



II CONEPETRO

II CONGRESSO NACIONAL DE ENGENHARIA DE
PETRÓLEO, GÁS NATURAL E BIOCOMBUSTÍVEIS
IV WORKSHOP DE ENGENHARIA DE PETRÓLEO

REMOÇÃO DE HPA EM SOLO CONTAMINADO POR ÓLEO LUBRIFICANTE EMPREGANDO ASSOCIAÇÃO DE BIOAUMENTO E BIOESTÍMULO

Willyan Araújo da Costa^{1*}, Gilanna Falcão Ferreira², Thiago Gonçalves Cavalcanti², Amanda Freire de Souza², Ulrich Vasconcelos².

¹ Universidade Federal da Paraíba, Centro de Tecnologia, Departamento de engenharia Química.-
willyam_wizard@hotmail.com *

² Universidade Federal da Paraíba, Centro de Biotecnologia, Departamento de Biotecnologia.

RESUMO

Os hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (HPA) compreendem uma classe de moléculas compostas por dois ou mais anéis aromáticos condensados. Tais substâncias são encontradas entre as frações de constituintes do petróleo e a literatura destaca sua natureza carcinogênica. O presente trabalho avaliou dois métodos de biorremediação de um solo contaminado por uma mistura de óleo lubrificante rica em naftaleno, fenantreno e pireno totalizando 51 mg/Kg. Após 60 dias de processo, cerca de 79 a 85% dos HPA foram removidos pelo consórcio, formado por três linhagens de *Pseudomonas aeruginosa*, estimulado com torta de algodão. Os ensaios de ecotoxicidade revelaram que a remoção do contaminante promoveu uma melhora na fertilidade do solo em questão.

Palavras-Chave: Biorremediação, *Pseudomonas aeruginosa*, Torta de algodão, Índice de Germinação.

1. INTRODUÇÃO

O petróleo consiste numa mistura de diferentes frações de hidrocarbonetos, sendo a sua composição não fixa e dependente da origem [THOMAS, 2001].

Os avanços tecnológicos que vêm crescendo de forma acentuada nas últimas décadas são notórios, porém atrelado a esse progresso, o acúmulo dos resíduos gerados por tais atividades, encoraja o surgimento de políticas que visam coibir o descarte desses materiais de forma indiscriminada por parte das indústrias [JARDIM, 1998].

No tocante ao Brasil, em espacial no setor petrolífero, são recorrentes os casos de

vazamentos em todas as fases da cadeia de exploração à distribuição do óleo. Tais acidentes estão atrelados a impactos não apenas ao meio hídrico, como também ao solo, porção proporcionalmente mais afetada [RIZZO, 2007].

Dentre as classes de hidrocarbonetos que constituem o petróleo, os Hidrocarbonetos Policíclicos Aromáticos (HPA) são considerados um dos mais tóxicos, não só ao ambiente, como também à saúde humana, em razão do alto potencial carcinogênico e natureza persistente [NETTO et al., 2000].

Os HPA são formados por dois ou mais anéis aromáticos, assumindo diferentes conformações do ponto diversas da disposição

www.conepetro.com
.br

(83) 3322.3222

contato@conepetro.com.br

espacial dos seus átomos. Segundo a agência de proteção ambiental dos Estados Unidos da América (EPA), 16 HPA são considerados prioritários e tratando-se de contaminação por óleo, os mais prevalentes são: naftaleno, antraceno, fluoranteno, pireno, acenafteno e fenantreno [MEIRE, AZEVEDO e TORRES, 2007].

No que se refere aos processos que visam à remoção de HPA em solos, a biorremediação é uma das melhores opções. Esta técnica utiliza organismos vivos, tais como plantas e especialmente micro-organismos como agentes, os quais utilizarão o óleo como fontes de carbono e energia [GAYLARDE, 2005].

Diferentes micro-organismos podem ser aplicados. Jacques et al. [2007], mencionam espécies de *Pseudomonas* sp., *Aeromonas* sp., *Mycobacterium* sp. e *Gordonia* sp. são potenciais candidatos.

Um importante ensaio conduzido após uma intervenção em uma área impactada por óleo são os testes de ecotoxicidade. A determinação da fitotoxicidade é capaz de avaliar de forma segura e eficaz, o processo de biorremediação. Geralmente, tais testes levam em consideração a sensibilidade de organismos vivos, como as plantas superiores, para constatar os níveis de recuperação alcançados [ECHART, 2001].

Rodrigues et al. [2013] destacam o baixo custo como uma das principais vantagens do ensaio. Diversos parâmetros podem ser verificados, tais como: taxa de germinação, alongamento das raízes, ganho ou aumento de biomassa, e aspectos bioquímicos como as respostas metabólicas atreladas à expressão enzimática.

Neste contexto, o objetivo do presente trabalho foi empregar a determinação do índice de germinação para avaliar a eficiência do processo de remoção de três HPA em solo contaminados com uma mistura de óleo lubrificante de motor.

2. METODOLOGIA

2.1 Biorremediação:

2.1.1 Solo e condições dos reatores

O solo arenoso utilizado como corpo de prova nesse trabalho foi submetido à bateladas de caracterizações, apresentado as seguintes respostas aos ensaios realizados:

Tabela 1 – Caracterização do solo

Ensaio ou análises	Resultado
pH em água	7,9±0,01
CRA(%)	40,9±0,1
Umidade	16,1±0,4
Nitrogênio	2,365 mg.Kg ⁻¹
Total	

CRA- Capacidade de retenção de água

Os reatores de polietileno transparente continham 200 g do solo, contaminado com óleo lubrificante de motor usado, gerando um ambiente contaminado por cerca de 51 mg/Kg de naftaleno, fenantreno e pureno, cerca de 50 vezes mais o valor de referência de solos naturais [NEDERLEND, 2006]. Os reatores foram suplementados com 5 e 10 g de torta de algodão, gentilmente cedida pela Embrapa-Algodão. A torta apresentou um teor de sólidos solúveis de 24,3 °Brix.

As condições para cada sistema foram:

Tabela 2 – Condições dos reatores

Reator	Óleo (mL/Kg)	Torta (g/Kg)
1	50	25
2	50	50

2.1.2 Ensaio de biorremediação

Foi empregado um consórcio microbiano composto por 3 isolados de *Pseudomonas aeruginosa*: TGC02, TGC03 e TGC04 nos sistemas reacionais (Tabela 2), essas linhagens foram obtidas de solos de postos de gasolina, empregando meios de isolamento da espécie, caldo asparagina e caldo acetaminda [APHA, AWWA, WEF, 2012]. Os microrganismos foram aclimatados por meio da incubação em concentrações crescentes do óleo em meio mineral composto por: K₂HPO₄ (0,5 g/L); (NH₄)₂SO₄ (0,5 g/L); MgSO₄ (0,5 g/L); FeCl₂ (10 mg/L); CaCl₂ (10 mg/L); MnCl₂ (0,1 g/L) e ZnSO₄ (0,01 mg/L), pH =7,2, suplementado

com 0,1 g de extrato de levedura e gotas da solução de complexo de vitamina B [PALLITAPONGARNIPIM et al., 1998].

A manutenção das linhagens isoladas se deu sob refrigeração.

O ensaio de biodegradação dos três HPA durou 60 dias sob temperatura ambiente. O teor de hidrocarbonetos foi conhecido por meio de metodologias descritas pela agência estadounidense ambiental (EPA).

2.1.3 Ensaio de Fitotoxicidade

O ensaio foi conduzido como descrito por Tiquia, Tam e Hodkiss [1996]. Foram obtidos extratos dos solos por meio da mistura de 10 g de solo em 90 mL de água destilada. O conjunto foi então misturado e deixado em repouso para sedimentação. Cerca de 5 a 10 mL do extrato obtido foi transferido para placas de Petri contendo um papel de filtro e as sementes das plantas (Toca do verde, Canoas, Brasil): *Cucumis anguria* (Maxixe-do-norte), *Brassica nigra* (Mostarda) e *Zea mays* (Milho). As placas foram incubadas à 22±1°C, na ausência de luz por 5 dias. O controle do teste foi realizado com água destilada.

A toxicidade do contaminante ou seus metabólitos foi determinada pelo índice de germinação (IG), calculado utilizando a seguinte fórmula:

$$IG = \frac{(S1 \times R1)}{(S2 \times R2)} \times 100 \quad [1]$$

Onde: S1- N° de sementes germinadas no extrato; S2- N° de sementes germinadas no controle; R1- Média dos comprimentos de raiz no extrato e R2- Média do comprimento de raiz no controle.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Consideradas as perdas abióticas estabelecidas em 10%, os tratamentos propostos promoveram uma redução entre 79 e 85% dos HPA (Tabela 3) após 60 dias de bioprocessamento.

Tabela 3 – Percentual de remoção dos HPA

Reator	NAF	FEN	PIR
1	84,1	79,0	81,5
2	85,3	80,8	82,0

NAF – naftaleno, FEN – fenantreno e PIR – pireno

Do ponto de vista estatístico, não houve discrepância significativa entre os valores de remoção obtidos, porém, os resultados confirmam que de fato houve uma degradação dos HPA presentes no solo, implicando no fato do consórcio estimulado com a torta de algodão, degradou os HPA enquanto aumentava em número, fato já observado em outro estudo [VASCONCELOS, OLIVEIRA e DE FRANÇA, 2013].

Analisando os resultados obtidos, constatou-se que na condição 2, houve a maior remoção de HPA, provavelmente resultado do maior teor de torta de algodão ter sido empregado

neste reator. A torta de algodão é um coproduto rico em fontes solúveis, as quais promoveram condições para a biomassa aumentar cerca de 100 vezes o valor introduzido do inóculo (dados da quantificação microbiana não estão apresentados). Um segundo fator importante no processo foi o maior teor de óleo contaminante presente nos ensaios com os melhores resultados obtidos, uma vez que o mesmo pode atuar como indutor da síntese microbiana de substâncias tensoativas [DECESARO, 2013]. A relação entre os melhores níveis de remediação de solo associados ao aumento do teor de agentes biossurfactantes foi relatado por Kosaric [2001]. A produção de agentes surfactantes se deve à necessidade dos microrganismos se ajustarem às condições impostas pelo meio, sendo esta propriedade, inerente aos seus mecanismos de sobrevivência.

Molina-Barahona et al. [2004] discutiram sobre o fato do aumento significativo na degradação de contaminantes quando resíduos agroindústrias são adicionados ao meio de cultura. Por outro lado, Lee et al. [2008] obtiveram os melhores níveis de degradação de hidrocarbonetos próximos a 13% utilizando como suplemento a torta de feno, porém o baixo rendimento foi atribuído à pouca umidade do coproduto.

Os resultados do ensaio de fitotoxicidade estão sumarizados nas Tabelas 4.

Tabela 4 – Índice de germinação após 60 dias de tratamento

Planta	i	1	2
Maxixe	22	600	2100
Milho	0	11	266
Mostarda	58	69	152

i – índice de germinação inicial no solo contaminado

Anastasi et al. [2009] propuseram uma classificação da fitotoxicidade, levando em consideração a avaliação do nível de regeneração de uma matriz contaminada quando se utiliza o IG como parâmetro: alta, de 0 a 50%; moderada, de 50 a 80% e nula, quando maior que 80%, podendo ser superior a 100%, visto que o IG é calculado, relacionando os valores do extrato do solo, com um controle com água destilada.

Ressalta-se que a discrepância associada aos níveis de germinação das sementes das três plantas testadas. Esta observação já foi relatada em estudos prévios, por exemplo, Rodrigues et al., [2013]. Neste caso, os autores atribuíram o achado, à sensibilidade inerente à cada variedade vegetal. No presente trabalho, o *C. anguria* se mostrou o melhor indicador de remoção de HPA, resultado semelhante ao descrito por Vasconcelos, Oliveira e de França [2010].

Os resultados de ecotoxicidade observados na Tabela 4 confirmam que a significativa diminuição nos teores dos três

HPA monitorados implicou no aumento do IG, comparando ao determinado no solo antes do tratamento. Os maiores IG coincidiram com os maiores teores de torta de algodão suplementada nos reatores. Isto também ressalta a importância do aproveitamento de resíduos agroindustriais para finalidades mais nobres, conferindo um valor agregado ao coproduto.

4. CONCLUSÃO

Os resultados obtidos mostraram que o emprego de torta de resíduos celulósicos, ricos em substâncias de fácil assimilação, foi significativamente efetivo na remoção dos HPA. Além disso, a remoção do contaminante promoveu um aumento significativo do índice de germinação das sementes testadas. Futuros estudos investigarão a correlação do percentual de remoção com a presença dos agentes surfactantes para melhor elucidação do processo.

Agradecimentos

Os autores agradecem ao CNPq pelo apoio financeiro à pesquisa.

5. REFERÊNCIAS

ANASTASI, A.; COPPOLA, T.; PRIGIONE, V.; VARESE, G. C. *Pyrene degradation and detoxification in soil by a consortium of basidiomycetes isolated from compost: role*

of laccases and peroxidases. J Hazard Mat. v. 165, n. 1-3, p. 1229-1233, 2009.

APHA, AWWA, WEF – AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION, AMERICAN WATER WORKS ASSOCIATION, WATER ENVIRONMENT FEDERATION. **Standard methods for the examination of water and wastewater.** 22nd. ed. Baltimore: APHA, AWWA, WEF, 2012.

ATLAS, R. M.; CERNIGLIA, C. E. **Bioremediation of petroleum pollutants.** BioScience, v. 45, n. 5, p. 332-338, 1995.

CAVALCANTI, T. G.; MARTINS, R. X.; VIANA, A. A. G.; GUEDES, T. P.; ALMEIDA, R. D.; MORAIS, J. P. S.; GOMES, U. V. R. **Uso de estratégias de bioaumentação na remoção de hidrocarbonetos do petróleo em solo arenoso.** In: Simpósio nacional de bioprocessos, 20, 2015, Brasil, Anais...Brasil, 2015.

GAYLARD, C. C.; BELLINASSO, M. de L.; MANFIO, G. P. **Biorremediação.** Biotecnologia, Ciência & Desenvolvimento, n. 34, p. 36-43, 2005.

JACQUES, R. J. S.; BENTO, F. M.; ANTONIOLLI, Z. I.; CAMARGO, F. A. de O. **Biorremediação de solos contaminados com hidrocarbonetos aromáticos**

policíclicos. Ciência Rural, Santa Maria, v. 37, n. 4, p. 1192-1201, 2007.

JARDIM, W. de F. **Gerenciamento de resíduos químicos em laboratórios de ensino e pesquisa.** Química Nova, v. 21, n. 5, p. 671-673, 1998.

KASARIC, N. **Biosurfactants and their application for soil bioremediation.** Food Biotechnol. n. 39, v.4, p. 295-304, 2001.

LEE, S-H., LEE, S., KIM, D-Y., Kim, J-G. 2007. **Degradation characteristics of waste lubricants under different nutrient condition.** J Hazard Mat. 143, 65-72.

MEIRE, R. O.; AZEVEDO, A.; TORRES, J. P. M. **Aspectos ecotoxicológicos de hidrocarbonetos policíclicos aromáticos.** Acta Oecologica, Basil, v.11, p. 188-201, 2007.

MOLINA-BARAHONA, L.; RODRIGUEZ-VASQUEZ, R.; HERNANDEZ-VASCONCELOS, M.; VERGA-JARQUIM, C.; ZAPATA-PEREZ, O.; MENDOZA-CATU, A.; ALBORES, A. **Diesel removal from contaminated soils by biostimulation and supplementation with crop residues.** Appl Soil Ecol. 27, 165-175, 2004.



II CONEPETRO

II CONGRESSO NACIONAL DE ENGENHARIA DE
PETRÓLEO, GÁS NATURAL E BIOCOMBUSTÍVEIS
IV WORKSHOP DE ENGENHARIA DE PETRÓLEO

NETTO, A. D. P. *Avaliação da contaminação humana por hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (HPAS) e seus derivados nitrados (NHPAS): uma revisão metodológica.* Química Nova, São Paulo, V. 23, p. 765-773, 2000.

NEDERLAND. *Ministeri Van Volkshuisvesting Ruimtelijke Ordening en Milieubeheer. Soil Protection Act, text based on the most recently published integral version of the Soil Protection Act (1996), corrected by the Bulletin of Acts, Orders and Decrees 1993 and updated by the Bulletin of Acts, Orders and Decrees 1996, 1997, 1999, 2000, 2001 and most recently amended 2005.* 01 Jan 2006.

PALITTAPONGARNPIM, M.;
POKETHITIYOOK, P.; UPATHAM, E. S.;
TANGBANLUEKAL, L. *Biodegradation of crude oil by soil microorganisms in the tropic.* Biodegradation. v. 9, n. 2, p. 83-90, 1998.

RIZZO, A. C. L.; LEITE, S. G. F.;
SORIANO, A. U.; SANTOS, R. L. C.;
SOBRAL, L. G. dos S. *Biorremediação de solos contaminados por petróleo: ênfase no uso de biorreatores.* Rio de Janeiro: CETEM, 2007, 68 p.

RODRIGUES, L. C.; BARBOSA, S.; PAZIN,
M.; MASELLI, B. de S.; BEIJO, L. A.;

KUMMOROW, F. *Fitotoxicidade e citogenotoxicidade da água e sedimento de córrego urbano em bioensaio com Lactuca sativa.* Revista brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental, Paraíba, V. 17, n° 10, p. 1099-1108, 2013.

THOMAS, J. E. *Fundamentos de Engenharia de Petróleo.* Rio de Janeiro: Editora Interciência, 2001. 269 p.

TIQUIA, S. M.; TAM, N. F. Y.; HODGKISS, I. J. *Effects of composting on phytotoxicity of spent pig-manure sawdust litter.* Environ Pollut. v. 93, n. 3, p. 249-256, 1996.

USEPA - UNITED STATES ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY. Method 8270C. *Semivolatile Organic Compounds by Gas Chromatography/Mass Spectrometry*, 3rd ed. Washington: U. S. Government Printing Office, 1996.

VASCONCELOS, U.; DE FRANÇA, F. P.; OLIVERIA, F. J. S. *Removal of high-molecular weight polycyclic aromatic hydrocarbons.* Quim Nova. v. 34, n. 2, p. 218-221, 2011.

VASCONCELOS, U.; OLIVEIRA, F. J. S.; FRANÇA, F. P. *Raw glycerol as cosubstrate on the PHAs biodegradation in soil.* Can J Pure Appl Sci. v. 7, n. 1 p. 2203-2209, 2013.

www.conepetro.com.br

(83) 3322.3222

contato@conepetro.com.br



II CONEPETRO

II CONGRESSO NACIONAL DE ENGENHARIA DE
PETRÓLEO, GÁS NATURAL E BIOCOMBUSTÍVEIS
IV WORKSHOP DE ENGENHARIA DE PETRÓLEO



www.conepetro.com

.br

(83) 3322.3222

contato@conepetro.com.br