



VI-016 - BIODEGRAÇÃO DO BIODIESEL DE MAMONA EM ÁGUAS SUPERFICIAIS

Ana Paula Nogareti Gomes⁽¹⁾

Bacharel em Química pela Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC). Mestranda em Engenharia Ambiental no Programa de Pós Graduação em Engenharia Ambiental do Departamento de Engenharia Sanitária e Ambiental da UFSC.

Marina Moller de Limas

Graduanda em Engenharia Sanitária e Ambiental do Departamento de Engenharia Sanitária e Ambiental da Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC). Bolsista de Iniciação Científica – CNPq/PIBIC.

Henry Xavier Corseuil

PhD em Engenharia Ambiental pela Universidade de Michigan. Professor do Departamento de Engenharia Sanitária e Ambiental da Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC).

Endereço⁽¹⁾: Universidade Federal de Santa Catarina. Centro Tecnológico. Departamento de Engenharia Sanitária e Ambiental. Laboratório de Remediação de Águas Subterrâneas. Campus Universitário - Trindade - Florianópolis - SC - CEP: 88040-970 - C.P.476 - Brasil. Tel: (48) 3331-7569 - e-mail: nogareti@ens.ufsc.br

RESUMO

O biodiesel (ésteres mono alquila) é um combustível de queima limpa obtido pela transesterificação de óleos vegetais ou gorduras animais e possui como principal vantagem ambiental o fato de ser renovável, biodegradável e não tóxico. Neste estudo, avaliou-se a biodegradação do biodiesel puro (B100) de mamona em águas superficiais (baixa concentração de nutrientes) em microcosmos aeróbicos e anaeróbicos, com e sem a adição de inóculo bacteriano (lodo ativado). Foram feitas análises periódicas dos microcosmos por cromatografia gasosa, avaliando a variação da concentração do éster ricinoleato de metila, que representa 76% da composição do biodiesel utilizado. Como resultado, observou-se que em condições limitantes de nutrientes e microorganismos o éster ricinoleato de metila do biodiesel de mamona praticamente não foi degradado no período analisado, mas com a adição de inóculo a degradação deste éster ocorreu rapidamente, obtendo-se uma remoção de 98% e 90% nos reatores aeróbicos e anaeróbicos, respectivamente. Com a adição de inóculo, a taxa de biodegradação foi maior no experimento aeróbico, entretanto em condições limitantes de nutrientes observou-se que a biodegradação anaeróbica foi mais eficiente.

PALAVRAS-CHAVE: Biodegradação, Biodiesel, Óleo de Mamona, Óleo de Soja, Cromatografia Gasosa.

INTRODUÇÃO

Devido aos vários problemas ambientais que a sociedade vem enfrentando em função da poluição atmosférica por combustíveis fósseis, combinados com a crescente demanda de energia e escassez de recursos energéticos, o desenvolvimento de uma política para implementação de fontes energéticas alternativas, como o combustível biodiesel, tem sido uma alternativa para a minimização desta problemática. O biodiesel (ésteres mono alquila) é um combustível de queima limpa obtido pela transesterificação de óleos vegetais ou gorduras animais e possui como principais vantagens ambientais o fato de ser renovável, biodegradável e não tóxico.

O uso do biodiesel no Brasil para veículos comerciais a diesel passou a ser autorizado pelo Governo a partir de 13 de Janeiro de 2005 com a Lei Nº 11.097, permitindo uma adição de 2% ao diesel (B2). A obrigatoriedade de cumprir, no mínimo, esse percentual acontece a partir de 2008. O mínimo de 5% (B5) será obrigatório em 2013, em qualquer parte do território nacional. Portanto, com a comercialização do biodiesel, o destino deste no meio ambiente é de grande interesse, pois ao mesmo tempo em que essas energias alternativas possuem alto potencial para a redução de emissões gasosas, pouco se conhece sobre os reais impactos aos corpos hídricos. Em caso de vazamentos e derramamentos de biocombustíveis, não se sabe quais são os seus reais efeitos sobre a qualidade das águas subterrâneas e superficiais, e se o risco à saúde humana e ao meio ambiente é tolerável. Tendo em vista ainda a tendência de que estes novos combustíveis renováveis sejam armazenados e transportados juntamente aos combustíveis fósseis, a inter-relação dos impactos destas misturas em caso de acidentes em solos é ainda totalmente desconhecida.



Poucos estudos têm sido focados na biodegradação do biodiesel e em como este combustível estimularia a degradação de outros combustíveis em ambiente aquático. Os ésteres metilados presentes no biodiesel possuem relativamente alto número de octanas e são considerados uma alternativa biodegradável aos compostos oxigenados recalcitrantes da gasolina (Liu & Sulfito, 1994). Ao se comparar os ácidos graxos do biodiesel aos constituintes do óleo diesel (alcanos e compostos aromáticos de alto peso molecular), as bactérias demonstram terem potencial para degradar o biodiesel muito mais facilmente do que ao diesel de petróleo. Leung (2005) estudou a degradação biológica do biodiesel puro, e concluiu que em três semanas é possível alcançar uma degradação de 98% deste combustível, enquanto que no mesmo período somente 50% de óleo diesel seria degradado.

Segundo estudos de Zhang (1998), o biodiesel pode promover e acelerar a biodegradação aeróbica do diesel em misturas aquosas contendo nutriente e biomassa. Por meio de análises cromatográficas e pelo método de evolução do gás carbônico (CO_2), Zhang (1998) verificou que uma mistura de 20% de biodiesel com diesel (B20) é degradada duas vezes mais rapidamente que uma solução de diesel puro, porque na biodegradação de uma mistura de biodiesel/diesel os microorganismos metabolizam o biodiesel e o diesel ao mesmo tempo e aproximadamente nas mesmas razões (ZHANG, 1998).

A importância destes estudos fundamenta-se no fato de que a biodegradação é o processo mais importante da atenuação natural, porque reduz a massa dos contaminantes e, geralmente, transforma os contaminantes tóxicos em subprodutos não-tóxicos, minimizando os riscos à saúde pública e ao meio ambiente. A biodegradação pode ocorrer aeróbica ou anaerobicamente, sendo que os subprodutos de cada uma destas degradações variam conforme o aceptor de elétrons utilizado. Da mesma forma, as taxas de biodegradação são fortemente influenciadas pela presença ou não de oxigênio, e também pela disponibilidade de nutrientes e biomassa potencialmente degradadora. Neste trabalho, foi avaliado a biodegradação do biodiesel puro (B100) de mamona utilizando microcosmos aeróbicos e anaeróbicos preparados com água superficial. Foi investigado também o efeito das concentrações de nutrientes (através da inoculação utilizando-se lodo ativado) na taxa de biodegradação.

MATERIAIS E MÉTODOS

Para estudar a biodegradação aeróbica e anaeróbica do biodiesel de mamona puro (B100) foram montados experimentos em microcosmos. Os microcosmos foram preparados com amostras de água de um córrego coletadas na Fazenda Experimental da Ressacada, localizada na região sul da ilha de Santa Catarina, no bairro Tapera, próximo ao Aeroporto Hercílio Luz, em Florianópolis.

Caracterização da Amostra de Água Superficial

A amostra de água superficial utilizada no experimento foi previamente caracterizada por análises físico-químicas e determinação de ânions. Os parâmetros físico-químicos (pH, potencial de oxidação-redução, oxigênio dissolvido e temperatura) foram analisados no campo com um analisador de água *Flow Cell*, modelo FC4000. No laboratório foram realizadas análises dos ânions (nitrato, fosfato e sulfato) por cromatografia iônica, em um cromatógrafo Dionex (modelo IC-1000), equipado com detector de condutividade iônica, e coluna utilizada AS4A-SC. Os resultados da caracterização da água superficial utilizada nos experimentos constam na Tabela 1.

Tabela 1. Caracterização da água superficial utilizada nos experimentos.

Parâmetros	Valores medidos
Temperatura	22,5° C
pH	5,8
Potencial de oxidação-redução	384 mV
Oxigênio dissolvido	5,22 mgL ⁻¹
Nitrato	0,12 mgL ⁻¹
Fosfato	---
Sulfato	1,42 mgL ⁻¹

Caracterização do Biodiesel de Mamona

Para a caracterização do biodiesel de mamona foram realizadas análises do composto dissolvido em água, na proporção de 1/100. Analisou-se a fase aquosa em um cromatógrafo a gás Trace GC Ultra acoplado a um espectrômetro de massa íon trap PolarisQ (GC/MS), equipado com um detector por ionização em chama (DIC) e uma coluna capilar de sílica fundida CBP20 (30 m x 0,25 mm x 0,25 µm). A temperatura do forno foi programada inicialmente a 100° C com taxa de aquecimento de 10° C/min até 240° C por 20 min; as temperaturas do injetor e detector foram de 250° C. Um microlitro de extrato foi injetado a uma razão de *split* 50:1. A Tabela 2 apresenta a composição química obtida para o biodiesel de mamona na fase aquosa.

Tabela 2. Composição química do biodiesel de mamona na fase aquosa.

Ésteres	Fórmula Molecular	Óleo de Mamona (%)
Palmitato	$C_{18}H_{36}O_2$	2,6
Estearato	$C_{20}H_{40}O_2$	1,6
Oleato	$C_{20}H_{38}O_2$	6,7
Linoleato	$C_{20}H_{36}O_2$	12,0
Linolenato	$C_{18}H_{29}O_2$	1,2
Ricinoleato	$C_{18}H_{34}O_3$	76,0

Montagem dos Microcosmos

Para a montagem dos microcosmos, preparou-se uma solução de água superficial com o biodiesel de mamona, na proporção de 1/100 em um frasco âmbar de 4 L. A solução foi agitada e deixada decantar por um período de 24 horas, a fim de se atingir o equilíbrio químico. Após este período foi retirada somente a fase aquosa com o biodiesel para a montagem dos microcosmos, conforme mostra a Figura 1. Apenas a biodegradação da fase dissolvida (aquosa) foi estudada, pois em caso de vazamentos de combustíveis em corpos hídricos os elementos do biodiesel que não apresentam afinidade com a água formam na sua superfície uma fase líquida não aquosa, que tem potencial para migração muito inferior ao das plumas de contaminação geradas pela fase dissolvida do contaminante.



Figura 1. Transferência da fase aquosa utilizada para a montagem dos microcosmos.

Antes da montagem dos microcosmos, realizou-se, por cromatografia gasosa, análises para se estimar a concentração do éster ricinoleato de metila presente na fase aquosa da mistura de água superficial com biodiesel do óleo de mamona. Este composto foi avaliado por ser o constituinte do biodiesel de mamona em maior porcentagem (76%), segundo análise química realizada do biodiesel utilizado no experimento (Tabela 2).

Experimento Aeróbico

Para os experimentos de biodegradação aeróbica foram adicionados aos microcosmos 50 mL de biodiesel da fase aquosa. Todos os tratamentos foram realizados em duplicata, e com repetições suficientes para 8 medidas, totalizando 16 microcosmos. O material utilizado no experimento foi previamente autoclavado a 120°C e 1 atm, por 15 minutos. Como microcosmos, foram utilizados frascos de penicilina de 100 mL. O tempo de análise foi de 20 dias, sendo que no 18° e 19° dias foram adicionados 20 mL de inóculo (esgoto doméstico) com uma concentração de nutrientes de 32,8 mgL⁻¹ e 16,32 mgL⁻¹ de nitrogênio e fósforo, respectivamente.



Os microcosmos foram posteriormente selados com septos de borracha, revestidos com teflon, e com lacres de alumínio. Foram também adicionadas agulhas aos microcosmos para garantir a respiração aeróbica (Figura 2). Todos os microcosmos foram incubados no escuro a uma temperatura de aproximadamente 25 °C.



Figura 2. Montagem dos microcosmos aeróbicos.

Experimento Anaeróbico

Para os experimentos de biodegradação anaeróbica foram adicionados aos microcosmos 50 mL de biodiesel da fase aquosa. Todos os tratamentos foram realizados em duplicata, e com repetições suficientes para 8 medidas, totalizando 16 microcosmos. Como no experimento aeróbico, todo material utilizado foi previamente autoclavado a 120°C e 1 atm, por 15 minutos. Como microcosmos, foram utilizados também frascos de penicilina de 100 mL. O tempo de análise foi de 20 dias, sendo que no 18º e 19º dias foram adicionados 20 mL de inóculo (esgoto doméstico) com uma concentração de nutrientes de 32,8 mgL⁻¹ e 16,32 mgL⁻¹ de nitrogênio e fósforo, respectivamente.

Os microcosmos foram posteriormente selados com septos de borracha, revestidos com teflon, e com lacres de alumínio. Todos os microcosmos foram purgados com gás nitrogênio durante 15 minutos para a retirada de todo oxigênio (Figura 3) e depois incubados no escuro a uma temperatura de aproximadamente 25 °C.



Figura 3. Procedimento de desaeração dos microcosmos anaeróbicos.

Determinação da Biodegradação

Nas análises de cromatografia gasosa, foi analisada a diminuição da concentração do éster ricinoleato de metila, cuja concentração inicial nas amostras foi medida anteriormente à montagem dos microcosmos. Para isto, foram realizadas extrações líquido-líquido (EPA, Método 3510B, 1996) dos microcosmos periodicamente, usando como solvente o diclorometano (CH₂Cl₂). Cada microcosmo foi extraído três vezes, com 3 mL de CH₂Cl₂ em um funil de separação, passando por uma mini-coluna de vidro com cerca de 1 cm de Na₂SO₄ anidro sobre uma camada de lã de vidro. O extrato final foi concentrado para 1 mL com um leve fluxo de gás nitrogênio e transferido para um *vial*. Depois a amostra foi analisada em um cromatógrafo a gás da HP, modelo 6890-série II, equipado com detector de ionização de chama (FID).

A coluna utilizada foi DB-23 (30 m x 0,25 mm de I.D e espessura do filme de 0,25 µm). O hélio ultrapuro foi usado como gás carreador. A temperatura do forno foi programada inicialmente a 130° C com taxa de



aquecimento de 6,5° C/min até 170° C e 2,75° C/min até 215° C com uma isoterma de 12 min; as temperaturas do injetor e detector foram de 270° C e 280° C, respectivamente. Dois microlitros de extrato foram injetados a uma razão de *split* 5:1. A quantificação dos compostos foi realizada pelo método da padronização externa, sendo que a curva de calibração foi feita com soluções do próprio biodiesel em hexano. A determinação da porcentagem de remoção foi feita subtraindo a concentração do substrato de cada amostragem da concentração inicial do substrato, com o resultado final dividido pela concentração inicial (C_0-C/C_0).

RESULTADOS E DISCUSSÕES

A amostra de água superficial utilizada no experimento foi caracterizada pela baixa concentração de nutrientes disponíveis ao desenvolvimento bacteriano. O nutriente fósforo (P) não foi detectado e o nitrogênio (N) detectado a 0,12 mgL⁻¹. Desta forma, não se esperaria o crescimento da biomassa a níveis necessários para se detectar remoção significativa dos compostos de biodiesel.

A concentração inicial do éster ricinoleato de metila presente na fase aquosa da mistura de água superficial com biodiesel de óleo de mamona foi estimada em 6,05 mgL⁻¹. Esta concentração foi utilizada como concentração inicial nos microcosmos aeróbicos e anaeróbicos.

As análises dos microcosmos aeróbicos e anaeróbicos mostraram que, a biodegradação do éster ricinoleato de metila do biodiesel de mamona é muito lenta em condições onde a concentração de nutrientes e microorganismos é limitante. Esta é uma informação importante porque mesmo sendo de fácil biodegradação (de acordo com outros autores), estes compostos podem se tornar de difícil degradação em meio onde os nutrientes e/ou elétrons aceptores são limitantes para o crescimento bacteriano (como aquíferos e águas superficiais não contaminadas). Portanto, a caracterização dos parâmetros químicos e a microbiologia de solos e águas se tornam relevantes para a determinação do potencial de biodegradação dos compostos poluentes. Considerando que as amostras de água utilizadas foram provenientes de um córrego, é possível observar que nem sempre as águas superficiais possuem uma quantidade adequada de nutrientes e biomassa para possibilitarem a biodegradação de poluentes como o biodiesel.

Após adicionar o inóculo, o éster ricinoleato de metila foi rapidamente biodegradado (Figuras 4 e 5). Pode-se observar na Figura 6 que em três dias após a adição de nutrientes e microorganismos, 97,2% e 77,8% do éster ricinoleato de metila foi removido aeróbica e anaerobicamente, de forma respectiva.

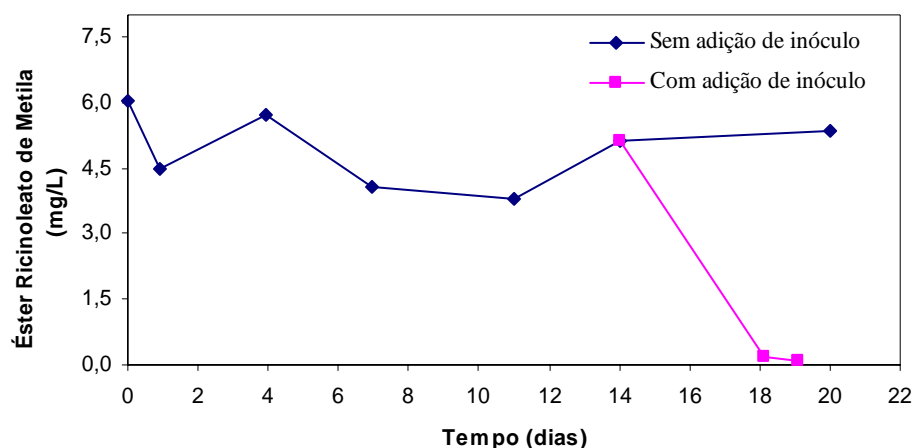


Figura 4. Biodegradacao do éster ricinoleato de metila em condições aeróbicas na presença e ausência de inóculo bacteriano (lodo ativado).

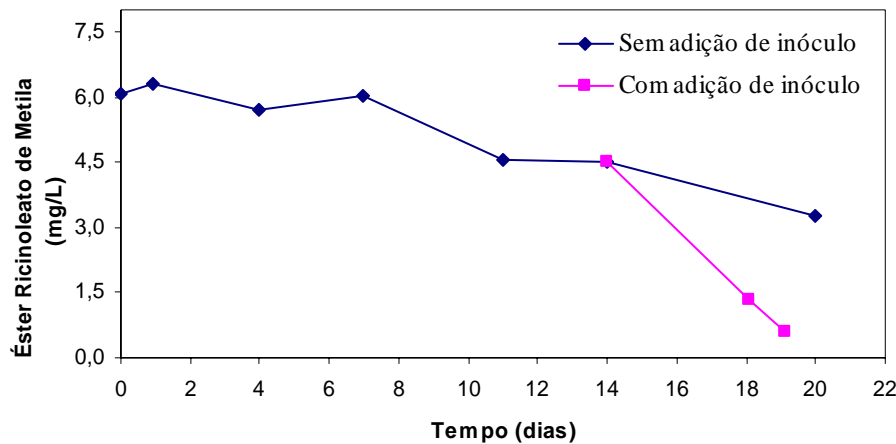


Figura 5. Biodegradação do éster ricinoleato de metila em condições anaeróbicas na presença e ausência de inóculo bacteriano (lodo ativado).

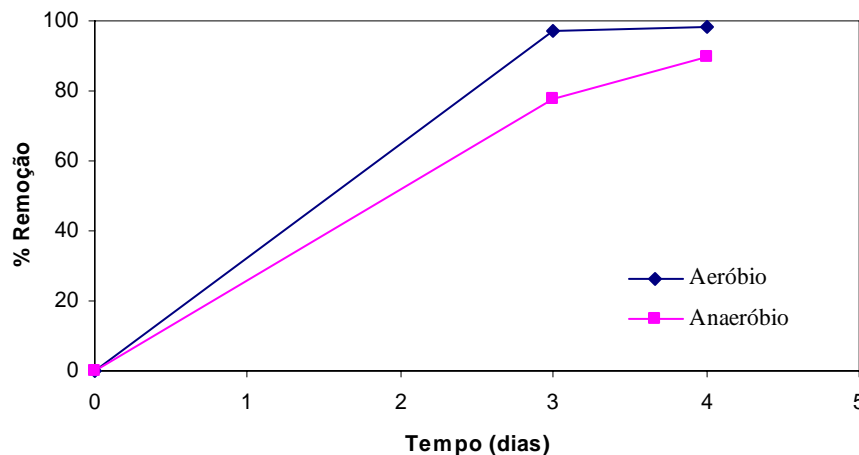


Figura 6. Porcentagem de remoção do éster ricinoleato de metila versus tempo após a adição do inóculo. Conforme observado nos resultados, o mecanismo predominante da biodegradação do biodiesel foi a atividade microbiana. Segundo Silva (2005), o biodiesel apresenta uma configuração vantajosa no que diz respeito a sua biodegradabilidade, pois sua estrutura molecular é susceptível ao ataque enzimático que utiliza o biodiesel como substrato para crescimento. O biodiesel consiste de cadeias de hidrocarboneto na forma de éster com os dois átomos de oxigênio ligados fazendo-os ser biologicamente ativos (KEMP, 2003).

Comparando-se as biodegradações aeróbica e anaeróbica (Figuras 4 e 5) foi possível avaliar a eficiência de cada uma delas no processo de oxidação-redução dos compostos do biodiesel. Nas análises de biodegradação anaeróbica, pode-se observar que mesmo sem a adição de nutrientes o ácido ricinoleato de metila foi degradado lentamente comparado aos microcosmos aeróbicos. Isso se deve ao fato de que as bactérias anaeróbicas são mais efetivas na remoção do substrato em baixas concentrações de nutrientes. Estas bactérias possuem menor coeficiente de produção celular comparado às bactérias aeróbicas o que significa que necessitam de um menor número de células para degradar a mesma quantidade de substrato. O coeficiente de produção celular pode ser obtido pelo modelo bioenergético de cinética de crescimento bacteriano, desenvolvido por McCarty (1969), por meio de relação estequiométrica e pelo número de equivalentes de elétrons em unidade de massa de célula. O efeito dos nutrientes na taxa de biodegradação aeróbica do biodiesel foi observado após adicionar o inóculo contendo 32,8 e 16,32 mgL⁻¹ de N e P, respectivamente. Na presença destes nutrientes, a biodegradação aeróbica foi mais rápida do que a biodegradação anaeróbica.



CONCLUSÕES

As análises dos microcosmos em condições aeróbicas e anaeróbicas mostraram que em águas superficiais com concentração limitante de nutrientes e microorganismos, o éster ricinoleato de metila do biodiesel de mamona não é facilmente biodegradado. Com a adição de inóculo, o éster ricinoleato de metila é rapidamente biodegradado, obtendo-se uma remoção do éster ricinoleato de metila de 98% e 90% nos reatores aeróbicos e anaeróbicos, respectivamente. Isto demonstra que estudos sobre os parâmetros químicos e a microbiologia de solos e águas impactados são de extrema importância para a determinação do potencial de biodegradação dos compostos poluentes.

Na presença de nutrientes, a taxa de biodegradação aeróbica dos compostos de biodiesel são maiores que as taxas de biodegradação anaeróbica. Entretanto, em condições limitantes de nutrientes observou-se que as bactérias anaeróbicas, por possuírem um menor coeficiente de produção celular, são mais eficientes.

Para as águas subterrâneas espera-se obter o mesmo comportamento para degradação dos poluentes do biodiesel, em virtude de que estas águas apresentam também baixas concentrações de nutrientes. A continuação desta pesquisa visa comprovar esta hipótese, por meio de estudos com microcosmos de águas subterrâneas contaminados com biodiesel de mamona. Além disso, espera-se que os compostos de biodiesel possam ser preferencialmente biodegradados quando comparados aos compostos de hidrocarbonetos presentes no diesel, afetando sua degradação. Esta proposição também deverá ser investigada no decorrer da pesquisa.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. AMERICAN SOCIETY FOR TESTING AND MATERIALS (ASTM). *Annual Book of ASTM Standards: Standards Guide for Risk-Based Corrective Action Applied at Petroleum Release Sites* (designation: E 1739-95). Philadelphia, PA, n.11.04, p. 875-917, 1992.
2. FOLLIS, P.A. An Investigation into the biodegradability of soy diesel under various environmental conditions. *Masters Thesis*. School of Natural and Environmental Sciences, Duesquesne Univesity. 58p. 1994.
3. LEUNG, D.Y.C.; KOO, B.C.P.; GUO, Y. Degradation of biodiesel under different storage conditions. *Bioresource Technology*, v. 97, p. 250-256, 2005.
4. LIU, S. & SULFITA, M. Anaerobic degradation of methyl esters by *Acetobacterium woodii* and *Eubacterium limosum*. *Journal Industrial Microbiology*, v. 13, p.321-327, 1994.
5. KEMP, D. National Standard for Biodiesel. *Setting National Fuel Quality Standards*, Paper 6, p.1 – 103, 2003.
6. McCARTY, P.L. Energetics and bacterial growth. *Presented at the 5th Rudolf Research Conference*, Rutgers, the State University, New Brunswick, NJ, July 2, 1969.
7. PROGRAMA NACIONAL DE PRODUÇÃO E USO DE BIODIESEL. *Lei nº 11.097, de 13 de janeiro de 2005*. Disponível em: <<http://www.biodiesel.gov.br/>> Acesso em 16 Nov. 2006.
8. SILVA, G.S.; RODRIGUES, S.P.R.; REZENDES, R.P.; MACIEL, B.M.M. & DIAS, J.C.T. Avaliação da Ecotoxicidade em Sistemas de Microcosmos do Biodiesel Produzido na UESC. *Anais do 11º Seminário de Iniciação Científica da UESC, Ciências Biológicas* 208, p.208 – 209, 2005.
9. ZHANG, X.; PETERSON, C.; REECE, D.; HAWS, R.; MOLLER, G. Biodegradability of biodiesel in the aquatic environment. *Trans. ASAE*, v. 41, p. 1423 –1430, 1998.