

**PROCESSOS DE BIORREMEDIAÇÃO EM ÁREAS
INFLUENCIADAS POR ATIVIDADES PETROLÍFERAS**

Olívia Maria Cordeiro de Oliveira¹, Jorge
Alberto Trigüis², Antônio Fernando de Souza Queiroz³,
Joil José Celino⁴, Danusia Ferreira Lima⁵, Robson
Carneiro Santana⁶

Copyright 2008, Instituto Brasileiro de Petróleo, Gás e Biocombustíveis - IBP

Este Trabalho Técnico foi preparado para apresentação na *Rio Oil & Gas Expo and Conference 2008*, realizada no período de 15 a 18 de setembro de 2008, no Rio de Janeiro. Este Trabalho Técnico foi selecionado para apresentação pelo Comitê Técnico do evento, seguindo as informações contidas na sinopse submetida pelo(s) autor(es). O conteúdo do Trabalho Técnico, como apresentado, não foi revisado pelo IBP. Os organizadores não irão traduzir ou corrigir os textos recebidos. O material conforme, apresentado, não necessariamente reflete as opiniões do Instituto Brasileiro de Petróleo, Gás e Biocombustíveis, seus Associados e Representantes. É de conhecimento e aprovação do(s) autor(es) que este Trabalho Técnico seja publicado nos Anais da *Rio Oil & Gas Expo and Conference 2008*.

Resumo

O presente estudo objetivou testar metodologias de coleta a serem aplicadas nos processos de biorremediação *in situ*, envolvendo o estabelecimento de replicatas de amostras, procedimentos laboratoriais específicos e seus resultados, inéditos na técnica em questão. Foram utilizados fertilizantes agrícolas, NPK e OSMOCOTE, como bioestimulantes em substratos de manguezais afetados por atividades petrolíferas. A metodologia utilizada e testada no experimento baseou-se no monitoramento desta tecnologia em aquários com água do rio São Paulo e sedimento contaminado por óleo, realizado em três etapas (primeiro “pré-teste”, segundo “pré-teste” e terceiro “pré-teste”) ocorridas entre os meses de agosto e novembro de 2007. Os parâmetros físico-químicos foram mensurados com equipamentos portáteis devidamente calibrados e o óleo presente no sedimento analisado por cromatografia gasosa. As frações dos hidrocarbonetos saturados (n-alcenos) tiveram um aumento nas concentrações para alguns aquários e estes resultados encontrados não permitem afirmar se a inibição da degradação dos hidrocarbonetos saturados tem alguma relação com aplicação dos nutrientes NPK ou OSMOCOTE. O intervalo de tempo aplicado no procedimento, a metodologia de coleta utilizada e até mesmo a heterogeneidade intrínseca ao substrato de manguezal estão em fase de avaliação com novos testes a fim de melhor delineamento da técnica, inédita, utilizada na área.

Abstract

The present work's objective is to test sampling methodologies applied on the biorremediation processes *in situ*, involving the establishment of sample replicates, specific laboratory procedures and its results, inedited on the referred technique. Agricultural fertilizers were used, NPK and OSMOCOTE, as biostimulants on mangroves substrates affected by petroleum activities. The tested methodology used on the experiment was based on the monitoring of this technology in aquarium with water from São Paulo's river and sediment contaminated by oil, realized in three steps (first pre-test, second pre-test and third pre-test) that happened between the months of August and November of 2007. The physical-chemical parameters were measured with portable devices carefully calibrated and the oil analyzed with gas chromatography. The saturated hydrocarbons (n-alkenes) had an increase on the concentrations for some aquariums and these found results do not permit to confirm if the inhibition of the degradation of the saturated hydrocarbons are somehow related to the usage of the nutrients NPK or OSMOCOTE. The time interval applied on the procedure, the sampling methodology used and even the intrinsic heterogeneity of the mangrove substrate are in the evaluation stage with new tests in order to make better the technique delineation, inedited, utilized in the area.

¹ Doutora, Professora/Pesquisadora - Geologia do Petróleo – NEA/IGEO/UFBA

² Doutor, Pesquisador – NEA/IGEO/UFBA

³ Doutor, Professor/Pesquisador – NEA/IGEO/UFBA

⁴ Doutor, Professor/Pesquisador – NEA/IGEO/UFBA

⁵ Mestranda, PPGG/IGEO/UFBA

⁶ Graduando em Oceanografia, IGEO/UFBA.

1. Introdução

O consumo elevado de petróleo e seus derivados a nível mundial resultaram, nos últimos anos, em derramamentos contínuos de óleo inerentes as atividades associadas à exploração deste recurso. A consequência de alguns destes acidentes tem sido particularmente grave em termos da perda financeira e danos locais para o ambiente. Por esta razão essa temática tem recebido substancial atenção devido a um aumento na consciência pública dos seus riscos. Os danos causados pelos hidrocarbonetos em manguezais são muito diversos, destacando a morte das vegetações por asfixia das suas raízes e quedas das folhas, com isso, ocorre perda de habitat, principalmente para organismos que dependem da árvore para fixação, proteção e alimentação, podendo levar a morte direta de moluscos e crustáceos em contato com óleo e futuramente a redução populacional e da comunidade dos organismos que vivem neste ecossistema (IPIECA, 1993).

Os desastres com petróleo e seus derivados, ocorridos durante as últimas décadas, apesar de danosos, serviram para o desenvolvimento de técnicas para lidar com derrames de óleo no ambiente marinho e na zona costeira. Muitos desses métodos normalmente utilizados para a limpeza de áreas que sofreram impacto por óleo (*i.e* dispersantes químicos, queima do óleo, remoção mecânica do sedimento), tornam-se problemáticos se aplicados a áreas de manguezais, as quais são extremamente sensíveis a qualquer distúrbio (EVENS, 2005). Há sugestões pela não utilização destas técnicas usuais no mangue, devido aos impactos secundários que elas acarretam a esse ecossistema, mas sim pelo desenvolvimento de metodologias alternativas, menos lesivas ao ambiente, como as técnicas de biorremediação (DOWTY *et al.*, 2001). Esta forma de remediação é barata, podendo ser aplicada a grandes áreas para atenuação de um grande número de poluentes, como os hidrocarbonetos de petróleo (GLASS, 1999).

A biodegradação ocorre através da ação de microrganismos, como bactérias e fungos, presentes no ambiente (CRAPEZ, 2001). A biorremediação é a aceleração deste processo, através da adição de microrganismos específicos (bioalimentação), nutrientes e/ou outras substâncias que acelerem a reprodução de tais microrganismos (bioestimulação). O sucesso da técnica de biorremediação em derramamento de óleo depende de habilidades para otimização das variáveis físicas, químicas e condições biológicas do ambiente contaminado (NIKOLOPOULOU, 2007).

O presente trabalho está baseado na técnica de bioestimulação, ou seja, na introdução de nutrientes (fertilizantes agrícolas), onde estão sendo testados o NPK (razão N:P:K de 10:10:10) e o OSMOCOTE (razão N:P:K de 10:10:10) em aquários de simulação confeccionados especialmente para tal fim. Entretanto, esse processo pode estar limitado à disponibilidade de nutrientes, composição e abundância das comunidades microbianas, salinidade, temperatura, concentração de oxigênio dissolvido, distribuição e natureza do óleo derramado.

A área estudada está localizada nas cercanias do rio São Paulo, o qual deságua na Baía de Todos os Santos (BTS). Está inserida politicamente no município de São Francisco do Conde e nas proximidades dos municípios de Candeias e Madre de Deus (Figura 1), onde encontram-se diversos segmentos da indústria de petróleo, desde o *upstream* ao *downstream*, com desenvolvimento de atividades afins. BRAIN (2002); Veiga (2003); BMA (2005); Celino *et al.* (2006) visando à caracterização do grau de contaminação por hidrocarbonetos de petróleo, nos sedimentos de manguezal da zona norte da BTS, demonstraram através de estudos, que a área apresenta-se comprometida. Em função deste diagnóstico surgiu a necessidade de serem desenvolvidas metodologias capazes de remediar os impactos causados na área.

2. Relevância e Justificativa

Não existem na literatura estudos relacionados a utilização de processos de biorremediação para região da BTS, principalmente para a parte norte desta Baía. Um dos Projetos em desenvolvimento por pesquisadores do Instituto de Geociências da UFBA em parceria com demais Instituições do Nordeste brasileiro, no âmbito da Rede Cooperativa em Recuperação de Áreas Contaminadas por Atividades Petrolíferas – RECUPETRO e do Projeto Cooperativo PROAMB, é o Projeto intitulado “Processos de Biorremediação de áreas de Manguezal sob Influência de Atividades Petrolíferas (Projeto Novo)”, apoiado pela FINEP – CTPETRO – CNPq – Petrobras. Este projeto tem como objetivo principal desenvolver testes de biorremediação em níveis laboratorial e de bancada com vistas a promover processos de recuperação de áreas de manguezais afetadas por derramamentos de petróleos e/ou seus derivados, para aplicação *in situ* (a nível piloto) e projetos futuros da melhor técnica de biorremediação avaliada no experimento em bancada.

Com o propósito de realizar os experimentos de simulação em áreas com observação de exsudação de óleo em sedimentos de manguezal da área, implantou-se um laboratório *in situ*, ou seja, nas proximidades do estuário do rio São Paulo, intitulado “Laboratório de Simulação de Processos de Biorremediação”. Também foram confeccionados os acessórios necessários para os procedimentos de biorremediação e foram adquiridas também bombas típicas de aquário, necessárias para a aeração, a serem introduzidas em cada aquário, em quantidades pré-estabelecidas (Figura 2).

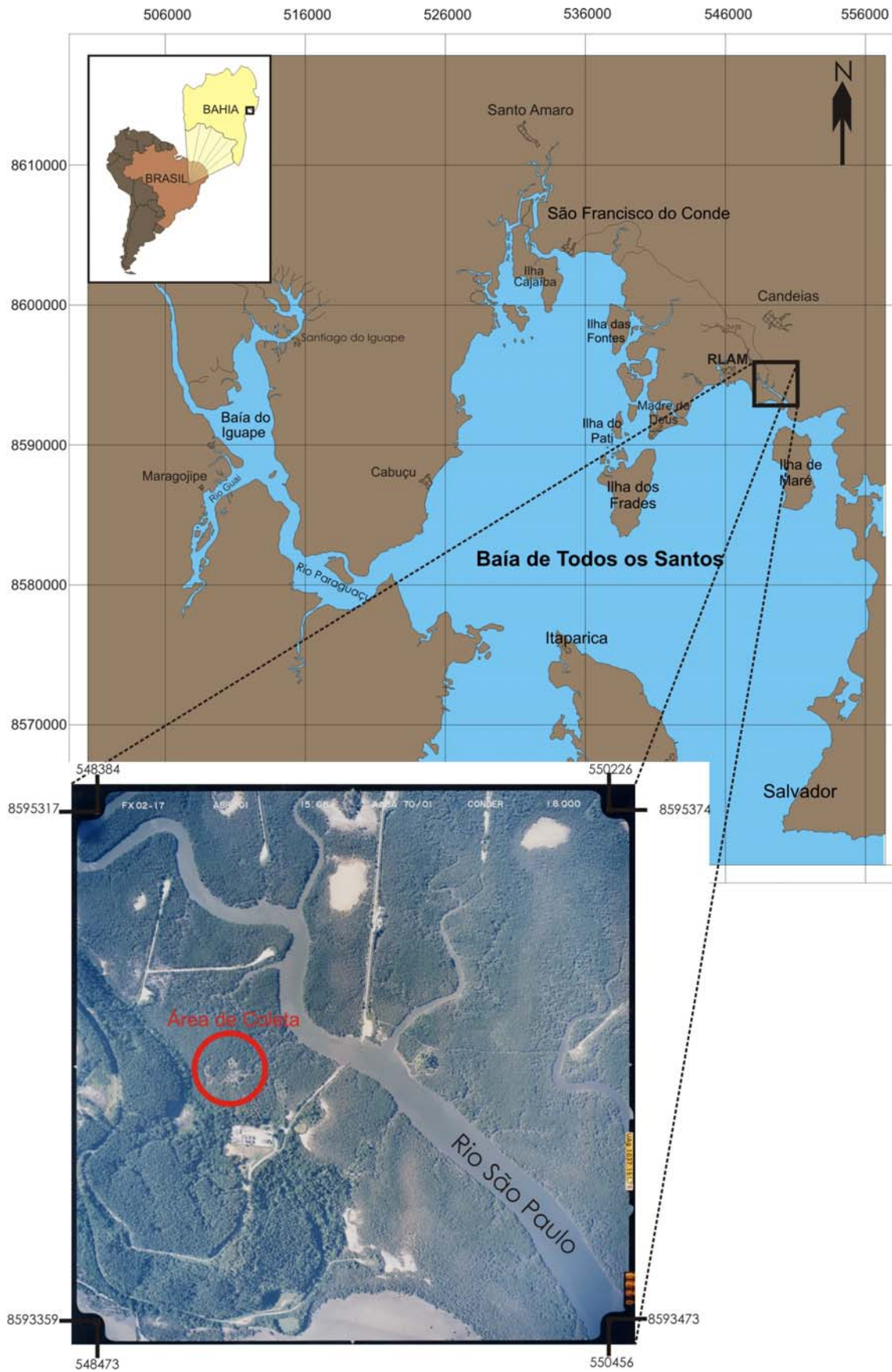


Figura 1 – Mapa de situação e localização da área de estudo, com destaque para o local de coleta.

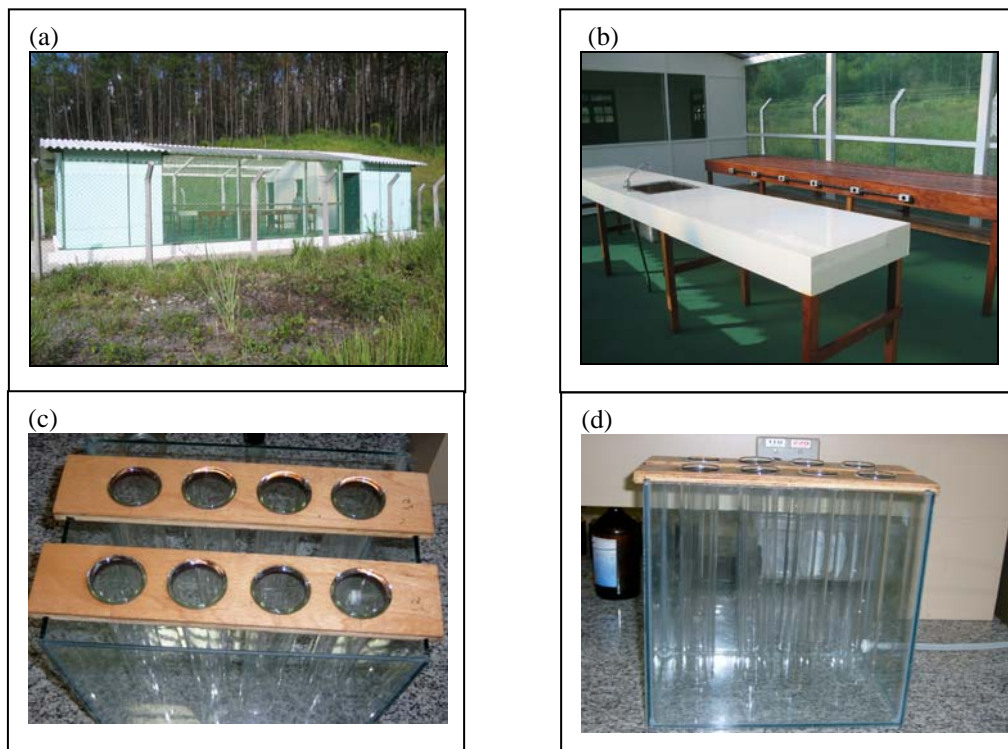


Figura 2 - (a) Vista lateral evidenciando o Laboratório de Simulação, construído e cercado; (b) Vista interna evidenciando as bancadas; (c) Aquário com tubos de ensaio sustentados em barras de madeira - vista em planta; (d) Vista em perfil.

3. Objetivo Geral e Específicos

O desenvolvimento do presente Projeto tem por objetivo inicial testar metodologias de coleta a serem aplicadas nos processos de biorremediação, envolvendo estabelecimento de replicatas de amostras, procedimentos laboratoriais específicos e seus resultados, inéditos na técnica em questão. Para o desenvolvimento destes processos foi necessário: a) Monitorar os parâmetros físico-químicos não conservativos que caracterizam as águas estuarinas (pH, E_H , salinidade, condutividade, oxigênio dissolvido); b) Analisar de forma qualitativa a eficiência dos fertilizantes agrícolas NPK e OSMOCOTE no processo de bioestimulação, utilizados na aceleração da biodegradação de petróleo, sob condições experimentais; c) Avaliar qualitativamente os resultados dos compostos orgânicos (HTPs) a fim de vislumbrar possível degradação de óleo no ambiente estudado.

4. Materiais e Métodos

A metodologia utilizada e testada nestes experimentos foi baseada em trabalhos de escritório (fase inicial e final), trabalhos de campo e trabalhos de laboratório.

4.1. Trabalho de Escritório - Fase Inicial e Final

Para revisão bibliográfica foram utilizadas literaturas desenvolvidas local e regionalmente com temática similar. Ainda foram elaboradas fichas de campo contendo os parâmetros a serem mensurados, assim como, datas e horas, além de outras informações necessárias. Todos os dados obtidos, sejam primários ou secundários, necessitaram de técnicas de tratamento gráfico a fim de permitir uma melhor visualização e entendimento dos mesmos.

4.2. Trabalho de Campo

Os locais de amostragem foram selecionados de forma a se obter a melhor representatividade possível da área de estudo. A etapa de campo está compartimentada em três fases assim intituladas: “Primeiro Pré-teste”, “Segundo Pré-teste” e “Terceiro Pré-teste”, no período entre agosto a novembro de 2007. Foram estabelecidas com objetivo geral de tomar conhecimento das principais dificuldades encontradas no que se refere às etapas de coleta de material (sedimento e água), infra-estrutura física (a exemplo do manuseio diário com os aquários, recarga de água para os aquários, etc) e demais providências de logística.

4.2.1. Coleta de Sedimento

Na região onde são observadas exsudações (Figura 1-área de coleta) foram selecionadas 04 (quatro) regiões para as coletas, sendo, uma para os aquários considerados controle; uma segunda estação para os aquários com inserção de NPK no sedimento; uma terceira para os aquários com inserção de OSMOCOTE e outra para os aquários os quais foram adicionados óleos de poços localizados nas proximidades da área em estudo.

A escolha da estação foi por julgamento, ou seja, local que tivesse óleo visível na superfície (exsudação), e dentro da estação a coleta foi feita de forma aleatória, sendo que, para os aquários controles, a área escolhida foi a que não possuísse óleo visível na superfície. O sedimento foi coletado com auxílio de um testemunhador de metal inoxidável, sendo que os 30 primeiros centímetros foram transferidos para as provetas. Foram confeccionadas “camisas de proteção” em tecido de algodão para vestir totalmente as provetas a fim de evitar a descida do sedimento.

4.2.2. Atividades no Laboratório de Simulação

A água dos aquários foi captada do rio São Paulo através de bomba e canalizada para distribuição nos aquários. O tempo de contato da água com sedimento foi variável (2 horas a 1 dia). O óleo e os nutrientes foram adicionados conforme os modelos abaixo especificados e representados esquematicamente (Figuras 3 e 4). Nos aquários do delineamento mostrado no modelo da Figura 3 foram testadas as amostras consideradas controle (sem adições de nutrientes ou óleo) e aquelas com adição de dois tipos de nutrientes (NPK e OSMOCOTE), além do efeito da aeração no processo de bioestimulação e sua influência na degradação do óleo do próprio ambiente (biorremediação).

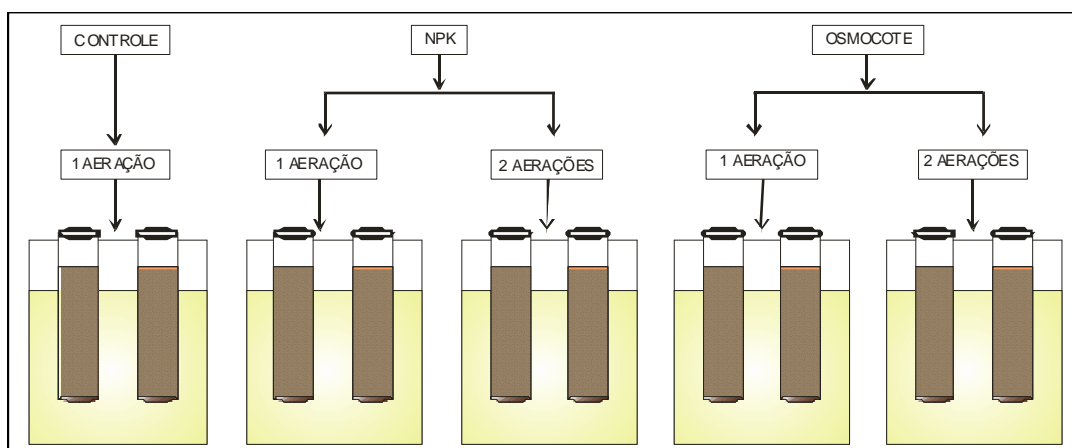


Figura 3 - Esquema do primeiro modelo experimental sendo da esquerda para direita: aquário controle; aquários com NPK com uma e com duas aerações; aquários com OSMOCOTE com uma e com duas aerações.

Para o segundo modelo (Figura 4) foram adicionados 4,5g de óleo além de 1,5g de nutrientes (NPK ou OSMOCOTE) em cada proveta e aeração nos aquários, para tentar obter uma resposta em termos de eficiência de degradação do óleo.

Representando o terceiro pré-teste, no período entre 10 e 24/11/07, foram feitas, diariamente, medidas dos parâmetros físico-químicos (pH, E_H , salinidade, condutividade, oxigênio dissolvido) da água dos aquários, antes e depois do período de inserção da água. As triplicatas foram homogêneas (coletadas como amostras compostas) e uma fração foi coletada e acondicionada em quentinhas de alumínio para avaliação de compostos orgânicos.

4.3. Trabalho de Laboratório

As análises cromatográficas foram realizadas em um Cromatógrafo a gás, marca Varian - modelo CP 3800, equipado com detector de ionização por chama e injetor com divisão de fluxo a 250°C, com isoterma de 20 min. (razão de split 20:1).

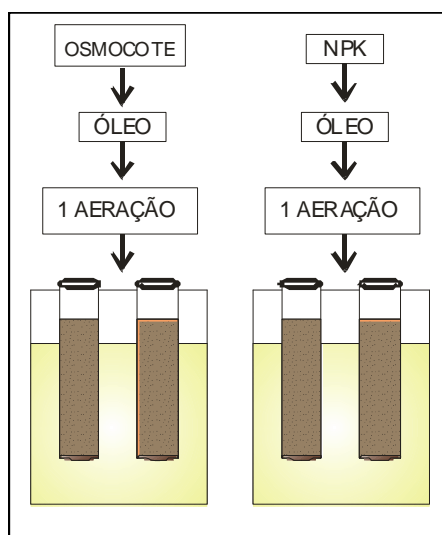


Figura 4 - Esquema do segundo modelo, onde foi acrescentado óleo, NPK ou OSMOCOTE e aeração constante.

5. Resultados e Discussão

As variações de temperatura para o canal do rio São Paulo e dos aquários durante o monitoramento apresentaram uma média de 28,8°C e de 29,3°C, respectivamente. A variação média de salinidade foi 35,8 para o canal do rio São Paulo e 35,9 para os aquários. O pH teve uma faixa de variação dentro padrões estabelecidos para águas marinhas com valores entre 7,0 a 8,0, tanto para os aquários, quanto para o canal, e o oxigênio dissolvido teve uma média de 7,5 (mg.L⁻¹) para os aquários de biorremediação.

As relações P/F, nC₁₇/P e nC₁₈/F avaliados no primeiro dia do experimento, apresentou valores menores que 1 (um) para todos os aquários, indicando contaminação por petróleo bem como presença de resíduos oleosos degradados. Após 15 dias do início dos experimentos (24/11), para os aquários Controle, NPK1 e NPK2 (todos sem acréscimo de óleo durante o experimento), os índices acima referidos continuaram menores que 1 (um). Nos aquários NPK ÓLEO1 e OSMOC ÓLEO1 (segundo modelo experimental) aos quais foram inseridos óleo e NPK ou óleo e OSMOCOTE, os valores desses índices foram maiores que 1 (um), indicando contaminação por óleo recentemente derramado. Esses índices, entretanto, devem ser usados com certa cautela (COLOMBO *et al.*, 1989).

As frações dos hidrocarbonetos saturados (n-alcenos) que na maioria dos ensaios a níveis de bancadas e testes reais de aplicação das técnicas de biorremediação são os primeiros a serem degradados, no atual trabalho foi evidenciado um aumento das concentrações destes compostos ao longo dos 15 dias de simulação para o terceiro pré-teste. Esta constatação é contrária aos resultados obtidos em literatura consultada (WANG, 1998; ROSA & TRIGUIS, 2006; SOUZA, 2003) que reportam uma degradação preferencial nos primeiros estágios da biorremediação para os hidrocarbonetos saturados.

No momento não é possível afirmar o que de fato ocorreu nos aquários de simulação, porém uma provável suposição a ser verificada e testada é a possibilidade de ter ocorrido uma situação de favorecimento de colônias de bactérias degradadoras das primeiras frações de HPA, que por sua vez, pode ter gerado subprodutos tóxicos para outras bactérias degradadoras das frações dos hidrocarbonetos saturados, inibindo sua degradação.

Outras possibilidades ainda a serem testadas é a seqüência metodológica aplicada na etapa de coleta bem como a heterogeneidade intrínseca ao substrato de manguezal. Estas hipóteses se encontram em fase de avaliação com novos testes a fim de melhor delineamento da técnica, inédita, utilizada na área.

6. Conclusões

Os resultados dos parâmetros físico-químicos apresentaram normalidades quando comparados com a literatura consultada. Com relação aos dados obtidos das análises cromatográficas não é possível, até o momento, afirmar se a inibição da degradação dos hidrocarbonetos saturados tem alguma relação com aplicação do NPK ou OSMOCOTE como nutrientes. Com relação ao processo de biorremediação, o tempo de degradação utilizado nos procedimentos ao longo das simulações bem a heterogeneidade intrínseca ao substrato de manguezal, são fatores a serem avaliados em detalhe na continuação do projeto.

6. Agradecimentos

Este estudo obtém recursos financeiros através do Convênio UFBA-FINEP-CTPETRO-CNPq-Petrobras-FAPEX. Convênio FINEP nº 01.05.0016.00 e Referência FAPEX nº 040318 associado ao Convênio Petrobras nº 4600204631-0050.0020078.06.4 e Referência FAPEX nº 060061.

7. Referências

- COLOMBO, J.C.; PELLETIER, E.; BROCHU, C.; KHALIL, M.; CATOGGIO, J.A. –Determination of hydrocarbon source using n – alcanos and polyaromatic hydrocarbon distribution indexes. Case study: Rio de la Plata Estuary, Argentina – Environmental Science and technology, 23, p.888-894,1989.
- DOWTY, R.A.; SHAFFER, G.P.; HESTER, M.W.; CHILDERS, G.W.; CAMPO, F.M.; GREENE, M.C. Phytoremediation of small-scale oilspills in fresh marsh environments: a mesocosm simulation. Mar. Env. Res., v. 52, p. 195-211, 2001.
- EVENS, C.W. The effects and implications of oil pollution in mangrove forests. International Oil Spill Conference, IOSC, p. 2283, 2005.
- GLASS, D.J. Journal of Phytology, v. 1, p. 1-8, 1999.
- INTERNATIONAL PETROLEUM INDUSTRY ENVIRONMENTAL CONSERVATION ASSOCIATION (IPIECA), 1993. Impactos Biológicos de la Contaminación por Hidrocarburos: Manglares. Serie de Informe de IPIECA, v. 4, p. 1 – 24.
- NIKOLOPOULOU, M.; PASADAKIS, N.; KALOGERAKIS, N. Enhanced bioremediation of crude oil utilizing liophilic fertilizers. Desalination, v. 211, p. 286–295, 2007.
- WANG, Z.; FINGAS, M.; BLENKINSOPP, S.; SERGY, G.; LANDRIAULT, M.; SIGOUIN, L.; FOGHT, J.; SEMPLE, K.; WESTLAKE, D.W.S. Comparison of oil composition changes due to biodegradation and physical weathering in different oils. Journal of Chromatography, v. 809, p. 89-107, 1998.
- BIOMONITORAMENTO E MEIO AMBIENTE LTDA, BMA. Monitoramento da recuperação do manguezal adjacente a Estação Pedra Branca, Campo de Candeias – Ba - Petrobras/ UN-BA. Relatório Técnico Interno. Salvador, 138p., out. 2005.
- BRAIN TECNOLOGIA. Relatório de diagnóstico ambiental: Técnicas GPR 2D, 3D e tomografia elétrica associadas a análises químicas e controle por sondagens – Petrobras/ UN-BA Estação Pedra Branca. Relatório Técnico Interno. Salvador, out. 2002.
- CELINO, J.J.; QUEIROZ, A.F.S.; TRIGUIS, J.A.; OLIVEIRA, O.M.C.; SANTIAGO, J.S. Assessment of Oil Extraction Waste in Sediments Adjacent to Pedra Branca Station, Todos os Santos Bay, Northeastern, Brazil. Anais do: X ALAGO Congress on Organic Geochemistry, v. 1. p. 247-250, 2006, Salvador.
- CRAPEZ, M. Efeitos dos hidrocarbonetos de petróleo na biota marinha. Efeito de poluentes em organismos marinhos. São Paulo: Arte e Ciência, Villipress, 2001, p. 253-267.
- ROSA, A.P. & TRIGÜIS, J. A. Processo de biorremediação usando o fertilizante NPK, em eventuais derrames de óleo – Experimentos Laboratoriais. Revista Brasileira de Geociências, V. 36, n. 2, p. 232 – 242, 2006.
- SOUZA, E. S. de. Desenvolvimento de métodos de biorremediação aplicados a derrames de petróleo em água do mar - testes laboratoriais. 2003. 315 f. Tese (Doutorado em Engenharia de Reservatório e Exploração de Petróleo) – Macaé - RJ, Universidade Estadual do Norte Fluminense - UENF. 2003.
- VEIGA, G.I. Avaliação da origem dos hidrocarbonetos em sedimentos superficiais de manguezais da região norte da Baía de Todos os Santos/BA. 2003. 205 f. Dissertação (Mestrado) - Centro de Ciência e Tecnologia, Universidade Estadual do Norte Fluminense, Macaé - RJ, 2003.