

Biorremediação de solo contaminado por óleo lubrificante usado em biopilha de bancada

Bioremediation of soil contaminated by lubricating oil used in biopil-stand Marcela Viotti

- ¹ Marcela Aguiar Portugal Viotti maoceano@hotmail.com
¹ Thiago Fonseca da Costa
¹ Willen Docek Mote Amaral
² Denise Celeste Godoy de Andrade Rodrigues

- ¹ Graduação em Engenharia Ambiental pelo Centro Universitário de Volta Redonda - UniFOA
² Centro Universitário de Volta Redonda – UniFOA; Doutorado em Tecnologia Bioquímica Farmacêutica pela Universidade de São Paulo.

RESUMO

A contaminação de solos e águas subterrâneas por petroderivados tem aumentado nas últimas décadas, causando graves impactos ambientais. Uma variedade de tecnologias e procedimentos tem sido utilizados atualmente, e um grande número de novas tecnologias tem se mostrado bastante atrativas e promissoras, destacando-se a biorremediação. Dentre as estratégias de biorremediação, o bioestímulo (ou bioestimulação) e o bioaumento têm sido as mais reportadas na literatura atual. Este trabalho teve como objetivo estudar o processo de biorremediação de solo artificialmente contaminado por óleo lubrificante usado. Utilizou-se como controle a atenuação natural. Ao todo, o experimento foi dividido em 8 biopilhas de bancada em duplicata, monitoradas semanalmente quanto à umidade e aeradas por revolvimento mecânico, durante 63 dias, contendo 500 g de massa total. A quantidade de estruturante adicionada ao solo foi de 10% p/p e a de inóculo 10% p/p. Os resultados obtidos demonstram que em todos os sistemas estudados houve aumento dos micro-organismos heterotróficos totais e a redução dos n-alcenos. Portanto a biorremediação com bioestímulo (BE) mostra-se uma alternativa eficaz na remediação de solos contaminados por óleo lubrificante usado.

Palavras-chave

Biorremediação; atenuação natural; bioestímulo; bioaumento; hidrocarbonetos.

ABSTRACT

The contamination of soil and underground waters by hydrocarbon fuel has been increasing in the last decades, causing serious environmental impacts. A variety of technologies and proceedings has been used at present, and a great number of new technologies has if shown quite attractive and promising, when the biorremediation is outstanding. Among the strategies of bioremediation, the biostimulation and the bioaugmentation techniques have been the most used in the current literature. Thus this work aimed to evaluate the process of biorremediation of a soil artificially contaminated by lubricating oil getting a job biopilhas of row of seats. The natural attenuation was used as control. The experiment was divided in 8 microcosms (500 g samples) in duplicate and aerated by mixing during 63 days. The quantity of estruturante added to the ground was of 10 % p/p and her of inóculo 10 % p/p. The results demonstrate that in all the studied systems there was increase of the total heterotrophic microorganisms and the reduction of the normal alkanes. So the biorremediation with b biostimulation (BE) shows off an efficient alternative in the remediation of soils contaminated by lubricating oil.

Keywords

bioremediation; natural attenuation; biostimulation; bioaugmentation; hydrocarbons.

Como você deve citar?

VIOTTI, Marcela Aguiar Portugal et al. Biorremediação de solo contaminado por óleo lubrificante usado em biopilha de bancada. **Cadernos UniFOA**, Volta Redonda, n. 34, p. 5-14, ago. 2017.

1 INTRODUÇÃO

A contaminação do solo pode acarretar a perda de algumas ou várias de suas funções e também atingir águas subterrâneas. Dependendo do nível de contaminação e do tipo de contaminante, surgem múltiplas consequências negativas para a cadeia alimentar, para a saúde pública e para os diversos ecossistemas e recursos naturais (RODRIGUES e DUARTE, 2003).

Os acidentes causados por petróleo e seus derivados vem preocupando muito as sociedades, devido a esses acidentes serem, muitas vezes, irreversíveis e de difícil solução. Um dos maiores responsáveis por eles são os postos de combustíveis, já que contêm em sua armazenagem combustível e óleos lubrificantes. A biorremediação vem sendo muito estudada para a recuperação de áreas contaminadas, pois o tratamento é o menos agressivo e praticamente não interfere na manutenção do equilíbrio ecológico (LOPES, 2014). Além disso, apresenta simplicidade de manutenção, aplicação em grandes áreas, baixo custo e pode causar a destruição completa do contaminante (BENTO et al., 2005).

O grande crescimento populacional agravou o aumento de resíduos sólidos, líquidos e gasosos, gerando um alto impacto ambiental, dificultando o controle e destinação correta e, dentre esses resíduos, estão o hidrocarbonetos aromáticos policíclicos (HAPs). (JACQUES, 2007)

Os hidrocarbonetos aromáticos policíclicos (HAPs) são compostos mutagênicos e carcinogênicos aos humanos e aos animais que são introduzidos no ambiente em grandes quantidades, devido às atividades relacionadas à extração, ao transporte, ao refino, à transformação e à utilização do petróleo e de seus derivados. Apesar disso, a grande maioria dos microrganismos do solo não possui a capacidade de degradá-los, o que resulta na sua acumulação no ambiente e na consequente contaminação dos ecossistemas. (JACQUES, 2007)

Uma estratégia para a eliminação dos HAPs do solo é através da biorremediação, na qual os microrganismos que apresentam capacidade de metabolizar esses compostos irão transformá-los em substâncias inertes, CO₂ e água. No entanto, essa biotecnologia pode ser limitada pela falta de microrganismos degradadores dos HAPs no solo, pela presença de condições ambientais desfavoráveis a eles ou pela baixa biodisponibilidade dos contaminantes à microbiota degradadora. Para superar essas limitações e promover uma eficiente remoção dos contaminantes do ambiente, várias técnicas de biorremediação foram desenvolvidas, como biorremediação passiva, bioaugmentação, bioestimulação, fitorremediação, *landfarming*, compostagem e biorreatores. (JACQUES, 2007)

Os hidrocarbonetos totais de petróleo são formados por átomos de carbono e hidrogênio, além de pequenas quantidades de enxofre, nitrogênio e oxigênio em proporções variáveis. A composição percentual aproximada dos diversos elementos químicos encontra-se na Tabela 1 (KOLESNIKOVAS, 2006).

Tabela 1 - Composição do Petróleo

Elemento	Concentração Percentual %
Carbono	81 a 88
Hidrogênio	10 a 14
Oxigênio	0,001 a 1,2
Nitrogênio	0,002 a 1,7
Enxofre	0,01 a 5

Fonte: KOLESNIKOVAS, 2006

Contaminações de solos com hidrocarbonetos de petróleo são um problema ambiental com abrangência mundial, devido à alta demanda de produtos refinados de petróleo. As fontes são múltiplas e estão relacionadas à exploração, produção, armazenamento, transporte, distribuição e à destinação final de petróleo e seus derivados. (BERGER, 2005)

Em um ambiente contaminado, os hidrocarbonetos são, geralmente, degradados por bactérias, havendo também a possibilidade de atuação de fungos nesse processo. Porém, a contribuição de cada um varia com os fatores ambientais e as propriedades físico-químicas do solo (CUNHA, 1996).

Para remediar solos impactados por derivados de petróleo, uma variedade de tecnologias e procedimentos tem sido utilizada atualmente, e um grande número de novas tecnologias tem se mostrado bastante atrativas e promissoras; dentre elas a biorremediação (BENTO et al., 2005; CHAGAS-SPINELLI, 2007). Tal tecnologia abrange um grupo de técnicas que, associadas a diferentes estratégias de tratamento, exploram a diversidade genética e a versatilidade metabólica de microrganismos para transformar contaminantes ambientais em produtos finais mais estáveis e inócuos, os quais podem ser integrados aos ciclos biogeoquímicos (MARIANO et al., 2007; JACCQUES et al., 2008).

Algumas condições hidrogeológicas podem influenciar na biorremediação como: permeabilidade do solo e materiais de subsuperfície, tipo de solo, profundidade do nível de água, concentração de minerais, potencial redox, pH, temperatura, que devem ser sempre monitorados para não comprometer a biorremediação. (MARTINS, 2010)

O presente trabalho teve como objetivo estudar o processo de biorremediação de solo contaminado artificialmente com óleo lubrificante usado.

2 METODOLOGIA

Neste experimento, foram testadas 8 condições diferentes, a saber: atenuação natural monitorada, na qual apenas o contaminante foi adicionado ao solo; bioestímulo, no qual o solo contaminado foi adicionado apenas de nutrientes; bioestímulo com bioaumento, no qual o solo contaminado foi adicionado de nutrientes e inóculo microbiano; bioestímulo com bioaumento e material estruturante, no qual o solo contaminado foi adicionado de nutriente, inóculo microbiano e material estruturante.

2.1 Coleta do inóculo

O solo de manguezais é rico em matéria orgânica e possui um grande fluxo de ciclagem de nutrientes, sendo o manguezal um berçário para inúmeras espécies e lar de uma grande quantidade de organismos decompositores que fazem essa ciclagem de matéria orgânica, sendo, portanto organismos degradadores de carbono. O óleo lubrificante como derivado do petróleo é constituído por longas e diversas moléculas de carbono mais complexas e de difícil degradação, além de aditivos que determinam características do óleo, como viscosidade, dispersão, anticorrosão, entre outras, e metais presentes, devido ao desgaste das partes internas do motor. O objetivo da escolha do solo de manguezal é utilizar os organismos ali presentes degradadores de carbono na degradação do carbono presente no óleo lubrificante através da técnica de bioaugmentação.

Segundo Bugg e Winfield (1998), o crescimento de microrganismos provenientes de sedimento de manguezal, em condições laboratoriais como em placas com petróleo, pode ser justificado pela grande quantidade de compostos aromáticos brutos que ocorrem naturalmente nesse ecossistema, como a celulose, a lignina e o tanino, que são parcialmente decompostos no sedimento. Assim, as mesmas

vias enzimáticas necessárias para a degradação desses compostos naturais podem ser utilizadas para a degradação dos hidrocarbonetos provenientes do petróleo. Além disso, pode haver aumento na capacidade de biodegradação dos hidrocarbonetos em algumas populações de microrganismos nativos, em ambientes poluídos com óleo, processo chamado de adaptação, no qual existem três mecanismos: (1) indução, (2) depressão de enzimas e alterações genéticas e (3) enriquecimento seletivo (SPAIN et al., 1980).

A coleta de sedimento foi realizada no mangue do Pontal, Angra dos Reis, Rio de Janeiro (22°57'06"S 44°19'58" O) (Figura 1). O solo foi obtido a partir da camada superficial de sedimento (de 0 a 5 cm), em nove pontos aleatórios do manguezal. A seguir, foi colocado em recipiente de vidro estéril com o auxílio de uma espátula, posteriormente conservado em geladeira até a montagem do experimento.

Figura 1 - Foto Aérea do Mangue do Pontal (área de coleta do inoculo)



Fonte: dos autores, 2017.

2.2 Coleta do Óleo Lubrificante Usado

O óleo lubrificante utilizado neste trabalho foi o 20W-50 de uma das marcas mais utilizadas no país para motocicletas 4 tempos ciclo Otto. O produto foi extraído de um motor de 150cc que já apresentava bastante sinal de desgaste.

2.3 Preparo do Material Estruturante

Os materiais estruturantes empregados foram bagaço de cana-de-açúcar, casca de coco, fibra de palmeira, serragem e bambu.

Após serem coletados, limpos e secos ao sol por 5 dias, os estruturantes foram levados ao laboratório onde foram secos em estufa por mais 72 horas a 60 °C, para retirar a umidade.

Posteriormente, foram triturados no moinho de facas, para alcançar uma granulometria de 8 mesh.

2.4 Montagem do experimento

No experimento, foram utilizados 6 Kg de solo argiloso contaminado com óleo lubrificante usado, que foi dividido em 16 biopilhas de bancada, em duplicata: 2 para atenuação natural monitorada (C1

e C2), 2 para bioestímulo (BE1 e BE2); 2 para bioestímulo com bioaumentação (BEA1 e BEA2); 10 para bioestímulo com bioaumentação e adição de material estruturante (E1A, E2B, E2A, E2B, E3A, E3B, E4A, E4B, E5A e E5B).

Na Tabela 2, encontra-se a composição da solução de nutrientes utilizada e, na Tabela 3, as quantidades mássicas utilizadas em cada biopilha. A quantidade de estruturante adicionada ao solo foi de 10% p/p e a de inóculo 10% p/p.

Após a montagem, as biopilhas foram monitoradas semanalmente quanto à umidade, mantida em 50% da capacidade de campo, e aeradas por revolvimento mecânico, durante 63 dias.

Tabela 2 - Composição do meio de sais minerais.

Componentes	Concentração (g.L ⁻¹)
NH ₄ Cl	4,0
KH ₂ PO ₄	2,5
NaCl	0,5
MgSO ₄	0,3
FeCl ₃ .6 H ₂ O	0,03
CaCl ₂	0,01
MnCl ₂ .4H ₂ O	0,01
pH= 7,0 ± 0,2	

Fonte: dos autores, 2017.

Tabela 3 - Montagem do experimento

Sistema	Código	Massa solo contaminado (g)	Massa de solo contaminado com nutrientes (g)	Massa de estruturante (g)	Massa de inóculo (g)
Controle (atenuação natural)	C1	500	---	---	---
	C2	500	---	---	---
Bioestímulo	BE1	---	500	---	---
	BE2	---	500	---	---
Bioestímulo com Bioaumentação	BEA1	---	450	---	50
	BEA2	---	450	---	50
Bioestímulo com Bioaumentação e bagaço de cana-de-açúcar	E1A	---	400	50	50
	E1B	---	400	50	50
Bioestímulo com Bioaumentação e casca de coco	E2A	---	400	50	50
	E2B	---	400	50	50
Bioestímulo com Bioaumentação fibra de bananeira	E3A	---	400	50	50
	E3B	---	400	50	50
Bioestímulo com Bioaumentação e serragem	E4A	---	400	50	50
	E4B	---	400	50	50
Bioestímulo com Bioaumentação e bambu	E5A	---	400	50	50
	E5B	---	400	50	50

Fonte: dos autores, 2017.

2.5 Análises

As amostras de solo foram analisadas no início e no final do experimento (63 dias) em relação aos microrganismos heterotróficos totais (UFC) e aos n-alcenos (C10-C25).

Para o plaqueamento (contagem das UFC), foi pesado 1g de cada solo (das biopilhas), e diluídos em tubos de ensaio que continham 9ml de solução salina (0.85%) estéril. A essa diluição, atribuímos a nomenclatura de 10^{-1} . Após isso, foram agitados por 2 minutos no vortex e realizou-se as demais diluições (10^{-2} , 10^{-3} , 10^{-4} e 10^{-5}), transferindo-se 1ml da solução existente para um próximo tubo com solução salina. As duas últimas diluições foram utilizadas para o plaqueamento, em que 1ml de cada uma foi pipetado para duas placas distintas. Por cima, adicionou-se o meio de cultura PCA (segundo a técnica *pour-plate*) e agitou-se levemente para o espalhamento. As placas ficaram incubadas na estufa por 48h para depois realizar a contagem das colônias.

A extração dos n-alcenos do óleo lubrificante presente no solo foi realizada pelo extrator de Soxhlet (USEPA 3540C), para 10g de cada solo. Os n-alcenos presentes foram quantificados por cromatografia GC-MSD (USEPA 8015).

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A utilização da técnica de biopilha em solos arenosos e solos argilosos contaminados por petróleo e derivados é capaz de minimizar os hidrocarbonetos de petróleo contidos no solo. Esse fato é importante, pois os solos argilosos compõem grande parte do território Brasileiro.

A Tecnologia de Biopilhas envolve a construção de células ou pilhas de solo contaminado, de forma a estimular a atividade microbiana aeróbia dentro da pilha através de uma aeração eficiente. A atividade microbiana pode ser aumentada pela adição de água e nutrientes como fontes de nitrogênio e de fósforo. Os microrganismos degradam os hidrocarbonetos adsorvidos nas partículas de solo, reduzindo, assim, suas concentrações. Tipicamente, as Biopilhas são construídas sobre uma base impermeável, para reduzir a migração dos lixiviados para o ambiente subsuperficial (MUTECA, 2012).

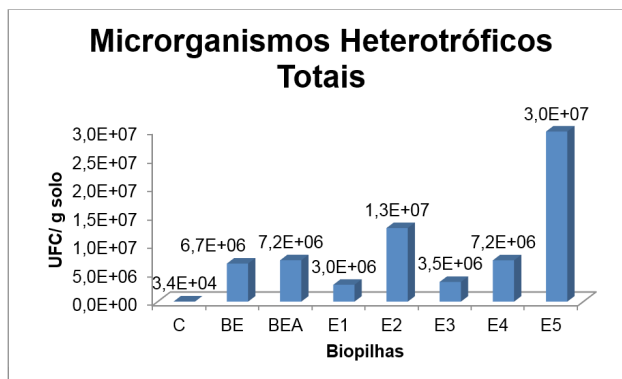
Diante do avanço da biologia molecular no monitoramento de estudos de impactos ambientais, tornou-se um método eficaz da ferramenta para a biorremediação, que tem melhorado significativamente esse processo, pois possibilita a identificação mais precisa dos microrganismos existentes em sítios impactados, assim como realiza modificações genéticas, para melhorar seu potencial metabolizador de produtos derivados de petróleo.

Embora sejam utilizadas outras tecnologias para a descontaminação de ambientes poluídos de petróleo e seus derivados, a biorremediação é a alternativa biológica mais correta e eficaz para o tratamento de ambientes contaminados por essas substâncias de difícil degradação. Porém é necessário que haja o estudo detalhado da região exposta ao método, dos tipos de organismos que serão expostos à contaminação, o potencial microbiano em degradar materiais tóxicos, assim como a técnica mais adequada a ser aplicada ao ambiente contaminado.

Neste trabalho, foram realizadas análises em cromatógrafo para comparar a porcentagem de degradação da concentração de n-alcenos e a quantidade de microrganismos heterotróficos totais presentes na amostra.

A população heterotrófica total obtida é mostrada na Figura 2. Pode-se observar que ela variou bastante ao se comparar os diferentes tratamentos. A maior população correspondeu ao tratamento E5, seguido do E2.

Figura 2 - População heterotrófica total, ao final do experimento



Fonte: dos autores, 2017.

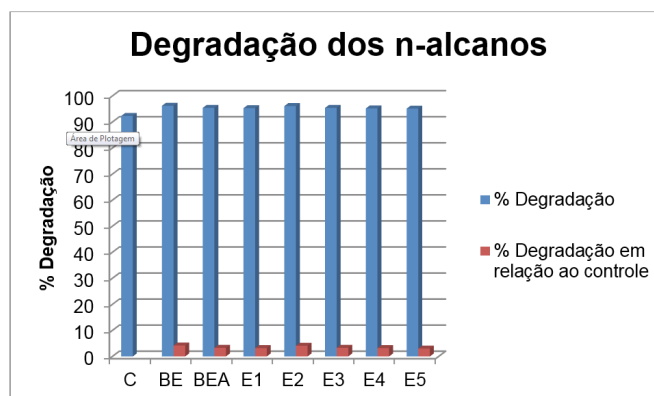
Os resultados obtidos para a degradação percentual dos n-alcenos são mostrados na Tabela 4 e na Figura 3.

Tabela 4 - Percentual de degradação dos n-alcenos

Biopilhas	% de degradação
C	92,3
BE	96,2
BEA	95,4
E1	95,3
E2	96,1
E3	95,4
E4	95,2
E5	95,1

Fonte: dos autores, 2017.

Figura 3 - Degradação dos n-alcenos



Fonte: dos autores, 2017.

A maior degradação dos n-alcenos foi obtida com o tratamento BE, com 96,2% de degradação. Já a de Controle por atenuação natural foi a que apresentou a menor degradação, com apenas 92,3%. Em relação aos tratamentos com uso de estruturantes, o que apresentou um aumento da degradação foi o E2 com 96,1%.

Na Figura 3, é possível comparar os tratamentos com o controle. Nesse caso, verifica-se que todos foram melhores que o controle, mas o aumento percentual ficou em torno de 4 a 5%.

O tratamento em que foi utilizado só o bioestímulo foi o mais eficaz para degradação, o que mostra, nesse caso, que o inóculo utilizado não apresentou tanta eficiência como esperado. Quando adicionados ao solo, os microrganismos estão sujeitos a princípios ecológicos de competição e predação, o que diminui significativamente as suas chances de sobrevivência em ambiente naturais. Nesse solo, é possível que haja uma microbiota nativa já adaptada para degradar hidrocarbonetos, o que sugere que o uso do bioaumento, com o objetivo de acelerar o processo de biorremediação, alcançaria melhores resultados, no caso de substâncias mais recalcitrantes ou quando a população microbiana local é insuficiente ou inadequada. De qualquer modo, o desenvolvimento de técnicas para assegurar a sobrevivência dos microrganismos no ambiente natural é essencial. Neste trabalho, a atenuação natural foi praticamente tão eficaz quanto às outras técnicas utilizadas no processo de biorremediação.

Os resultados obtidos demonstram que em todos os sistemas estudados houve aumento dos microrganismos heterotróficos totais e a redução dos n-alcenos, após 63 dias. Com isso, foi observado que, devido ao aumento de microrganismos heterotróficos totais, o bioestímulo se provou eficaz, porém observa-se que a presença do bioaumento não obteve porcentagens de degradação maiores que do experimento apenas com nutrientes. Isso se deve à possível falta de microrganismos específicos em degradar o contaminante, e nos outros experimentos, exceto E2, houve uma discrepância nos resultados esperados, pois, com a adição de estruturantes, esperava-se uma maior degradação. Em contrapartida, o E2 que apresentava como estruturante a casca do coco apresentou quase a mesma porcentagem de degradação que o bioestímulo. Isso se deve possivelmente a uma maior aeração causada pela estrutura da fibra.

4 CONCLUSÃO

Em vista da ampla distribuição dos HTPs no ambiente, da possibilidade de ocasionarem problemas à saúde de humanos e animais e dos limites impostos pela legislação ambiental, sua eliminação do ambiente deve ser buscada, visando à redução da exposição e da absorção pelo organismo dos mamíferos. A biorremediação é uma alternativa para a remoção desses compostos do solo, na qual os microrganismos degradadores irão transformá-los em substâncias inertes, dióxido de carbono e água. Em vista de a maioria dos microrganismos do solo não possuírem a capacidade de degradar esses compostos, há necessidade de se isolar e selecionar os microrganismos degradadores.

Os bioaumentos realizados podem ter causado o aumento na quantidade de células microbianas capazes de biodegradar hidrocarbonetos nos solos, o que, em consórcio com a microbiota nativa, pode ter favorecido a remoção dos compostos orgânicos do petróleo.

Embora sejam utilizadas outras tecnologias para a descontaminação de ambientes poluídos de petróleo e seus derivados, a biorremediação com bioestímulo (BE) é uma alternativa biológica que se mostra eficaz para o tratamento de ambientes contaminados por essas substâncias de difícil degradação.

O processo de biorremediação pode ser utilizado como uma alternativa para o tratamento de áreas contaminadas com gasolina. No entanto, o tempo necessário para reduzir a concentração do contaminante até níveis aceitáveis é determinado pela proporção da contaminação no ecossistema e das condições ambientais.

Essa biotecnologia já teve sua eficiência comprovada em outros países e apresenta grandes possibilidades de desenvolvimento no Brasil.

REFERÊNCIAS

BENTO, F.M.; CAMARGO, F.A.O.; OKEKE, B. C. & FRANKENBERGER, W.T. **Comparative bioremediation of soils contaminated with diesel oil by natural attenuation, biostimulation and bioaugmentation.** *Bioresource Technology*, n.96, p. 1049-1055, 2005.

BERGER, M. T. **Contaminações de solos com hidrocarbonetos de petróleo são um problema ambiental com abrangência mundial devido à alta demanda de produtos refinados de petróleo.** As fontes são múltiplas e estão relacionadas à exploração, produção, armazenamento, transporte, distribuição e à destinação final de petróleo e seus derivados. 2005. 76p. Tese de doutorado – Faculdade de Ecologia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, Brasil.

BUGG, T. D. H. & WINFIELD, C. J. **Enzymatic cleavage of aromatic rings: mechanistic aspects of the catechol dioxygenases and later enzymes of bacterial oxidative cleavage pathways.** *Natural Product Reports*, 1998.

CHAGAS – SPINELLI, A.C. **Biorremediação de solo argiloso contaminado por hidrocarbonetos poliaromáticos provenientes de derrame de óleo diesel.** 2007. 174p. Tese de doutorado – Centro de Tecnologia e Geociências, Universidade Federal de Pernambuco, Recife, Brasil.

CUNHA, C. D. **Avaliação da biodegradação de gasolina em solo.** 1996. 97p. Tese de Mestrado – Escola de Química, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, Brasil.

JACQUES, R. J.S; et al. **Biorremediação de solos contaminados com hidrocarbonetos aromáticos policíclicos.** *Ciência Rural*, v.37, n.4, p.1192-1201, 2007. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0103-84782007000400049>. Acesso em: 20 ago. 2016.

KOLESNIKOVAS, C. **Avaliação de risco toxicológico para hidrocarbonetos totais de petróleo em forma fracionada aplicada à gestão e monitoramento de água subterrânea em um complexo industrial.** 2006. 266p. Tese de doutorado - Pós Graduação em Recursos Minerais e Hidrogeologia, Instituto de Geociências da Universidade de São Paulo, Brasil.

MARIANO, A.P., DE ANGELIS, D.F., BONOTTO, D.M. **Monitoramento de indicadores geoquímicos e avaliação da biodegradação em área contaminada com óleo diesel.** *Eng. Sanit. Ambient.*, v.12, n.3, p.296-304, 2007.

MARIANO, J. B. **Impactos ambientais do refino de petróleo.** Rio de Janeiro: Interciência, 2005.

MARTINS, Antonio Cesar Germano. **Biorremediação.** Disponível em: <<http://www2.sorocaba.unesp.br/professor/amartins/aulas/pea/biorremed.pdf>>. Acesso em: 05 mar. 2015.

MUTECA, Felisberto Lucas Luis. **Biorremediação de solo contaminado com óleo cru proveniente de Angola**. 2012. 75p. Dissertação de Mestrado – Escola de Química, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, Brasil.

RODRIGUES, S.; DUARTE, A. C.. **Poluição do solo**: revisão generalista dos principais problemas. In: CASTRO, A., DUARTE, A., SANTOS, T. (Ed.). *O Ambiente e a Saúde*. Lisboa, Instituto Piaget: 136 – 176, 2003.

SEKLEMOVA, E.; PAVLOVA, A.; KOVACHEVA, K. **Biostimulation-based bioremediation of diesel fuel**: Field demonstration. *Biodegrad.*,12:311-316, 2001.

SILVEIRA, E.L.C., COELHO, R.C., MOURA, E.M. **Determinação de Fe, Pb, Ni e Cu em óleo lubrificante usado por espectrometria de absorção atômica com atomização em chama**. 30ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química, 2007, *Anais...Águas de Lindoia*, SP.

SPAIN, J.C.; PRITCHARD, P.H.; BOURQUIN, A.W. **Effects of Adaptation on Degradation Rates in Sediment/Water Cores from Estuarine and Freshwater Environments**. *Applied. & Environmental Microbiology*, v.40, p. 726 – 734, 1980.