

VI-288 - BIORREMEDIAÇÃO *IN SITU* COM PEROXIDOS SÓLIDOS E SURFACTANTE DE SOLOS CONTAMINADOS

Tiago Bender Wermuth⁽¹⁾

Graduando em Engenharia Ambiental pela Universidade de Santa Cruz do Sul – UNISC, Brasil, Bolsista PROBIC-FAPERGS.

Diosnel Antonio Rodriguez Lopez⁽²⁾

Doutor em Engenharia de Materiais Metalurgia e Meio Ambiente-Berlim-Alemanha, Professor do Departamento de Engenharia, Arquitetura e Ciências Agrárias - UNISC.

Robson Luiz Tomazi⁽³⁾

Graduado em Engenharia Ambiental pela UNISC.

Endereço⁽¹⁾: Acesso Grasel, nº 1600 - Santa Cruz do Sul - RS - CEP: 96823-290 - Brasil - Tel: +55 (51) 3715-3991 - e-mail: tiago.haine@gmail.com.br

RESUMO

Os crescentes problemas de contaminação de solo por hidrocarbonetos em postos de distribuição de combustíveis vêm sendo alvos de inúmeras pesquisas. Este tipo de contaminação preocupa uma vez que estes hidrocarbonetos podem se espalhar por grandes extensões, carregados pelas águas subterrâneas, comprometendo a qualidade deste recurso e a do solo. Muitos componentes destes combustíveis possuem características carcinogênicas, o que agrava ainda mais a presença destes contaminantes no subsolo.

Diante deste contexto, inúmeras técnicas estão sendo utilizadas para remediar áreas atingidas por hidrocarbonetos derivados de petróleo. Destaca-se a biorremediação como um processo natural de remoção do contaminante contido no solo, onde se utiliza agentes biológicos capazes de modificar os poluentes alvos.

O presente trabalho objetivou avaliar a efetividade do uso de peróxidos sólidos de cálcio juntamente com a adição de sais de fosfato, nitrogênio e surfactante na biorremediação de solos contaminados por derivados de petróleo. Para isso, coletou-se uma amostra do solo contaminado, durante os trabalhos de recuperação de uma área de um posto de gasolina colocando-a numa caixa de PVC, dividida em duas partes. Uma parte foi tratada por meio da adição de peróxido de cálcio, surfactante e superfosfato (fonte de nutrientes). A outra recebeu somente a aplicação de peróxido de cálcio e superfosfato. Os resultados do tratamento deste solo foram monitorados semanalmente pelo acompanhamento dos valores dos parâmetros de umidade, pelo pH e pela temperatura. Os valores mostram que o solo tratado com peróxido de cálcio, surfactante superfosfato tiveram reduções semelhantes ao lado em que não continha o surfactante.

PALAVRAS-CHAVE: Biorremediação, Hidrocarbonetos, Peróxido de Cálcio, Surfactante e Superfosfato.

INTRODUÇÃO

Devido ao crescente número de descobertas de casos de vazamentos em postos de combustíveis, as contaminações de solos por hidrocarbonetos derivados de petróleo têm sido alvo de inúmeras pesquisas constituindo-se um desafio para os profissionais que atuam no saneamento ambiental, em função da complexidade dos fenômenos geoquímicos e bioquímicos que são catalisados a partir de sua inserção no subsolo. Este fato tem sido motivo de preocupação e repercussão na sociedade, pois essas contaminações com substâncias tóxicas podem atingir as águas subterrâneas, que estão sendo ou serão usadas como fonte de abastecimento para consumo humano (MARIANO, 2006).

Quando o combustível atinge o solo, seus componentes separam-se em três fases: dissolvida, líquida e gasosa. Uma pequena fração dos componentes da mistura se dissolve na água do lençol freático, uma segunda porção é retida nos espaços porosos do solo na sua forma líquida pura como saturação residual e outra parte dos contaminantes passíveis de evaporação dão origem a contaminação atmosférica (NADIM et al., 1999).

Essa complexidade de contaminação também se deve ao fato de uma ampla utilização de diferentes composições de produtos com distintas propriedades, cuja principal característica é a baixa solubilidade e a pouca persistência do solo. No caso de combustíveis como a gasolina e o óleo diesel, têm-se na sua composição os hidrocarbonetos monoaromáticos, como o benzeno, tolueno, etilbenzeno e xilenos, chamados

coletivamente de compostos BTEX. Os mesmos são os constituintes que tem maior solubilidade em água e, portanto, são os contaminantes com maior potencial de poluir o lençol freático.

Atualmente, inúmeras pesquisas relacionadas à remediação de áreas atingidas por hidrocarbonetos são realizadas com a finalidade de restaurar a qualidade dos solos e das águas subterrâneas contaminadas (MARIANO, 2006).

A biorremediação com base na atividade metabólica dos microrganismos tem muitas vantagens e nas últimas décadas, técnicas foram desenvolvidas e melhoradas para limpar solos contaminados bem como se tornar uma alternativa valiosa aos tratamentos químicos e físicos.

Assim, tecnologias inovadoras de remediação *in situ* começaram a ser desenvolvidas. Porém, estas são limitadas se o solo for do tipo argiloso, pois os compostos se adsorvem fortemente, limitando a sua biodisponibilidade para os microrganismos.

Para Alexander (1999), a eficiência da biorremediação é uma função da capacidade dos degradadores microbianos inoculados ou endógenos em permanecerem ativos no ambiente natural. Portanto, aumentar a capacidade dos microrganismos degradadores inoculados por meio da bioaugmentação ou promover a atividade dos microrganismos degradadores endógenos por bioestimulação poderia melhorar esta eficiência.

Na bioestimulação, o solo é alterado com nutrientes adicionados, contendo principalmente nitrogênio e fósforo ou fontes de biossurfactantes conhecidos para melhorar a biodisponibilidade dos TPH no local, aumentando assim a eficiência de biorremediação. Assim, a aplicação de bioaugmentação e bioestimulação é necessária para melhorar esta eficiência, que é afetada pela concentração e componente da poluição por hidrocarbonetos.

Observa-se que para a estimulação da atividade microbiológica, deve ser realizada a adição de soluções diluídas com peróxidos sólidos com formulações apropriadas e estáveis. Nesse sentido, as fontes sólidas de oxigênio se decompõem na presença da água para produzir oxigênio molecular e água tendo sido estudados também como uma fonte de liberação de oxigênio no solo mais lenta do que a direta adição de peróxido de hidrogênio.

Os peróxidos de magnésio e de cálcio são pouco solúveis na água, o qual lhes permite liberar oxigênio por um longo período de tempo. Muitos estudos têm demonstrado que a adição de CaO_2 no solo saturado resulta no aumento da concentração do oxigênio dissolvido e promove a biodegradação de contaminantes dissolvidos.

Um dos maiores problemas relacionados ao processo de biorremediação se dá pela dificuldade do contato entre os microrganismos e a molécula do hidrocarboneto. Neste sentido, a utilização de surfactantes torna-se uma ferramenta utilizada para reduzir as tensões superficiais que inibem a metabolização do contaminante. Os surfactantes são uma ampla classe de moléculas anfipáticas (com domínio polar e apolar) que são capazes de diminuir as tensões superficiais ou interfaciais entre gases, líquidos e sólidos com uma grande variedade de aplicações, tanto industriais como na limpeza de locais contaminados com hidrocarbonetos. Contudo, surfactantes sintéticos, obtidos a partir da síntese química mostram alta toxicidade, baixa biodegradabilidade e eficiência somente em faixas pequenas de pH e temperatura. Devido a essas limitações, o interesse pelos biossurfactantes (surfactante de origem microbiana), produzido por certas bactérias, leveduras e fungos, tem aumentado devido a baixa toxicidade, natureza biodegradável e eficiência em valores de temperatura, pH e salinidade extremos e seu papel na recuperação de ecossistemas pela aceleração da biodegradação dos hidrocarbonetos provenientes do vazamento. Além disso, alguns biossurfactantes apresentam capacidades antifúngicas, anti-virais e de sorção de metais e são utilizados na indústria do petróleo para aumentar a recuperação do petróleo (OLIVEIRA et al., 2005; PRUTHI e CAMEOTRA, 1997).

Dessa forma, as aplicações de técnicas de biorremediação vêm se destacando como uma das estratégias mais promissoras a serem adotadas no tratamento de solos contaminados por hidrocarbonetos de petróleo (TRINDADE, 2005).

MATERIAIS E MÉTODOS

O solo contaminado por hidrocarbonetos utilizado para a realização do presente trabalho foi coletado durante os trabalhos de recuperação de uma área, onde ocorreram vazamentos nos tanques de combustíveis de um posto de gasolina. O solo coletado foi acondicionado em uma caixa de PVC, a qual foi dividida em duas partes, para que assim pudesse ser feito um comparativo entre a eficiência de um processo de biorremediação, em que na primeira parte, identificado como lado F, foram adicionadas soluções contendo o surfactante,

peróxido de cálcio e o superfosfato e na segunda parte, identificado como lado T, foram utilizados somente peróxido de cálcio e superfosfato (Fosfato Natural Reativo). A Figura 1 ilustra o sistema montado.

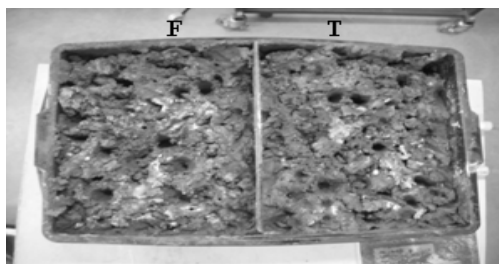


Figura 1: Divisão do conteúdo da caixa.

Fonte: Registro do autor, 2010

Na primeira solução, foram adicionados 546 mg de brometo de cetiltrimetilamônio (CTBA), utilizado com surfactante, peróxido de cálcio (CaO_2) de 10% vol/vol e 5g de superfosfato. Já na segunda solução foram adicionados peróxido de cálcio (CaO_2) de 10 % vol/vol e 5g de superfosfato. Todas as soluções foram preparadas para um litro de água deionizada, que posteriormente foram aplicados no solo contaminado. Na Figura 2, esta apresentada à preparação das soluções.



Figura 2: Preparação da mistura das soluções

Fonte: Registro do autor, 2010

As aplicações destas soluções foram realizadas a cada 15 dias. Ao longo dos 220 dias monitorados, foram monitorados os valores de umidade e pH e temperatura. A Figura 3 demonstra as aplicações realizadas no solo contaminado.



Figura 3: Aplicação das soluções

Fonte: Registro do autor, 2010

Para determinar a eficiência dos processos aqui usados, o solo utilizado foi caracterizado por meio de análises químicas e biológicas. Para as análises químicas, uma amostra composta do solo (coletada em vários pontos e profundidades foi misturada para se ter uma amostra mais homogeneia do solo) foi retirada e colocada num recipiente de vidro até completar o volume do mesmo, sem deixar espaço vazio. A entrada do frasco foi fechada primeiramente com para-filme, acima da qual foi colocada a tampa do plástico. Isto foi realizado para diminuir a possibilidade de volatilização dos compostos presentes no solo. Os frascos fechados foram

colocados num recipiente sob refrigeração a $T=4^{\circ}\text{C}$ e encaminhadas para análises nos Laboratórios da *Analytical Solutions* do Grupo Bureau Veritas de São Paulo – SP. Os compostos analisados foram: Benzeno, Tolueno, Etilbenzeno, Xileno, TPH-GRO (*Gasoline Range Organics*), TPH-ORO (*Oil Range Organics*) e TPH – DRO (*Diesel Range Organics*). As análises foram realizadas segundo as normas USEPA 8015D, USEPA 5021A e USEPA 8021B. Quanto à caracterização microbiológica do solo em estudo, foram coletadas duas amostras de cada ponto já descrito, onde a mesmas foram conservadas de acordo com o procedimento adotado acima. Posteriormente as amostras foram encaminhadas para análise no Laboratório de Diagnóstico Fitossanitário e Consultoria localizada na cidade de Porto Alegre/RS.

Em relação à preparação do Peróxido de Cálcio, o mesmo foi realizado no Laboratório de Materiais Cerâmicos – LACER da Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Para determinação dos índices disponíveis de oxigênio contidos no peróxido de cálcio, utilizou-se a metodologia descrita na ficha do produto comercial IXPÉR® 75C Calcium Peroxide (<http://www.solvaychemicals.us>).

RESULTADOS E DISCUSSÕES:

Os resultados do tratamento deste solo foram monitorados semanalmente, pelo acompanhamento dos valores dos parâmetros pH, umidade e a temperatura. Ao longo do período de testes, observou-se variações no crescimento das populações de microrganismos em relação à amostra inicial de solo coletada.

Quanto ao valor médio encontrado de pH nos dois lados em análise este ficou em torno de 7,7. Observou-se que o valor médio encontrado de pH é considerado adequado para promover a liberação de oxigênio pela reação do peróxido de cálcio e do surfactante. Alguns autores colocam que a faixa ideal de pH para a biodegradação d TPH no solo é em torno de 5,5 – 8,5.

A umidade do solo se manteve na faixa de 79% para as ambas as partes do sistema, constatando-se que este fator não foi limitante ao desenvolvimento dos microrganismos, visto que a faixa ideal deveria estar entre 40 a 85% da capacidade de retenção de água no solo.

Com relação ao desenvolvimento dos microrganismos, observou-se que as Unidades Formadoras de Colônias (UFC) de fungos e bactérias tiveram diferentes comportamentos de crescimento ao longo do período analisado. Em relação ao lado F (Peróxido de Cálcio, Superfosfato e Surfactante), observou-se no início do processo um aumento nas populações de fungos e bactérias. Isto se justifica em função da maior disponibilidade de substrato, onde primeiramente os fungos foram os responsáveis em assimilar os compostos com cadeias moleculares mais complexas, transformando-as em compostos de cadeias mais simples de fácil assimilação para as bactérias, o que possivelmente pode ter contribuído para o aumento nos 60 dias iniciais de testes. Já no período final dos testes, observou-se uma diminuição nas populações de bactérias e fungos, talvez ocorrido pela diminuição do substrato disponível no solo.

Quanto ao lado T (Peróxido de Cálcio e Superfosfato) analisou-se um comportamento semelhante de crescimento se comparado ao solo, em que se fez a adição de surfactante. No início do processo, observou-se um aumento nas populações de microrganismos. Já na etapa final dos testes as UFC de bactérias apresentaram um valor mais alto em relação à amostra bruta, o que pode ser associado à capacidade de assimilação de compostos mais facilmente degradados pelas mesmas. Os resultados da contagem de UFC de bactérias e fungos, para ambas as partes do sistema, estão apresentados na tabela 1.

Tabela 1: Contagem das UFC de bactérias e fungos

Amostra de solo contaminado	Solos com surfactante		Solo sem surfactante	
	UFC. g^{-1} de bactérias	UFC. g^{-1} de fungos	UFC. g^{-1} de bactérias	UFC. g^{-1} de fungos
Bruto	1×10^7	<5000	1×10^7	<5000
Após 30 dias	2×10^8	1×10^{10}	1×10^8	3×10^{10}
Após 60 dias	1×10^7	1×10^{10}	2×10^7	1×10^{10}
Após 160 dias	4×10^5	0	1×10^5	0
Após 220 dias	3×10^6	2×10^3	2×10^7	5×10^2

Em relação aos compostos BTEX, os mesmos apresentaram uma significativa redução nas concentrações durante o período de monitoramento. Na Figura 4, pode-se observar o comportamento da redução dos BTEX ao longo do período monitorado.

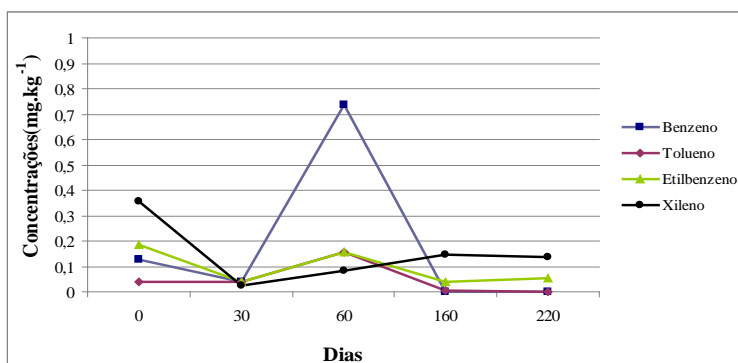


Figura 4: Resultados dos BTEX do solo contaminado utilizando surfactante

Observa-se que a amostra de solo enviada para análise após os 30 dias iniciais de tratamento, apresentaram reduções significativas, se comparado com a análise realizada com a amostra bruta de solo contaminado. A redução dos BTEX se deu na ordem de 69%, 80% e 94% para o benzeno, etilbenzeno e xileno respectivamente. De posse dos resultados pode se perceber que os compostos etilbenzeno e xileno foram os componentes mais facilmente degradados pelos microrganismos do que o benzeno e o tolueno.

Quanto às concentrações encontradas nos 60 dias de testes, analisou-se um aumento dos valores destes compostos. Este aumento pode ter se dado em função de que o surfactante pode ter promovido a dessorção dos contaminantes, os quais podem ter se acumulado na parte inferior do sistema.

No período final de tratamento observou-se que os compostos apresentaram expressivas reduções quanto as suas concentrações. A taxa de degradação foi na ordem de 100%, 100%, 93% e 94,4% para o benzeno, tolueno, etilbenzeno e xileno, respectivamente. O benzeno apresentou uma maior porcentagem de remoção se comparados com o etilbenzeno e o xileno, pois o mesmo apresentou uma maior solubilidade, assim tornando-se mais biodisponível aos microrganismos.

Em relação aos resultados da degradação do TPH – GRO (hidrocarbonetos com cadeia C5-C10), TPH – DRO (hidrocarbonetos com cadeia C10-C28) e o TPH – ORO (hidrocarbonetos com cadeia C20-C36) nos solos, se encontram detalhados na Figura 5.

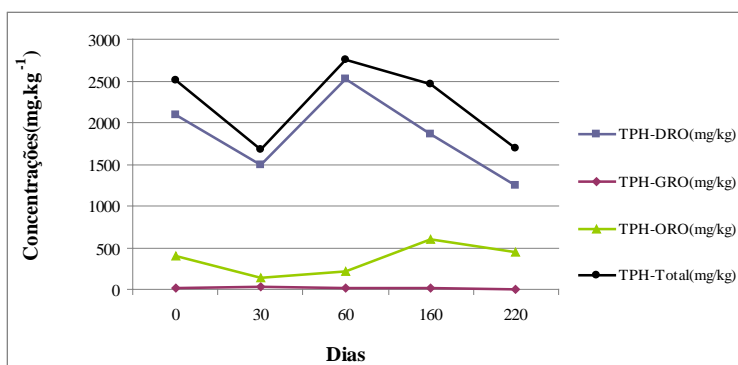


Figura 5: Resultados dos TPHs no solo contaminado utilizando surfactante

Na Figura 5 pode-se perceber uma redução nas concentrações de TPH – DRO, ORO e o TPH - TOTAL na ordem de 28%, 64,3% e 33,5% respectivamente, durante um intervalo de 30 dias. Observa-se que a remoção do TPH-GRO (faixa da gasolina) no solo contaminado é mais eficiente se comparados a outros compostos contidos no solo em análise. Este fato pode estar associado à alta volatilidade e a maior solubilidade em água, o que torna o composto mais suscetível ao processo biológico. De acordo com Allenbrandt (2009) esse comportamento do TPH-GRO pode estar relacionado a dois fatos: o primeiro se refere à maior biodisponibilidade destes compostos e o segundo ao tamanho das cadeias a serem degradadas. O TPH-GRO apresenta cadeias menores, portanto são primeiramente degradados pela ação dos microrganismos, enquanto que o TPH-DRO e o TPH-ORO apresentam cadeias maiores, o que dificulta a sua degradação.

Na amostragem retirada nos 60 dias houve novamente um aumento nas concentrações dos contaminantes, o qual pode ser explicado pelo mesmo fenômeno detalhado anteriormente proveniente do efeito do surfactante sobre a dessorção dos compostos.

As análises realizadas no intervalo de 220 dias mostraram uma remoção de 40,4%, 91,5% e 32,9% para o TPH – DRO, GRO e o TPH – TOTAL. As análises das concentrações que avaliaram o TPH – ORO, mostraram uma pequena elevação se comparado com a amostra bruta do solo. Este fato deve estar associado à heterogeneidade da contaminação de TPH do solo e do processo de degradação, visto que este composto apresenta grandes cadeias moleculares em sua composição.

Para a degradação dos compostos de BTEX do solo contaminado, sem a adição de surfactantes, os resultados para os 220 dias de monitoramento encontram-se na Figura 6.

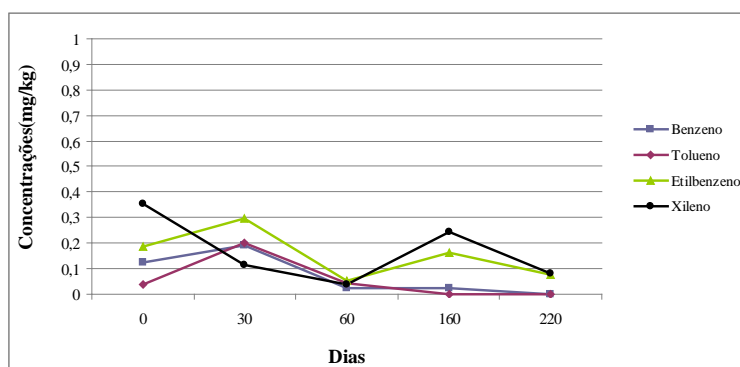


Figura 6: Resultados BTEX do solo contaminado sem surfactante

Quanto à amostra enviada após os 30 dias de tratamento onde se aplicou no solo em análise somente o Peróxido de Cálcio e Superfosfato (Fosfato Natural Reativo), observou-se aumentos nas concentrações de alguns compostos. Porém, o Xileno foi o único composto a apresentar uma redução de 70% na sua concentração.

Nos 60 dias iniciais de testes, observou-se importantes reduções nas concentrações dos compostos, ocasionados provavelmente pela liberação do oxigênio associado ao nutriente adicionado no solo, o que pode ter aumentado a proliferação de microrganismos responsáveis pela transformação biológica do contaminante.

Em relação ao período final de tratamento observou-se reduções significativas nas concentrações dos BTEX. As reduções se deram na ordem de 100%, 100%, 60% e 77,8%, para o benzeno, tolueno, etilbenzeno e o xileno (soma total de xilenos) respectivamente. De posse dos resultados encontrados nas análises, notou-se que os compostos que mais facilmente foram degradados foram o benzeno e o tolueno. Quanto aos compostos etilbenzeno e xileno, os mesmos apresentaram reduções expressivas durante o processo da biorremediação. Porém como os mesmos estavam em uma maior concentração no início do processo, ou seja, estando mais biodisponível no solo, a sua redução foi menor se comparado com os outros dois compostos mais facilmente degradados citados acima. Assim, nota-se que a análise das remoções dos componentes individuais do BTEX mostra dependência da concentração inicial dos mesmos. Dessa forma, observa-se que uma maior degradação do tolueno e do xileno se reflete numa baixa degradação do benzeno e do etilbenzeno.

Quanto aos valores de TPH encontrados no solo sem a adição de surfactante ao longo da execução do presente trabalho encontram-se na Figura 7.

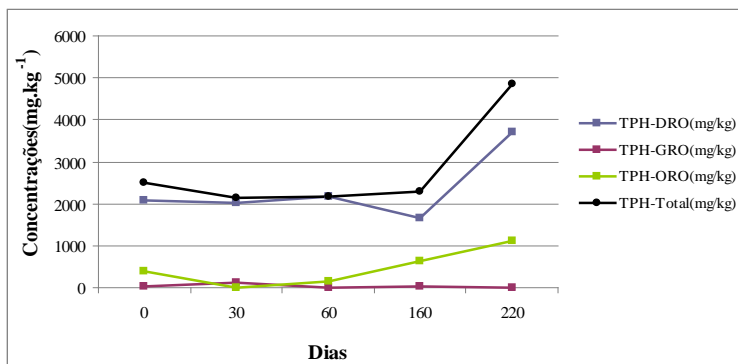


Figura 7: Resultados dos TPHs no solo contaminado sem surfactante.

No período inicial de testes, observou-se que alguns compostos apresentaram reduções nas suas concentrações. Destaque para o TPH – DRO, que compreende a faixa do diesel com uma pequena redução, mas de certa forma significativa, visto que o mesmo apresenta grande cadeia molecular, o que torna mais difícil a assimilação por parte dos microrganismos que consequentemente torna mais lento o processo biológico.

Após 60 dias de monitoramento observou-se uma redução na concentração dos compostos TPH – GRO, ORO e Total. A taxa de degradação do TPH – GRO, durante este período foi de 84,07%, mostrando ser um indicativo que a atividade biológica no solo, comprovando o fato de que quanto maior for a disponibilidade de substrato maior será a atividade biológica.

Analisando a degradação dos compostos TPHs presentes no solo, observou-se que ao final do trabalho ao invés de estar ocorrendo uma redução dos compostos, principalmente do TPH – DRO e ORO, os mesmos apresentaram um grande aumento na sua concentração. Este fato pode estar associado à grande heterogeneidade do solo em estudo.

Reiterando o que já foi descrito anteriormente, a remoção do TPH-GRO foi mais eficiente que os demais compostos em análise. Isso se deve ao fato do mesmo ser mais solúvel em água, o que aumentou a sua disponibilidade para biodegradação. Além disso, o mesmo apresenta cadeias moleculares menores que são primeiramente degradados pelos microrganismos, enquanto que o TPH-DRO e o TPH-ORO, apresentam cadeias maiores, o que de certa forma retarda a atividade biológica por parte dos microrganismos.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Quanto ao sistema de tratamento proposto neste trabalho, observou-se que o procedimento adotado não atingiu plenamente os objetivos propostos, pois se compararmos o comportamento dos TPHs para ambas as partes do sistema, pode-se perceber que, ao invés de ter reduzidas as suas concentrações ao final do trabalho, houve um aumento das mesmas.

Os resultados apontaram que a aplicação do surfactante e peróxido de cálcio, fizeram com que o pH do solo aumentasse em função da reação alcalina no meio. O valor médio encontrado de pH para ambos os lados do sistema foi de 7,7. Segundo fontes bibliográficas, esse valor médio de pH é considerado adequado para promover a liberação de oxigênio pela reação do peróxido de cálcio e do surfactante.

Em relação ao desenvolvimento de UFC de bactérias e de fungos, para ambas as partes do sistema, observou-se comportamentos semelhantes quanto à proliferação dos mesmos no meio. Pode-se perceber ainda que na etapa inicial em função do aumento na concentração do substrato, houve um aumento nas populações de microrganismos, responsáveis pela captura, degradação e transformação do contaminante. Ao final do processo, observou-se reduções no número de microrganismos devido ao fato de que o composto mais facilmente degradado já tinha sido consumido, ficando somente um composto mais refratário para as populações presentes.

Ao longo da realização do experimento foram encontrados resultados satisfatórios para os compostos de BTEX no solo, tanto para a parte que recebeu adição de surfactante conjuntamente com peróxido de cálcio e nutrientes, quanto para a parte que recebeu apenas peróxido de cálcio associado a nutrientes. No final do

período de testes todos os valores estavam abaixo dos valores de orientação estabelecidos pela Resolução nº 420 do CONAMA.

Em relação à degradação dos compostos dos TPHs entre os dois lados, notou-se que o composto mais facilmente assimilado pelos microrganismos foi o TPH-GRO, que apresentou um valor médio de 88% na redução de sua concentração. Quanto aos demais compostos, os mesmos também apresentaram reduções nas suas concentrações ao longo do período de monitoramento, porém não muito significativos. Este fato pode estar associado, como já descrito ao longo do trabalho, as suas cadeias moleculares maiores, o que de certa forma reduz a atividade biológica dos microrganismos.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Allebrandt, S.R., Uso de peróxidos na bioestimulação de bactérias endógenas sobre hidrocarbonetos derivados de petróleo em solos contaminados, PPGTA-UNISC, p.93, 2009.
2. Alexander, M. In: Biodegradation and Bioremediation. AcademicPress, 2nd ed., San Diego, U.S.A., 453p (1999).
3. Brasil, Resolução do CONAMA nº- 420/Dezembro de 2009, Conselho Nacional do Meio Ambiente, Disponível na internet: <http://www.mma.gov.br/conama/>. Acesso em janeiro de 2010.
4. Mariano, Adriano Pinto. Avaliação do potencial de biorremediação de solos e de águas subterrâneas contaminados com óleo Diesel. Rio Claro: [s.n.], 2006.
5. Nadim, F.; Hoag, G. E.; Liu, S.; Carley, R. J.; Zack, P. Detection and remediation of soil and aquifer systems contaminated with petroleum products: an overview. J. of Petrol Sci. and Eng., v.26, p.169-178, 1999.
6. Oliveira, F. J. S; Vasquez, L.; França, F. P. Production of biosurfactants by *Pseudomonas alcaligenes* using palm oil. In: 2TH MERCOSUR CONGRESS ON CHEMICAL ENGINEERING (ENPROMER), Costa Verde – RJ, Brazil, 2005.
7. Trindade, P. V. O., Rizzo, A. C. L., Soriano, A. U., Sobral, L. G. S. e Leite, S. G. F. Bioremediation of a weathered and a recently oilcontaminated soils from Brazil: a comparison study. Chemosphere, 58: 515-522(2005).
8. <http://www.solvaychemicals.us>. Acesso em dezembro de 2010.