

EMPREGO DE BIOESTIMULAÇÃO COM NITROGÊNIO NA BIORREMEDIAÇÃO *IN SITU* DE SOLO CONTAMINADO COM ÓLEO DIESEL

Mayara Guedes Sabino (*); Aurora Mariana Garcia de França Souza.

* Centro Universitário Herminio Ometto Uniararas. mayaraguedes96@hotmail.com

RESUMO

O uso cada vez mais crescente de combustíveis fósseis, particularmente os automotivos, provoca uma preocupação em relação às contaminações que podem ser ocasionadas durante sua distribuição e/ou seu armazenamento. A CETESB aponta os postos de combustíveis como responsáveis por 79% das áreas contaminadas existentes no estado de São Paulo. Esse tipo de contaminação pode atingir o subsolo e as águas subterrâneas, trazendo sérias consequências. Vários métodos de remediação para as áreas contaminadas com esses produtos têm sido empregados, com destaque para os biológicos (biorremediação, fitorremediação, biorreator, entre outros). O processo de biorremediação é um dos mais empregados devido a sua facilidade e baixo custo. A degradação dos contaminantes por microrganismos pode ser monitorada através da respirometria de Bartha & Pramer, que quantifica a produção de CO₂ para determinar a eficiência do processo. Processos empregando microrganismos podem ser estimulados com a adição de nutrientes, como o nitrogênio e o fósforo. Este trabalho teve como objetivo determinar a influência de diferentes concentrações do nutriente nitrogênio, na forma de sulfato de amônio, na recuperação de solos contaminados com óleo diesel. Para avaliar a biodegradação do contaminante foi utilizado o método respirômetro de Bartha, que quantificou a produção de CO₂, nos solos contaminados com 10% de óleo diesel e com adição de sulfato de amônio nas concentrações de 0%, 2%, 3%, 5%, 8% e 10%, como fonte de nitrogênio. Os respirômetros foram incubados durante 33 dias, a temperatura de 28°C e foram realizadas análises periódicas de CO₂ produzido. Foram determinadas as massas acumuladas de CO₂ para cada concentração no período de avaliação e os resultados obtidos apontam que as maiores produções do gás ocorreram para as concentrações de 2% e 3% de sulfato de amônio presente no meio como estimulador da biorremediação.

PALAVRAS-CHAVE: Respirômetro de Bartha; biodegradação; avaliação de CO₂

INTRODUÇÃO

No atual cenário brasileiro é possível observar a crescente utilização de automóveis. Estima-se que no país o volume de veículos foi de aproximadamente 43 milhões em 2017 contra 42 milhões em 2015 e 2016 (G1, 2018). Essa realidade reflete em uma maior dependência de combustíveis derivados de petróleo.

Em 2017, entre os combustíveis derivados do petróleo, o óleo diesel B foi o que teve maior comercialização. Aproximadamente, 55 bilhões de litros de óleo diesel B foram comercializados, contra 43 bilhões de litros da gasolina C e 14 bilhões de litros do etanol hidratado (ANP, 2018).

Esse contexto provoca outra preocupação, aquela relacionada às contaminações que podem ser ocasionadas por combustíveis, durante a distribuição por tubulações ou armazenamento em postos de combustíveis. Segundo um inventário da CETESB (2017), os postos de combustíveis são responsáveis por 72% de 5942 áreas contaminadas existentes no estado de São Paulo.

As contaminações causadas por combustíveis podem alcançar os solos e águas subterrâneas. Algumas das consequências desse tipo de contaminação são redução da luminosidade nos corpos hídricos, alteração do pH do solo e das águas, diminuição da oferta de oxigênio e maior toxicidade provocada por compostos presentes com prejuízo à fauna e à flora do local (GUIMARÃES, 2007).

Para Fine et al. (1997), o fato dos combustíveis derivados do petróleo serem uma complexa mistura de hidrocarbonetos com diferentes propriedades físicas e químicas, levará a diferentes distribuições desses compostos no ar, no solo e nas águas. Os autores citam os processos de sorção, volatilização, transformação e transporte como de significativa importância na distribuição de hidrocarbonetos no meio poroso. No entanto, os componentes individuais presentes no óleo diesel são biodegradáveis no solo quando em condições adequadas, o que facilita no processo de descontaminação (CETESB, 2017).

Vários métodos para remediação de áreas contaminadas com hidrocarbonetos derivados do petróleo têm sido estudados, sendo que esses processos são biológicos, físicos ou químicos. Entre os métodos biológicos estão os processos de biorremediação.

O processo de biorremediação, que pode ocorrer *in situ* ou *ex situ*, é um dos mais empregados no tratamento dessas áreas contaminadas com combustíveis, devido a sua facilidade e baixo custo. Nesse processo microrganismos nativos presentes no meio contaminado degradam os compostos orgânicos. Contudo, essa biodegradação pode demandar longo

período de tempo para sua conclusão, sendo necessário estimular o crescimento microbiano, através de condições favoráveis de pH, temperatura, nutrientes (nitrogênio e fósforo), umidade, entre outros fatores (DECESARO, 2013). Considerando esse fato, é importante que mecanismos para melhorar a bioestimulação dos microrganismos e dessa forma reduzir o tempo dos processos de biorremediação sejam cada vez mais estudados.

A biodegradação dos contaminantes pode ser monitorada através da respirometria de Bartha & Pramer, que quantifica a produção de CO₂ para determinar a eficiência do processo. A produção de CO₂ está fortemente associada ao consumo de hidrocarbonetos, indicando a mineralização do contaminante, (TOMASELLA, 2009). Ou seja, a quantidade do gás produzido é proporcional à porcentagem do contaminante biodegradado.

Dessa forma, métodos que indiquem a produção microbiana de CO₂ são utilizados para avaliar o processo de biorremediação de solos contaminados. Entre esses, destaca-se o método de respirométrico de Bartha, padronizado pela norma brasileira NBR14283 - Resíduos em solo – Determinação da biodegradação pelo método respirométrico, (ABNT, 1999), por ser um método simples e que não necessita de grandes equipamentos para sua realização.

A Figura 1 ilustra o esquema de montagem do respirômetro de Bartha,

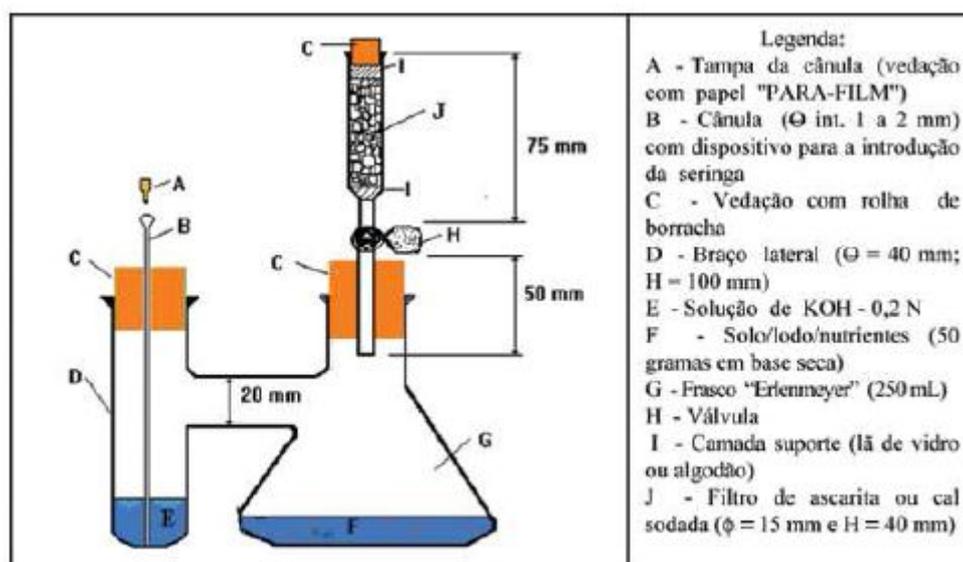


Figura 1. Esquema de montagem do respirômetro de Bartha. Fonte: ABNT, 1999

OBJETIVOS

O objetivo é monitorar e quantificar a produção de CO₂, em um solo contaminado com óleo diesel, através da respirometria de Bartha, avaliando a influência na adição de diferentes concentrações de nitrogênio, na forma de sulfato de amônio, na biodegradação de contaminantes derivados de petróleo (óleo diesel).

METODOLOGIA

O solo a ser utilizado na pesquisa foi coletado na horta experimental da FHO/Uniararas, numa profundidade de aproximadamente 15cm. Uma quantidade de solo, necessária ao desenvolvimento da pesquisa foi passada em peneiras com malha de 4,75 mm, acondicionada em béquer coberto com filme de PVC e mantida a 1,5°C em refrigerador até o momento da realização dos testes. A caracterização do solo foi feita pela determinação da composição granulométrica, da umidade, do pH e do teor de carbono orgânico total. A composição granulométrica foi determinada nos laboratórios do curso de Engenharia Civil da FHO/Uniararas, empregando-se para tal método adaptado de ABNT (2016). Para a determinação da umidade, utilizou-se procedimento adaptado de Carmo e Silva (2012), com secagem do solo em estufa a 105°C, por um período de 24 h. O pH foi determinado empregando-se procedimento descrito por EMBRAPA (1997). A determinação do carbono orgânico total foi feita por oxidação via seca de 5g de solo, seguindo procedimento adaptado de Teixeira, 2017. Para o cálculo do teor C total na amostra foi usada a equação (1), onde P1 expressa o peso (g) da amostra seca em estufa entre 100-105°C, P2 expressa o peso (g) após o processo de ignição a 550°C, M a massa inicial (5g ±0,1).

$$C. \text{ total } (g. kg^{-1}) = \frac{(P1 - P2). 1000}{M}$$

Equação 1

A bioestimulação da degradação do óleo diesel em solo, utilizando nitrogênio, foi avaliada utilizando-se respirômetros de Bartha. Em cada respirômetro foi adicionado $50 \pm 0,1$ g de solo contaminado com 5 ml de óleo diesel comercial, obtendo-se uma contaminação na concentração de 10% (v/m) do contaminante. Os ensaios foram montados em triplicata para as concentrações 0% (respirômetro CC), 2%, 3%, 5%, 8% e 10% (massa de sulfato de amônio/massa de solo) da fonte de nitrogênio. Um conjunto de três respirômetros foi montado com solo sem o contaminante (respirômetro SC). Para avaliação da produção de CO_2 nos ensaios, foram utilizados respirômetros de Bartha, seguindo o procedimento descrito em ABNT (1999). A determinação da massa de CO_2 gerada pela biodegradação do contaminante foi calculada diariamente, com coletas preferencialmente no mesmo horário, num período de 33 dias, pela Equação 2, (MELLO, G. S. L. *et al.* 2007). Utilizou-se o programa Excel 2010 para a geração de tabelas e gráficos a partir das massas acumuladas de CO_2 gerado durante o período de avaliação.

$$\text{mgCO}_2 = (V_B - V_A) \cdot 50 \cdot 0,044 \cdot f_{\text{HCl}}$$

Equação 2

Na equação, o V_B é o volume de solução de HCl 0,1M para titular a solução de KOH (0,2 N) da prova em branco, em mL; o V_A é o volume de solução de HCl 0,1 M para titular a solução de KOH do respirômetro teste, em mL; 50 é o fator para transformar equivalente em μmol de CO_2 ; 0,044 é fator para transformar μmol de CO_2 em mg de CO_2 e f_{HCl} é o fator de solução do HCl 0,1 M.

RESULTADOS

CARACTERIZAÇÃO DO SOLO

A Figura 2 traz os valores em porcentagem dos diferentes diâmetros de grãos que compõem o solo usado na pesquisa.

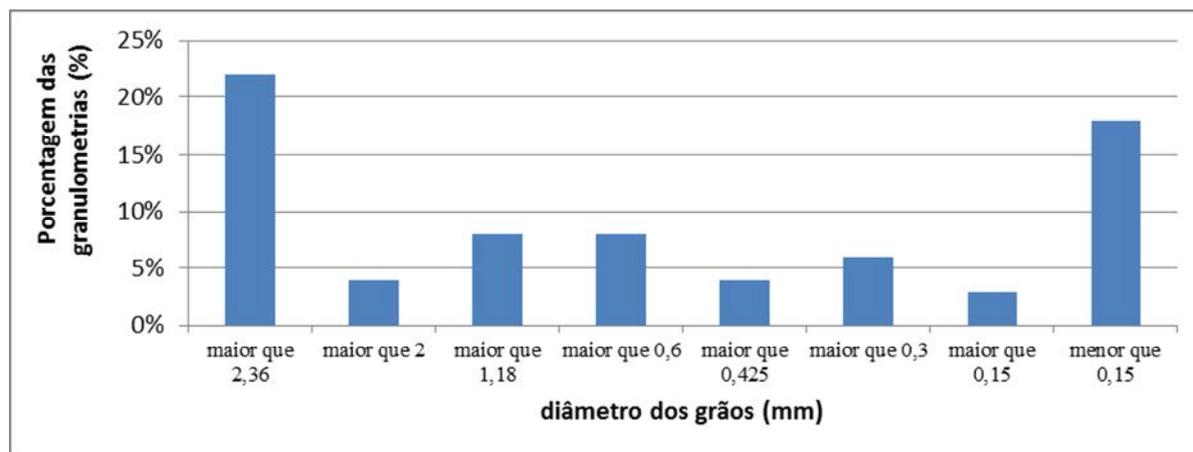


Figura 2. Análise granulométrica. Fonte: Autoras do Trabalho.

Segundo ABNT (1995), as frações constituintes do solo têm diâmetro dos grãos variando de 2,0-0,06mm para areia, 0,06-0,002mm para silte e <0,002mm para argila, o que permite afirmar que o solo utilizado na pesquisa é predominantemente arenoso. Costa (2015) também utilizou solo com predominância de areia em seu estudo de biestimulação para recuperação de solos contaminados com petróleo.

A Tabela 1 insere os valores de algumas propriedades do solo sem contaminação e contaminado com óleo diesel.

Tabela 1: Propriedades do solo sem e com contaminação com óleo diesel. Fonte: Autoras do Trabalho.

PARÂMETRO	SOLO SEM CONTAMINAÇÃO	SOLO COM CONTAMINAÇÃO
pH	$6,4 \pm 0,2$	
Umidade	7,05%	10,9%

A análise da tabela permite afirmar que houve aumento dos teores de matéria orgânica e de umidade com a introdução do contaminante no solo, o que já era esperado. No entanto, mesmo tendo aumento da umidade, essa ainda se manteve inferior à do solo que foi utilizado por Baptista *et al.* (2005). Os autores salientam que alto teor de umidade pode influenciar negativamente a biodegradação por dificultar a adequada aeração do solo e, por isso, em sua pesquisa, procederam a correção desse parâmetro.

QUANTIDADE DE CO_2 ACUMULADA DEVIDO A BIODEGRADAÇÃO DO CONTAMINANTE

A Figura 3 mostra os respirômetros de Bartha montados para a determinação da quantidade de CO₂ evoluída a partir da biodegradação do contaminante (5 mL de óleo diesel) em presença de diferentes concentrações de sulfato de amônio, fonte do nutriente nitrogênio.



Figura 3. Montagem dos respirômetros de Bartha. Fonte: Autoras do Trabalho.

As quantidades de CO₂ acumuladas, expressas em mg, para as diferentes concentrações de sulfato de amônio, durante o período de 33 dias de acompanhamento da biodegradação do contaminante no solo são apresentadas na Figura 3.

A análise da figura indica que o aporte do contaminante no solo se constitui como fonte de matéria orgânica para os microrganismos nativos, visto que a quantidade acumulada de CO₂ obtida no respirômetro CC (com contaminação e sem adição de nutriente) é maior que a obtida no respirômetro SC (sem contaminação e sem adição de nutriente).

No tocante à bioestimulação com adição de sulfato de amônio como fonte de nitrogênio, pode-se afirmar que a maior quantidade de CO₂ acumulada é a do respirômetro com 2% de sulfato de amônio com 609,16 mg, seguida com muita proximidade da obtida no respirômetro com 3% do mesmo sal com 602,80 mg. Tal resultado está coincidente ao obtido por Baptista et al.(2003), que encontraram a melhor biodegradação para óleo cru derivado de petróleo a partir da bioestimulação com a concentração de 2,5% da mesma fonte de nitrogênio utilizada nesta pesquisa.

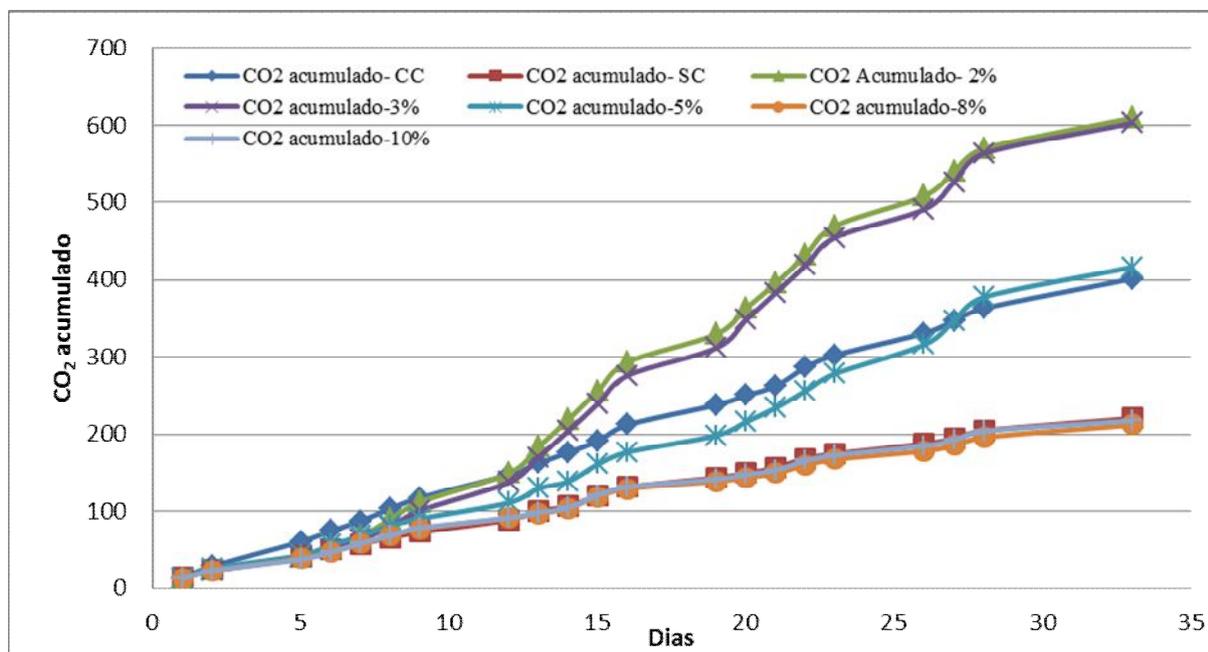


Figura 4. Quantidade acumulada de CO₂ para cada experimento. Fonte: Autoras do Trabalho

Além disso, os resultados mostram que para as concentrações de 8% e 10% de sulfato de amônio, a quantidade acumulada de CO₂ diminui bruscamente, indicando que o excesso de adição de nitrogênio pode ter efeito contrário e diminuir a eficiência do processo.

Para a concentração de 5,0% de sulfato de amônio, novas análises deverão ser feitas, pois aparentemente, essa concentração somente terá efeito na estimulação dos microrganismos nativos a partir do 30º dia de tratamento.

CONCLUSÃO

Esta pesquisa atendeu ao objetivo proposto, podendo-se concluir que, de acordo com as condições do experimento, as melhores concentrações sulfato de amônio para bioestimulação de solos contaminados com óleo diesel são as de 2% e 3%.

Frente aos resultados obtidos, novas análises serão conduzidas para a determinação da concentração ideal do sal, fonte de nitrogênio, entre essas encontradas como as mais relevantes.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. ABNT – Associação Brasileira de Normas Técnicas. **NBR 14283 Resíduos em solo – Determinação da biodegradação pelo método respirométrico**. Rio de Janeiro: ABNT. 8p., 1999
2. ABNT – Associação Brasileira de Normas Técnicas. **NBR 6502 – Rochas e Solos: Terminologia**. Rio de Janeiro: ABNT. 18p. 1995
3. ABNT – Associação Brasileira de Normas Técnicas. **NBR 7181. Versão Corrigida 2:2018 Solo – Análise Granulométrica**. Rio de Janeiro: ABNT. 12p., 2016.
4. Baptista, S. J; Cammarota, M.C. Freire, D. D.C. **Production of CO₂ in crude oil bioremediation in clay soil**. Brazilian Archives of Biology and Technology. Vol. 48, special n., 249-255, 2005
5. Carmo, D. L; Silva, Carlos A. **Métodos de quantificação de carbono e matéria orgânica em resíduos orgânicos**. 2012. Disponível em: <http://www.scielo.br/pdf/rbcs/v36n4/15.pdf>. Acesso: 14 mar. 2018.
6. CETESB. Companhia Ambiental do Estado de São Paulo. **Ficha de Informação Toxicológica - Diesel**. 2017. Disponível em: <http://cetesb.sp.gov.br/laboratorios/wp-content/uploads/sites/24/2013/11/Diesel.pdf>. Acesso: 13 mar. 2018.
7. CETESB. Companhia Ambiental do Estado de São Paulo. **Relação de Áreas Contaminadas e Reabilitadas no Estado de São Paulo. Texto Explicativo**. 2017. Disponível em: <https://cetesb.sp.gov.br/areas-contaminadas/wp-content/uploads/sites/17/2018/01/Texto-explicativo.pdf>. Acesso: 18 mar. 2018.
8. Decesaro, Andressa. **Bioestimulação de solos contaminados por compostos oleosos com biomassa microalgal inativa**. 2013. Disponível em: <http://usuarios.upf.br/~engeamb/TCCs/2013-1/Andressa%20Decesaro.pdf>. Acesso: 28 fev. 2018.
9. EMBRAPA – Centro Nacional de Pesquisas do Solo. **Manual de métodos de análise do solo**. 2ªed. Rio de Janeiro: EMBRAPA-CNPq. 212 p. 1997.
10. G1. Globo – Auto Esporte. **Frota brasileira de veículos cresce 1,2% em 2017**. 2018. Disponível em <https://g1.globo.com/carros/noticia/frota-brasileira-de-veiculos-cresce-12-em-2017-diz-sindipecas.ghtml>. Acesso: 21 ago. 2018.
11. Guimarães, A. K. V. **Extração do óleo e caracterização dos resíduos da borra de petróleo para fins de reuso**. 2007. Disponível em: <https://repositorio.ufrn.br/jspui/bitstream/123456789/15746/1/AdrianaKVG.pdf>. Acesso: 13 mar. 2018.
12. Mello, G. S. L; Morita, D. M; Manfredini, S; Rivera, I. N.G. **Viabilidade da aplicação do método respirométrico de Bartha para determinação da biodegradação de poluentes ou resíduos em latossolos**. Engenharia Sanitária Ambiental, vol. 12, nº1, p. 71-78, 2007.
13. Teixeira, P. C. et al. (ed.). **Manual de Métodos de Análise de Solo**. 3ª edição revista e atualizada. Brasília, DF: EMBRAPA. 573p., 2017.
14. Tomasella, R. C. **Efeito da adição de butanol na biodegradabilidade da gasolina e do óleo diesel**. 2009. Disponível em: http://200.145.6.238/bitstream/handle/11449/121595/tomasella_rc_tcc_rcla.pdf?sequence=1&isAllowed=y. Acesso: 18 mar. 2018.
15. Fine, P. Graber, E. R. Yaron, B. **Soil interactions with petroleum hydrocarbons: Abiotic processes**. Soil Technology. V. 10. p. 133- 153. 1997.