

REMEDIÇÃO DE SOLO CONTAMINADO POR PETRÓLEO EM BIOPILHAS – ECALA PILOTO

Renata da Matta dos Santos (Escola de Química/UFRJ e Centro de Tecnologia Mineral)¹, Selma Gomes Ferreira Leite (Escola de Química/UFRJ)², Luiz Gonzaga Santos Sobral (Centro de Tecnologia Mineral), Andréa Camardella de Lima Rizzo (Centro de Tecnologia Mineral).

¹ Av. Pedro Calmon, nº900, Cep: 21941-908. rraimundo@cetem.gov.br

² Av. Brigadeiro Trompowski, Centro de Tecnologia, Bl. E. Cep: 21949-900. selma@eq.ufrj.br

Desde a extração do petróleo até o seu processamento, transporte e armazenagem dos derivados, é crescente a preocupação com a possibilidade de contaminação do meio ambiente. Os solos, quando contaminados por hidrocarbonetos de petróleo, podem ser tratados por processos biológicos que se baseiam na utilização de organismos (bactérias, fungos e/ou vegetais) para reduzir ou eliminar compostos orgânicos que apresentam riscos à saúde humana. Os processos biológicos, quando comparados com os processos convencionais físicos e químicos, são menos onerosos e intrusivos. As tecnologias de biorremediação podem ser aplicadas *in situ* ou *ex situ*, dentre as quais destacam-se a atenuação natural, fitorremediação, *landfarming*, biopilhas e biorreatores. Biopilhas ou biocélulas é uma tecnologia *ex situ* de biorremediação, que envolve o empilhamento de solos contaminados, o qual simula a atividade microbiana aeróbia acelerando a degradação do poluente pela aeração, adição de nutrientes e correção de umidade. O trabalho desenvolvido buscou avaliar a eficiência da remoção de petróleo em um solo contaminado, aplicando a tecnologia de biopilhas. Técnicas auxiliares a esta tecnologia foram também avaliadas. O bioestímulo do solo foi realizado pela adição de duas fontes alternativas para correção de nitrogênio, utilizando-se nitrato de sódio e uréia comercial, na relação C:N=100:10. O outro auxílio a biorremediação foi obtido pela adição de pó de coco verde nas concentrações de 5 e 10% (p/p). Esse material de baixa densidade, quando incorporado ao solo, aumenta a sua porosidade facilitando a difusão de oxigênio por entre as partículas sólidas. Ambas correções promovem o aumento da atividade microbiana, essencial para a biodegradação do óleo cru. Em uma primeira etapa, os testes foram realizados em microcosmos, fornecendo a melhor granulometria do estruturante. As melhores condições, na qual o pó de coco encontrava-se na granulometria superior a do solo (10 mesh), foram reproduzidas em biopilhas. Os resultados mostraram que a melhor condição em biopilha foi aquela na qual a correção de nitrogênio foi realizada pela adição de uréia e adição do material estruturante numa concentração de 5% p/p com uma remoção de 44% de hidrocarbonetos de petróleo. Nessa mesma condição, foi observado um crescimento de microrganismos degradadores de óleo cru de 6×10^2 NMP/g de solo no tempo inicial, para 6×10^6 NMP/g de solo ao final dos 180 dias de teste. Assim, verificou-se que o bioestímulo, pela adição de uréia, associado a adição de material estruturante podem ser aplicados em conjunto com a tecnologia de biopilhas, aumentando a eficácia das mesmas.

Palavras-chaves: Biorremediação, Biopilhas, Petróleo.

1. INTRODUÇÃO

O grande crescimento da população é de forma direta ou indireta, um dos principais fatores responsáveis pelo fenômeno de impacto ambiental, em função da produção de quantidades cada vez maiores de resíduos, seja eles de origem doméstica ou industrial. A atividade industrial vem acelerando o processo de degradação do meio ambiente, através de emissões gasosas não controladas, disponibilização inadequada de rejeitos industriais e diversas outras formas que causam a contaminação do meio ambiente. Preocupações ambientais, incipientes até a ocorrência da 2ª Guerra Mundial, demonstraram ser de vital importância na medida em que mais e mais acidentes ambientais passaram a ocorrer, estimulando a pesquisa de forma a reparar ou minimizar, nos processos produtivos, esses danos ambientais. Além disso, a pressão por parte dos governos e da opinião pública tem forçado essa postura ambientalmente correta das indústrias, estabelecendo leis que regulam o gerenciamento ambiental (MOLINA-BARAHONA *et al.*, 2004).

As indústrias de petróleo são reconhecidamente grandes causadoras de impactos ambientais. Por outro lado, é extensa e fundamental a importância do petróleo em nossa sociedade, pois além de ser uma das principais fontes de energia utilizadas atualmente, seus derivados são matérias-primas para a manufatura de inúmeros bens de consumo (MARIANO, 2005).

A disposição inadequada de resíduos oleosos da indústria de petróleo vem causando a contaminação de solos, recursos hídricos superficiais e subterrâneos e, eventualmente, dependendo da volatilidade dos compostos orgânicos presentes nos resíduos, a contaminação do ar (TRINDADE, 2002). Atualmente, esforços estão sendo envidados no desenvolvimento de novas alternativas de remediação desses meios contaminados por petróleo. A contaminação de solos por compostos orgânicos, como petróleo, pode exigir a utilização de uma combinação de

tecnologias biológicas, físicas e químicas para reduzir a contaminação a um nível seguro e aceitável (KHAN *et al.*, 2004).

Os processos biológicos, quando comparados aos processos físico-químicos, são mais seguros, menos onerosos e menos agressivos ao meio ambiente, já que, muitas vezes, concentra seus esforços em otimizar, tão somente, o processo naturalmente existente nos solos contaminados sendo por isso conhecido como biorremediação (MOLINA-BARAHONA *et al.*, 2004; D'ANNIBALE *et al.*, 2006). A biorremediação é uma tecnologia ecologicamente aceitável para a remediação de solos contaminados, a qual utiliza o estímulo da atividade microbiana para degradar compostos orgânicos, em especial hidrocarbonetos de petróleo, resultando na transformação em metabólitos ou mineralização dos contaminantes (MOLINA-BARAHONA *et al.*, 2004; NAKAGAWA e ANDRÉA, 2006). As tecnologias de biorremediação para a recuperação de solos contaminados por petróleo são principalmente baseadas em processos aeróbicos, sendo assim, a concentração de oxigênio no solo é reconhecida como um fator limitante. Alguns dos métodos utilizados para promover a aeração de solos são: o revolvimento mecânico, o bombeamento de ar através e a adição de agentes estruturantes. Agentes estruturantes são materiais de baixa densidade que quando adicionados ao solo contaminado aumentam a porosidade deste, proporcionando maior eficiência do processo de biorremediação (RHYKERD *et al.*, 1999). Além da aeração eficiente, outros fatores limitam a atividade microbiana, como o teor de nutrientes, concentração e composição dos contaminantes, temperatura, pH, teor de umidade, dentre outros. Desta forma, a etapa de caracterização do solo contaminado, assim como o ajuste desses parâmetros, são preponderantes para o sucesso da tecnologia de biorremediação escolhida, bem como para a eficiência do processo como um todo.

2. REVISÃO DA LITERATURA

2.1. Alternativas de tratamento de solos contaminados

A contaminação de solos por petróleo e seus derivados tem sido um dos principais problemas ambientais das últimas décadas, tendo em vista a complexidade desses compostos e a dificuldade de remediação dos mesmos. Os métodos de tratamento mais utilizados na indústria de petróleo são normalmente divididos em métodos físicos, químicos e biológicos (KHAN *et al.*, 2004). Os tratamentos físicos envolvem a separação das fases do solo e contaminante. Já os tratamentos químicos se baseiam nas diferenças das propriedades químicas dos diversos componentes dos contaminantes e envolvem, geralmente, uma ou mais das seguintes reações químicas: neutralização, fotólise e/ou oxi-redução. As principais operações e/ou processos físicos e químicos utilizados em todo mundo para tratamento de resíduos sólidos são encapsulamento (estocagem), extração por solvente, neutralização, oxidação (POAs), vitrificação, dessorção térmica e incineração.

O tratamento biológico, ao contrário dos processos físicos e químicos, é considerado um método seguro, eficiente e de menor custo a ser aplicado na remediação de solos contaminados por compostos orgânicos. Este tratamento é baseado na capacidade microbiana de degradar esses compostos, denominado biodegradação, que quando aplicado como uma tecnologia de remediação ambiental, é chamado de biorremediação (TRINDADE, 2002; D'ANNIBALE *et al.*, 2006).

2.2. Biorremediação

A biorremediação é uma tecnologia ecologicamente aceitável para a remediação de solos contaminados, a qual utiliza o estímulo da atividade microbiana para degradar compostos orgânicos, em especial hidrocarbonetos de petróleo, resultando na transformação em metabólitos ou mineralização dos contaminantes (MOLINA-BARAHONA *et al.*, 2004; NAKAGAWA e ANDRÉA, 2006).

A biorremediação tem sido definida de muitas formas. A Agência de Proteção Ambiental Americana (USEPA) apresenta uma definição genérica sobre a prática da biorremediação: *Biorremediação é o processo de tratamento que utiliza a ocorrência natural de microrganismos para degradar substâncias tóxicamente perigosas transformando-as em substâncias menos ou não tóxicas.* O Escritório de Estudos Geológicos do Departamento do Interior do Governo Americano (USGS), por sua vez, adota a definição do American Heritage Dictionary of the American Language que define biorremediação como: *O uso de agentes biológicos tais como bactérias e plantas, para remover ou neutralizar contaminantes, como poluentes do solo e da água* (CHAPELLE *apud* MARTINS *et al.*, 2003).

No tratamento biológico de solos contaminados por petróleo, os microrganismos, sendo as bactérias as mais estudadas, utilizam os hidrocarbonetos, principais constituintes do contaminante, como fonte de carbono e energia alternativa para formação de biomassa. Esse metabolismo envolve a transformação dos hidrocarbonetos em unidades menores e, posteriormente, a incorporação como material celular (biotransformação) ou conversão a gás carbônico (mineralização), resultando na redução da concentração de hidrocarbonetos de petróleo (MARTINS *et al.*, 2003).

2.3. Tecnologias de Biorremediação

As tecnologias de biorremediação de solos podem ser aplicadas *in situ*, isto é, no próprio local onde ocorreu a contaminação (impacto), não havendo necessidade da remoção dos solos contaminados (ALEXANDER, 1999). Este processo pode ocorrer de forma engenheirada ou intrínseca, tendo esta última reduzida interferência da ciência já que a biorremediação se vale dos microrganismos existentes no local para a biodegradação (MARTINS *et al.*, 2003).

Há casos em que a biorremediação é possível, porém é necessária uma série muito maior de providências do que o simples auxílio ao meio ambiente natural. Nesses casos, é comum a aplicação de técnicas de engenharia como construções de dutos para oxigenação, recolhimento/tratamento de gases, modificações topográficas do local, adição de microrganismos exógenos, implantação de biorreatores, aplicação de nutrientes, entre outras. As técnicas que exigem grandes quantidades de recursos tecnológicos são conhecidas como biorremediação engenheirada, podendo também ser realizadas *in situ*, o que inicialmente é sempre recomendável por questões econômicas e de menor agressão ao meio ambiente (ALEXANDER, 1999; TRINDADE, 2002; MARTINS *et al.*, 2003).

Casos existem, entretanto, cuja remoção do material contaminado de sua origem para um local adequado, com um tratamento posterior, é exigida para evitar riscos de alastramento da área contaminada, como contaminação de cursos de água ou lençóis freáticos. Neste caso as tecnologias aplicadas são denominadas *ex situ* (ALEXANDER, 1999).

O sucesso da biorremediação, quer seja *in situ* ou *ex situ*, está diretamente ligado a uma compreensão abrangente das condições locais e a uma avaliação cuidadosa da aplicabilidade de uma determinada tecnologia. 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.

O sistema de biopilhas ou biocélulas é uma tecnologia *ex situ* de biorremediação, que envolve o empilhamento de solos contaminados. O objetivo do processo é simular a atividade microbiana aeróbia acelerando a degradação do poluente pela aeração, adição de nutrientes e correção de umidade (KHAN *et al.*, 2004; LI *et al.*, 2004; MORAIS, 2005). A utilização dessa tecnologia, quando comparada às tecnologias *in situ*, apresenta a vantagem da facilidade de manipulação dos fatores ambientais que influenciam a biodegradação do contaminante tais como pH, temperatura, concentração de nutrientes, umidade e aeração (MORAIS, 2005; MOLINA-BARAHONA *et al.*, 2004). Além disso, a área de disposição das pilhas é freqüentemente coberta com uma manta impermeável para reduzir a lixiviação do contaminante para o solo não contaminado evitando conseqüente contaminação das águas subterrâneas.

Segundo Jorgensen *et al.* (2000), as biopilhas têm muito sucesso na remediação de locais contaminados por compostos orgânicos, em especial, na degradação de hidrocarbonetos de petróleo. Li *et al.* (2002) estudaram a remediação de solo poluído por hidrocarbonetos de petróleo através de biopilhas que receberam excremento de frango para suplementação de nutrientes e palha de arroz como material que melhoram as características do solo quanto à aeração. Durante 53 dias de operação, 38% a 57% do total do óleo presente no solo foi biodegradado. Esses autores concluíram que o sistema de biopilhas apresentou-se como uma tecnologia eficiente de biorremediação de baixo custo.

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-se o bioestímulo, o bioaumento e a adição de materiais estruturantes. O bioaumento consiste na re-inoculação do solo com microrganismos autóctonos diretamente isolados do mesmo solo, aumentando a atividade biológica específica e, conseqüentemente, a taxa de remediação do solo. Já o bioestímulo consiste no aumento da atividade da população microbiana autóctona pela adição de nutrientes e/ou aceptores finais de elétrons, tais como o oxigênio (processo aeróbio envolve a oxidação de substratos pelas enzimas oxigenases) ou nitrato (TRINDADE, 2002).

A adição de materiais estruturantes aos solos torna as características físicas do mesmo mais propícias a biorremediação. Solos com uma baixa permeabilidade, por exemplo, são difíceis de aerar, e freqüentemente formam aglomerados, tornando difícil a distribuição de umidade, ar, adição de nutrientes (bioestímulo) e de microrganismos (bioaumento). Desta forma, materiais de baixa densidade (agentes estruturantes) são adicionados ao solo para reduzir a sua densidade bulk, aumentar a porosidade e possibilitar maior difusão de oxigênio. Alguns trabalhos encontrados na literatura reportam o aumento da degradação de compostos orgânicos em sistemas de compostagem ou de *landfarming*, utilizando agentes estruturantes, como cavacos de madeira, palha, feno de grama, diferentes tipos de resíduos agroindustriais, além de materiais inorgânicos como a vermiculita (RHYKERD *et al.*, 1999; MOLINA-BARAHONA *et al.*, 2004).

Os materiais estruturantes devem possuir características tais como: baixo custo, não competitividade com o contaminante como fonte de carbono (reduzida biodegradação) e disponibilidade próxima à área do seu reaproveitamento. Nesse contexto, uma rota alternativa foi proposta para o reaproveitamento da casca de coco

verde utilizando esse material como agente estruturante na biorremediação de solo contaminado por petróleo. Tornar viável o aproveitamento da casca do coco verde, gerado tanto como resíduo industrial quanto como lixo urbano, significaria mais uma alternativa de lucro para os sítios de produção. Além disso, o aumento crescente no consumo do coco verde e a vocação natural para a industrialização de sua água vêm aumentando a geração de rejeito (a casca de coco corresponde a cerca de 85% do peso do fruto). Segundo dados fornecidos pela Companhia de Limpeza Urbana do Rio, COMLURB, o coco corresponde à cerca de 80% de todo o lixo coletado na orla marítima. Paralelamente, as indústrias que processam água-de-coco geram volumes significativos e crescentes do mesmo material, que atualmente, é enterrado em lixões e aterros, causando problemas, especialmente em grandes centros urbanos (COELHO, 2001).

3. METODOLOGIA

3.1. Solo Contaminado

De forma a simular em laboratório uma contaminação acidental, foi realizada a adição do óleo cru a um solo sem contaminação, ambos provenientes do campo de exploração e produção de petróleo em terra de Carmópolis. O referido material foi gentilmente cedido pela PETROBRAS e coletado por equipe da própria empresa. A contaminação foi simulada no laboratório adicionando-se o óleo cru (petróleo de base parafínica, com grau API médio de 24,1) na concentração de 5% p/p de solo seco. Após 72h da contaminação, o material residual (solo + óleo) foi utilizado para o desenvolvimento dos ensaios de biodegradação. Este solo contaminado apresentou capacidade de retenção de água de 28%, pH próximo de 6 e uma relação nutricional C:N:P de 100:6.86:0.39 (determinados em trabalhos anteriores).

3.2. Pó da Casca de Coco Verde empregado como Material Estruturante

O pó da casca de coco verde (*Cocos nucifera*), utilizado como material estruturante ao longo do desenvolvimento do trabalho experimental, foi fornecido pelo Laboratório de Bioprocessos da Embrapa Agroindústria Tropical (Fortaleza, CE). O processamento do coco para obtenção do pó envolveu uma sequência de operações incluindo as etapas de dilaceração, pré-secagem, moagem/trituração, prensagem e classificação.

A casca de coco verde, por apresentar uma umidade elevada, em torno de 85%, requer a etapa de pré-secagem. Assim, após dilaceração, as cascas são dispostas ao sol e revolvidas diariamente por quatro dias, reduzindo a umidade para valores em torno de 15 a 20%. O material dilacerado e seco é colocado em um moinho granulador, onde são produzidas uma fração enovelada, a fibra de coco, e uma fração particulada com granulometria heterogênea que é o pó de coco (PINO, 2005).

3.3. Ensaio de Biodegradação em microcosmos

Os ensaios foram desenvolvidos em microcosmos que consistiam de um frasco kitazato com rolha e saída lateral vedada (tubo de látex) com pinça de Mohr. Nesses frascos foram adicionados 50g do solo contaminado preparado conforme descrito em 3.1. Na Tabela 1, a seguir, são apresentadas as condições adotadas para o teste de biodegradação em microcosmos.

Tabela 1: Condições adotadas no Teste de Biodegradação em microcosmos.

Condições	Fração do pó de coco	Concentração do pó de coco
Controle N	-	-
N1.5	1	5% p/p
N2.5	2	5% p/p
N1.10	1	10% p/p
N2.10	2	10% p/p
Controle U	-	-
U1.5	1	5% p/p
U2.5	2	5% p/p
U1.10	1	10% p/p
U2.10	2	10% p/p

N - Adição de NaNO_3 ; U - Adição de Uréia; 1 - partículas maiores que 8 mesh (acima da granulometria do solo); 2 - partículas entre 10 e 20 mesh (1,68mm e 0,84mm), abaixo da granulometria do solo.

O teor de umidade foi corrigido individualmente no microcosmo para cada condição testada, adicionando água de forma a se obter um teor de umidade igual a 14% (50% da capacidade de retenção de água do solo). A correção de nitrogênio seguiu a melhor condição definida em testes anteriores, isto é, a relação C:N:P de 100:10:0,39, na qual a concentração de fósforo é aquela encontrada naturalmente no solo. Duas fontes alternativas para a correção de nitrogênio foram testadas: adição de uréia comercial (45% de nitrogênio) e nitrato de sódio (NaNO_3).

Os testes foram realizados em duplicata e todos os frascos incubados em estufa a 30°C durante os 60 dias de teste. Nesse período, os frascos eram retirados periodicamente (diariamente na primeira semana, e a cada 48h durante o restante do período do teste, exceto finais de semana) para análise cromatográfica do CO_2 gerado no *headspace* do microcosmo, aeração e correção de umidade, quando necessário.

3.3.1. Análise Cromatográfica do CO_2 gerado

Com o auxílio de uma seringa para análise cromatográfica, 0,5mL dos *headspaces* dos sistemas de microcosmos testados foram injetados no cromatógrafo a gás HP 5890 com detector de condutividade térmica (TCD) e coluna recheada com Chromosorb 102. Todas as injeções foram realizadas em duplicata, e os resultados foram avaliados em termos de evolução de CO_2 ao longo do tempo. As condições gerais de análise empregadas foram: vazão do gás de arraste (He) de 17,5mL/min; vazão do gás de referência (He) de 29,0mL/min; temperatura do forno de 105°C; temperatura do injetor de 160°C; temperatura do detector de 220°C.

3.4. Ensaio de Biodegradação em Biopilhas

O ensaio em biopilhas visou estudar, em uma escala ampliada, as melhores condições testadas no segundo teste de biodegradação em microcosmos, no qual o pó de coco foi adicionado como material estruturante do solo contaminado. As amostras de solo empregadas foram preparadas conforme descrito no item 3.1 e o pó de coco foi adicionado nas concentrações de 5 e 10% p/p. A correção de nitrogênio foi realizada pela adição de nitrato de sódio e uréia. As condições adotadas são apresentadas na Tabela 2, a seguir.

Tabela 2: Condições adotadas no Ensaio em Biopilhas.

Condições	Correção de Nitrogênio	Concentração do pó de coco
Biopilha 1	-	-
Biopilha 2	NaNO_3	5% p/p
Biopilha 3	NaNO_3	10% p/p
Biopilha 4	Uréia	5% p/p
Biopilha 5	Uréia	10% p/p

O teste foi realizado em biopilhas de bancada que consistiam de cinco bandejas de polietileno (30 x 20 x 5 cm) de aproximadamente 2,5 litros de capacidade total, nas quais 1500g do solo contaminado homogeneizado foram adicionados. A granulometria do pó de coco empregado, acima de 10 mesh (1,68mm), foi determinada como sendo a mais adequada após os resultados obtidos no teste de biodegradação em microcosmos. Na biopilha 1, condição controle, houve somente a correção da umidade do solo contaminado.

As biopilhas foram dispostas sob uma coifa, equipada com um sistema de exaustão e com filtro de carvão ativado para captar os gases possivelmente liberados durante o processo. A temperatura média registrada nas biopilhas foi de 22°C, visto que as mesmas foram instaladas no interior do laboratório climatizado. Semanalmente, o conteúdo das bandejas foi arado manualmente com o auxílio de um ancinho, simulando desta forma a aeração/revolvimento mecânico. A cada quinze dias, o teor de umidade era ajustado pela diferença de massa com relação a massa total inicial.

Durante os 180 dias do ensaio, foram retiradas mensalmente amostras das biopilhas para o acompanhamento do processo de biodegradação através da contagem de microrganismos degradadores de óleo e da concentração de hidrocarbonetos totais de petróleo (HTP), conforme metodologia a ser descrita nos itens 3.4.1 e 3.4.2, respectivamente. Até a realização das referidas análises, as amostras foram estocadas em câmara fria a 4°C.

3.4.1. Quantificação de microrganismos degradadores de óleo

A quantificação de microrganismos degradadores seguiu metodologia adotada por Trindade (2002). A primeira etapa desta análise consiste na extração da microbiota do solo, realizada pela adição de 5g de solo a 50mL de solução salina (NaCl 0,9%). Após agitação em shaker por 1 hora, à 25 °C e 150 rpm, foram feitas

sucessivas diluições do extrato obtido na razão extrato:solução salina de 1:9. Em seguida, 0,1 mL das diluições foram adicionados nos poços das placas de NMP contendo 1,8 mL de meio mineral cada. Então, foram adicionados 10µL de óleo cru. As placas de NMP foram incubadas a 30°C por 7 dias e examinadas pelo desaparecimento do óleo ou crescimento microbiano sendo considerado positivo para a presença de microorganismos degradadores de óleo. Essa avaliação utilizava a comparação visual com o controle sem inóculo.

3.4.2. Análise da Concentração de Hidrocarbonetos Totais de Petróleo

A análise dos hidrocarbonetos totais de petróleo (HTP) nas amostras de solo foi determinada no extrato obtido pela adição de 4mL de diclorometano a 2g do solo seco com sulfato de sódio anidro, utilizando o equipamento ASE (*Accelerated Solvent Extractor* - modelo 200 da Dionex). Esse extrato foi concentrado a 1 mL (Turbovap Modelo II), e então levado ao cromatógrafo a gás HP5890 (com coluna cromatográfica HP-5), para a determinação dos HTP, seguindo metodologia USEPA8015B. As referidas análises foram realizadas pelo laboratório de Resíduos e Áreas Impactadas da Gerência de Biotecnologia e Tratamentos Ambientais do CENPES/PETROBRAS.

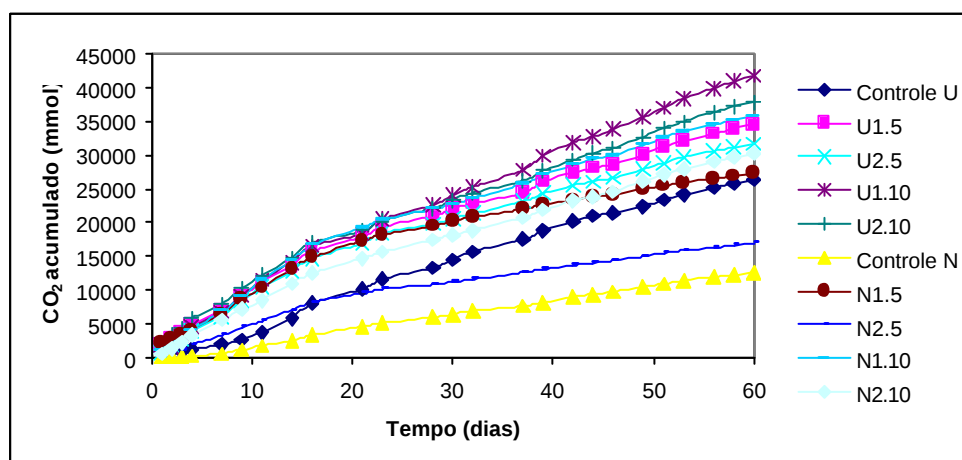
4. RESULTADOS

4.1. Teste de Biodegradação em microcosmos

O teste de biodegradação em microcosmos foi importante e conclusivo para a realização dos testes posteriores em biopilhas, pois nesse teste foram avaliadas a concentração e granulometria do pó de coco mais adequadas para a aplicação deste material como agente estruturante do solo contaminado. A correção de nitrogênio seguiu a melhor condição definida em testes anteriores (dados não mostrados) seguindo a relação C:N de 100:10. Além da correção de nitrogênio, pela adição de nitrato de sódio, prática comum, foi também testada como fonte de nitrogênio a adição de uréia comercial (45% de nitrogênio), composto este utilizado como fertilizante agrícola. A correção de nutrientes, como o nitrogênio, é importante, pois influencia na degradação do óleo cru, visto que os microrganismos necessitam desse macronutriente para sintetizar seus componentes celulares. O ambiente quando contaminado pode não conter os nutrientes em quantidades suficientes para manter a atividade microbiana, devido ao aumento da concentração de carbono proveniente da contaminação por óleo cru.

A concentração de material estruturante é um fator muito importante devendo ser avaliado. Valores superiores a 30% p/p de material estruturante não têm apresentado bons resultados. Além disso, não é interessante utilizar relações solo e material estruturante elevadas (acima de 30%), pois neste caso o solo estaria sendo “diluído”, condição normalmente não aceita pelos órgãos de controle ambiental (SEABRA, 2005). A correção da concentração na faixa de 2 a 12% tem sido o mais recomendado e aplicado por diversos autores (SEABRA, 2005; MOLINA-BARAHONA et al., 2004).

Na figura 1, a seguir, são apresentados os resultados de evolução de CO₂ durante o teste em kitazato.



N – adição de NaNO₃; U – adição de uréia; 1- fração de pó de coco de granulometria acima da o solo; 2 - fração de pó de coco de granulometria abaixo da o solo; 5 – 5% p/p de pó de coco; 10 - 10% p/p de pó de coco.

Figura 1: Evolução de CO₂ do Teste de Biodegradação em microcosmos.

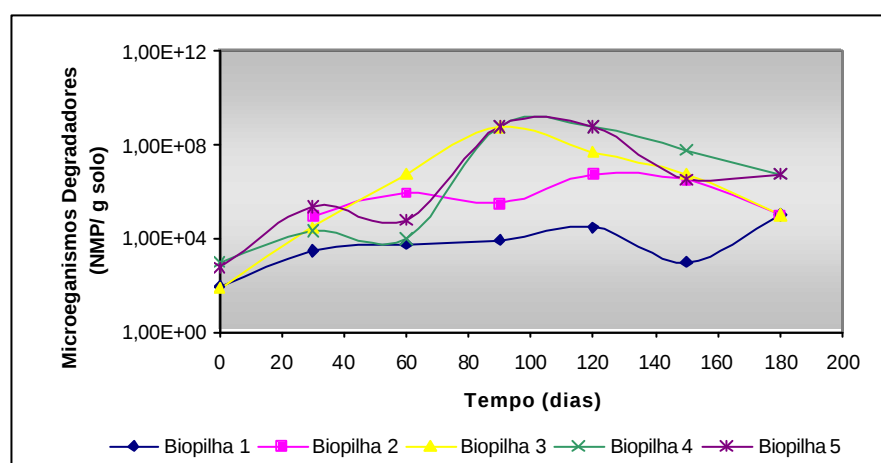
Analisando-se a Figura 1 é possível observar uma nítida influência da fonte de nitrogênio na degradação do óleo cru, sendo os melhores resultados observados para as condições cuja a concentração de nitrogênio foi corrigida pela adição de uréia. A adição do material estruturante foi responsável pelo aumento da remoção do contaminante em todas as condições testadas, o que pode ser observado comparando com os respectivos controles. As melhores condições foram N.1.10, para condições corrigidas com nitrato de sódio, e U.1.10, para condições corrigidas com uréia, responsáveis pela evolução de 35 e 41×10^3 μmol de CO_2 acumulados. Através de cálculos realizados a partir de uma curva de calibração do cromatógrafo, pode-se obter a massa de carbono removida a partir desta concentração final de CO_2 . Assim, para essas melhores condições, foi obtida uma remoção de 428mg de carbono, para N.1.10, e 501mg de carbono, para U.1.10, sendo ambos valores relativos a 50g de solo no período de 60 dias de teste.

4.2. Teste de Biodegradação em biopilhas

O tratamento de solos contaminados por petróleo em biopilhas, de uma forma geral, objetiva simular a atividade microbiana aeróbia acelerando a degradação do contaminante pela aeração, adição de nutrientes e correção de umidade (KHAN *et al.*, 2004; LI *et al.*, 2004; MORAIS, 2005). Assim, o ensaio desenvolvido objetivou aplicar em maior escala os melhores resultados obtidos no teste de biodegradação em microcosmos, no qual foi determinada melhor granulometria do pó de coco, material estruturante aplicado com o objetivo de promover maior aeração ao sistema. Além disso, a aeração pelo revolvimento semanal das biopilhas foi aplicada, tendo em vista que esta forma de aeração em conjunto com a adição de agentes estruturantes foi citada na literatura como sendo positiva na degradação do contaminante (SEABRA, 2005; MORAIS, 2005). O revolvimento é uma manipulação mecânica do solo para melhorar suas condições de tratamento, já que estimula a atividade microbiana pela sua mistura física, separando agregados do mesmo e expondo as fontes de carbono orgânico e nutrientes aos microrganismos (RHYCKERD *et al.*, 1999).

O acompanhamento das biopilhas foi realizado pela determinação da população microbiana degradadora de óleo cru em amostras mensais durante os 6 meses de ensaio, e pela taxa de biodegradação, através da quantificação de hidrocarbonetos totais de petróleo (HTP).

O crescimento microbiano de degradadores de óleo, observados na Figura 2, a seguir, indica que a adição do pó de coco e a correção de nitrogênio incentivaram a atividade microbiana, visto que a densidade populacional manteve-se sempre superior à biopilha 1, condição controle. Esse comportamento da microbiota autóctona foi observado também por Moraes (2005), quando adicionou palha de arroz ao tratamento em biopilha de um solo contaminado com resíduos oleosos de refinaria de petróleo. A adição da palha de arroz, assim como a adição do pó de coco, criaram condições favoráveis ao desenvolvimento da microbiota autóctona, pois estes materiais impediram a compactação do solo aumentando a concentração de oxigênio.



Biopilha 1-Controle solo contaminado; Biopilha 2 – NaNO_3 +5% de pó de coco; Biopilha 3 - NaNO_3 +10% de pó de coco; Biopilha 4 - Uréia+5% de pó de coco; Biopilha 5 - Uréia+10% de pó de coco.

Figura 2: Resultados da Contagem de Microrganismos Degradadores de Óleo para o teste em biopilhas.

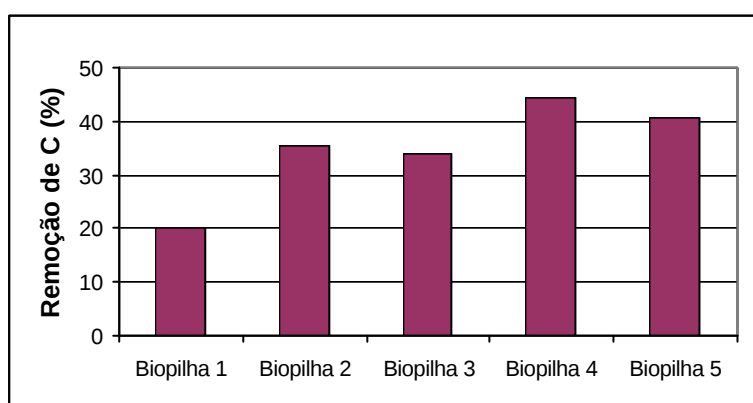
A concentração de microrganismos degradadores de óleo cru, verificada na Figura 2, foi mantida para todas as condições testadas, exceto o controle, em concentrações acima da recomendada para um eficiente processo de

remoção de petróleo por biopilhas. Normalmente, a densidade de população microbiana média de um solo está na faixa de 10^3 a 10^7 UFC/g de solo. Para a biopilha ser efetiva uma densidade mínima de microrganismos deveria ser de 10^3 UFC/g de solo ou maior, pois, quando menor, indicaria a presença de concentrações tóxicas de compostos orgânico ou inorgânico (por exemplo, metais). Nesta situação, as biopilhas podem ser ainda efetivas se o solo for corrigido de forma a reduzir as concentrações tóxicas e aumentar a densidade de população microbiana (USEPA, 2004). Tais aditivos foram adotados como a correção de nitrogênio e incorporação do pó de coco como agente estruturante, mas a própria densidade microbiana da condição controle (biopilha 1), variando de 10^3 a 10^5 UFC/g solo, já seria suficiente para a dita eficiência do processo de biopilhas. Nas demais condições, o crescimento microbiano foi estimulado pelos aditivos pó de coco e correção de nitrogênio, chegando a uma faixa de microrganismos degradadores de óleo de 10^6 a 10^8 NMP/g de solo, no final dos 180 dias de teste.

As condições onde houve maior crescimento da população degradadora foram as corrigidas com uréia. Em específico, observando o comportamento das biopilhas 4 e 5, houve um crescimento da população degradadora nos primeiros 30 dias de teste e uma queda até os 60 dias, voltando a crescer em seguida e atingindo 10^8 NMP/g de solo. Essa queda no número de microrganismo foi relatada por Trindade (2002), que chegou ao final de seu experimento com concentração igual ou pouco superior à população inicial. A redução da população microbiana pode estar relacionada à redução da concentração dos nutrientes inorgânicos, resultante do consumo de grandes quantidades de carbono orgânico, o que afetaria a população heterotrófica em geral (MOLINA-BARAHONA *et al.*, 2004).

A adição de materiais ligno-celulósicos ao solo, como o pó de coco, pode estimular o crescimento de fungos no mesmo, os quais são potenciais na degradação do óleo (BAHERI E MEYSAMI, 2002). Talvez a esse fato pode ser associado o maior crescimento de microrganismos degradadores nas condições corrigidas com nitrato de sódio. Já para as condições corrigidas com uréia, a redução dos microrganismos degradadores poderia ser associada à toxicidade da amônia, produto da degradação da uréia, a esses fungos.

O ensaio de biopilhas foi acompanhado também pela remoção do contaminante calculado a partir da quantificação das concentrações destes compostos no tempo inicial e final de processo. Tal quantificação foi realizada pela determinação da concentração de hidrocarbonetos totais de petróleo (HTP). A Figura 3, a seguir, apresenta uma comparação dos resultados de remoção de carbono obtidos para os ensaios realizados em biopilhas.



Biopilha 1-Controle solo contaminado; Biopilha 2 – NaNO_3 +5% de pó de coco; Biopilha 3 – NaNO_3 +10% de pó de coco; Biopilha 4 – Uréia+5% de pó de coco; Biopilha 5 – Uréia+10% de pó de coco.

Figura 3: Remoção de Hidrocarbonetos Totais de Petróleo (HTP) para 6 meses de teste, em Biopilhas.

A partir dos resultados de remoção de hidrocarbonetos de petróleo, foi possível observar que as melhores condições com uma remoção para a biopilha 4 de 44% (5% p/p de pó de coco), seguida por uma remoção de 40% para a biopilha 5 (10% p/p de pó de coco), foram as biopilhas cuja correção de nitrogênio foi realizada pela adição de uréia comercial. Tais resultados representam uma remoção 110% maior que a biopilha 1 (controle sem aditivos), indicando que a utilização do pó da casca de coco verde como material estruturante incentivou a biodegradação do óleo contaminante.

Jørgensen *et al.* (2000), por exemplo, estudou a interferência da adição de pedaços de madeira, dois inóculos microbianos misturados e correção de nutrientes no tratamento de um solo contaminado por óleo lubrificante e óleo diesel. Após os 5 meses de teste, a remoção do contaminante nas pilhas com óleo lubrificante foi de 70%, reduzindo a concentração do contaminante de 2400 para 700 mg/ kg de solo seco. Na pilha com solo contaminado com óleo diesel uma remoção de 71% foi observada, devido a redução da concentração do

contaminante de 700 a 200 mg/kg de solo seco. A contagem de microrganismos degradadores de óleo cru ficou na faixa de $5,3 \times 10^7$ e $1,5 \times 10^8$ UFC/g de solo. Como pode ser verificado, a contagem microbiana ficou na faixa da encontrada para as biopilhas testadas com adição do pó de coco, porém, uma maior eficiência de remoção do contaminante foi observada. Isto se deve ao fato de que os contaminantes avaliados por Jorgensen *et al.* (2000) são mais facilmente biodegradados do que o óleo cru utilizado no presente trabalho.

Outro estudo que verificou a eficiência da adição de agentes estruturantes a um solo contaminado com hidrocarbonetos de petróleo foi desenvolvido por Moraes (2005). Cinco biopilhas foram construídas contendo solo contaminado por borra de óleo, para avaliar a adição de inóculo isolado do próprio local contaminado, a adição de fertilizante para plantas e adição da palha de arroz como agente estruturante. Os resultados após 350 dias demonstraram uma redução da quantidade de resíduo de 67% na biopilha controle, na faixa de 70% nas biopilhas sem adição de palha de arroz e 80 % nas biopilhas com palha de arroz. As biopilhas contendo palha de arroz demonstraram degradação mais rápida do resíduo, principalmente nos dois primeiros meses deste estudo, provavelmente devido ao estímulo da microbiota natural.

5. CONCLUSÕES

Os resultados de remoção de hidrocarbonetos de petróleo por HTP indicaram que as melhores condições foram aquelas cuja correção de nitrogênio foi realizada pela adição de uréia, corroborando com os ensaios em microcosmos. Pela remoção de hidrocarbonetos totais de petróleo (HTP), a biopilha 4 apresentou a maior remoção de 44%, seguida da biopilha 5 com 40% de remoção.

Além disso, a adição do pó de coco como agente estruturante foi responsável por uma remoção 110% maior que a biopilha 1 (controle sem aditivos), indicando que a utilização desse material incentivou a biodegradação do óleo contaminante. Assim, a adição de material estruturante pode ser aplicada em conjunto com a tecnologia de biopilhas, aumentando a eficácia das mesmas, principalmente quando a correção de nitrogênio é realizada adicionando-se uréia.

6. AGRADECIMENTOS

Ao apoio financeiro da FUJB, da FAPERJ, da Agência Nacional do Petróleo (ANP) e da Financiadora de Estudos e Projetos (FINEP) por meio do Programa de Recursos Humanos da ANP para o Setor de Petróleo e Gás (PRH-ANP/MCT) em particular ao PRH 13, da Escola de Química - Processamento, Gestão e Meio Ambiente na Indústria do Petróleo e Gás Natural. Além do apoio técnico e institucional do Centro de Tecnologia Mineral (CETEM/MCT), da Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (EMBRAPA) e do CENPES/PETROBRAS.

7. REFERÊNCIAS

- ALEXANDER, M. (1999) **Biodegradation and Bioremediation**. San Diego: Academic Press, 2nd ed., U.S.A., 453p.
- BAHERI, H.; MEYSAMI, P. (2002) Feasibility of fungi bioaugmentation in composting a flare pit soil. **Journal of Hazardous Materials**, B89: 279-286.
- COELHO, M.A.Z. *et al.* (2001) Aproveitamento de Resíduos Agroindustriais: Produção de Enzimas a partir da Casca de Coco Verde. **Boletim do Centro de Pesquisa de Processamento de Alimentos**, Curitiba, v. 19, n. 1, p. 3342. Disponível em: <http://calvados.c3sl.ufpr.br/ojs2/index.php/alimentos/> Pesquisado em: abril de 2005.
- D'ANNIBALE, A. *et al.* (2006) Role of Autochthonous Filamentous Fungi in Bioremediation of a Soil Historically Contaminated with Aromatic Hydrocarbons. **Applied and Environmental Microbiology** (72), 1: 28-36.
- JØRGENSEN, K.S.; RUUSTINEN, J.; SUORTTI, A.-M. (2000) Bioremediation of petroleum hydrocarbon-contaminated soil by composting in biopiles. **Environmental Pollution**, 107: 245-254.
- KHAN, F. I.; HUSAIN, T.; HEJAZI, R. (2004) An overview and analysis of site remediation technologies. **Journal of Environmental Management**, 71: 95-122.
- LI, L. *et al.* (2004) Field trial of a new aeration system for enhancing biodegradation in a biopile. **Waste Management**, 24: 127-137.
- MARIANO, J. B. (2005) **Impactos Ambientais do Refino de Petróleo**. Rio de Janeiro: Interciência.
- MOLINA-BARAHONA, L. *et al.* (2004) Diesel removal from contaminated soils by biostimulation and supplementation with crop residues. **Applied Soil Ecology**, 27: 165-175.
- MORAIS, E. B. (2005) **Biodegradação de Resíduos Oleosos Provenientes de Refinaria de Petróleo Através do Sistema de Biopilhas**. Dissertação de mestrado apresentada ao Instituto de Biociências do Campus de Rio Claro, Universidade Estadual Paulista.

- NAKAGAWA, L. E.; ANDRÉA, M.M. (2006) Efeito de Alterações nas Características do Solo sobre a Degradação de Hexaclorobenzeno. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, 30, 575-582.
- PINO, G. A. H. (2005) **Biossorção de Metais Pesados Utilizando Pó da Casca de Coco Verde (*Cocos nucifera*)**. Tese M.Sc. Pontifícia Universidade Católica, Departamento de Ciência dos Materiais e Metalurgia, Rio de Janeiro, Brasil.
- RHYKERD, R. L. *et al.* (1999) Impact of bulking agents, forced aeration, and tillage on remediation of oil-contaminated soil. **Bioresource Technology**, 67:279-285.
- SEABRA, P.N.C. (2005) **Aplicação de biopilha na biorremediação de solos contaminados com petróleo**. Tese Dsc submetida ao Programa de Engenharia Química da COPPE, Universidade Federal do Rio de Janeiro.
- 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.
- USEPA – U. S. Environmental Protection Agency (2004). **How to Evaluate Alternative Cleanup Technologies for Underground Storage Tank Sites: A Guide for Corrective Action Plan Reviewers**. (EPA 510-B-94-003, EPA 510-B-95-007, and EPA 510-R-04-002). Disponível em: <http://www.epa.gov/oust/pubs/tums.htm> Pesquisado em: maio de 2005.

REMEDIATION OF PETROLEUM CONTAMINATED SOIL IN BIOPILES

Nowadays, from petroleum extracting to its processing, transportation and storage, has been increasing the concern about the environment contamination possibility. When polluted with petroleum hydrocarbons, soils can be treated by biologic process based on organisms like bacteria, fungi or vegetables in order to reduce, or eliminate, the risks associated with human exposure. Comparing biologic process with usual chemical and physical process, it could be obtained lesser onerous results. Bioremediation technologies can be applied *in situ* or *ex situ*, emphasizing the natural attenuation, phytoremediation, landfarming, biopiles and bioreactors. Biopiles, or biocells, are an *ex situ* bioremediation technology and consists on the piling of contaminated soil simulating the aerobic microbial activity to increase contaminant degradation due to aeration, nutrients addition and moisture adjustment. This work aims in studying the efficiency of petroleum removal from a contaminated soil, applying biopiles technology in association with auxiliary techniques like bulking agent addition and biostimulation. Soil biostimulation occurred with two different sources of nitrogen supplementation (sodium nitrate and urea) in order to obtain a C:N relationship of 100:10. The influence of soil porosity increasing in bioremediation process, due to oxygen diffusion between solid parts, was evaluated by the addition of young coconut peel powder on 5 to 10% (w/w) concentration. Both techniques could be responsible of a microbial activity increasing which is important to the crude oil biodegradation. The first set of experiments where conducted using soil microcosms resulting in the definition of the best particles size of bulking agents to be applied. Those conditions, coconut powder particle size higher than the soil ones (10 mesh), were reproduced in biopiles. The best result obtained in biopiles occurred when nitrogen supplementation was done with urea and bulking agent was added in a 5% (w/w) concentration, removing 44% of petroleum hydrocarbons after 180 days. It was also observed an increasing of oil degrading microorganisms from 6×10^2 to the 6×10^6 MPN/g of soil at the end of experiment. It could be concluded that biostimulation technique (urea addition) in association with bulking agent addition increases biopile efficiency when treating a low porosity petroleum contaminated soil.

Keywords: bioremediation, biopiles, petroleum

Os autores são os únicos responsáveis pelo conteúdo deste artigo.