

5º CONGRESSO BRASILEIRO DE PESQUISA E DESENVOLVIMENTO EM PETRÓLEO E GÁS



TÍTULO DO TRABALHO:

**Biodegradação de Resíduos Oleosos
proveniente de Refinaria de Petróleo**

AUTORES:

Leonardo Jordão da Silva¹, Fernando J. S. de Oliveira² e Francisca Pessoa de França¹

INSTITUIÇÃO:

¹UFRJ - Escola de Química - Depto. de Engenharia Bioquímica
CEP 21941-909 Rio de Janeiro – RJ - E-mail: fpfranca@eq.ufrj.br
²Petróleo Brasileiro S.A.

Este Trabalho foi preparado para apresentação no 5º Congresso Brasileiro de Pesquisa e Desenvolvimento em Petróleo e Gás- 5º PDPETRO, realizado pela Associação Brasileira de P&D em Petróleo e Gás-ABPG, no período de 15 a 22 de outubro de 2009, em Fortaleza-CE. Esse Trabalho foi selecionado pelo Comitê Científico do evento para apresentação, seguindo as informações contidas no documento submetido pelo(s) autor(es). O conteúdo do Trabalho, como apresentado, não foi revisado pela ABPG. Os organizadores não irão traduzir ou corrigir os textos recebidos. O material conforme, apresentado, não necessariamente reflete as opiniões da Associação Brasileira de P&D em Petróleo e Gás. O(s) autor(es) tem conhecimento e aprovação de que este Trabalho seja publicado nos Anais do 5ºPDPETRO.

Biodegradação de Resíduos Oleosos proveniente de Refinaria de Petróleo

Abstract

Various activities of the oil refining generate significant volumes of solid waste, containing various classes of hydrocarbons. Provision of such wastes in the environment may lead to serious environmental problems. According to Resolution N.º 001/86 of CONAMA, environmental impact is defined as the change of physico-chemical and biological characteristics of the area. Therefore, treatment of wastes is essential to promote sustainable management of exploration and exploitation of mineral resources. Alternatives of treatment are varied processes including physical, chemical and biological agents in order to remove organic pollutants at concentrations that are undetectable or, if detectable, the concentrations below the limits established as well as acceptable by the laws. Among biotechnologies, process of landfarming presents a considerable emphasis on the basis of the low operational cost, and availability of treatment of large volumes of oily wastes. Landfarming is based on the potential of organisms and/or their products to assist in the removal of hydrocarbons, reactive layer in the prepared soil. This work aims the treatment of oily wastes at an area of 1,000 m². Methodologies were used for this operational biostimulation through humidification, fertilization and aeration. Along side was an isolated area known as ground control. To evaluate the performance of the bioprocess were monitored relevant parameters such as pH, humidity, levels of total organic carbon, phosphorus, nitrogen, total petroleum hydrocarbons (TPH), heterotrophic aerobic bacteria (BAE), filamentous fungi and heterotrophic anaerobic bacteria (BAN) during 225 days. Results of work were promising by considering the time and initial concentration of contaminants. Content of TPH decreased 89.6% in the treated soil, while the control soil was negligible degradation of the order of 22.4%. Thus, the techniques of biostimulation, i.e. humidification, fertilization and aeration were essential for increasing biodegradation of hydrocarbons. Population of BAE, fungi and BAN showed the average value of 1.4×10^7 CFU.g⁻¹, 2.6×10^5 CFU.g⁻¹ and 2.2×10^6 Cels.g⁻¹, respectively. The test of ecotoxicity in treated soil was an indication of efficiency of the process can be proved by the degradation of hydrocarbons. Thus it was possible of treated about 387 tonnes of solid waste in 7 months.

Introdução

As diversas atividades da indústria do petróleo (perfuração, produção, transporte, processamento e distribuição) geram resíduos sólidos e líquidos (lamas, borras, efluentes líquidos, etc). Na etapa de processamento do petróleo em refinarias ocorre geração de resíduos sólidos nas unidades de separação (colunas de destilação – atmosférica e à vácuo –, separadores de água-óleo, dessalinizadores, etc.), nas operações de conversão (craqueamento térmico e catalítico, coqueamento, alquilação, hidrotratamento, etc.), no tratamento de efluentes (Tratamento Bender, Merox, DEA, etc.) e nas operações auxiliares (trocadores de calor, tanques de estocagem, torres de resfriamento, etc.) (MARIANO, 2005).

De acordo com a norma da ABNT NBR ISO 10.004, os resíduos gerados nas refinarias são compostos perigosos (Classe I) como policíclicos aromáticos (Benzo[a]antraceno, benzo[a]pireno, benzo[b]fluoranteno, benzo[k]fluoranteno, dibenzo[a,h]antraceno, indeno[1,2,3-cd]pireno, entre outros), metais pesados (cádmio, mercúrio, cromo, prata, arsênio, níquel, etc.), bifenilas policloradas (PCB) e hidrocarbonetos halogenados.

A disposição desses resíduos no meio ambiente pode acarretar sérios problemas ambientais. Segundo a Resolução n.º 01/1986 do CONAMA, impacto ambiental é definido como a alteração das propriedades físico-químicas e biológicas do meio ambiente, mudança esta provocada direta ou indiretamente por atividades humanas, as quais afetam a saúde, segurança, bem-estar da população, atividades sócio-econômicas, biota, condições estéticas e sanitárias do meio. Portanto, o tratamento desses resíduos é essencial para promover uma gestão sustentável de exploração e aproveitamento dos recursos naturais.

Os resíduos provenientes das operações de refino, incluindo solos contaminados com hidrocarbonetos podem ser tratados por diversos processos biológicos, físicos, químicos, físico-químicos ou térmicos. A aplicação de processos biológicos ao tratamento de solos contaminados por hidrocarbonetos de petróleo tem despertado grande interesse das comunidades científica e industrial. São processos de tratamento que utilizam organismos (bactérias, fungos e/ou vegetais) para reduzir ou eliminar compostos orgânicos perigosos ao meio ambiente (PAUDYN *et al.*, 2007).

Dentre as tecnologias biológicas de tratamento de solos contaminados, destaca-se o processo de *landfarming*. Segundo a Agência de Proteção Ambiental dos Estados Unidos (*United States Environmental Protection Agency* – USEPA), este método consiste em dispor o resíduo na camada reativa do solo, de forma que a microbiota autóctone atue como agente de biodegradação de hidrocarbonetos. São sinônimos: *land spreading*, *land application*, *sludge farming*, *soil farming*, *soil incorporation*, *land disposal* e *soil cultivation*.

As técnicas operacionais de um *landfarming* incluem: aeração do solo; umidificação; adição de nutrientes (fertilizantes – fontes de nutrientes); e em alguns casos bioaugmentação com microrganismos autóctones e/ou alóctones (MPHEKGO & CLOETE, 2004).

Os microrganismos presentes no solo, responsáveis pela biodegradação, são bactérias aeróbias e anaeróbias, fungos e microalgas. Os hidrocarbonetos do petróleo podem ser metabolizados através da respiração aeróbia ou anaeróbia. As diversas classes de hidrocarbonetos apresentam diferenciada susceptibilidade ao ataque microbiano. Os hidrocarbonetos mais simples, ou seja, os alifáticos de cadeia curta não ramificada são os mais facilmente decompostos, por outro lado, os hidrocarbonetos policíclicos aromáticos requerem maior tempo para a decomposição (OLIVEIRA & de FRANÇA, 2005).

De acordo com Hamdi *et al.* (2007), a tecnologia *landfarming* apresenta excelente relação custo-benefício quando comparada aos demais processos de tratamento de resíduos sólidos. Para tal algumas técnicas operacionais devem ser rigorosamente obedecidas a fim de obter significativa biodegradação de hidrocarbonetos.

O objetivo deste trabalho foi avaliar a biodegradação de resíduos oleosos contendo hidrocarbonetos alifáticos e aromáticos presentes em processo de *landfarming*. Para tal foram aplicadas técnicas de aeração, umidificação e fertilização do solo. Algumas variáveis foram quantificadas para verificar o desempenho do bioprocessamento, tais como: pH; umidade; teores de nutrientes como carbono orgânico total, fósforo e nitrogênio; hidrocarbonetos totais do petróleo (HTP); bactérias aeróbias heterotróficas (BAE); fungos filamentosos; e bactérias anaeróbias heterotróficas (BAN).

Metodologia

O presente trabalho foi desenvolvido em um *landfarming* localizado na Região Amazônica. A área em estudo tem as dimensões: 20 m de largura por 50 m de comprimento e profundidade média da camada reativa de $0,45 \pm 0,05$ m, abaixo da qual tem uma camada de argila compactada, a fim de evitar a percolação de substâncias tóxicas e consequente contaminação do subsolo.

A partir da adequação do bioprocessamento aos estudos pretendidos, o solo da área foi submetido às técnicas de bioestimulação através de umidificação, aeração e fertilização. Uma rotina de procedimentos foi estabelecida através de umidificação (irrigação) e revolvimento do solo (aeração) na frequência de duas e três vezes por semana, respectivamente. A adição de fertilizante foi realizada mensalmente para atingir a concentração de $0,125 \text{ Kg.m}^{-2}$. Paralelamente, foi isolada uma área controle, na qual não ocorreu a bioestimulação.

Para verificar o bioprocessamento foi estabelecida uma frequência mensal de amostragem da camada reativa do solo do *landfarming* seguindo a norma NBR ISO 10.007. As amostras coletadas foram acondicionadas em frascos de polipropileno estéreis para determinações das grandezas inorgânicas e microbiológicas, e em frascos de vidro para quantificação de compostos orgânicos.

Convém enfatizar que todas as amostras foram mantidas em ambiente de baixa temperatura (aproximadamente 4°C) para preservar as propriedades físico-químicas e biológicas do solo.

As análises físicas de umidade e pH foram determinadas por método gravimétrico e potenciométrico, respectivamente. A quantificação de carbono orgânico total (COT), nitrogênio e fósforo foram determinados pelo método USEPA 9056A de cromatografia gasosa acoplada ao detector por ionização de chamas.

A concentração de Hidrocarbonetos Totais do Petróleo (HTP) foi determinada pelo método USEPA 8015B de cromatografia gasosa acoplada ao detector por ionização de chamas. Os compostos alvos para análise de HTP compreendem *n*-alcanos na faixa de C₁₀ a C₃₆ incluindo pristano e fitano, demais hidrocarbonetos resolvidos do petróleo (HRP) e mistura complexa não resolvida.

As quantificações microbianas, de bactérias aeróbias heterotróficas (BAE) e fungos filamentosos foram determinadas pela técnica *pour plate*, usando os meios Ágar Nutriente e Sabouraud, respectivamente. A quantificação de bactérias anaeróbias heterotróficas (BAN) foi realizada pela técnica do Número Mais Provável (NMP) a partir do meio Fluido ao Tioglicolato.

Os ensaios de ecotoxicologia foram realizados empregando um anelídeo da espécie *Eisenia foetida*, que tem sido amplamente empregada para avaliar a toxicidade de vários contaminantes em solos. O método empregado foi uma adaptação da metodologia descrita no Guia para Testes Químicos n.º 207 da OECD (*Organization for Economic Cooperation and Development*).

Resultados e Discussão

As adequações do bioprocessamento alcançaram os requisitos necessários contidos na norma NBR ISO 13.894 (Tratamento no Solo - *Landfarming*) condicionando a área para o tratamento biológico de resíduos oleosos. A implantação da camada reativa com profundidade de 0,45±0,05 m foi uma etapa fundamental. Essa espessura permitiu a incorporação da umidade e nutrientes no solo, e consequentemente, favoreceu a biodegradação por microrganismos aeróbios que apresentam maiores velocidades e porcentagens de biodegradação de hidrocarbonetos (OLLIVIER & MAGOT, 2005).

O comportamento das variáveis umidade e pH está apresentado na Figura 1.

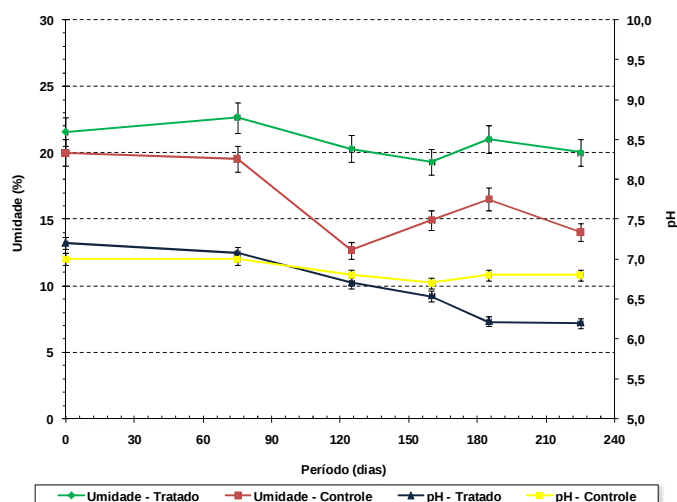


Figura 1: Perfil da umidade e pH nos solos tratado e controle

Pela Figura 1 nota-se um pequeno desvio-padrão em relação à média indicando pequena variabilidade da umidade na área estudada. A umidade no solo tratado ficou no nível de 20% a 23%,

enquanto na célula controle esteve entre 13% a 19%, sendo menos expressivo porque esse solo não foi umidificado. Segundo Mphekgo & Cloete (2004), a umidade é um fator importante para a biodegradação, pois está relacionada com a biodisponibilidade do contaminante através dos fenômenos de transferência de massa entre o hidrocarboneto e os microrganismos. Neste processo é indicado que a umidade fique na faixa de 20 a 26%, pois este índice apresenta o melhor custo-benefício (ATAGANA *et al.* 2006).

De acordo com a Figura 1, o pH no solo tratado iniciou com 7,3 e atingiu 6,2. Nota-se a ocorrência de uma redução do pH no decorrer do período de tratamento, possivelmente devido à formação de metabólitos intermediários de caráter ácido, que posteriormente poderão ser biodegradados até o nível de água e dióxido de carbono. No solo controle, o pH variou menos indicando baixa atividade microbiana. Segundo Oliveira & de França (2005), os microrganismos devem manter seu pH intracelular em torno de 7,5, considerando que o pH do meio influencia diretamente no metabolismo microbiano. Em solos e em águas, a faixa ideal para que ocorra a biodegradação de forma mais efetiva é entre 6,5 a 7,5, pois permite o crescimento de bactérias, reconhecidamente mais eficientes na metabolização de hidrocarbonetos. O pH neutro é mais favorável ao crescimento de bactérias, enquanto os valores de pH ácido permitem o desenvolvimento de fungos filamentosos (OLLIVIER & MAGOT, 2005).

Os macronutrientes são os compostos requeridos em grande quantidade pelas células microbianas como carbono, oxigênio, nitrogênio, potássio, cálcio, magnésio fósforo e enxofre. O monitoramento desses nutrientes, em especial fósforo, nitrogênio e carbono, é importante para avaliar o desempenho do bioprocessamento de degradação. O nitrogênio é precursor de vias metabólicas para formação de aminoácidos, peptídeos ou peptonas. O fósforo é importante por fazer parte de moléculas como DNA (*Deoxyribonucleic Acid*), RNA (*Ribonucleic Acid*), fosfolipídios, NAD, FAD, coenzima A e de algumas vitaminas (MADIGAN *et al.*, 2008). As relações C:N e C:P são variáveis de processo importantes para verificar a disponibilidade desses nutrientes essenciais para as atividades metabólicas dos microrganismos. A Figura 2 apresenta o comportamento das relações C:N e C:P dos solos tratado e controle.

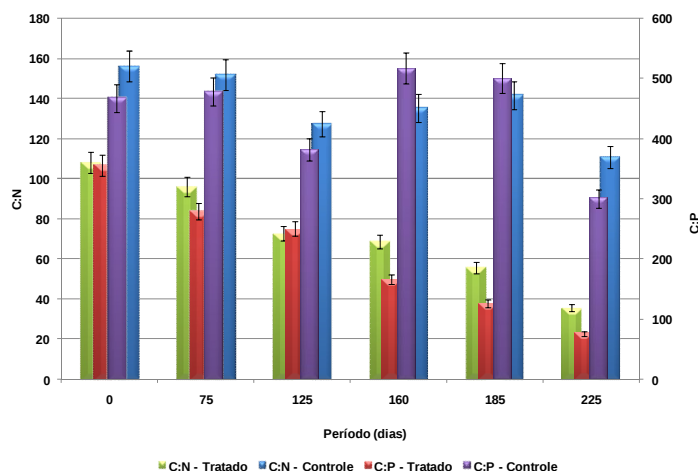


Figura 2: Relações C:N e C:P nos solos tratado e controle

Pela Figura 2 nota-se que a relação C:N variou de 108 a 35 (redução de 66,9%) e 156 a 110 (decréscimo de 29,1%) para os solos tratados e controle, respectivamente. Enquanto a relação C:P variou de 355 a 76 (redução de 78,6%) e 466 a 300 (redução de 35,6%) para os solos tratados e controle, respectivamente. Observa-se que estas razões tiveram maior redução no solo tratado em função da adição de fertilizantes permitindo alcançar as relações nutricionais adequadas de C:N e C:P para maiores taxas de biodegradação de hidrocarbonetos.

Para acompanhar o desempenho do bioprocesso foi monitorada a concentração de Hidrocarbonetos Totais do Petróleo (HTP) durante o período de tratamento. Esses resultados constam na Figura 3.

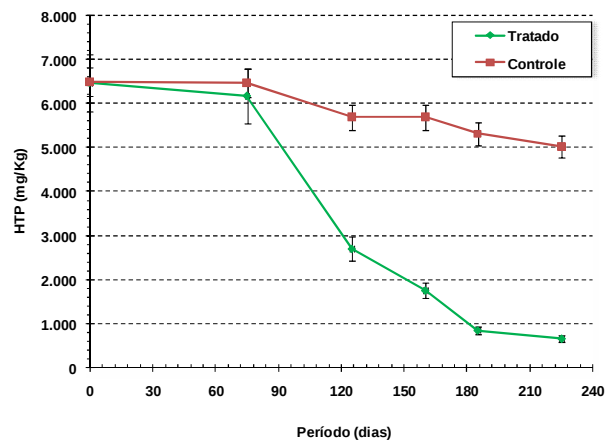


Figura 3: Degradação de hidrocarbonetos totais do petróleo (HTP) nos solos tratados e controle

Nota-se que no solo tratado a concentração de HTP iniciou com $6.475 \pm 385 \text{ mg.Kg}^{-1}$ e atingiu $670 \pm 25 \text{ mg.Kg}^{-1}$ em 225 dias de tratamento, equivalente a 89,6% de degradação. Enquanto no solo controle a concentração de HTP iniciou com 6.479 mg.Kg^{-1} e atingiu 5.026 mg.Kg^{-1} perfazendo 22,4% de degradação. Nos dois sistemas a degradação de HTP foi caracterizada por fenômenos físico-químicos de volatilização e microbiológicos de biodegradação, entretanto nas células tratadas esses fatores foram mais intensos devido às adequadas fontes nutricionais, sobretudo de nitrogênio e fósforo, alinhadas com as condições ambientais oferecidas de aeração e umidificação.

De acordo com a legislação holandesa, um solo merece intervenção quando o teor de HTP exceder a 5.000 mg.Kg^{-1} . Com base na Figura 3, no solo tratado a concentração de HTP ficou abaixo desse limite de intervenção em apenas 90 dias, em contrapartida o solo controle permaneceu fora dos padrões mesmo após 225 dias. O sucesso desse tratamento (89,6% de degradação no solo tratado) não se deve somente à microbiota autóctone presente no solo mas, sobretudo, às técnicas aplicadas de aeração, fertilização e umidificação que permitiram estimular o crescimento dos microrganismos.

A microbiota do solo foi avaliada no período de tratamento. Os resultados da concentração de microrganismos, em termos de Bactérias Aeróbias Heterotróficas (BAE), Fungos Filamentosos e Bactérias Anaeróbias Heterotróficas (BAN), estão apresentados na Figura 4 para os solos tratado e controle.

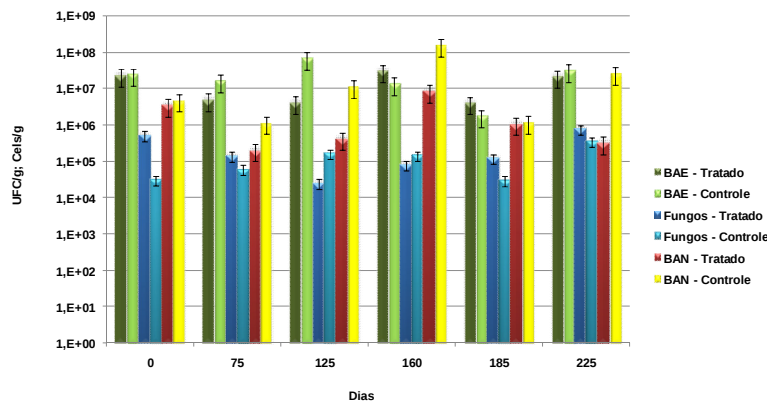


Figura 4: Quantificações de microrganismos nos solos tratado e controle
BAE bactérias aeróbias; BAN Bactérias Anaeróbias

Pela Figura 4, observa-se que no solo tratado as populações de BAE, Fungos e BAN apresentaram valores médios de $1,4 \times 10^7$ UFC.g⁻¹, $2,7 \times 10^5$ UFC.g⁻¹ e $2,2 \times 10^6$ Cels.g⁻¹, respectivamente. Essas concentrações estão compatíveis com os dados reportados pela literatura como efetivos para biodegradação de hidrocarbonetos (OLLIVIER & MAGOT, 2005). No solo controle, a população microbiana esteve na mesma ordem de grandeza em relação ao solo tratado. Entretanto, observou-se maior concentração de BAN neste solo devido à inexistência de técnicas de aeração que proporcionaram condições anóxicas mais acentuadas.

Os testes de ecotoxicidade são ferramentas importantes para estimar se as concentrações de um determinado composto são capazes de provocar alguma resposta deletéria específica em uma dada população de organismos. Os resultados indicaram um índice médio de letalidade no solo tratado de zero e $5 \pm 5\%$ para os períodos de 7 e 14 dias, respectivamente. Estes valores indicam a desintoxicação do solo tratado após 225 dias. Entretanto, o solo controle apresentou letalidade de $30 \pm 8\%$ e $60 \pm 12\%$ para 7 e 14 dias, respectivamente. Esse índice indica toxicidade remanescente neste solo.

Conclusões

- O volume de água adicionado (umidificação), a fertilização e o teor de oxigênio na matriz do solo (aeração) foram responsáveis pela elevada biodegradação de hidrocarbonetos;
- A concentração de hidrocarbonetos totais do petróleo (HTP) decresceu significativamente no decorrer do tratamento do solo, obtendo-se 89,6% de degradação.
- A população de BAE, Fungos e BAN apresentaram um valor médio de $1,4 \times 10^7$ UFC.g⁻¹, $2,6 \times 10^5$ UFC.g⁻¹ e $2,2 \times 10^6$ Cels.g⁻¹, respectivamente. Essa concentração de microrganismos está compatível com os dados reportados pela literatura como efetivos para biodegradação de hidrocarbonetos.
- A remoção de compostos tóxicos foi observada pelo baixo índice de letalidade obtida no solo tratado.
- Os resultados foram promissores considerando o tempo de tratamento e concentração inicial de contaminantes. O teor de HTP obtido do solo tratado ficou abaixo dos limites de intervenção preconizados pelas legislações brasileira (CETESB), holandesa e americana.

Agradecimentos

Os autores agradecem à ANP, CNPq e FAPERJ pelo auxílio financeiro e a PETROBRAS pelo suporte logístico.

Referências Bibliográficas

- ABNT (Associação Brasileira de Normas Técnicas), 1997, *Tratamento no Solo - Landfarming* ABNT NBR ISO 13.894.
- ATAGANA, H.I., HAYNES, R.J., WALLIS, F.M., 2006, "Fungal bioremediation of creosote contaminated soil: A laboratory scale bioremediation study using indigenous soil fung", *Water, Air and Soil Pollution*, v. 172, pp. 201-219.
- HAMDI, H., BENZARTI, S., MANUSADZIANAS, L., AOYAMA, I., JEDIDI, N., 2007, "Bioaugmentation and Bioestimulation effects on PAH dissipation and soil ecotoxicity under controlled conditions", *Soil Biology & Biochemistry*, v. 39, pp. 1926-1935.
- HEJAZI, R.F., HUSAIN, T., KHAN, F.I., 2003, "Landfarming operation of oil sludge in Arid Region - Human health risk assessment", *Journal of Hazardous Materials*, n. 99, pp. 287-302.

- MADIGAN, M.T., MARTINKO, J.M., DUNLAP, P.V., CLARK, D.P., 2008, *Brock Biology of Microorganisms*. 12 ed., New Jersey, Prentice Hall.
- MARIANO, J.B., 2005, *Impactos Ambientais do Refino de Petróleo*. 1 ed., Rio de Janeiro, Interciência.
- MPHEKGO, P. M., CLOETE, T.E., 2004, “Bioremediation of petroleum hydrocarbons through landfarming: Are simplicity and cost-effectiveness the only advantages?”, *Environmental Science & Bio/Technology*, n. 3, pp. 349-360.
- OLIVEIRA, F.J.S., de FRANÇA, F.P., 2005, “Increase in removal of polycyclic aromatic hydrocarbons during bioremediation of crude oil-contaminated sandy soil”, *Applied Biochemistry and Biotechnology*, v. 121-124, pp. 593-603.
- OLLIVIER, B., MAGOT, M., 2005, *Petroleum Microbiology*. Washington D.C., USA, ASM Press.
- PAUDYN, K., RUTTER, A., ROWE, R.K., POLAND, J.S., 2007, “Remediation of hydrocarbon contaminated soils in the Canadian arctic by landfarming”, *Cold Regions Science and Technology*, pp.1-13.