



VI-268 - BIODEGRADABILIDADES DE ÓLEOS PESADOS E SUAS FRAÇÕES EM AMOSTRAS DE SEDIMENTOS DE ÁREA DE MANGUEZAL

Emilia Brito⁽¹⁾

Graduando Engenharia Ambiental na Universidade Federal do Espírito Santo (UFES) e Graduada em Tecnologia em Saneamento Ambiental pelo Centro Federal de Educação Tecnológica do Espírito Santo (CEFET-ES).

Sérvio Túlio Alves Cassini

Professor do Departamento de Engenharia Ambiental da Universidade do Espírito Santo (UFES)

Pedro Assis Ribeiro de Castro

Biólogo pela Universidade Santa Úrsula (USU). Mestrando em Engenharia Ambiental pela Universidade Federal do Espírito Santo (UFES).

Pedro Santana Cassini

Oceanógrafo pela Universidade Federal do Espírito Santo. Mestrando em Engenharia Ambiental pela Universidade Federal do Espírito Santo.

Eustáquio Vinícios Ribeiro de Castro

Professor do Departamento de Química da Universidade Federal do Espírito Santo (UFES).

Endereço⁽¹⁾: Departamento de Engenharia Ambiental – Universidade Federal do Espírito Santo – Vitória - ES – CEP 29060-970 – Brasil – Tele fax: (27) 33352165 – e-mail: milambiental@yahoo.com.br.

RESUMO

Os processos de biorremediação têm como principal objetivo a atenuação de impactos ambientais causados por substâncias ou compostos tóxicos que tendem a se acumular no meio ambiente. Utilizando-se de técnicas microbiológicas, pode-se aclimatizar e isolar microrganismos adaptados para a esta situação, sendo que estes microrganismos podem atenuar aos impactos decorrentes destes compostos por meio de sua metabolização. Assim, uma vasta gama de compostos pode ser passível de destoxificação por meio de microrganismos, entre eles os hidrocarbonetos, e no presente trabalho o óleo pesado de petróleo e duas de suas frações, uma leve e outra pesada.

Através do isolamento bacteriano obtêm-se colônias puras, que ao serem inoculadas em um sistema respirométrico aeróbio com substrato enriquecido de hidrocarbonetos realizam suas atividades metabólicas liberando gás carbônico (CO₂), que é capturado por uma solução de álcali. Através do decréscimo da condutividade da solução de álcali, foi medida a taxa de respiração bacteriana e conseqüentemente a sua capacidade de degradação dos compostos em estudo.

No presente trabalho foi verificado que dos hidrocarbonetos em análise, dois são passíveis a biodegradação microbiana em solo, enquanto a fração leve não obteve resultados satisfatórios.

PALAVRAS-CHAVE: Respirometria Aeróbia, Biodegradação, Petróleo e Manguezal.

INTRODUÇÃO

Devido ao crescimento das atividades petrolíferas no estado do Espírito Santo, grande é a preocupação com o meio ambiente, por se tratar de uma atividade de alto risco. Na tentativa de atenuar possíveis impactos, é necessário o conhecimento sobre estes e suas conseqüências sobre as características do solo e na microbiota presente.

Quando uma fonte de carbono é adicionada ao solo, esta é prontamente utilizada pelos organismos colonizadores pioneiros, favorecendo sua competição, levando a uma seletividade dos mais aptos, dependendo da velocidade de crescimento, rapidez de assimilação de nutrientes e tolerância aos fatores bióticos e abióticos (CARDOSO, 1992).

Os impactos ambientais decorridos da contaminação de petróleo e seus derivados no meio ambiente podem ser monitorados por meio da avaliação da respiração microbiana, assim, a oxidação da matéria orgânica por organismos aeróbios do solo, que utilizam O₂ comoceptor final de elétrons até CO₂, pode ser avaliada tanto pelo consumo de O₂ quanto pela produção de CO₂. A determinação do CO₂ pode ser feita por titulação ou

condutividade elétrica, cromatografia gasosa, espectroscopia de infravermelho (IRGA) ou por ^{14}C . Através do sistema de respirometria aeróbio estático é possível medir a produção de CO_2 , que ao ser capturado por uma solução de álcali causa o decréscimo de sua condutividade (Rodella & Saboya, 1999).

Assim, devido a importância do Manguezal para o equilíbrio ecológico dos demais ecossistemas, é de fundamental importância a obtenção dos dados de biodegradabilidade de substâncias e compostos com potencial de contaminação de áreas do Manguezal.

Desta forma, este trabalho avaliou a capacidade dos microrganismos presentes no sedimento de Manguezal (situado entre a latitude $20^\circ 16' 39.19''\text{S}$ e longitude $40^\circ 18' 38.12''\text{W}$) de degradarem óleo pesado de petróleo e suas respectivas frações, sendo uma considerada leve e outra pesada, devido ao seu grau API, através do sistema de respirometria aeróbio estático.

MATERIAIS E MÉTODOS

COLETA

O sedimento de manguezal foi coletado, em três campanhas, na ilha do Lameirão, no campus da UFES, situado entre a latitude $20^\circ 16' 39.19''\text{S}$ e longitude $40^\circ 18' 38.12''\text{W}$, conforme a Figura 1. Estes foram coletados por uma pá de metal em 3 pontos da região a uma profundidade de 10 a 15 cm, em seguida adicionados em recipientes de vidro e homogeneizado para serem feitas as análises físico químicas.

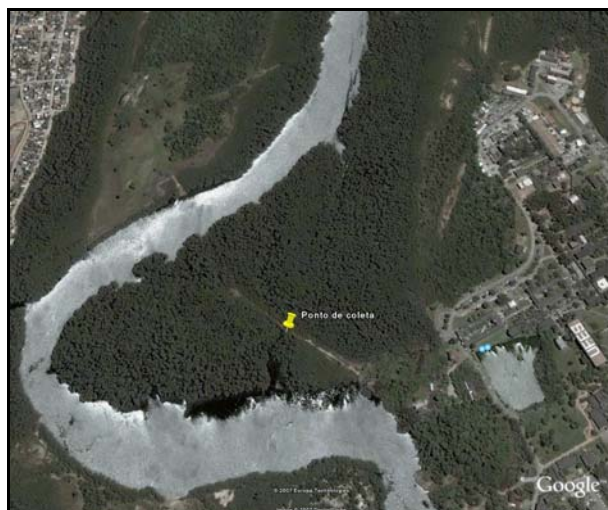


Figura 1. Ponto de Coleta de Amostras de Sedimento de Manguezal.

ANÁLISES FÍSICO-QUÍMICAS

Coleta das Amostras

As amostras de sedimento de Manguezal foram coletadas em três campanhas com o auxílio de tubos de vidro e de um pedaço de cano de PVC e foram levadas para o LabSan, onde foram preparadas para as análises. Todas as campanhas, foram realizadas pela manhã com dia ensolarado e maré baixa.

Caracterização Físico-Químicas

As amostras de sedimento coletadas foram analisadas quanto aos parâmetros de sólidos voláteis, nitrogênio total Kjeldahl e nitrogênio amoniacal, fósforo, temperatura, salinidade, condutividade, saturação, umidade, peso de matéria seca, teor de matéria orgânica, DQO e DBO de acordo com o Standard Methods (1995) e pH (Handa, 2000).

Compostos Recalcitrantes

No presente estudo, foram utilizados como compostos orgânicos recalcitrantes petróleo e suas frações, sendo óleo bruto (API 16,9°) e suas frações leve (API 40,1°) e pesada (API 19,6°).



ISOLAMENTO DOS MICRORGANISMOS

Fase de Enriquecimento

Amostras de sedimento de Manguezal foram coletadas e adicionadas de óleos em doses de 1% (massa/massa), sendo que em cada amostra foi colocado um composto em estudo. Depois de homogeneizadas, as amostras foram acondicionadas em béqueres e protegidas da luz em temperatura ambiente por um período de 15 dias. Durante esta incubação, as bactérias presentes nas amostras sofreram aclimatização, processo durante o qual as enzimas capazes de degradar a fonte de carbono oferecida foram ativadas.

Preparação do Meio de Cultura

O Meio de Cultura utilizado para o cultivo dos Microrganismos foi o Meio Mínimo (MM), preparado segundo o procedimento baseado em Pelczar (1996) e Neder (1992). Para tal, os compostos descritos nas Tabelas 1 e 23 foram pesados e adicionada água destilada deionizada até completar os volumes finais descritos. As soluções foram levadas a um agitador magnético e depois de dissolvidas por 20 minutos, transferidas para erlenmeyers de 1000 ml, que foram levados para uma autoclave para esterilização. Depois de esterilizados, os frascos foram identificados e armazenados em geladeira.

Preparação das Placas

Na preparação das placas de Petri com o Meio de Cultura seguiu-se a metodologia proposta por NEDER (1992). O MM que estava acondicionado em erlenmeyers armazenado em geladeira foi fundido em forno de microondas. Em seguida, adicionaram-se as doses dos compostos em análise, sendo este meio denominado meio enriquecido. Após esta etapa, com auxílio de uma pipeta volumétrica de 20 ml e um pipetador automático, o meio enriquecido foi vertido em placas de Petri. As placas foram identificadas e acondicionadas em geladeira até o momento de sua utilização para o cultivo de microrganismos.

TABELA 1 – COMPOSIÇÃO DO MEIO DE CULTURA

<i>Substância</i>	<i>Quantidade</i>
Água (q.s.p.)	1000 ml
$(NH_4)_2SO_4$	5,0 g
KH_2PO_4	0,9 g
$NaCl$	1,0 g
$MgSO_4 \cdot 7H_2O$	0,3 g
Na_2HPO_4	6,2 g
Solução de Micronutrientes	1 ml
Agar	15 g

Fonte: Pelczar (1996).

TABELA 2 – SOLUÇÃO DE MICRONUTRIENTES

<i>Substância</i>	<i>Concentração</i>
$FeCl_3 \cdot 6H_2O$	2000 mg/l
$ZnCl_2$	50 mg/l
$CuCl_2 \cdot 2H_2O$	30 mg/l
$MnCl_2 \cdot 2H_2O$	500 mg/l
$(NH_4)_6Mo_7O_{24} \cdot 4H_2O$	50 mg/l
$AlCl_3$	50 mg/l
$CoCl_3 \cdot 6H_2O$	2000 mg/l
HCl (concentrado)	1 ml/l

Fonte: Chernicharo (1997).

Preparação do Extrato de Solo

Após o período durante o qual as amostras de solo adicionadas dos hidrocarbonetos em estudo foram incubadas, verificou-se o crescimento microbiano, através da visualização de uma camada de biofilme sob a superfície do solo amostrado. Este material foi utilizado para se obter o extrato do solo. Para tanto, pesou-se aproximadamente 1 g de cada amostra em béqueres e foram adicionadas de 9 ml de solução salina (0.7 % NaCl). Depois, foram misturadas em agitador magnético e deixadas em repouso para sedimentação dos sólidos.



Inoculação das Placas

A inoculação das placas com os microrganismos selecionados na fase de enriquecimento foi feita baseada no método descrito por NEDER (1992). Após a preparação do estrato de solo, com auxílio de uma micropipeta tarada em 0.1 ml, o líquido sobrenadante obtido na preparação do extrato de solo foi transferido para as placas de Petri, previamente preparadas. Utilizando a técnica de espalhamento, com o auxílio de um alça de vidro, inoculou-se as primeiras cepas em placas de Petri contendo MM. Em seguida, as placas foram devidamente identificadas e levadas para a estufa a 25°C, ao abrigo da luz e, periodicamente, avaliadas para verificação do crescimento bacteriano.

Isolamento Bacteriano

O isolamento bacteriano foi realizado conforme descrito em NEDER (1992). As primeiras cepas cultivadas em placas de Petri foram isoladas com auxílio de uma alça de inoculação de níquel e transferidas para outras placas, previamente preparadas, contendo o meio enriquecido. Essas colônias foram espalhadas nesta nova placa contendo o meio de cultura + composto em análise, por meio da técnica de esgotamento de alça. Após esta etapa, eram devidamente identificadas e levadas à estufa a temperatura de 25°C e ao abrigo da luz. As colônias inoculadas foram monitoradas periodicamente para averiguação do crescimento microbiano.

Após um período de 15 dias, ao verificar-se o crescimento de colônias isoladas, as placas foram levadas à geladeira, a uma temperatura de 4°C, para retardamento do crescimento e a conseqüente conservação dessas colônias.

AVALIAÇÃO DA BIODEGRADABILIDADE AERÓBIA

A avaliação da biodegradabilidade aeróbia dos compostos em estudo foi realizada através de um sistema de respirometria aeróbia estático. Este sistema foi composto por um pote hermético, contendo em seu interior substrato para fixação das bactérias e um pote de polietileno, com capacidade de 50 ml, para o armazenamento da solução de NaOH. Esta solução de álcali tem a função de capturar o CO₂ gerado pela respiração microbiana.

Preparação do Substrato

Para o presente estudo, foi utilizado um substrato composto por vermiculita e areia grossa (diâmetro de 0,6 a 2,0 mm). Elas foram peneiradas separadamente em peneira de malha 2 mm, lavadas em solução de HCl 1,0 M e depois em água potável. Após a lavagem, foram acondicionadas em béqueres de 2000 ml e levadas à estufa a 60°C por 24 horas e depois deste período, autoclavadas. Após a esterilização, a areia e a vermiculita foram misturadas na proporção de 1:1 em volume, mistura essa que foi utilizada nos procedimentos subsequentes.

Capacidade de Campo

Para o cálculo da Capacidade de Campo (CC) da mistura obtida (areia + vermiculita) pesou-se uma amostra de 100 g da mesma. Esta foi levada a um sistema composto por um funil de vidro, uma membrana e uma proveta. Em seguida, 100 ml de água deionizada foi vertido no sistema. A água que a mistura não conseguiu reter (X) foi coletada na proveta e medido seu volume. A capacidade de campo da mistura foi calculada em ml/g segundo a Equação 01.

$$CC = (100 - X)/100 \quad (\text{Eq. 01})$$

onde:

CC: Capacidade de Campo e;

X: quantidade de água retida pela mistura.

Preparo do Inóculo Bacteriano

Para a preparação do inóculo bacteriano, primeiramente pesaram-se as massas dos compostos descritos na Tabela 3, e adicionou-se água até que se atingisse o volume descrito. Para a sua dissolução, a solução foi deixada por 20 minutos em um agitador e depois transferida para erlenmeyer de 1000 ml, que foi levado para autoclave. O composto resultante, MM líquido, foi transferido, com auxílio de uma pipeta volumétrica de 20 ml e um pipetador automático, para erlenmeyers de 125 ml esterilizados.

Para o enriquecimento do MM líquido, adicionou-se em cada erlenmeyer 1 miligramas dos compostos em análise. Com o auxílio de uma alça de repicção de níquel, uma amostra de uma colônia da placa de Petri foi coletada e transferida para o MM líquido. Para evitar contaminação do meio externo, o erlenmeyer foi



tampado com algodão esterilizado. Depois da realização das etapas descritas acima, o erlenmeyer foi colocado em um *Shake*, com agitação constante de 40 rpm e temperatura de 25°C, por um período de 5 dias.

TABELA 3 – COMPOSIÇÃO DO MEIO DE CULTURA LÍQUIDO

<i>Substância</i>	<i>Quantidade</i>
Água	1000 ml
$(NH_4)_2SO_4$	5,0 g
KH_2PO_4	0,9 g
$NaCl$	1,0 g
$MgSO_4 \cdot 7H_2O$	0,3 g
Na_2HPO_4	6,2 g
<i>Solução de Micronutrientes</i>	1 ml

Fonte: Pelczar (1996).

Preparo do Sistema de Respirometria Aeróbia

Na montagem do sistema de respirometria aeróbia, foram utilizados potes de vidro herméticos de 1000 ml, contendo 100 g de substrato adicionado de 50% da sua capacidade de campo de meio mínimo líquido (solução descrita na Tabela 3), 1 ml de inóculo bacteriano e 50 miligramas dos compostos orgânicos em estudo, conforme ilustra a Figura 2 (A).

O sistema instalado compunha de 24 potes de vidro, distribuídos em tratamentos, controles e brancos, todos em triplicata, conforme mostra a Tabela 4. A diferença dos Tratamentos para os Controles está no fato de que os controles não contêm o inóculo bacteriano. Assim, através deles são obtidas as taxas de CO_2 referentes à degradação físico-química. O Branco, ilustrado na Figura 2 (B), é composto apenas por um pote de polietileno com a solução de álcali, para a detecção da interferência do CO_2 contido no ar presente dentro do pote e do que entra no pote durante o experimento.



Figura 2: (A) Tratamento utilizado para captura de CO_2 no estudo. (B) Branco utilizado para controlar a interferência do ar no presente estudo.

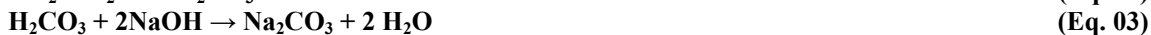
TABELA 4 – COMPOSIÇÃO DO SISTEMA DE RESPIROMETRIA AERÓBIO

<i>Descrição</i>	<i>Composição</i>
Branco	NaOH
C	Substrato
CA	Substrato + Fração Leve + NaOH
CB	Substrato + Fração Pesada + NaOH
CC	Substrato + Óleo Pesado + NaOH
TA	Substrato + Fração Leve + Inoculo+ NaOH
TB	Substrato + Fração Pesada + Inoculo+ NaOH
TC	Substrato + Óleo Pesado + Inoculo+ NaOH



Avaliação da Biodegradação

Os métodos utilizados para a determinação da eficiência de biodegradação baseiam-se na medição de CO₂ gerado no processo de degradação bacteriana (respiração aeróbia) e construção de uma curva da massa acumulada deste CO₂ em função do tempo. Para a quantificação do CO₂ liberado da respiração microbiana foi adotada a metodologia proposta pela Associação Brasileira de Normas Técnicas (ABNT, 1999). Essa norma propõe a captura do CO₂ produzido, utilizando uma solução padronizada de Hidróxido de Sódio (NaOH) entre 0,25 a 0,50 mol/l e posterior quantificação pelo método titulométrico. Assim, as principais reações que ocorreram no sistema de respirometria aeróbia instalado estão apresentadas nas Equações 02 e 03.



Os ensaios realizados neste estudo após a troca periódica da solução de NaOH, contida no interior dos potes, foi realizada a quantificação do CO₂ por meio de leitura de condutividade elétrica e para a obtenção da curva de calibração da condutividade será utilizada uma mistura de soluções padrão de NaOH e Na₂CO₃ (Rodella e Saboya, 1999). Para cada pote hermético foi utilizado um pequeno frasco de polietileno contendo 20 ml de solução de NaOH para a absorção do CO₂ no interior deste. De acordo com Rodella e Saboya (1999), o resultado é obtido em mg CO₂ por 100g de solo, conforme a Equação 04.

$$\text{mgCO}_2/100\text{g de solo} = M \times V \times 22 \times [(C_1 - C_x) / (C_1 - C_2)] \quad (\text{Eq. 04})$$

onde:

M = Molaridade da solução de NaOH utilizada;

V = Volume de NaOH utilizado para captura do CO₂ gerado pela respiração bacteriana;

C₁ = Condutividade da solução padrão de NaOH;

C_x = Condutividade elétrica da amostra e;

C₂ = Condutividade elétrica da solução de Na₂CO₃.

De acordo com Mariano (2006) 50% do carbono biodegradado é convertido em CO₂, e a outra metade é adicionada ao solo como húmus e biomassa. Desta forma, a quantidade de carbono biodegradado pode ser expressa pela Equação 05.

$$Q_{\text{total de CO}_2 \text{ biodegradado}} = 2 \times \text{CO}_2 \text{ produzido} \quad (\text{Eq. 05})$$

Após a tabulação dos dados em laboratório, estes foram inseridos em uma planilha do Programa Microsoft Office Excel 2003, pertencente ao pacote Microsoft Office 2003. Com os dados em meio digital, foram traçados os gráficos referentes à biodegradação.

RESULTADOS E DISCUSSÕES

ISOLAMENTO BACTERIANO

Caracterização do Sedimento de Manguezal Através de Análises Físico-química

Para dar início a fase de isolamento bacteriano, foi realizada a caracterização do sedimento de manguezal, conforme indicado na Tabela 5.



TABELA 5 – CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA DE SEDIMENTO DE MANGUEZAL

<i>Parâmetros</i>	<i>15/10/2007</i>	<i>24/11/2007</i>	<i>10/12/2007</i>	<i>Média</i>
<i>Tábua de marés</i>	0,4	0,2	0,4	
<i>Temperatura (°C)</i>	27,6	26,2	27	26,93
<i>pH</i>	7,05	8,07	7,68	7,6
<i>Salinidade (mg/L)</i>	33	25	27	28
<i>Condutividade (mS/cm)</i>	-	-	51,9	51,9
<i>Saturação/ umidade do solo (%)</i>	43,62	58,05	47,41	49,69
<i>Peso de Matéria seca (g)</i>	22,44	20,12	26,29	22,95
<i>Sólidos Voláteis (%)</i>	-	5,05	-	5,05
<i>Densidade do sedimento (g/cm³)</i>		2,528		2,28
<i>Teor de matéria orgânica (%)</i>	7,31	16,99	12,86	12,39
<i>DQO (mg/Kg)</i>	30.242,15	108.966,56	71.353,65	70.187,45
<i>DBO (mg/Kg)</i>	-	2.406,15	-	2.406,15
<i>Fósforo (mg/Kg)</i>	-	151,36	128,29	139,82
<i>Nitrogênio Total (mg/Kg)</i>	-	531,66	627,4	579,5
<i>Nitrogênio Amoniacal (mg/Kg)</i>	-	118,25	44,23	81,24

Fonte: Castro *et al.*, (2009)

De acordo com as análises físico-químicas foram adicionadas nas amostras de sedimento de Manguezal hidrocarbonetos (óleo pesado bruto, fração leve e fração pesada), e ocorreu um crescimento microbiano, verificado visualmente, utilizando a fonte de carbono que foi ofertada, apresentando uma baixa biodiversidade quanto à coloração e a morfologia das colônias isoladas. Depois da etapa de isolamento, observou-se 3 cepas bacterianas, uma para cada composto estudado, o que é mostrado na Tabela 6.

TABELA 6 - CLASSIFICAÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DAS CEPAS ISOLADAS DOS HIDROCARBONETOS

<i>NÚMERO</i>	<i>COMPOSTO ORGÂNICO</i>	<i>COLORAÇÃO</i>	<i>FORMATO</i>	<i>GRAM</i>
C1	Óleo Pesado	Marrom Claro	Cocos	-
C2	Fração Leve	Marrom Claro	Bacilos	-
C3	Fração Pesada	Branca	Cocos	-

SISTEMA DE RESPIROMETRIA AERÓBIO

Os ensaios de biodegradabilidade foram realizados utilizando o sistema de respirometria aeróbia estático, de acordo com a Norma Brasileira 14.283 (ABNT, 1999). As leituras das soluções de álcali, entretanto, foram realizadas por condutivimetria, segundo Rodella e Saboya (1999). A avaliação foi feita com produção acumulada de CO₂ ao longo de 58 dias. Devido à baixa variedade de colônias resultantes da fase de isolamento, não houve a necessidade de instalação de um sistema auxiliar para a escolha de cepas para o sistema de respirometria.



Avaliação da Biodegradação do Óleo Pesado

A extensão e o tempo de degradação dependem das propriedades do pesticida (JONES *et al.*, 1996), das propriedades do solo (por exemplo, matéria orgânica) dos seus constituintes inorgânicos e da sua estrutura (NAM e ALEXANDER, 1998).

As Figuras 3 e 4 mostram, respectivamente, as curvas de degradação do óleo pesado e a quantidade total degradada deste composto durante os 29 dias que o teste de degradação foi realizado.

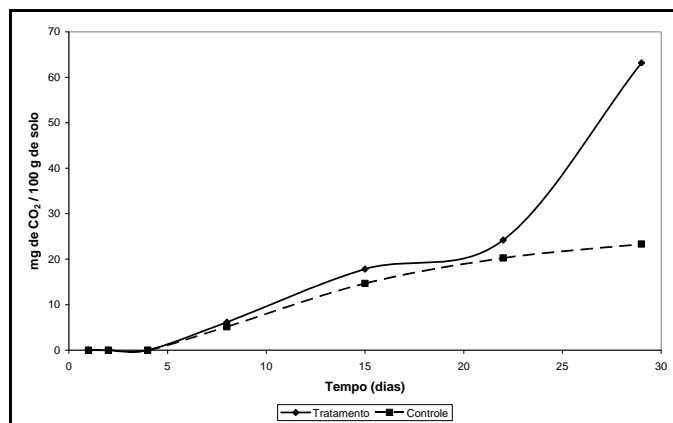


FIGURA 3: Quantidade de CO₂ (mg.100⁻¹ g de solo + óleo pesado) acumulada durante o período de incubação.

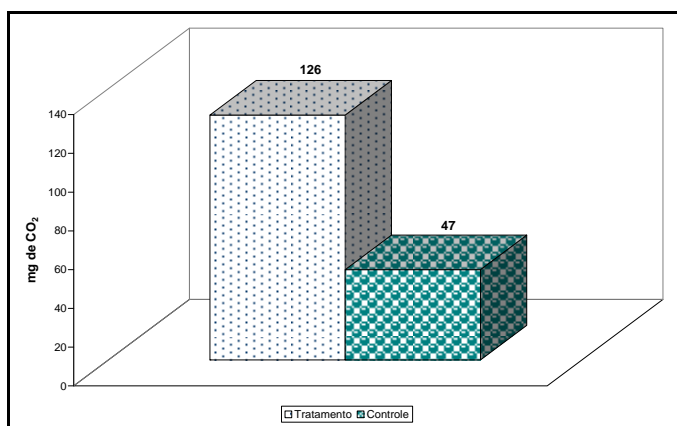


Figura 4: Quantidade Total biodegradada do Óleo Pesado.

A Figura 3 mostra que as curvas de degradação do óleo pesado tiveram a mesma forma até o 22º dia, com uma alta inclinação nos últimos dias para o tratamento, mostrando a degradação do composto pelo microrganismo selecionado. Entretanto, deve-se observar que tal degradação só teve início a partir do 22º dia, devido ao tempo de aclimação necessário devido as necessidades da cepa utilizada.

Assim, temos que o total de mg de CO₂ capturado pelo sistema de respirometria aeróbia para o tratamento foi de 63 enquanto para o controle 23, mostrando assim a degradação expressiva do composto em estudo.

A Figura 4 apresenta os valores totais biodegradados de óleo pesado. Conforme pode ser observado, no frasco Controle ocorreu à produção de 47 mg de CO₂/100 g de solo enquanto que, no Tratamento observou-se a produção total de 126 mg de CO₂/100 g de solo, o que representa ter aproximadamente 268% a mais que o controle. Tais dados indicam que o óleo pesado é uma fonte de carbono para a bactéria isolada.



Avaliação da Biodegradação de Fração Leve

As Figuras 5 e 6 mostram, respectivamente, as curvas de degradação de fração leve e a quantidade total degradada deste composto durante os 29 dias que o teste de degradação foi realizado.

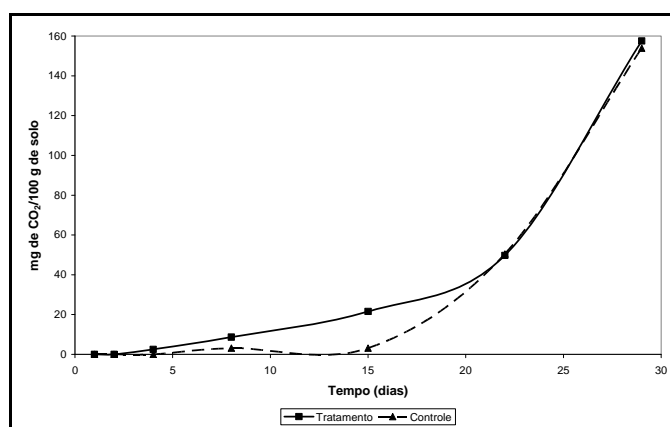


FIGURA 5: Quantidade de CO₂ (mg.100⁻¹ g de solo + fração leve) acumulada durante o período de incubação.

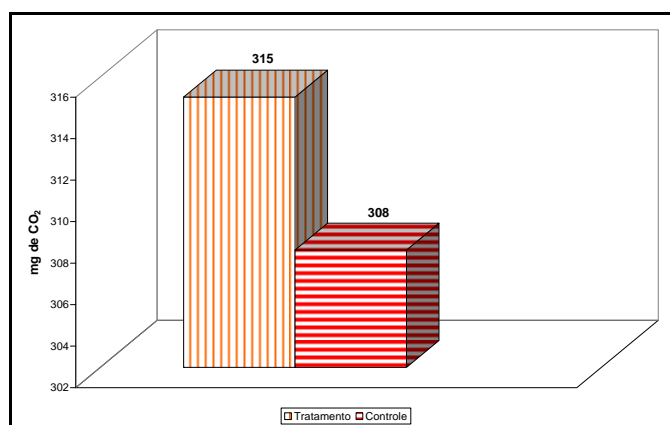


Figura 6: Quantidade Total biodegradada de Fração Leve.

A Figura 5 mostra que as curvas de degradação de fração leve de petróleo tiveram a mesma forma apenas na primeira semana. A partir do 10º já nota-se a degradação acentuada no tratamento. Entretanto, a partir do 22º o tratamento e o controle deixam de apresentar diferenças significativas, o no final do experimento obtemos um total de 158 mg de CO₂ capturado pelo sistema de respirometria aeróbia para o tratamento e 153 mg de CO₂ capturado pelo sistema de respirometria aeróbia para o controle, refletindo desta forma a baixa degradação de fração leve.

A Figura 6 apresenta os valores totais biodegradados de fração leve de petróleo. Conforme pode ser observado, controle ocorreu à produção de 308 mg de CO₂/100 g de solo enquanto que, no tratamento observou-se a produção total de 315 mg de CO₂/100 g de solo, o que não nos permite afirmar que o tratamento degradou mais do que o controle, devido ao pequeno intervalo encontrado entre o tratamento e o controle. Este fato pode ser justificado através das propriedades da fração leve, que embora possua cadeias menores de carbono, é mais volátil. Assim, a fração não ficou fixada no substrato, e sim se volatilizou no frasco, ficando por sua vez junto ao ar presente no pote hermético e dedicado à respiração bacteriana.

Avaliação da Biodegradação de Fração Pesada

As Figuras 7 e 8 mostram, respectivamente, as curvas de degradação de fração leve e a quantidade total degradada deste composto durante os 29 dias que o teste de degradação foi realizado.

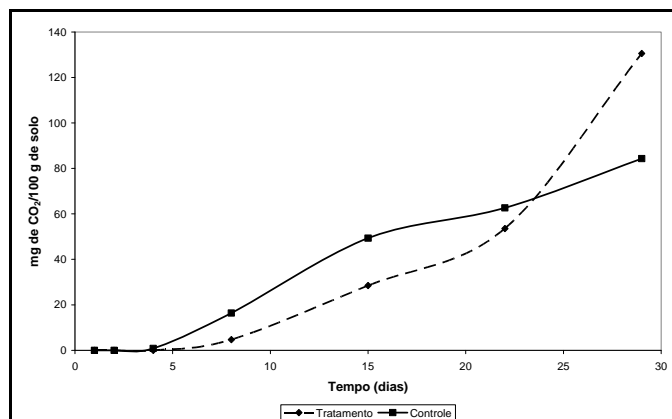


FIGURA 7: Quantidade de CO₂ (mg.100⁻¹ g de solo + fração pesada) acumulada durante o período de incubação.

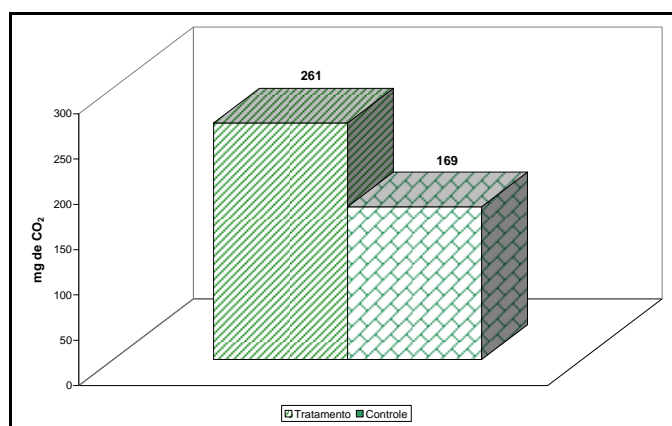


Figura 8: Quantidade Total biodegradada de Fração Pesada.

A Figura 7 mostra que até o quarto dia não ocorreu a degradação de fração pesada de petróleo. No intervalo de análise situado do quarto ao 23º dia as curvas de degradação de fração pesada resultaram numa leve inclinação, no qual, para este intervalo, inicialmente o controle apresentou melhores valores, mas após certo período a curva estabilizou-se e o tratamento obteve melhores valores. A partir do 23º dia o tratamento apresentou uma degradação expressiva, que é ilustrada pela alta inclinação apresentada pela curva de biodegradação.

Conseqüentemente temos que o total de mg de CO₂ capturado pelo sistema de respirometria aeróbia para o tratamento foi de 131 enquanto para o controle 84, mostrando assim a degradação do composto em estudo.

A Figura 8 apresenta os valores totais biodegradados de fração pesada de petróleo. Conforme pode ser observado, no frasco controle ocorreu à produção de 169 mg de CO₂/100 g de solo enquanto que, no tratamento observou-se a produção total de 261 mg de CO₂/100 g de solo, representando assim que o tratamento degradou aproximadamente 64% a mais que o controle. Tais dados indicam que a fração pesada é uma fonte de carbono para a bactéria isolada.

CONCLUSÕES

- Os resultados encontrados nas análises físico-químicas foram os esperados, caracterizando a região como estuarina e com alta interferência antrópica.
- Na fase de isolamento microbiano obteve-se baixa diversidade, uma vez que foi isolada apenas uma cepa bacteriana para cada composto em estudo.



- Os melhores resultados de biodegradação foram obtidos com o óleo pesado, embora a fração pesada também tenha resultado em valores consideráveis de biodegradação, o que não ocorreu com a fração leve de petróleo.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. ABNT, NBR – 14283. **Resíduos em solo – Determinação da Biodegradação pelo método respirométrico**, 1999.
2. AWWA – American Water and Wastewater Association. **Standart Methods for the Examination of Water and Wastewater**. Denver, CO, 1995.
3. CARDOSO, E. J. B. N.; TSAI, S. M.; NEVES, M. C. P. **Microbiologia do Solo**. Campinas: Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, 1992.
4. CHERNICHARO, C.A.L. **Princípios do Tratamento Biológico de Águas Residuárias - Reatores Anaeróbios**. Vol. 5. Belo Horizonte: Departamento de Engenharia Sanitária e Ambiental/UFGM, 1997
5. HANDA, R.M, A. NOGUEIRA. **Determinação de pH de amostras de lodo de esgoto**. In: Manual de métodos para análise microbiológicas e parasitológicas em reciclagem agrícola de lodo de esgoto. Sanepar, 2000.
6. JONES, K. C.; ALECOCK, R. E.; JOHNSON, D. L.; NOTHCOTT, G. L.; SEMPLE, K. T. WOOLGAR, P. J. **Organic chemicals in contaminated land: analysis, signicance and research priorities**. Land Contamination Reclamation. V3. 1996.
7. MARIANO, A. P. **Avaliação do Potencial de Biorremediação de Solos e de Águas Subterrâneas Contaminadas com Óleo Diesel**. Rio Claro: UNESP, 2006 (Tese de Doutorado).
8. NAM, K. and ALEXANDER, M. **Role of nanoporosity and hidrophobic in sequestration and bioavaibility: tests with model solids**. Environmental Sciene and Technology. V32. 1998.
9. NEDER, R.N. **Microbiologia: manual de laboratório**. São Paulo: Nobel, 1992.
10. CASTRO, P.A.R., CASSINI, S.T.A., CASSINI, P.S., ARIMURA, A.I.M., BRITO, E. **Caracterização físico-química do sedimento de manguezal de uma região de Vitória – ES, visando um estudo de impacto ambiental**. XXV CONGRESSO BRASILEIRO DE ENGENHARIA SANITÁRIA. 2009. Anais. Recife PE, 2009.
11. PELCZAR, J. M. Jr., CHAN, E. C. S., KRIEG, N. R. **Microbiologia: Conceitos e Aplicações**. 2 ed. São Paulo. Makron Books, 1996.
12. RODELLA, A. A.; SABOYA, L. V. **Calibration for conductimetric of carbon dioxide**. In: Soil Biology and Biochemistry Journal. USA: Elsevier, 1999, p.2059-2060