

## **AValiação DA Biorremediação EM SOLO ARENOSO CONTAMINADO POR DIESEL**

D. L. R. RIBEIRO<sup>1</sup>, D. MONTERO-RODRÍGUEZ<sup>2,3</sup>, R. F. da S. ANDRADE<sup>2,3</sup>, G. M. de CAMPOS-TAKAKI<sup>3</sup>, M. de L. A. P. F. PALHA<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Universidade Federal de Pernambuco, Departamento de Engenharia Química

<sup>2</sup> Universidade Federal de Pernambuco, Centro de Ciências Biológicas

<sup>3</sup> Universidade Católica de Pernambuco, Núcleo de Pesquisas em Ciências Ambientais

E-mail para contato: dafne.luana@hotmail.com

**RESUMO** – Incidentes envolvendo vazamentos de óleo são cada vez mais frequentes, resultando em danos ao meio ambiente. Esses eventos são consequências da intensificação da utilização do petróleo e seus derivados. Desta forma, diversas técnicas para remediar as áreas contaminadas por petróleo e seus derivados foram desenvolvidas, destacando-se entre elas a biorremediação. Neste sentido, foi realizado um ensaio de biorremediação em frascos contendo 60 g do solo arenoso, 5% p/p do contaminante (diesel) e inóculo de 5% da suspensão da bactéria *Pseudomonas aeruginosa*, mantida a 30°C durante 30 dias. A avaliação do experimento foi feita através da quantificação do carbono orgânico e matéria orgânica existentes no solo antes e depois da biorremediação. A execução do ensaio demonstrou-se eficiente, uma vez que foi possível verificar a diminuição da matéria orgânica em até 87,88% ao final do processo. Evidenciando assim, que a biorremediação pode ser aplicada no tratamento de solos contaminados com diesel.

### **1. INTRODUÇÃO**

Em virtude da grande utilização do petróleo e seus derivados, frequentemente ocorrem acidentes envolvendo vazamentos de óleo que ocasionam danos incalculáveis aos ecossistemas. Estes incidentes são provenientes das mais diversas atividades da indústria petroleira, são elas: exploração, produção, refino, transporte e principalmente, armazenamento de combustíveis. O petróleo é uma substância inflamável, com cheiro característico e composto por uma mistura de hidrocarbonetos, obtido para inúmeras finalidades, entre elas a utilização na forma de combustível, podendo ser tóxico para alguns organismos (Schultz, 2010).

Segundo Bento *et al.* (2008), as técnicas convencionais de limpeza de áreas contaminadas com petróleo e seus derivados podem ser complementadas com a remediação, pelo uso de diversas técnicas (físicas, químicas e biológicas). De acordo com Alexander (1999), tratamentos físicos separam os contaminantes do solo sem destruí-los ou modificá-los quimicamente, entretanto apresentam diversas limitações, ressaltando-se o custo alto e em determinados casos eficiência do

processo. No entanto, no que diz respeito aos processos químicos, geralmente, possuem uma boa eficiência na remoção do contaminante, porém podem introduzir outras substâncias que podem ser nocivas ao ambiente. Por outro lado, os processos biológicos são considerados uma tecnologia promissora para remover esses contaminantes, principalmente devido à simplicidade e eficiência de custo quando comparados a outras alternativas.

Aislabie *et al.* (2006) define a biorremediação como uma tecnologia empregada para tratar locais contaminados mediante o uso de agentes biológicos capazes de modificar ou decompor poluentes alvos, minimizando assim o impacto de substâncias recalcitrantes no ambiente. Esta técnica utiliza, em geral, micro-organismos e/ou plantas objetivando a realização da mineralização dos compostos ou transformação em compostos mais simples. Desta maneira, a biorremediação é a capacidade que alguns organismos vivos possuem em desenvolver-se na presença de contaminantes, removendo estas substâncias devido à ação de seu metabolismo ou mesmo acumulando tais compostos (Vidali, 2001).

As estratégias de biorremediação podem ser divididas em (a) biorremediação intrínseca ou natural, que consiste na utilização de micro-organismos autóctones, isto é, do próprio local sem qualquer interferência de tecnologias ativas de remediação, (b) bioestimulação, que se refere à adição de agentes estimulantes como nutrientes, oxigênio e surfactantes e por fim (c) bioampliação, que está relacionado à inoculação de consórcios microbianos enriquecidos (Bento *et al.*, 2008).

Diante da crescente necessidade de remoção de contaminantes de petróleo e derivados em solos foi realizado neste trabalho um ensaio de biorremediação de solo arenoso contaminado com diesel utilizando a *Pseudomonas aeruginosa*. Desta maneira visa-se contribuir positivamente para a comunidade científica no desenvolvimento desta tecnologia, objetivando desta forma a preservação do ecossistema.

## **2. DESENVOLVIMENTO**

### **2.1. MATERIAL**

Micro-organismo: A linhagem de *Pseudomonas aeruginosa* (UCP 0099), isolada do solo de Rio Formoso, município do Estado Pernambuco, encontra-se mantida no Banco de Culturas da Universidade Católica de Pernambuco – UCP, registrada no World Federation Culture for Collection (WFCC), sendo mantida no meio Luria Bertani sólido com a seguinte composição: Triptona (10 g), extrato de levedura (5 g), Cloreto de sódio (10 g), ágar (15 g) e água destilada q.s.p. 1000 mL, com pH = 7,0 e mantidas a temperatura de 4°C e repicadas a cada 30 dias.

Aclimação da linhagem: A aclimação foi feita através da transferência de células de

*Pseudomonas aeruginosa* para placas de Petri contendo o meio sólido Luria Bertani (LB) [triptona (10g/L), extrato de levedura (5g/L), cloreto de sódio (10g/L) e Ágar (15g/L)], adicionado de 30% de Diesel. Em seguida, as placas foram mantidas em estufa sob temperatura de 30°C durante 24 horas. A linhagem de *P. aeruginosa* crescida neste meio adicionado de diesel foi utilizada para o ensaio de biorremediação.

Inóculo: Foi feita uma suspensão bacteriana de  $10^7$  células/mL em água estéril e inoculou-se 5mL da suspensão nos frascos contendo o ensaio de biorremediação.

Solo: Para simulação da biorremediação em ambiente impactado foram coletados amostras de solo arenoso no mês de julho de 2013 na Marina de Barra de Catuama – PE, situada no município de Goiana. A coleta foi realizada de acordo com metodologia da Embrapa (1997), onde diferentes pontos do local foram previamente demarcados e a área separada em glebas homogêneas. As amostras de solo foram coletadas em zigue-zague, a cada 20 pontos do talhão à 10 cm de profundidade e posteriormente, conduzidos ao Laboratório do Núcleo de Pesquisa em Ciências Ambientais e Biotecnologia (NPCIAMB).

Combustível: Para o ensaio de biorremediação foi utilizado o combustível Diesel S-10 comercial, obtido em um posto com localização na zona norte da cidade do Recife – PE.

## **2.2. ENSAIO DE BIORREMEDIAÇÃO**

Ensaio de biorremediação: O ensaio foi realizado em frascos com capacidade para 110 mL contendo 60 g do solo arenoso e 5% p/p do contaminante (diesel), e inóculo microbiano de 5%, mantidos à 30°C, durante 30 dias.

Para o ensaio de biorremediação foi utilizado tanto o solo arenoso esterilizado em autoclave à 121°C, durante 15 minutos, como o solo arenoso não estéril. Para cada tipo de solo, formularam-se condições com suplementação e sem suplementação. O contaminante foi inserido 24h antes da adição do inóculo, visando uma melhor aderência do contaminante ao solo. A suplementação foi realizada através da adição de 0,015 g de  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  e 0,006 g de  $\text{K}_2\text{HPO}_4$ . Como controle utilizou-se o solo estéril e solo não estéril, ambos contendo o contaminante, porém sem a adição do micro-organismo. O inóculo utilizado consistiu da adição da suspensão bacteriana da *Pseudomonas aeruginosa*.

## **2.3. AVALIAÇÃO DA BIODEGRADAÇÃO**

Determinação da biodegradação: A avaliação da biodegradação foi efetuada a partir da

determinação do carbono orgânico e matéria orgânica, das condições testadas. Onde o carbono orgânico foi determinado pela oxidação da matéria orgânica do solo por via úmida com dicromato de potássio em meio sulfúrico. Para isto, foi utilizado um bloco digestor para efetuar a reação do dicromato de potássio ( $K_2Cr_2O_7$ ) com a matéria orgânica em meio fortemente ácido ( $H_2SO_4$ ) para em seguida, ser titulado com sulfato ferroso amoniacal. Enquanto a porcentagem de matéria orgânica foi calculada admitindo que o carbono participa com 58% da composição média dos húmus. O cálculo da matéria orgânica é sempre 1,724 vezes maior que o carbono orgânico, conforme Embrapa (1997).

$$\text{Carbono orgânico (g/kg)} = (40 - \text{volume gasto}) \times f \times 0,06 \times "f" \quad (1)$$

Onde,

$$f = \frac{40}{\text{volume ácido sulfurico gasto no branco}}$$

Já a porcentagem de matéria orgânica é calculada multiplicando-se o resultado do carbono orgânico por 1,724. Este fator é utilizado em virtude de se admitir que, na composição média do húmus, o carbono participa com 58%. Conforme Embrapa (1997).

$$\text{Matéria Orgânica (g/kg)} = C \text{ (g/kg)} \times 1,724 \quad (2)$$

### 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

A avaliação do ensaio de biorremediação foi efetuada através da quantificação do carbono orgânico e matéria orgânica existentes no solo. Sabendo que a para um resultado positivo da biodegradação deve-se ter o consumo da matéria orgânica e liberação  $CO_2$  (Tonini *et al.*, 2010).

A execução do ensaio possibilitou a verificação de uma diminuição da quantidade de carbono orgânico e matéria orgânica em todas as condições testadas, conforme resultados apresentados na tabela 1. Foi possível avaliar ainda que a condição que apresentou menor teor de matéria orgânica, após o ensaio de biodegradação, foi a condição contendo solo não estéril com suplementação. Tais resultados concordam com os resultados esperados pela literatura, que sugerem que os consórcios são mais efetivos durante a biodegradação de poluentes (Wyszkowska, 2001; Ghazali *et al.*, 2004).

Tabela 1 – Condições experimentais ensaio de biodegradação

Amostra	Carbono Orgânico (g/ kg)	Matéria Orgânica (g/kg)	biodegradação (%)
Solo com contaminante (sem remediação)	76,23	131,42	-
Solo estéril remediado	31,17	53,73	59,12
Solo estéril com suplementação remediado	29,72	51,24	61,02
Solo não estéril remediado	13,96	24,07	81,69
Solo não estéril com suplementação remediado	9,24	15,93	87,88

#### 4. CONCLUSÕES

O ensaio de biorremediação demonstrou-se eficiente, uma vez que, foi possível verificar a diminuição na concentração de carbono orgânico e matéria orgânica, existentes na amostra inicial do processo. Onde, a amostra inicial apresentou 76,23 g/kg e 131,42 g/kg, para carbono orgânico e matéria orgânica, respectivamente. Enquanto que a amostra final do processo apresentou 9,24 g/kg e 15,93 g/kg, demonstrando assim uma diminuição de até 87,88% da matéria orgânica.

#### 5. AGRADECIMENTOS

À Agência Nacional do Petróleo, Gás Natural e Biocombustíveis – ANP, à Financiadora de Estudos e Projetos – FINEP e à PETROBRAS, por meio do Programa de Recursos Humanos da ANP para o Setor de Petróleo e Gás – PRH-ANP/MCT, em particular ao PRH 28, do Departamento de Engenharia Química, Centro de Tecnologia e Geociências da UFPE, pelo fomento à pesquisa.

#### 6. REFERÊNCIAS

- AISLABIE, J. M.; BALKS, M.R.; FOGHT, J.M. Bioremediation of hydrocarbon-contaminated polar soils. *Extremophiles*, v. 10, p. 171-179, 2006.
- ALEXANDER, M. *Biodegr. and Biorem.*, 2º ed. San Diego, Californica, 1999.
- BENTO, D. M. ; BRAISCH, P.; MACHADO, M.I.; COSTA, J.A.; MARTINS, V. *Biorremediação em ambiente impactado com óleo diesel*. In: XVI Encontro de Química da Região Sul, Blumenau/SC. A Química como Ciência, Educação e Tecnologia. Blumenau, 2008.
- EMBRAPA. *Manual de Métodos de Análise de Solo*. Centro Nacional de Pesquisa de Solo. 2 ed., Rio

de Janeiro, 1997.

GHAZALI, F.M.; RAHMAN, R. N. Z. A.; SALLEH, A. B.; BASRI, M. Biodegradation of hydrocarbons in soil by microbial consortium. *Int. Biodeterior. & Biodegr.*, v. 54, p. 61-67, 2004.

SCHULTZ, F. M. *Avaliação de microrganismos com potencial de degradação de Diesel e Biodiesel*, 2010. 88 p., Dissertação (Pós-Graduação Microbiologia Agrícola e do Ambiente). Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2010.

TONINI, R.M.C.W.; REZENDE, C.E.; GRATIVOL, A.D. Degradação e biorremediação de compostos do petróleo por bacteriais: Revisão. *Oecologia Australis*. v. 14, p. 1025-1035, 2010.

VIDALI, M. Bioremediation. Na overview. *Pure Appl. Chem.*, v. 73, p. 1163-1172, 2001.

WYSZKOWSKA, J.; KUCHARSKI, J. Correlation between Number of Microbes and Degree of Soil Contamination by Petrol. *Polish J. Environ. Stud.*, v. 10, p. 175-181, 2001.