa capilar acoplada a um detector de ionização de chama. O processo de degradação foi avaliado através da diminuição das concentrações de *n*-alcanos e isoprenóides (Wang & Fingas, 1997; Boehm *et al.* 1997; Barakat *et al.* 1999). Para a quantificação dos *n*-alcanos e isoprenóides, as amostras de óleo leve original e de óleo degradado foram pesadas a aproximadamente 50 mg, ao décimo de miligrama, e adicionado um volume pré-definido da solução do padrão cromatográfico *n*-tetracosano deuterado. Todo o conjunto foi evaporado em capela, a temperatura ambiente, e o volume completado a 1 ml, com diclorometano, para posterior injeção no cromatógrafo.

O monitoramento da degradação de compostos policíclicos aromáticos alquilados foi feito por cromatografia gasosa capilar acoplada a um espectrômetro de massas. As amostras de óleo, para serem analisadas, passaram inicialmente por um processo de separação das frações de saturados e aromáticos por cromatografia líquida. As frações de compostos aromáticos foram então analisadas com o objetivo de se monitorar as prováveis alterações sofridas por compostos aromáticos alquilados (Hostettler & Kvenvolden, 1994; Roques *et al.* 1994; Wang & Fingas, 1995a e 1995b). Os íons monitorados ao longo do experimento foram os correspondentes às famílias dos isômeros do metil fenantrenos ($m/z = 192$) e do metil dibenzotiofenos ($m/z = 198$).

3. Resultados e Discussões

Os resultados do monitoramento geoquímico, expresso pelas análises cromatográficas das amostras do óleo leve original e do mesmo óleo degradado, pelas intempéries e pela biorremediação, ao longo dos 28 dias do experimento, podem ser observados na figura 1. A análise dos perfis cromatográficos mostrou que o intemperismo do óleo foi muito expressivo, resultando na eliminação completa dos alcanos que continham menos que 15 átomos de carbono, já nos primeiros quatro dias do derrame simulado. Estudos realizados em laboratório por Wang e Fingas (1995b) sobre os efeitos do intemperismo na composição química de um óleo leve, mostraram que amostras de óleo, as quais sofreram um processo de evaporação forçada, em rota-evaporador a 80°C por 100 horas até a redução de 45% do seu peso, apresentaram um perfil cromatográfico que ainda continha *n*-alcanos com 13 e 14 átomos de carbono. Outro estudo, envolvendo a análise geoquímica de amostras de óleo intemperizado, resultantes de um derrame real de óleo combustível no mar Mediterrâneo em Israel; apresentou resultados muito semelhantes aos obtidos para o quarto dia de

experimento desta pesquisa, embora tenha sido necessário para isso, um tempo de exposição às intempéries de 21 dias (Ezra *et al*, 2000).

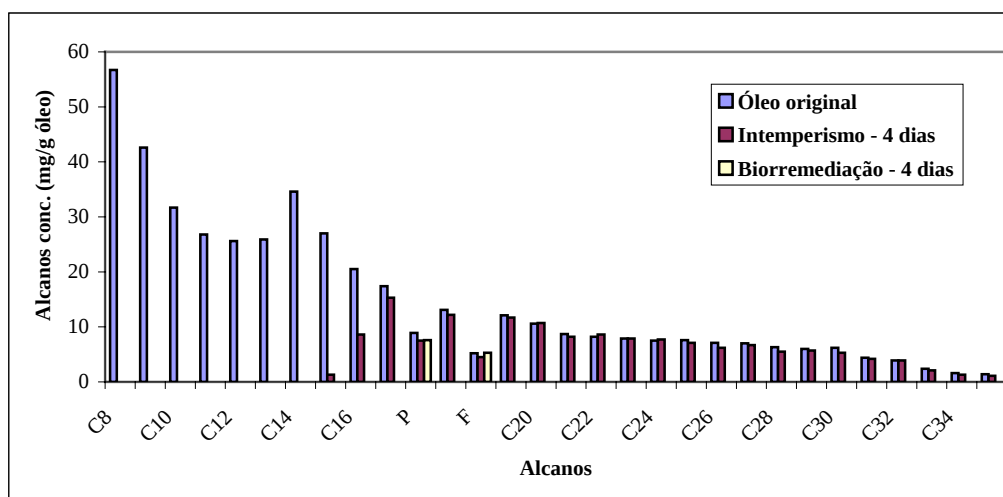


Figura 1. Diagrama comparativo dos perfis cromatográficos referentes à composição em alcanos do óleo original derramado, do óleo degradado e do óleo biorremediado após 4 dias do experimento simulado.

Com o objetivo de avaliar o percentual de *n*-alcanos e isoprenóides que sofreram intemperismo, e aqueles que foram biodegradados, durante os 28 dias do experimento, foram tabelados os somatórios das concentrações dos alcanos de *n*-C₈ a *n*-C₃₅, presentes nas amostras de óleo coletadas das unidades e comparadas com aquela referente ao óleo original. Essa comparação pode ser observada na tabela 1. Nota-se que a percentagem de redução dos alcanos, principalmente, por evaporação até o quarto dia do experimento foi de 66%, chegando a 81% após 28 dias do derrame. Podem ser observados também os excelentes resultados obtidos com a aplicação de NPK, num curto intervalo de tempo, sobre a fração de *n*-alcanos e de isoprenóides. Observou-se que a redução desta fração de compostos por biorremediação esteve próxima de 30%, considerando-se que a perda por evaporação até o quarto dia do experimento foi de 66%.

Tabela 1: Redução da concentração de *n*-C₈ a *n*-C₃₅ (mg/g de óleo), em relação ao óleo original, das amostras de óleo coletadas das unidades de Controle e de Biorremediação no quarto e vigésimo oitavo dias após o derrame simulado.

Alcanos (<i>n</i> -C ₈ - <i>n</i> -C ₃₅) (mg/g óleo)	4 dias			28 dias	
	Óleo original	Controle	Biorrem.	Controle	Biorrem.
	444.7	153.2	13.0	84,44	0,0
Redução da concentração dos alcanos (%)		66	97	81	100

As alterações na concentração dos isômeros dos compostos alquilados de fenantrenos e dibenzotiofenos foram avaliadas, através da análise da fração de aromáticos das amostras. Na figura 2 encontram-se os cromatogramas de massas referentes aos compostos policíclicos aromáticos alquilados identificados nas amostras coletadas das unidades de Controle e de Biorremediação logo após o derrame e no final do experimento, isto é, no vigésimo oitavo dia.

A redução das abundâncias relativas dos fenantrenos e dibenzotiofenos metilados, ao final dos 28 dias do experimento, variou de aproximadamente 75% a 85%, respectivamente, quando comparadas àquelas observadas no óleo logo após o derrame, tanto para as amostras de óleo coletadas na unidade de controle como na de biorremediação. Os resultados referentes à ação dos processos intempéricos sobre a amostra do controle estão de acordo com os obtidos no estudo das mudanças geoquímicas observadas em amostras de óleo derramado pelo petroleiro *Exxon Valdez*, na baía de Prince William, Alaska; coletadas, entretanto, após três anos de ocorrido o acidente (Hostettler e Kvenvolden, 1994). Em outro estudo de caso, análises geoquímicas realizadas em amostras de óleo derramado no mar Mediterrâneo, com o objetivo de avaliar o comportamento dos dibenzotiofenos metilados frente às intempéries, indicaram a persistência destes compostos no ambiente marinho por aproximadamente 42 dias após o derrame (Ezra *et al*, 2000). A adição do fertilizante NPK, durante a primeira semana do experimento, não alterou de forma significativa os perfis dos compostos policíclicos aromáticos metilados, avaliados ao final dos 28 dias de monitoramento, quando comparados àquelas que estiveram submetidos somente aos processos intempéricos.

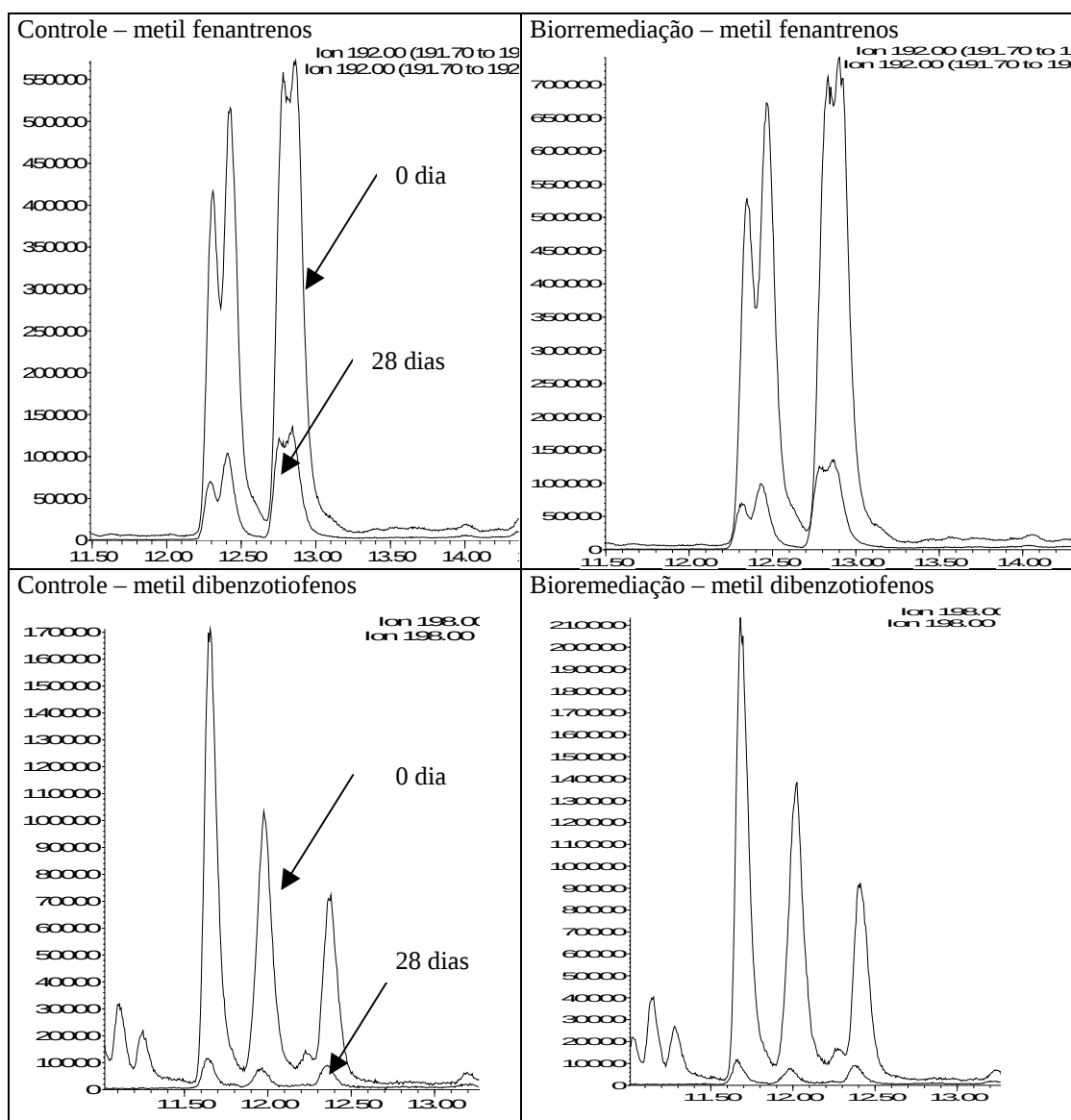


Figura 2: Comparação entre os cromatogramas de massas dos compostos policíclicos aromáticos alquilados, metil fenantrenos ($m/z=192$) e metil dibenzotiofenos ($m/z=198$), obtidos das amostras de óleo coletadas das unidades de controle e de biorremediação logo após o derrame (0 dia) e no final do experimento (28 dias).

6. Conclusões

- O percentual de perda por intemperismo, principalmente por evaporação, dos alcanos normais e ramificados variou de aproximadamente 66% após 4 dias, chegando a 80% no final de 28 dias do experimento. Resultado considerado normal levando-se em consideração as condições ambientais típicas da costa brasileira.
- A técnica de biorremediação com a aplicação de NPK apresentou excelentes resultados sobre a fração de *n*-alcanos e de isoprenóides, já nos primeiros quatro dias do experimento. Observou-se que a redução destes compostos em função da aceleração da sua biodegradação, pelos microrganismos naturalmente presentes na água do mar, foi de 30%. Estes resultados mostraram que a biorremediação é uma técnica perfeitamente adaptada às condições de ambiente marinho tropical e é complementar aos efeitos do intemperismo na remoção dos componentes presentes em maior concentração nos principais tipos de petróleo.
- Nos compostos policíclicos aromáticos alquilados foi observada uma redução elevada das abundâncias relativas após 28 dias de monitoramento, tanto para as amostras de óleo submetidas exclusivamente às intempéries como para aquelas submetidas à biorremediação. Para os isômeros metilados dos fenantrenos e dibenzotiofenos a redução média foi de 75% e 85%, respectivamente, em relação à concentração desses compostos no óleo original.

7. Agradecimentos

Os autores agradecem à Petrobrás, pela realização das análises por cromatografia gasosa capilar (GC/FID), ao Laboratório de Engenharia e Exploração de Petróleo LENEP/UENF. E ao suporte financeiro concedido pelo financiamento FINEP/MCT através do projeto nº 6499037400.

8. Referências

- ADAMASSU, W., KORUS, R. A. Engineering of bioremediation processes: needs and limitations. In: *Bioremediation: Principles and Applications – Biotechnology Research Series*: 6. Crawford, R.; Crawford, D. (Editors), Cambridge University Press. p. 13 – 34, 1996.
- ATLAS, R. Stimulated petroleum biodegradation. *CRC Critical Reviews in Microbiology*, v. 9, p. 371-386, 1977.
- ATLAS, R. Petroleum biodegradation and oil spill bioremediation. *Marine Pollution Bulletin* v. 31, n. 4, p. 178-182, 1995.
- BARAKAT, A., MOSTAFA, A., RULLKÖTTER, J., HEGAZI, A. Application of a multimolecular marker approach to fingerprint petroleum pollution in the marine environment. *Marine Pollution Bulletin*, v. 38, n. 7, p. 535-544, 1999.
- BOEHM, P.D., DOUGLAS, G.S., BURNS, W.A., MANKIEWICZ, P.J., PAGE, D.S., BENCE, A.E. Application of petroleum hydrocarbon chemical fingerprinting and allocation techniques after the *Exxon Valdez* oil spill. *Marine Pollution Bulletin*, v. 34, n. 8, p. 599-613, 1997.
- BRAGG, J., HARNER, E., ATLAS, R. Bioremediation of the *Exxon Valdez* oil spill: Monitoring safety and efficacy. In: *Hydrocarbon Bioremediation*. Hinchee, R.E. (ed.). Lewis Publishers, CRC press. p. 107-125, 1994.
- CADERNOS PETROBRAS – Bacia de Campos. Agosto/ n. 2, p. 4-17, 2002.
- EZRA, S., FEINSTEIN, S. PELLY I., BAUN, D., MILOSLAVSKY, I. Weathering of fuel oil spill on the east Mediterranean coast, Ashdod, Israel. *Organic Geochemistry*, v. 31, p. 1733-1741, 2000.
- FINGAS, M.F. The chemistry and physics of oil behaviour at sea: Weathering and incorporation into spill models. Australian U.N. Workshop, 22p, 1998.
- FLOODGATE, G. The fate of petroleum in marine ecosystems. In: R.M. Atlas (Ed.) *Petroleum Microbiology*, Macmillan Publishing Co. p. 355-398, 1984.
- HOSTETTLER, F.D., KVENVOLDEN, K.A. Geochemical changes in crude oil spilled from the *Exxon Valdez* supertanker into Prince William Sound, Alaska. *Org. Geochem.* v. 21, n. 8/9, p. 927-936, 1994.
- PRINCE, R. Petroleum spill bioremediation in marine environments, *Critical Reviews in Microbiology*, v. 19, n. 4, p. 217-242, 1993.
- PRITCHARD, P., COSTA, C. EPA's Alaska oil spill bioremediation project. *Environment Science and Technology*, v. 25, n. 3. p. 372-379, 1991.
- PRITCHARD, P.H., MUELLER, J.G., ROGERS, J.C., KREMER, F.V., GLASER, J.A. Oil spill bioremediation: experiences, lessons and results from the Exxon Valdez oil spill in Alaska, *Biodegradation* v. 3, p. 315-335, 1992.
- ROQUES, D.E., OVERTON, E.B., HENRY, C.B. Using gas chromatography/mass spectroscopy fingerprint analyses to document process and progress of oil degradation, *J. Environ. Qual.* v. 23, p. 851-855, 1994.
- ROSENBERG, E., LEGMANN, R., KUSHMARO, A., ADLER E., ABIR H., RON, ELIORA Z. Oil bioremediation using insoluble nitrogen source. *Journal of Biotechnology*. V. 51, p. 273-278, 1996.
- WANG, Z., FINGAS, M. Differentiation of the source of spilled oil and monitoring of the oil weathering process using gas chromatography-mass spectrometry. *Journal of chromatography A*, v. 712, p. 321-343, 1995a.
- WANG, Z., FINGAS, M. Study of the effects of weathering on the chemical composition of a light crude oil using GC/MS and GC/FID. *J. Microcolumn Separations*. V. 7, n. 6, p. 617-639, 1995b.
- WANG, Z., FINGAS, M. Review: Developments in the analysis of petroleum hydrocarbons in oils, petroleum products and oil-spill-related environmental samples by gas chromatography. *Journal of Chromatography A*, v. 774, p. 51-78, 1997.