

## ESTUDO DA DEGRADAÇÃO DE PETRÓLEO EM SOLO ARENO-ARGILOSO COM BIOAUMENTO FÚNGICO UTILIZANDO CASCA DE COCO COMO MATERIAL ESTRUTURANTE

Claudia Affonso Barros<sup>1</sup>, Lilian Heeren Raschle<sup>2</sup>, Sabrina Dias de Oliveira<sup>3</sup>, Judith Liliana Solórzano Lemos<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Bolsista de I.C., Química, UFRJ, claudia.ufrrj@gmail.com; <sup>2</sup>Bolsista de I.C., Biologia, UNIRIO, lilaheeren@bol.com.br; <sup>3</sup>Bolsista de Mestrado, EQ – UFRJ, sabrinauff@yahoo.com.br; <sup>4</sup>Orientadora, Eng. Química, D. Sc. – CETEM, jlemos@cetem.gov.br

Endereço: CETEM – Av. Pedro Calmon, 900 - Cidade Universitária - Rio de Janeiro – RJ. CEP: 21941-908

### RESUMO

O presente trabalho teve por objetivo estudar o benefício do emprego do pó de casca de coco como material estruturante (Rhykerd *et al.*, 1999), e adição de inóculo fúngico, utilizando a técnica do bioaumento, no tratamento de solos contaminados por petróleo.

Os solos foram ajustados em 50% da capacidade de retenção de água (CRA), adequada ao desenvolvimento da microbiota nativa para degradação de petróleo de um solo areno-argiloso, proveniente do nordeste. O bioaumento praticado foi de 7,0 mL de inóculo para 50g de solo, enquanto que a adição de pó de casca de coco foi estudada nas concentrações de 2,5%, 5%, 7,5% e 10% do peso do solo. O acompanhamento da degradação de petróleo, neste ensaio, foi feito por meio da determinação de CO<sub>2</sub>, por cromatografia gasosa. O resultado obtido por meio da técnica de cromatografia gasosa permitiu evidenciar o benefício do emprego do pó de coco nas condições estudadas, podendo apontar a concentração de 10% como sendo superior às outras, principalmente quando utilizada, concomitantemente, com o inóculo fúngico, ao longo de todo o experimento.

**PALAVRAS-CHAVE:** Biorremediação, petróleo, solo.

### ABSTRACT

The goal of this study was to verify the benefit of using the coconut peel powder of as soil bulking agent and the addition of the fungi inoculum in the bioaugmentation technique during the treatment of a Petroleum contaminated soil.

The soil moisture was adjusted to 50% of the Water-Holding Capacity (WHC), appropriate to the development of the native microorganisms for the degradation of petroleum of a loamy sand soil, originating from the Brazilian Northeast. The practiced bioaugmentation was 7,0mL of the inoculum for 50g of the soil, while the addition of the coconut peel powder was studied in the concentrations of 2,5%, 5%, 7% and 10% of the weight of the soil. The petroleum degradation in this essay, was monitored by GC/TCD, indirectly by CO<sub>2</sub> generation as a result of microbial petroleum mineralization.. The result obtained through the gas chromatographic method allowed to expose the benefit of the usage of the coconut powder in the evaluated and could point the concentration of the 10% (w/w) the best to be applied in petroleum contaminated soil bioremediation process, mainly when used, with fungi inoculum.

**KEY-WORDS:** bioremediation, petroleum, soil.

# 1. INTRODUÇÃO

## 1.1. Biorremediação

Biorremediação pode ser definida como o uso de microorganismos vivos para remoção de poluentes do solo, água e gases, podendo ser aliada a duas técnicas: bioaumentação e bioestímulo (PANDEY *et al.*, 1999)

## 1.2. Bioaumentação e Bioestímulo

O processo de bioaumentação envolve a introdução de microrganismos cultivados para degradar várias cadeias de hidrocarbonetos dentro de um sistema contaminado, enquanto que a bioestimulação consiste em introduzir nutrientes adicionais, na forma de fertilizantes orgânicos e/ou inorgânicos, em um sistema contaminado, o que estimula o aumento da população de microrganismos indígenas (Sarkar *et al.*, 2005).

## 1.3. Material Estruturante

Durante um processo biológico de tratamento de solos é reconhecido que a adição de material estruturante de natureza orgânica melhora algumas das propriedades importantes destes: diminui a densidade, aumenta a porosidade, assim como a difusão de oxigênio e a permeabilidade (Rhykerd *et al.*, 1999).

A casca de coco se constitui num rejeito abundante no Brasil por causa da sua produção anual que é de aproximadamente 800 milhões de cocos por ano, sendo os principais produtores os estados do Nordeste: Pernambuco, Bahia, Paraíba e Rio Grande do Norte. A maior quantidade de rejeito tem a sua origem no consumo da fruta in natura, sendo o descarte do resíduo um problema de difícil solução. Algumas alternativas têm sido propostas para contornar o problema, por exemplo: compostagem do coco e a reciclagem mecânica.

As fibras do coco são constituídas de materiais lignocelulósicos, obtidos do mesocarpo do coco (*Cocos nucifera*). Possuem grande durabilidade, atribuída ao alto teor de lignina (41 a 45 %), quando comparadas com outras fibras naturais. O mesocarpo do coco maduro e seco fornece fibra dura, enquanto o coco verde fornece melhor fibra celulósica (Amim e Pacheco, 2004). Como toda fibra natural tem grande capacidade de absorção de água, o que faz com que esta seja drenada para dentro das fibras, expandindo-se.

As questões de caráter ambiental cada vez mais preocupam às comunidades do mundo inteiro, por isso lançamos mão da biorremediação para contornar problemas de contaminação provocados por poluentes como o petróleo. Neste caso, estamos aliando o emprego de um resíduo natural (casca de coco) para remediar o problema gerado por um resíduo acidental (solo contaminado), com o recurso biológico. Sabe-se que os microrganismos são dotados de ferramentas enzimáticas capazes de hidrolisar parcial ou completamente os contaminantes; e que além dos nutrientes, indispensáveis ao seu desenvolvimento, uma atmosfera mais oxigenada sempre é benéfica aos microrganismos aeróbicos. É nesta questão onde o pó de coco participa, promovendo um microambiente mais aerado. Desta forma, o emprego da casca (pó e fibra) como material estruturante para o biotratamento de solos contaminados por petróleo, seria uma alternativa viável, uma vez que a casca favoreceria a aeração das amostras, beneficiando, tanto a microbiota aeróbica nativa quanto a inoculada (Gomes, 2000).

## 2. OBJETIVO

O presente trabalho teve como objetivo estabelecer os benefícios do emprego de pó de coco como material estruturante, no tratamento de solos contaminados por petróleo, aliado à utilização de bioaumentação fúngica.

## 2. MATERIAIS E MÉTODOS

### 3.1. Solo

Foi utilizado um solo nordestino, previamente contaminado com petróleo a 5% (p/p) e permanecendo em repouso durante três dias para volatilização de compostos alifáticos voláteis.

### 3.2. Pó de coco

#### *Parâmetros estudados:*

- Granulometria do pó de coco: foi utilizado pó de coco peneirado com peneira Tyler de 10 mesh.
- Determinação da capacidade de retenção de água da casca (pó e fibra): 2g de fibra de pó de coco foram colocados em becher, em duplicata, e macerados com 50mL de água por 24hs. Depois, o material umedecido foi filtrado em papel de filtro, recolhendo o sobrenadante em proveta graduada. O sistema de filtração ficou em repouso por 24 horas para garantir a completa remoção da água não absorvida pelo pó. Para evitar as perdas por evaporação o sistema foi vedado com papel de alumínio. A seguir, todos os materiais empregados na determinação foram pesados para calcular o teor de água retido pelo pó.

### 3.3. Microorganismos

O inóculo foi elaborado com solução salina a 0,9% p/v, pH 3,0 e 5g de solo virgem. A seguir, a suspensão foi colocada em “shaker” a 150 rpm e 30° C por 1h, deixado em repouso por 24h. Posteriormente, foram adicionados 5 mL dessa suspensão a 200 mL de meio BDA com cloranfenicol e pH 3,0, permitindo que o frasco permanecesse 24h em “shaker” a 150 rpm e 30 °C. O inóculo foi adicionado aos kitasatos, após 24 horas de cultivo. A proporção do inóculo utilizada foi de 7,mL para 50g de solo.

### 3.4. Procedimento

No experimento foram utilizados kitasatos, em duplicata, contendo cada um 50g de solo nordestino, sendo o solo previamente contaminado com 5% (p/p) de petróleo. O solo permaneceu em repouso durante três dias para volatilização de compostos alifáticos voláteis, sendo a seguir, umedecido com água para atingir 50% da CRA. Utilizou-se pó de coco nas concentrações de 2,5, 5,0, 7,5 e 10% do peso do solo, previamente umedecido com água para atingir 50% da CRA do pó. Para cada concentração foram preparados três kitasatos correspondentes: dois com solo contaminado e inóculo fúngico e um controle sem o inóculo.

### 3.5. Quantificação de CO<sub>2</sub>

O acompanhamento do processo de biodegradação foi realizado por cromatografia gasosa mediante a dosagem de CO<sub>2</sub> como descrito em Santos *et al.* (2003).

Na primeira semana da quantificação de CO<sub>2</sub> foram realizados cinco ensaios, um diariamente de segunda a sexta-feira; a partir da segunda semana foram realizados três ensaios por semana, até totalizar 42 dias.

## 4. Resultados e Discussão

Foi observado 700mL de retenção de água por 100g de pó de coco e 400mL de retenção de água por 100g de fibra de coco. Em outro experimento em que a casca utilizada estava envelhecida e acondicionada a temperaturas baixas, houve perda dessa retenção de água. Para descontar esses efeitos, foi utilizado o pó acondicionado em temperatura ambiente e com CRA de 50%.

Portanto, pode-se verificar nas figuras de 1 a 4 que o emprego do pó de coco no solo contaminado, sem a adição de inóculo fúngico, acarretou um aumento paulatino de CO<sub>2</sub>, com o aumento da concentração de pó de coco, chegando a atingir quase o dobro de CO<sub>2</sub> na presença de 10% de pó, 12 mmoles de CO<sub>2</sub> (figura 4). Sendo que no sistema que contém somente solo contaminado, a evolução máxima de CO<sub>2</sub> foi de 6,88mmol (figura 4).

Podemos observar nas figuras 1,2,3 e 4 o emprego associado de inóculo fúngico e material estruturante nas concentrações de 2,5%, 5,0%, 7,5% e 10% de pó de coco. Percebe-se que o metabolismo microbiano foi mais favorecido conforme aumentava a concentração de pó de coco na amostra de solo, partindo de 13 mmol de CO<sub>2</sub> com 2,5% de pó (Figura 1), até atingir 24 mmol com 10% p/p de pó de coco (Figura 4).

Fica claro, então, que nas situações de ausência do inóculo fúngico, o desempenho da atividade dos microrganismos é sempre inferior, demonstrando a importância dos fungos no processo (figuras de 1 a 4).

Devido à possível degradação do pó de coco pelos fungos, foi feito posteriormente, um estudo para a avaliação de CO<sub>2</sub> das amostras que continham somente pó de coco associado ao inóculo fúngico (figura 5). Portanto esse experimento foi útil para avaliar a degradação do solo contaminado descontando o emprego do material estruturante. Assim essa avaliação demonstrou a degradação do pó de coco devido à presença de fungos no solo aos quais apresentarem pré-disposição à degradação de material lignocelulósico, o utilizando preferencialmente ao óleo que contém estruturas de carbono tão ou mais complexas e difíceis de serem degradadas, além de serem mais tóxicas.

Portanto, podemos verificar que houve uma evolução de CO<sub>2</sub> mais acentuada na degradação do solo contaminado que continha 10% de estruturante quando comparado às outras amostras com concentrações inferiores, mesmo sendo essa degradação inferior ao sistema que não continha pó de coco. Se observarmos uma tendência da curva (figura 5) que contém a degradação do solo contaminado subtraído da degradação do pó de coco a 10% veremos que o sistema que não contém o material estruturante poderá ser inferior na produção de CO<sub>2</sub>. Isso pode nos indicar que o pó de coco demonstra uma capacidade para atuar como material estruturante sem sua degradação após algum tempo.

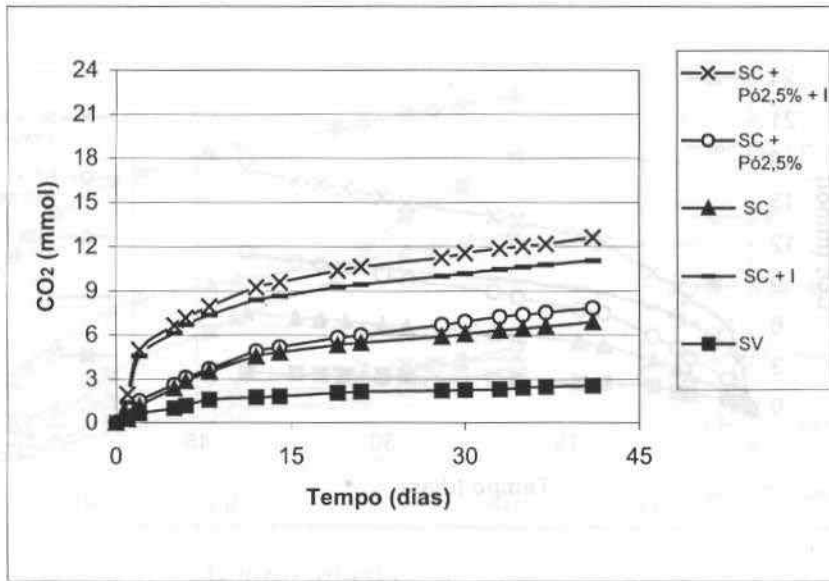


Figura 1. Produção de  $\text{CO}_2$  em amostras de solo contaminadas por petróleo, adicionadas de pó de coco e de inóculo fúngico no tratamento com 2,5% de pó. ((SC) – solo contaminado (I) – inóculo (SV) – solo virgem)

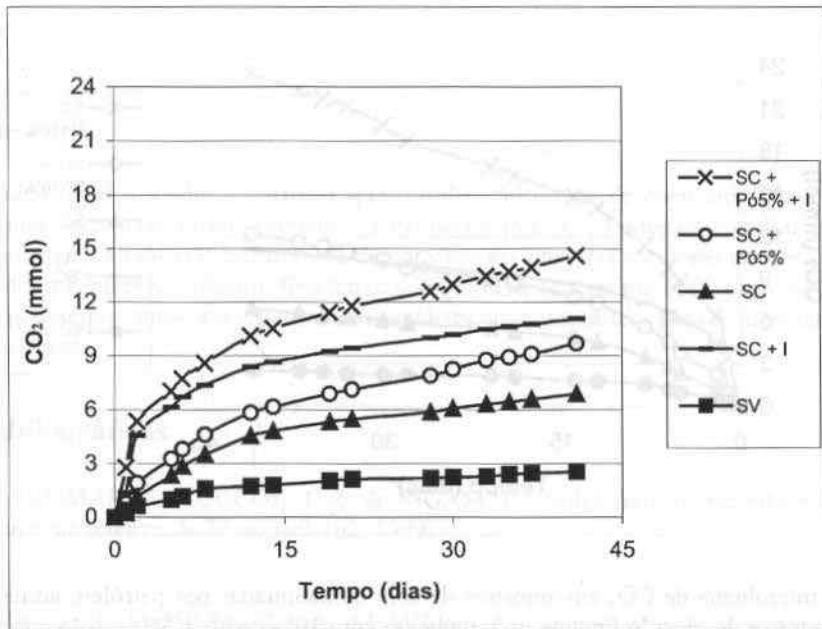


Figura 2. Produção microbiana de  $\text{CO}_2$  em amostras de solo contaminadas por petróleo, adicionadas de pó de coco como material estruturante e de inóculo fúngico no tratamento com 5,0% de pó. ((SC) – solo contaminado (I) – inóculo (SV) – solo virgem)

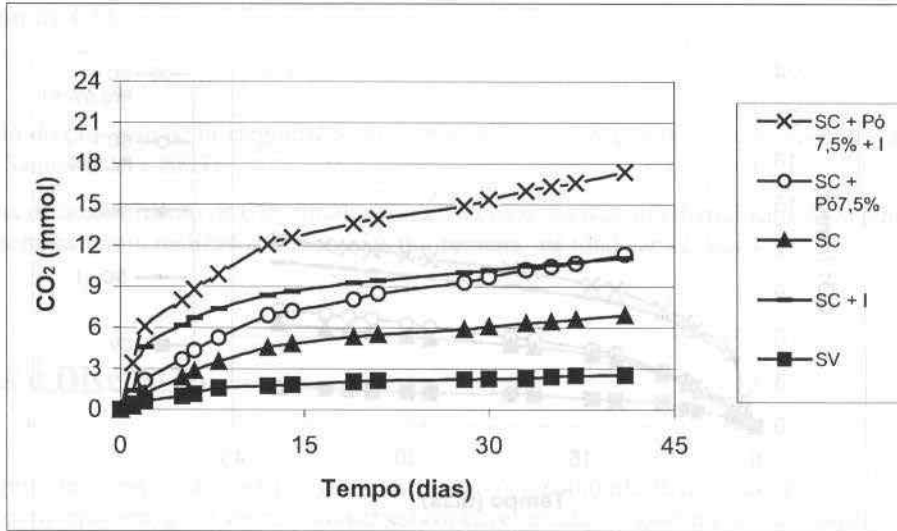


Figura 3. Produção microbiana de  $\text{CO}_2$  em amostras de solo contaminadas por petróleo, adicionadas de pó de coco como material estruturante e de inóculo fúngico no tratamento com 7,5% de pó. ((SC) – solo contaminado (I) – inóculo (SV) – solo virgem)

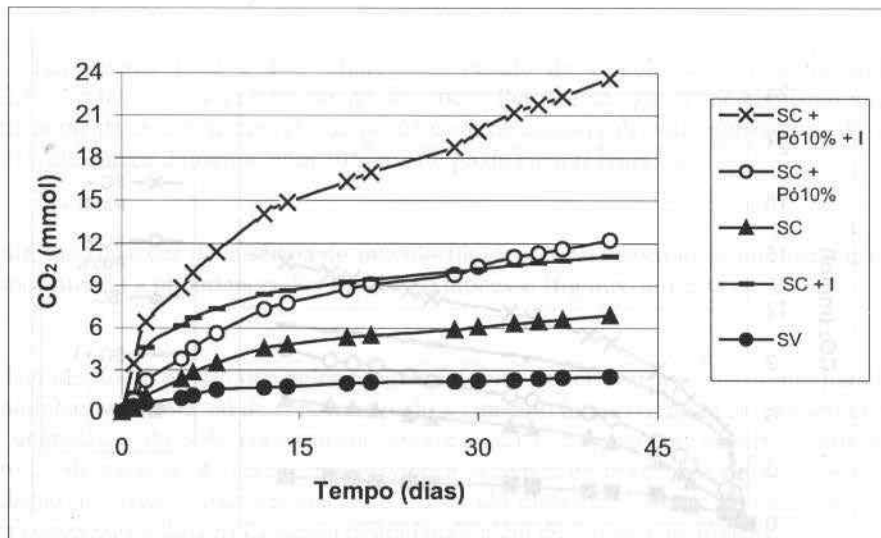


Figura 4. Produção microbiana de  $\text{CO}_2$  em amostras de solo contaminadas por petróleo, adicionadas de pó de coco como material estruturante e de inóculo fúngico no tratamento com 10% de pó. ((SC) – solo contaminado (I) – inóculo (SV) – solo virgem)

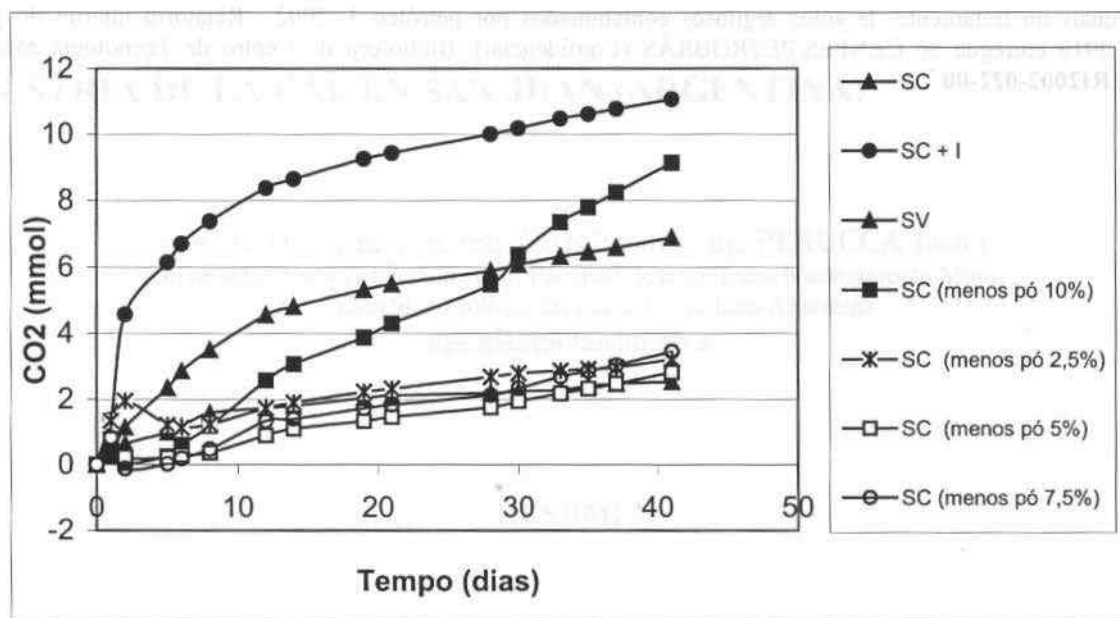


Figura 5. Produção microbiana de CO<sub>2</sub> em amostras de solo contaminadas por petróleo, em sistemas que contém pó de coco. ((SC) – solo contaminado (I) – inóculo (SV) – solo virgem – (SC menos pó) – solo contaminado sem o pó de coco)

## 5. Conclusão

Com base nos resultados obtidos, pode-se verificar que a utilização do pó de coco auxiliou na oxigenação do solo contaminado por petróleo, propiciando um aumento na evolução de CO<sub>2</sub>. Podemos concluir que o desempenho da associação de inóculo fúngico e material estruturante demonstrou ser uma das melhores opções para a biorremediação do solo estudado. Sendo, no entanto, o inóculo fúngico uma importante ferramenta neste processo. Para um estudo mais detalhado e completo poderemos aumentar o período das análises cromatográficas para evidenciar o comportamento do pó de coco dentro do sistema.

## 6. Referências Bibliográficas

PANDEY, A., SELVAKUMAR, P., SOCCOL, C.R. & NIGAM, P. Solid state fermentation for the production of industrial enzymes. *Current science*. V.77, p. 149-162, 1999.

RHYKERD, R.L., CREWS, B., McINNIS, K.J. & WEAVER, R.W., Impact of bulking agents, forced aeration, and tillage on remediation of oil-contaminated soil. *Bioresource Technology*. V 67.p. 279-285, 1999.

SARKAR, D.; FERGUSON, M.; DATA, R.; BIRNBAUM, S. Bioremediation of petroleum hydrocarbons in contaminated soils: Comparison of biosolids addition, carbon supplementation, and monitored natural attenuation. *Environmental Pollution*, v.136, p.187-195, 2005.

CRAPEZ, M. A. *et al.* Biorremediação – Tratamento para o derrame de petróleo. *Ciência Hoje*. V. 30, p. 32-37, 2002.

GOMES, L.M.B. Remoção de cádmio de soluções aquosas utilizando fibra de coco-da-baía visando o tratamento de efluentes. *Tese de doutorado*. Coppe-UFRJ, 2000.

SANTOS, Ronaldo Luiz Correa dos; RIZZO, Andrea Camardella de Lima; LEMOS, Judith Liliana Solórzano; MILLIOLI, Valéria Souza; CUNHA, Cláudia Duarte; LEITE, Selma Gomes Ferreira. Emprego de biorreatores não

convencionais no tratamento de solos argilosos contaminados por petróleo 3. 2002. Relatório interno do projeto CETEM 2919 entregue ao CENPES/PETROBRÁS (Confidencial). Biblioteca do Centro de Tecnologia Mineral – CETEM, **RI2002-022-00**.