

# **EFEITO DA UTILIZAÇÃO DO BAGAÇO DE CANA DE AÇÚCAR NA BIORREMEDIAÇÃO DE SOLO CONTAMINADO POR BORRA OLEOSA DO PETRÓLEO**

D. A. D. NUNES<sup>1</sup>, V.S. LIDUINO<sup>1</sup>, C. D. CUNHA<sup>2</sup>, M. C. R. NUCCI<sup>1</sup>, N. R. VERLY<sup>1</sup> e E. F. C. SÉRVULO<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Universidade Federal do Rio de Janeiro, Escola de química, Departamento de Engenharia Bioquímica

<sup>2</sup> CETEM, Centro de Tecnologia Mineral  
E-mail para contato: danycidinha@yahoo.com.br

**RESUMO** – Solos contaminados por hidrocarbonetos totais do petróleo (HTP) podem ser tratados pela técnica de biorremediação realizada por micro-organismos. Eles atuam melhor quando são adicionados resíduos vegetais que promovem melhoria na estrutura, aeração e nutrição do solo. O objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito da adição do bagaço de cana de açúcar na biorremediação de um solo impactado por borra oleosa de petróleo. O solo (1kg) foi colocado em recipientes plásticos, em casa de vegetação (temperatura média de 26°C) por 90 dias. Foi avaliado solo sem e com adição do bagaço de cana (20 e 40g kg<sup>-1</sup> solo). Foi realizada a determinação de HTP e a contagem das bactérias heterotróficas totais (BHT), fungos totais (FT) e Micro-organismos degradadores de óleo (MDO), que inicialmente apresentaram uma população de 1,12x10<sup>8</sup> UFC, 4,35x10<sup>4</sup> UFC e de 2,50x10<sup>5</sup> NMP g<sup>-1</sup> solo respectivamente. A maior quantidade de bagaço de cana (40g kg<sup>-1</sup> solo) promoveu melhor aumento na população de fungos (2,38 x 10<sup>5</sup> UFC g<sup>-1</sup> solo) e a menor quantidade de bagaço de cana (20g kg<sup>-1</sup> solo) nas populações de BHT e MDO (9,80 x10<sup>10</sup> UFC e g<sup>-1</sup> 6,25 x 10<sup>8</sup> NMP g<sup>-1</sup> solo respectivamente). Quando foi adicionado bagaço de cana no solo não houve degradação de HTP. Ocorreu degradação de 10% apenas no solo sem resíduo, sugerindo que embora o bagaço de cana promova aumento na população de micro-organismos, não atuou na redução dos HTP, e sim na retenção desses contaminantes, podendo impedir o aumento da contaminação.

## **1. INTRODUÇÃO**

Durante a exploração, refino, transporte e operações de armazenamento do petróleo e/ou de seus derivados podem vir a ocorrer derramamentos acidentais, ocasionando a contaminação do meio ambiente (CETEM, 2006). Neste caso, especialmente os hidrocarbonetos aromáticos quer simples (BTX) quer os policíclicos (HPAs) despontam, devido a elevada toxicidade, mobilidade e persistência no meio ambiente.

Quando a contaminação ocorre no solo, diversas técnicas físicas, químicas e biológicas de tratamentos do solo, realizadas tanto in-situ quanto ex-situ, são utilizadas para contribuir no

descomissionamento do solo. Na busca de alternativas para despoluir áreas contaminadas por diversos compostos orgânicos, tem-se optado por soluções que englobam: eficiência na descontaminação, simplicidade na execução, curto tempo e menor custo. Nesse contexto, cresce o interesse pela utilização da biorremediação, técnica utilizada para descontaminação do solo por meio da utilização de organismos vivos, como micro-organismos e plantas (Pires et al., 2003).

Quando a biorremediação é realizada pelos micro-organismos, devem-se promover as melhores condições ambientais para o desenvolvimento destes degradadores de poluentes (Wiecheteck et al., 2004). Esta técnica é uma boa ferramenta para a recuperação de áreas degradadas pela contaminação com resíduos petrolíferos, podendo levar a mineralização total do poluente orgânico, sem gerar resíduos secundários (Anastasi et al., 2008).

A remoção de poluentes do solo por micro-organismos pode ser realizada de forma natural (atenuação natural), que no geral é um processo lento e imprevisível, já que os micro-organismos precisam estar ativos e competitivos (Dams et al., 2007). Por isso, muitas vezes há necessidade de se adotar estratégias para aumentar a biomassa microbiana do solo através da adição de micro-organismos endógenos ou exógenos (bioaumento) e/ou adicionar fontes nutricionais e/ou oxigênio (bioestímulo), buscando potencializar a atividade dos micro-organismos degradadores do poluente (CETEM, 2006). Outra estratégia que pode ser adotada para melhorar a biorremediação de solos contaminados é a adição de resíduos orgânicos vegetais, como por exemplo o bagaço de cana de açúcar, sendo interessante porque os resíduos podem atuar na melhoria da estrutura, aeração e qualidade nutricional do solo, entre outros benefícios gerados ao solo (Fernandes et al., 2006), o que pode estimular o aumento da quantidade e da atividade dos micro-organismos envolvidos no processo de biorremediação do solo contaminado e consequentemente a redução dos hidrocarbonetos do petróleo. Os resíduos vegetais, como o bagaço de cana de açúcar, também podem atuar na adsorção ou absorção desses contaminantes prejudiciais à saúde humana e às interações ambientais, impossibilitando a locomoção destes no solo ou na água, impedindo, portanto o aumento da contaminação dos mesmos (ITOPF, 2012). Nesse sentido, o presente trabalho teve como objetivo avaliar o efeito da adição do bagaço de cana de açúcar no solo contaminado por borra oleosa de petróleo.

## **2. MATERIAIS E MÉTODOS**

O solo foi coletado em três pontos de um sistema *landfarming* de uma refinaria de petróleo brasileira (Figura 1), e as amostras foram posteriormente encaminhadas para o laboratório, onde o solo foi destorroado e quarteado para sua homogeneização.

O resíduo vegetal utilizado neste experimento foi o bagaço de cana de açúcar, que foi coletado após o descarte da produção do caldo de cana em um comércio local de Duque de Caxias, RJ, e seco à temperatura de 65°C e posteriormente grosseiramente quebrado com o auxílio de um triturador.



Figura 1 – Sistema *landfarming* da Refinaria de petróleo e os postos de coleta das amostras de solo

O experimento foi realizado em casa de vegetação, com temperatura média de 26°C (Figura 2). Onde o solo foi colocado na quantidade de 1kg em recipientes plásticos e foi avaliado quando não foi adicionado bagaço de cana de açúcar e com a adição do bagaço de cana de açúcar na quantidade de 20g e 40g (Figura 2). O experimento foi conduzido por 90 dias, havendo amostragem do solo a cada 30 dias para realização das análises de hidrocarbonetos totais provavelmente do petróleo (HTP), contagem das bactérias heterotróficas totais (BHT), fungos totais (FT), e dos Micro-organismos degradadores de óleo (MDO), que também são denominadas de bactérias hidrocarbonoclasticas. O solo utilizado apresentou inicialmente 40% de umidade (verificada em balança de secagem por infravermelho), que foi restabelecida semanalmente, junto com o monitoramento do pH e teve a monitoração diária de temperatura em todos os tratamentos. Os solos também foram revolvidos semanalmente.



Figura 2 – Casa de vegetação onde os experimentos foram conduzidos (A), Recipientes plásticos onde foram colocados os solos (B) e solo com bagaço de cana de açúcar (C)

A contagem das bactérias heterotróficas totais (BHT) e fungos totais (FT) foram feitas por unidade formadora de colônia (UFC), adotando-se a metodologia de Trindade (2002), enquanto a contagem dos Micro-organismos degradadores de óleo (MDO), foi realizada pela técnica do número

mais provável (NMP) (Wrenn e Venosa, 1996). Os hidrocarbonetos totais do petróleo (HTP) foram extraídos conforme a metodologia de Telhado (2009), e a determinação dos mesmos, foi realizada por espectrometria de infravermelho, utilizando o equipamento Infracal (modelo HART-T da Wilks Enterprise).

### 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

A análise microbiológica das amostras de solo mostraram que no tempo de 90 dias de experimento, houve um aumento das bactérias heterotróficas totais (BHT), fungos totais (FT) e dos micro-organismos degradadores de óleo (MDO), em relação ao solo inicial, quando foi realizada a adição bagaço de cana de açúcar (Figura 3, 4 e 5). Isso ocorreu, provavelmente porque a adição de resíduos vegetais ao solo, pode melhorar as propriedades do solo, em termos de arejamento, umidade, nutrição e propriedades estruturais (Budziak et al., 2004), uma vez que esses efeitos benéficos para a qualidade do solo podem estimular o aumento da população e da atividade da microflora do solo, que utilizarem os polissacarídeos provenientes da degradação da celulose e hemicelulose, presentes nos resíduos vegetais, como substrato para a sua manutenção e crescimento (Balota et al., 1998).

As BHT apresentaram inicialmente uma população de  $1,12 \times 10^8$  UFC g<sup>-1</sup> solo (Figura 3). Elas mostraram a maior população, nos 60 dias de experimento, que foi de  $9,80 \times 10^{10}$  UFC g<sup>-1</sup> e de  $1,61 \times 10^{10}$ , quando os solos receberam adição do bagaço de cana de açúcar nas quantidades de 20g kg<sup>-1</sup> solo e de 40g kg<sup>-1</sup> solo respectivamente, e foi maior nos solos que receberam a menor quantidade desse resíduo vegetal (20 g kg<sup>-1</sup> solo) (Figura 3). Aos 90 dias, as populações dessas bactérias decresceram (Figura 3), sugerindo que houve redução do substrato proveniente do bagaço de cana de açúcar.

Santos (2007), avaliando a adição do pó da casca de coco verde, como material estruturante, na biorremediação de um solo contaminado por petróleo nas quantidades de 5 % p/p e 10% p/p, encontrou uma população de micro-organismos heterotróficos totais na faixa de ordem de grandeza de  $10^8$  a  $10^{10}$  UFC g<sup>-1</sup> solo, o que segundo ela, pode estar diretamente relacionada com a maior aeração proporcionada por esse material, favorecendo assim, o crescimento dos micro-organismos aeróbios nos primeiros 20 dias de teste, pois quando não houve a adição do material estruturante, o crescimento foi de  $10^7$  UFC g<sup>-1</sup> solo nos controles. A autora também observou após 60 dias de experimento, houve uma diminuição dos micro-organismos em todas as condições avaliadas, o que corrobora com esse trabalho, e segundo ela, pode estar relacionado à redução da concentração dos nutrientes inorgânicos, resultante do consumo de grandes quantidades de carbono orgânico, o que afetaria a população heterotrófica em geral.

As populações de FT foram menores que as das BHT (variando de  $10^4$  à  $10^6$  UFC g<sup>-1</sup> solo de ordem de grandeza) (figura 3). Shahravari et al. (2013), estudaram diferentes tipos de resíduos (feno de alfafa, palha de ervilha, palha de trigo, e a mistura dos resíduos com gesso), e também verificaram que a maior população de fungos foi verificada na ordem de grandeza de  $10^6$  UFC g<sup>-1</sup> solo, no solo com palha de trigo. Mesmo que em menor número que as bactérias, os fungos presentes no solo, são importantes como cooperadores no processo de biorremediação, pois possuem crescimento micelial,

o que possibilita a esses uma boa colonização de substratos, digerindo-os através de enzimas extracelulares, e consequentemente facilitando a atuação por bactérias (Clemente et al., 2001).

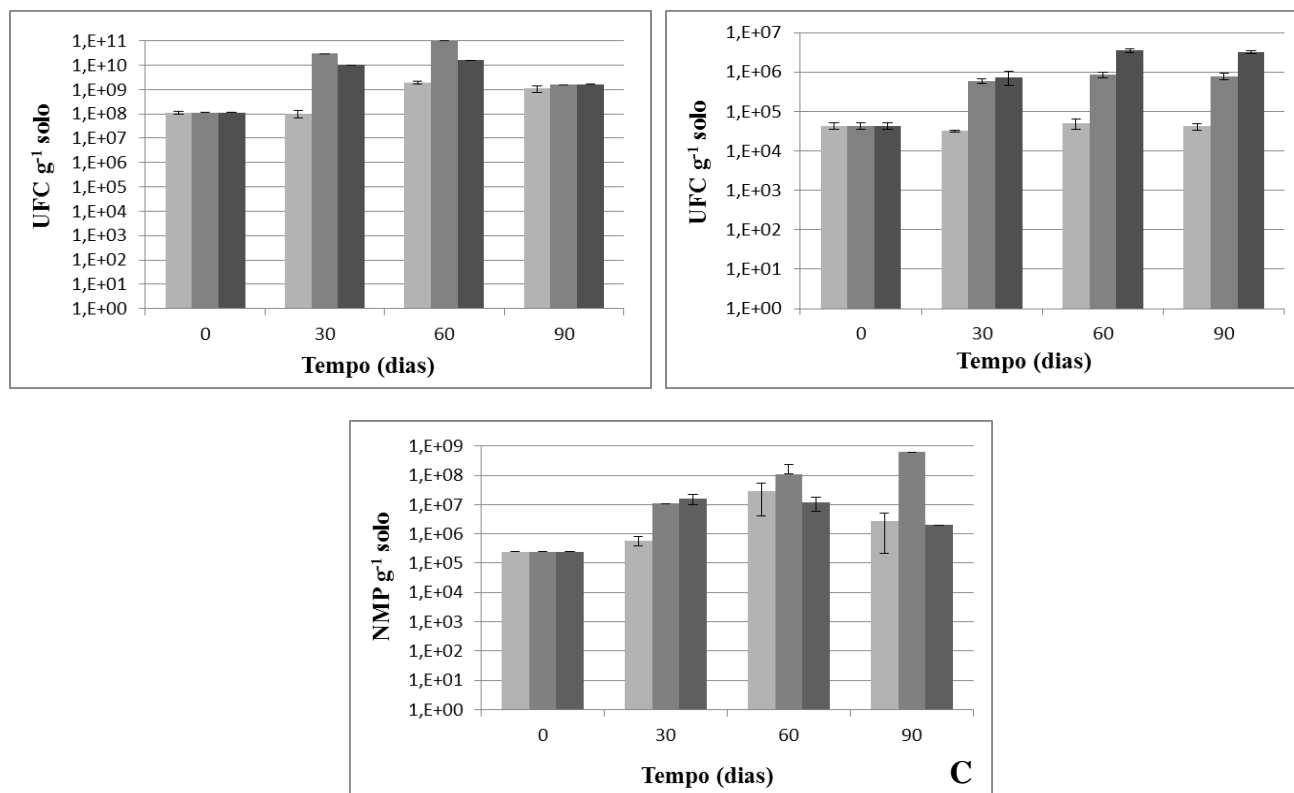


Figura 3 – Quantificação de bactérias heterotróficas totais (BHT) (A), fungos totais (FT) (B) e micro-organismos degradadores de óleo (MDO) (C), nos tempos de 0, 30, 60 e 90 dias. Solo sem tratamento (controle) (■); solo com 20 g kg<sup>-1</sup> solo de bagaço de cana de açúcar (■); solo com 40 g kg<sup>-1</sup> solo de bagaço de cana de açúcar (■).

Ao contrário das BHT, os fungos apresentaram populações significativamente iguais nos 30 dias de tratamento. Eles também apresentaram aumento na população quando receberam a maior quantidade de bagaço de cana (40g kg<sup>-1</sup> solo), no tempo de 60 dias (3,40x10<sup>5</sup> UFC g<sup>-1</sup> solo) e de 90 dias (2,38x10<sup>5</sup> UFC g<sup>-1</sup>) (Figura 3). Gabriel et al. (2008), trabalhando com bagaço de cana de açúcar em caixas separadoras de água e óleo para a biorremediação de lodo de esgoto, estudou uma faixa de concentração do bagaço de cana de 0 – 300g kg<sup>-1</sup> solo, e observou que somente nas concentrações desse resíduo vegetal mais altas, houve aumento da quantidade dos fungos, que foram de uma população de 6x10<sup>3</sup> UFC g<sup>-1</sup> no solo inicial para 9x10<sup>4</sup> UFC g<sup>-1</sup> solo, 2x10<sup>5</sup> UFC g<sup>-1</sup> solo e 3x10<sup>5</sup> UFC g<sup>-1</sup> solo quando foi utilizado 100g, 200g e 300g kg<sup>-1</sup> solo de bagaço de cana respectivamente. O autor também observou que diferentemente dos FT, nas menores concentrações de bagaço de cana (10g e 20g kg<sup>-1</sup> solo) ocorreu aumento da população de BHT, que foi melhor quando utilizou o bagaço de cana na quantidade de 20g kg<sup>-1</sup> solo, assim como ocorreu neste trabalho.



A quantificação dos micro-organismos degradadoras de óleo (MDO), refletiu a mesma dinâmica das BHT e FT. Nos 30 dias de experimento, a população dos MDO não mostraram diferença significativa quando foi utilizado o bagaço de cana nas quantidades de 20g ou 40g kg<sup>-1</sup> solo (Figura 3), assim como a população de FT, embora tenha havido maior número de BHT quando foi utilizada a menor quantidade de cana (Figura 3).

Após 60 e 90 dias de experimento, os MDO apresentaram uma população de  $6,25 \times 10^8$  NMP g<sup>-1</sup> nos solos onde foi adicionada a menor quantidade de bagaço de cana de açúcar (20g kg<sup>-1</sup> solo), que foi maior que a população quantificada no solo que recebeu 40g kg<sup>-1</sup> solo desse resíduo vegetal ( $1,18 \times 10^7$  NMP g<sup>-1</sup>) (Figura 3). As BHT seguiram essa mesma tendência no tempo de 30 e 60 dias, ao contrário dos fungos que na maior quantidade do resíduo de cana utilizado (40g kg<sup>-1</sup> solo) tiveram a maior população em todos os tempos avaliados (Figura 3). Os resultados sugerem que embora a maior quantidade de cana testada (40g kg<sup>-1</sup> solo) favoreça o aumento da quantidade dos fungos, as bactérias, são diretamente envolvidas no processo de biorremediação, porque é na quantidade de 20g kg<sup>-1</sup> solo de bagaço de cana de açúcar, que ocorreu a maior população de BHT e de MDO (Figura 3). A maior população de fungos no solo com maior quantidade de bagaço de cana, não indica maior degradação de hidrocarbonetos, porque segundo Shahsavari et al. (2013), solos contaminados com HTP são naturalmente o ambiente para os fungos, que aumentam de quantidade ao receberem uma fonte adicional de carbono para o seu desenvolvimento, não significa o aumento da biodegradação dos hidrocarbonetos, mas que cooperam na biorremediação do solo.

Embora a população de BHT, FT e MDO tenha aumentado, não foi verificada remoção de HTP quando foi adicionado o bagaço de cana de açúcar ao solo (Tabela 1), apesar de ter sido verificada uma degradação de HTP de 10% no solo que não teve adição desse resíduo (controle). Isso pode ter ocorrido devido ao controle ter recebido padronizações de umidade e revolvimentos semanais, porque a manutenção de uma boa quantidade de água no solo (ente 40% e 80% da capacidade máxima de saturação do solo) promove uma boa mobilidade dos contaminantes através da movimentação da água no solo, impedindo que estes fiquem concentrados em determinados pontos do solo e se tornem mais disponíveis para a degradação pelos micro-organismos (CETEM, 2006), enquanto o revolvimento do solo promove uma melhoria na aeração, o que estimula o crescimento dos micro-organismos aeróbios presentes no solo.

Os solos que tiveram a adição de bagaço de cana de açúcar, embora tenham recebido os mesmos cuidados de revolvimento e umidificação semanais, assim como o solo onde não houve adição desse resíduo, não apresentaram redução na quantidade de HTP, até os 90 dias de experimento (Tabela 1). Apesar de alguns autores terem verificado degradação de óleo em alguns tipos de solos contaminados, esses resultados foram geralmente de estudos conduzidos com solos contaminados em laboratório, como os trabalhos realizados por Gabriel, 2008; Brandão, 2006 e Molina-Barahona et al., 2004), os resíduos vegetais, podem apresentar outros efeitos além da remoção de HTP, como a retenção de HTP, que pode ocorrer por adsorção e/ ou absorção de óleo. Isso ocorre porque a lignina, que é um biopolímero presente nos vegetais, apresenta a capacidade de absorver poluentes orgânicos como os hidrocarbonetos do petróleo Shahsavari et al. (2013), o que pode exercer uma grande efeito benéfico, evitando o aumento da contaminação de solos e águas, e consequentemente impedindo que a contaminação chegue aos lençóis freáticos. Apesar disso, esse efeito é geralmente avaliado em

águas contaminadas, um dos motivos que levaram a realização deste trabalho em solo.

Tabela 1 – Teor de hidrocarbonetos totais de petróleo (HTP) no solo sem adição de bagaço de cana de açúcar e nos solos com adição de bagaço de cana nas quantidades de 20 g (S + C 20g) e 40g (S + C 40g) kg<sup>-1</sup> solo nos tempos de 0, 30, 60 e 90 dias.

Tratamento	Tempo (0dias)	Tempo (90 dias)	Remoção de HTP
	mg de HTP g <sup>-1</sup> solo		----- % -----
Solo	32.251 ± 0.230	28.869 ± 0.650	10,486
S + C 20g	32.251 ± 0.230	33.604 ± 0.236	0,000
S+ C 40g	32.251 ± 0.230	33.874 ± 0.230	0,000

#### 4. CONCLUSÃO

A adição do bagaço de cana de açúcar no solo contaminado com borra oleosa de petróleo promoveu condições favoráveis para o aumento das populações de BHT, FT e MDO, embora não tenha promovido a degradação de HTP e sim a retenção desses contaminantes no solo.

#### 5. REFERÊNCIAS

- ANASTASI, A.; VARESE, G. C.; BOSCO, F.; CHIMIRRI, F.; MARCHISIO, V. F. Bioremediation potential of basidiomycetes isolated from compost. *Bioresource Technology*, v. 99, p. 6626–6630, 2008.
- BALOTA, E. L.; COLOZZI-FILHO, A.; ANDRADE, D. S. & HUNGRIA, M. Biomassa microbiana e sua atividade em solos sob diferentes sistemas de preparo e sucessão de culturas. *R. Bras. Ci. Solo*, v. 22, p. 641-649, 1998.
- BRANDÃO, P. C. Avaliação do Uso de Bagaço de Cana como Adsorvente para a Remoção de Contaminantes, Derivados de Petróleo, de Efluentes. *Dissertação M. Sc.*, Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, 147 p, 2006.
- BUDZIAK, C. R.; MAIA, C. M. B. F. E.; MANGRICH, A. S. Transformações químicas da matéria orgânica durante a compostagem de resíduos da indústria madeireira, *Quim. Nova*, v. 27, nº 3, p. 399-403, 2004.
- CETEM - Centro de Tecnologia Mineral. Biorremediação de solos contaminados por petróleos: ênfase no uso de biorreatores. *Série Tecnologia Ambiental*, nº 37, 2006.

Clemente, A. R.; Anazawa, T. A.; Durrant, L. R. Biodegradation of polycyclic aromatic hydrocarbons by soil fungi. *Brazilian Journal of Microbiology*, v. 32, p. 255-261, 2001.

DAMS, R. I. Rizoremediação de pentaclorofenol em um solo argiloso por *sphingomonas chlorophenolica* ATCC 39723. *Eng. Sanit. Ambient.* v. 12, nº 4, p. 426-432, 2007.

GABRIEL, S. Biorremediação do lodo de caixas separadoras de água e óleo utilizando bagaço de cana-de-açúcar, *Dissertação M. Sc.*, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 65p, 2008.

WRENN, BRIAN A.; VENOSA, ALBERT D. Selective enumeration of aromatic and aliphatic hydrocarbon degrading bacteria by a most-probable-number procedure. *Canadian Journal of Microbiology*, v. 42, pp. 252-258. 1996.

WIECHETECK, F. V. B.; BISCAIA, I.; SCHERER, M. L.; GELINSKI, R.; BUENO, T.; OLIVEIRA, Z. C. Z.; PILEGGI, M. Análise microbiológica de resíduo suíno para avaliação de biorremediação e biodiversidade. *Publ. UEPG Ci. Biol. Saúde*, Ponta Grossa, v.10, nº1, p. 47-51, 2004.

FERNANDES, M. M.; PEREIRA, M. G.; MAGALHÃES, L. M. S.; CRUZ, A. R.; GIÁCOMO, R. G. Aporte e decomposição de serapilheira em áreas de floresta secundária, plantio de sabiá (*Mimosa caesalpiniaefolia* Benth.) e andiroba (*Carapa guianensis* Aubl.) na flona Mário Xavier, RJ. Santa Maria, *Ciência Florestal*, v. 16, nº 2, p. 163-175, 2006.

ITOPF – Use of sorbent materials in oil spill response. Technical information paper. *ITOPF Ltd.* Produced by impact PR & Design, Canterbury, UK. 2012.

MOLINA-BARAHONA, L.; RODRÍGUEZ-VÁZQUEZ, R.; HERNÁNDEZ-VELASCO, M.; VEGA-JARQUÍN, C.; ZAPATA-PÉREZ, O.; MENDOZA-CANTÚ, A.; ALBORES, A. Diesel removal from contaminated soils by biostimulation and supplementation with crop residues. *Applied Soil Ecology*, Amsterdam, v. 27, n. 2, p. 165-175, 2004.

PIRES, F.R., SOUZA, C.M., SILVA, A. A., PROCÓPIO, S.; O. E FERREIRA, L.R. Fitorremediação de solos contaminados com herbicidas. *Planta Daninha*, Viçosa-MG, v.21, nº2, p.335-341, 2003.

SANTOS, R. M. Avaliação da adição do pó da casca de coco verde, como material estruturante, na biorremediação de solo contaminado por petróleo, *Dissertação M. Sc.*, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Escola de Química, Rio de Janeiro, Brasil, 143p, 2007,

SHAHSAVARI, E.; ADETUTU, E. M.; ANDERSON, P. A. BALL, A. S. Plant residues - A low cost, effective bioremediation treatment for petrogenic hydrocarbon-contaminated soil. *Science of the Total Environment*, v.443, p. 766–774, 2013.

TELHADO, M.C.S.C.L. Avaliação da biodisponibilidade de contaminante orgânico em solo, *Dissertação M. Sc.*, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Escola de Química, Rio de Janeiro, Brasil, 124p, 2009.