

VI-247 - ANÁLISE DA EFICIÊNCIA DOS MICRO-ORGANISMOS EM UM SISTEMA ELETROCINÉTICO DE REMEDIAÇÃO DE SOLOS CONTAMINADOS POR HIDROCARBONETOS DERIVADOS DE PETRÓLEO

Adriana Bee⁽¹⁾

Acadêmica em Engenharia Ambiental pela Universidade de Santa Cruz do Sul. Bolsista FAPERGS

Marcelo Luis Kronbauer

Engenharia Ambiental pela Universidade de Santa Cruz do Sul. Mestre em Tecnologia Ambiental pela Universidade de Santa Cruz do Sul.

Robson Evaldo Gehlen Bohrer

Engenharia Ambiental pela Universidade de Santa Cruz do Sul. Mestre em Tecnologia Ambiental pela Universidade de Santa Cruz do Sul.

Jéssica Tainá Vasques da Silva

Acadêmica do curso de Engenharia Ambiental pela Universidade de Santa Cruz do Sul. Bolsista PRO Lab

Diosnel Antonio Rodriguez Lopes

Engenheiro de Minas pela UFOP. Mestre em Metalurgia Extrativa pela UFRGS. Doutor em Engenharia pela TU-Berling. Professor do Programa de Pós Graduação em Tecnologia Ambiental (PPGTA) – Mestrado, UNISC.

Endereço⁽¹⁾: Rua João Inácio Sulzbach, 627 – Estrela – Rio Grande do Sul - RS - CEP: 95880-000 - Brasil - Tel: (51) 8188-4774 - e-mail: bee.adriana@gmail.com

RESUMO

A contaminação do solo e de águas subterrâneas com compostos de hidrocarbonetos de petróleo provoca preocupações ambientais e de saúde pública. Ela é considerada um problema generalizado uma vez que os hidrocarbonetos são os contaminantes de ocorrência ambiental mais frequente, um típico efeito colateral da atividade industrial. Entre as tecnologias disponíveis para lidar com os solos contaminados, a biorremediação com base na atividade metabólica dos microrganismos tem certas vantagens (VAN GESTEL et al., 2003). A eletrobiorremediação aparece como uma ramificação da biorremediação e também vem sendo estudada e analisada nos últimos anos.

Em vista disso, o trabalho a seguir pretende apresentar o comportamento obtido pelos micro-organismos em um sistema eletrocínético de remediação montado. Muitos parâmetros foram analisados como temperatura, pH, PAHs, BTEX e TPH do sistema, além de ter sido realizado testes de biodegradação com bactérias e fungos que foram isolados do sistema. Alguns dos fungos estudados foram também, possíveis de serem identificados.

PALAVRAS-CHAVE: Solos contaminados, eletrobiorremediação, hidrocarbonetos, micro-organismos.

INTRODUÇÃO

As preocupações com o meio ambiente estão cada vez maiores em virtude da certeza que as atividades humanas são responsáveis pelas alterações ambientais. A crescente contaminação de solos e água subterrânea por hidrocarbonetos derivados de petróleo (óleo diesel, gasolina e demais derivados) tem sido destaque nas últimas décadas, principalmente em função da frequência com que os episódios de contaminação são verificados e da gravidade com que o meio ambiente é afetado (Spinelli, 2005).

Dentre as atividades industriais, uma das que mais ameaçam o meio ambiente é a atividade petrolífera. Em toda a sua cadeia produtiva há a possibilidade de contaminação do ar, das águas e dos solos por uma gama de compostos altamente poluentes (SORIANO, 2000).

Considerando a poluição e a toxicidade dos hidrocarbonetos derivados de petróleo, o desenvolvimento de uma estratégia efetiva e ambientalmente correta para reduzir elas continua sendo um desafio. A crescente pressão pelas agências regulatórias ambientais tem motivado o desenvolvimento de tecnologias limpas destacando a tecnologia da biorremediação (Fernandez et. al. 2011).

A biorremediação consiste em um processo que explora as capacidades catalíticas de organismos vivos para aumentar a taxa ou extensão de destruição do poluente, sendo uma importante ferramenta na tentativa de mitigar a contaminação ambiental (Shi Liu e Joseph M. Suflita, 1993).

Visando amplificar as capacidades metabólicas dos micro-organismos, a aplicação de um campo eletrocinético vem sendo explorado na tentativa de remediar solos contaminados com hidrocarbonetos.

A eletrocinética pode realizar a degradação dos contaminantes do solo e a remoção de metais pelo movimento direto dos poluentes em resposta à aplicação de uma corrente elétrica contínua (Miani, 2000). As principais vantagens da remediação eletrocinética é que esse processo pode ser desenvolvido *in situ* e é particularmente eficiente para solos de baixa permeabilidade. Recentemente, tem havido um interesse crescente na aplicação da eletrocinética em áreas contaminadas com compostos orgânicos hidrofóbicos que apresentam baixa volatilidade, baixa mobilidade, baixa solubilidade e baixa degradabilidade (Park et al., 2007; Saichek and Reddy, 2003).

O presente trabalho contém estudos de uma amostra de solo proveniente de tanques de armazenamento de combustíveis a qual foi misturada a uma borra oleosa para aumentar o grau de complexidade da contaminação.

MATERIAIS E MÉTODOS

O solo utilizado no presente estudo foi extraído de uma área contaminada por vazamento em tanques de armazenamento de combustíveis. O mesmo foi utilizado em um sistema de eletrobiorremediação desenvolvido no Laboratório de Resíduos Sólidos e Tratamento de Efluentes da Universidade de Santa Cruz do Sul/UNISC. O sistema de eletrobiorremediação foi montado em um reservatório de acrílico que continha as medidas de 60x40x10 cm onde foram depositados 35kg da mistura de solo com a borra oleosa. Foram inseridos seis eletrodos dispostos em distâncias iguais e ligados alternadamente ao cátodo e ao ânodo a uma fonte de alimentação em corrente contínua a uma tensão de 5V que posteriormente foi aumentada para 15,9V. Uma bomba dosadora fazia passar 1 l de água deionizada diariamente, mantendo o sistema saturado. Periodicamente eram feitas medições de condutividade, temperatura e pH. A duração das análises do sistema durou 180 dias. Foi realizado o isolamento e identificação de alguns micro-organismos. Avaliou-se a capacidade de biodegradação dos micro-organismos presentes no sistema quanto a sua capacidade de degradação dos hidrocarbonetos policíclicos aromáticos.

Além dos parâmetros físico-químicos do solo, a contaminação por hidrocarbonetos foi monitorada avaliando-se os valores de TPH, BTEX e PAH's.

TRANSFERÊNCIA E ISOLAMENTO DE MICRO-ORGANISMOS

Uma amostra de 10g de solo foi diluída conforme a metodologia descrita por Abelho 2010. A diluição foi feita até 10^{-4} . As soluções 10^{-3} e 10^{-4} foram inoculadas em placas de Petri. Foram utilizados três meios de cultivo: Ágar Caseinato; Ágar Nutriente e Ágar Sabouraud. As placas com Ágar Nutriente e Caseinato foram armazenadas por sete dias em uma estufa a uma temperatura em torno de 35 a 37°C e as placas de ágar Sabouraud foram armazenadas durante 14 dias à temperatura ambiente. Após o período de incubação, as placas continham diferentes colônias, as quais foram selecionadas para isolamento a partir de suas diferenças macroscópicas. O isolamento foi realizado pelo método de esgotamento. (Antunes 1985). As placas foram novamente armazenadas para crescimento com as mesmas condições anteriores.

TESTE DE BIODEGRADAÇÃO E IDENTIFICAÇÃO FÚNGICA

Para a realização destes testes micro-organismos isolados na etapa anterior foram utilizados. Nesse sentido foram estudados 10 micro-organismos com características morfológicas diferentes, isolados no Agar Nutriente, 6 em Agar Sabouraud e 10 em Agar Caseinato.

Os micro-organismos utilizados para o teste precisaram ser padronizados a uma concentração de $1,5 \times 10^8$ UFC /mL o que corresponde a 0,5 na escala McFarland.

O teste foi realizado em micropoços e para cada poço, foi transferido 25µL de inoculo; 250µL de meio BH (Bushnell Haas); 4µL de óleo Diesel e 5 µL de um indicador redox 2,6 Diclorofenol-indofenol (DCPIP) com a concentração de 120mg.L⁻¹(Hanson et al.,1993), durante 96 horas.

Para a identificação fúngica, aplicou-se a técnica de microcultivo. Após, observado o crescimento fúngico em lâminas sobrepostas por lamínulas, as mesmas foram submetidas a identificação fazendo-se uso de Azul de Bromofenol e de um microscópio com configurações na objetiva de 40x e 10x.

RESULTADOS

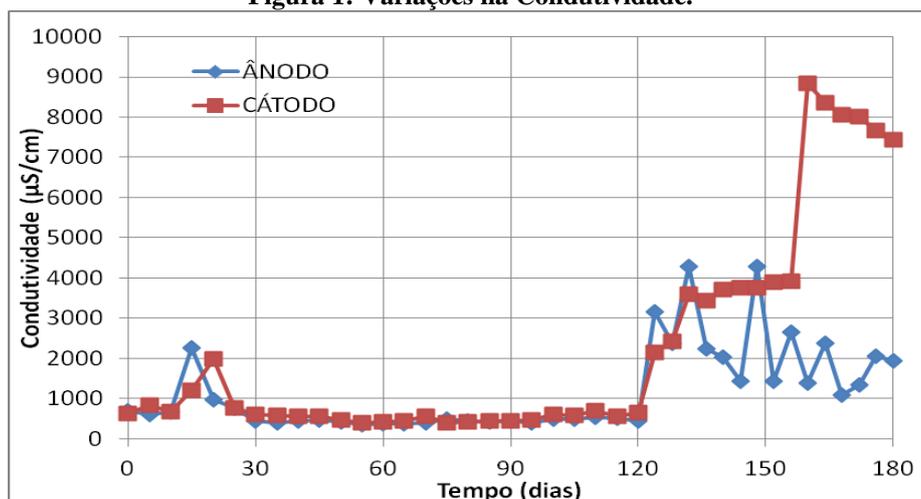
A temperatura do sistema tem relação direta com a temperatura ambiente. A temperatura ambiente variou de 8,4°C a 27,7°C durante a operação do sistema.

O pH, foi monitorado frequentemente, e pôde ser percebido grandes variações. Havia dois pontos de medição, um próximo ao cátodo e outro próximo ao ânodo. No cátodo, o pH encontrava-se normalmente alcalino, e no ânodo, ácido. Esta situação se deve ao processo eletroquímico que acontece nas regiões dos eletrodos, pois no ânodo há formação de íons H⁺ e no cátodo, formação de íons OH⁻.

Quando se concluiu 120 dias de operação do reator, foi aplicado NaCl e o surfactante Tween 80 que fizeram com que a condutividade sofresse uma elevação brusca. Antes da aplicação destas substâncias, a condutividade elétrica das regiões do ânodo e do cátodo eram em média 450 e 646,2 µS/cm respectivamente, após a injeção destes componentes até o desligamento a condutividade nestas respectivas áreas era de 1.942 e 7.447 µS/cm.

Na Figura 1 é possível analisar as variações sofridas pela condutividade.

Figura 1: Variações na Condutividade.



Foi possível observar nos gráficos abaixo, os resultados obtidos quanto a degradação de BTEX, TPH e PAH's.

O comportamento dos contaminantes durante o período de monitoramento apresentou-se bem variável. A Figura 2 apresenta os resultados encontrados para BTEX. Os hidrocarbonetos totais de petróleo (TPH) oscilaram consideravelmente ao longo do período de experimentação, como pode ser observado na Figura 3. A Figura 4 apresenta os resultados encontrados para PAH's.

Figura 2: Degradação de BTEX

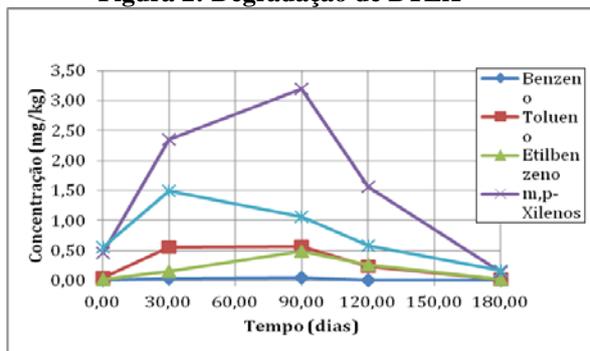


Figura 3: Degradação de TPH

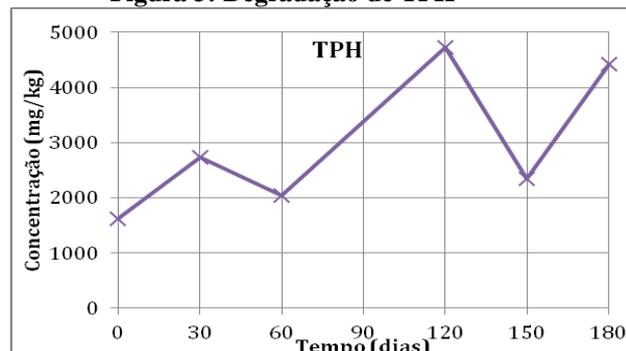
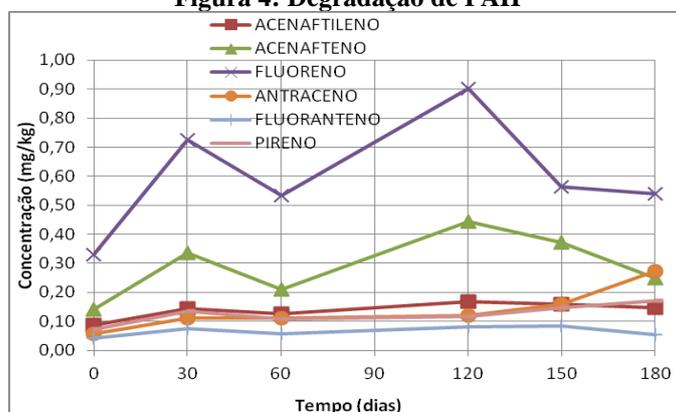


Figura 4: Degradação de PAH



Os BTEX solubilizaram-se no meio ao longo do período de experimentação. Por se tratarem de compostos com baixo peso molecular, os mesmos tem uma maior potencial para serem assimilados pelos micro-organismos presentes. Além disso, um processo de volatilização também pode ser responsável pela diminuição em suas concentrações ao final dos 180 dias.

Os hidrocarbonetos apresentam um maior peso molecular, e por consequência um menor potencial para sua biodegradação. Os resultados iniciais, até 120 dias, indicam que o contaminante está fortemente sorvido na matriz de solo. Com a adição do surfactante Tween 80, o contaminante foi liberado da matriz do solo, a uma taxa muito mais elevada do que os micro-organismos do solo tinham capacidade de metabolizar, com isso os valores de TPH apresentaram-se elevados ao final do período de testes. Outro fator que pode estar relacionado com o aumento da concentração de TPH's ao longo do tempo da aplicação da corrente elétrica no solo, relacionado a dessorção de compostos orgânicos das partículas de solo.

Comportamento semelhante foi observado para os PAH's, com a adição de surfactantes sua solubilidade aumentou, e conseqüentemente sua biodisponibilidade, porém estes compostos apresentaram uma sensível diminuição em suas concentração em relação às concentrações encontradas com 120 dias de testes, logo depois da aplicação do surfactante.

O teste de biodegradação foi realizado com todos os micro-organismos isolados, como é possível observar na Tabela 1 a seguir, nem todos os micro-organismos apresentaram capacidade de biodegradação dos contaminantes.

Tabela 1 – Degradação do corante DCPIP pelos micro-organismos estudados

NUMERAÇÃO	MICRO-ORGANISMO	DEGRADAÇÃO DO corante DCPIP		
		PARCIAL	TOTAL	NÃO APRESENTARAM DEGRADAÇÃO
M1	Bactéria			x
M2	Bactéria	x		
M3	Bactéria			x
M4	Bactéria	x		
M5	Bactéria			x
M6	Bactéria		x	
M7	Bactéria	x		
M8	Bactéria			x
M9	Fungo	x		
M10	Fungo			x
M11	Bactéria		x	
M12	Bactéria		x	
M13	Bactéria	x		
M14	Bactéria		x	
M15	Bactéria			x
M16	Bactéria			x
M17	Bactéria	x		
M18	Bactéria		x	
M19	Bactéria	x		
M20	Bactéria		x	
M21	Bactéria	x		
M22	Bactéria	x		
M23	Fungo	x		
M24	Fungo	x		
M25	Fungo	x		
M26	Fungo	x		

A identificação fúngica foi realizada de acordo com características morfológicas com o auxílio do livro BARNETT *et al.*,1998. Todos os seis fungos foram identificados.

O fungo identificado como M9 apresentou uma morfologia semelhante a de *Paecilomyces* como podemos analisar na Figura 05.

Figura 5: Estrutura para microcultivo (1); Estrutura reprodutiva do fungo (2).



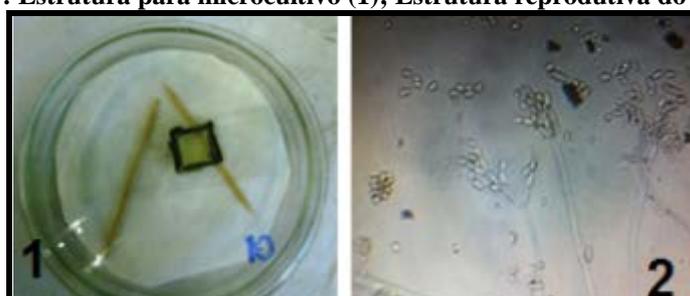
O microrganismo classificado como M24 apresentou-se semelhante ao *Trichoderma sp.*, como apresentado na Figura 06.

Figura 6: Estrutura para microcultivo (1); Estrutura reprodutiva do fungo (2).



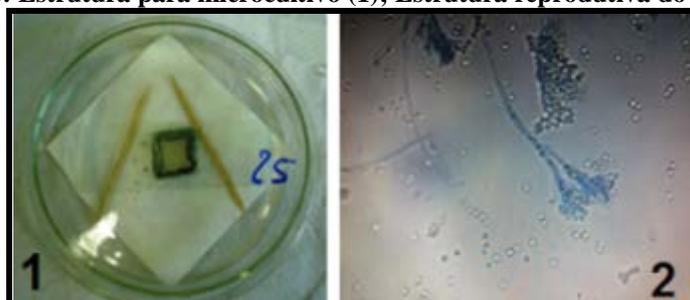
A cepa identificada como M10 mostrou semelhança com *Cladosporium sp* segundo a Figura 07.

Figura 7: Estrutura para microcultivo (1); Estrutura reprodutiva do fungo (2).



Já nas cepas M23, M25 e M26 foram encontradas morfologias parecidas com *Penicillium sp*. Na Figura 08 é possível observar a estrutura reprodutiva.

Figura 8: Estrutura para microcultivo (1); Estrutura reprodutiva do fungo (2).



CONCLUSÃO

Foi possível concluir, com o estudo realizado, que a eletrobiorremediação modifica as características físico-químicas do solo promovendo o transporte de partículas, íons e moléculas e criando um fluxo de água em direção ao ânodo, mas não se observou a degradação de qualquer composto BTEX, TPH ou PAH por essa técnica de remediação. A degradação que houve desses compostos pode estar associada ao processo de biodegradação, promovido pelos micro-organismos autóctones ou por volatilização dos compostos.

A movimentação dos íons derivados da eletrólise da água modifica o pH entorno dos eletrodos. Assim o pH ao redor do cátodo atingiu valores alcalinos, variando de pH=6,4 até pH=11,8. Já no ânodo, esses valores variaram entre pH=6,4 e pH=4,5.

Em relação à condutividade da água, pode se dizer que ela é dependente da presença de sais no solo. A comunidade microbiana foi influenciada pelos processos eletro-químicos em torno dos eletrodos. Desta maneira, pode se afirmar ainda que, fungos e leveduras foram detectadas com mais frequência nas regiões dos

cátodos. Já as bactérias não mostraram preferência por nenhuma das áreas dos eletrodos, se distribuindo de forma mais homogênea dentro do sistema.

Enfatiza-se também, que é muito importante ter o conhecimento dos micro-organismos que fazem parte do processo de biorremediação, pois assim, fica mais fácil analisar o que é necessário para o crescimento e conservação dos mesmos.

Dos micro-organismos isolados, 20 das 26 cepas, ou seja, aproximadamente 77% dos micro-organismos eram bactérias, e os 6 restantes, fungos.

A partir da identificação fúngica, foi possível observar a presença de *Paecilomyces*, *Trichoderma sp.*, *Cladosporium sp.*, e *Penicillium sp.*

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. ABELHO, M. Protocolos de Microbiologia Ambiental, Parte 1, 12 p., 2010.
2. ANTUNES, Gilberto S. Manual de diagnóstico bacteriológico. 2 ed. Porto Alegre: UFRGS, 278p., 1985.
3. BARNETT, H. L.; HUNTER, B.B.; Illustrated Genera of Imperfect Fungi, Fourth Edition. 1998, 218 pg.
4. FERNÁNDEZ-LUQUEÑO, F., VALENZUELA-ENCINAS, C., MARSCH, R., MARTÍNEZ-SUÁREZ, C., VÁZQUEZ-NÚÑEZ, E., DENDOOVEN, L.,. Microbial communities to mitigate contamination of PAHs in soil – possibilities and challenges: a review. Environ. Sci. Pollut. Res. 18, 12–30, 2011.
5. MAINI G, SHARMAN AK, KNOWLES CJ, SUNDERLAND G, JACKMAN SA. Electrokinetic remediation of metals and organics from historically contaminated soil. J Chem Technol Biot 2000; 8:657–64.
6. PARK JY, LEE HH, KIM SJ, LEE YJ, YANG JW. Surfactant-enhanced electrokinetic removal of phenanthrene from kaolinite. J Hazard Mater 2007; 1–2:230–6.
7. SAICHEK RE, REDDY KR. Effect of pH control at the anode for the electrokinetic removal of phenanthrene from kaolin soil. Chemosphere 2003; 4:273–87.
8. SHI LIU e JOSEPH M. SUFLITA, Ecology and evolution of microbial populations for bioremediation. TIBTECH AUGUST 1993 (VOL 11). Pg. 344 – 352.
9. SORIANO, A.U., (2000). “Tratamento de solos argilosos contaminados por hidrocarbonetos de petróleo”. Relatório de Atividades Apresentado ao CNPq, para Renovação de Bolsa Modalidade RD, Processos nº 300479/99-9, Área - Engenharia Química (cadastro na biblioteca do CETEM/MCT como Relatório Técnico - RT43/2000).
10. SPINELLI, L. F. *Biorremediação, Toxicidade e Lesão Celular em derrames de gasolina*. Tese (Doutorado em Engenharia/Civil) – Faculdade de Engenharia Civil, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2005. 218p.
11. VAN GESTEL, K. MERGAERT, J.; SWINGS, J.; COOSEMANS, J.; RYCKEBOE, J. Bioremediation of diesel oil contaminated soil by composting with biowaste. Environ. Pollut. 125, 361-368, 2003.