AVALIAÇÃO DA FITOTOXICIDADE DE SOLOS CONTAMINADOS COM RESÍDUOS PETROQUÍMICOS APÓS PROCESSO DE BIORREMEDIAÇÃO

Lucas Barbosa Santos – lucassantos.barbosa@hotmail.com
Universidade Federal de Pelotas- UFPEL
Rua: Andrade Neves, 1258, Ap 201.
96020-080 – Pelotas – Rio Grande do Sul

Alana Flemming – lana.flemming@hotmail.com
Universidade Federal de Pelotas - UFPEL

Vanessa Sacramento Cerqueira – vscerqueira2@gmail.com
Universidade Federal de Pelotas

Eduarda Hallal Duval – eduardahd@hotmail.com
Universidade Federal de Pelotas

Fatima Menezes Bento – fatima.bento@ufrgs.br
Universidade Federal do Rio Grande do Sul

Resumo: *Durante o processamento do petróleo há a geração de grande quantidade do resíduo sólido denominado borra oleosa, o qual é classificado como resíduo perigoso. Dentre as técnicas utilizadas para o tratamento deste resíduo, destaca-se o processo chamado Landfarming. Dentre as metodologias atualmente empregadas para avaliar a eficiência destes processos são utilizadas basicamente análises químicas. Entretanto, faz-se de extrema importância a adoção de técnicas ecotoxicológicas para avaliar a real eficiência na descontaminação destes solos impactados. Em vista disto, o objetivo deste trabalho foi avaliar o potencial fitotóxico após o processo de biorremediação de solos impactados com borra oleosa petroquímica utilizando casca de arroz e cavaco de madeira, como material estruturante. Foram montados ensaios com solo contaminado com 1% de borra oleosa e feita a adição de casca de arroz e cavaco de madeira em diferentes proporções, 5 e 10%. Para a avaliação da eficiência do processo de degradação do contaminante foi utilizada anãlise de ecotoxicidade dos solos antes e após a aplicação das técnicas de biorremediação, através de ensaios de fitotoxicidade utilizando repolho e rúcula. Verificou-se que o maior índice de germinação (IG) para ambas sementes foi no tratamento com 10% de casca de arroz (214% para repolho e 257,30% para rúcula). Os menores valores de IG para ambas as espécies ocorreram na atenuação natural. A casca de arroz e o cavaco de madeira mostraram ser alternativas promissoras para a biorremediação de solos impactados devido ao aumento promovido na degradação da borra oleosa e redução da toxicidade nos solos.*

Palavras-chave: *Biorremediação; Borra oleosa; Fitotoxicidade; Landfarming; Resíduos agroindustriais.*

PHYTOTOXICITY ASSESSMENT OF THE SOIL CONTAMINATED WITH PETROCHEMICAL WASTE AFTER THE PROCESS OF BIOREMEDIATION

Abstract: *During the oil refining is generated a large amount of solid waste called oily sludge, a hazardous waste. The process called land farming stands out among the techniques used for the treatment of this waste. Among the methods currently used to evaluate the efficiency of these processes are basically used chemical analysis. However, it is extremely important the adoption of ecotoxicological techniques to assess the actual efficiency of remediation of those impacted soils. Thus the objective of this study was to evaluate the potential phytotoxic after the bioremediation process of soils impacted with petrochemical oily sludge using rice husks and wood chips, as a bulking agents. Assays were set up with Landfarming contaminated soil 1% oily sludge and addition of rice husks and wood chips in different proportions, 5 to 10%. For the evaluation of the oily sludge degradation was used soil ecotoxicity analysis before and after the application of bioremediation techniques through tests phytotoxicity using cabbage and arugula. It was found that the highest germination index (GI) for both the seed was treated with 10% rice hulls (214% to 257.30% for cabbage and arugula). The lower GI values for both species occurred in the natural attenuation. The rice husk and wood chips shown to be promising alternatives for the bioremediation of soils impacted due to the increase in mean degradation of the oily sludge and reduced toxicity in soils.*

Keywords: *Bioremediation; Oily sludge; Phytotoxicity; Landfarming; Agroindustrial waste*

1. INTRODUÇÃO

A partir do século XX, o petróleo passou a ser a principal fonte de energia do mundo, havendo a necessidade de investimentos em sua extração e refino. A indústria petroquímica tornou-se uma das mais influentes e importantes na atualidade, tendo destaque o setor de combustíveis e bens de consumo. A partir do petróleo bruto diversos produtos são gerados, como: gás liquefeito de petróleo (GLP), gasolina, querosene, óleo combustível de aviação, asfalto, gasóleo, lubrificantes, matérias primas petroquímicas, borrachas, plásticos, tecidos sintéticos, tintas, entre outros (CERQUEIRA, 2011; MARIANO, 2001).

Segundo a Organização dos Países Exportadores de Petróleo (OPEP) a demanda mundial de petróleo no segundo trimestre de 2015 foi de 91,76 milhões de barris/dia. No Brasil, a demanda aumentou cerca de 0,12 milhões de barris/dia em 2015 enquanto que a distribuição interna brasileira em junho do mesmo ano foi de 2,48 milhões de barris/dia (OPEC, 2015).

Diversos resíduos são gerados na cadeia produtiva do petróleo, relacionado às etapas de refino e processamento, entretanto o que tem recebido maior atenção é a borra oleosa. Este resíduo é classificado como Classe 1 pela Associação Brasileira de Normas Técnicas (ABNT), podendo apresentar características de inflamabilidade, toxicidade, corrosividade e patogenicidade (ABNT, 2004).

A borra oleosa é constituída de água, sólidos grosseiros, óleos, gorduras, compostos orgânicos, elementos químicos e metais (CERQUEIRA, 2011). Entre os compostos orgânicos presentes, os mais comuns são os hidrocarbonetos saturados, aromáticos, resinas e asfaltenos (LIU et al., 2011). Dentre os compostos orgânicos presentes, os de maior preocupação são os hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (HPA), baseados na sua ecotoxicidade 16 deles foram classificados pela Agência de Proteção ambiental dos Estados Unidos (USEPA) como poluentes prioritários para a remediação (CHAUHAN et al., 2008).

Diversos processos são utilizados no tratamento da borra oleosa, dentre eles estão os processos físicos, químicos e biológicos. Entretanto, muitos destes são onerosos ou resultam em uma

descontaminação incompleta. Em contrapartida, processos que utilizam a competência biológica de microrganismos (biorremediação) se mostram promissores para o tratamento de poluentes, como óleo e derivados, no meio ambiente (CERQUEIRA, 2011; MOLINABARAHONA et al., 2004).

Uma das técnicas utilizadas é o *Landfarming*, na qual se introduz o contaminante na camada reativa do solo e através de operações de aragem e gradagem é estimulada a degradação do resíduo pelos microrganismos aeróbios ali presentes (SOUZA, 2010).

As técnicas de biorremediação para a recuperação de solos contaminados por petróleo são principalmente baseadas em processos aeróbicos, cujas etapas iniciais de degradação dos hidrocarbonetos envolvem a oxidação de substratos por enzimas oxigenases (BOOPATHY, 2003). É um processo mediado por microrganismos, onde ocorre a transformação de uma substância tóxica em outras mais simples, mas não necessariamente menos tóxica (MOREIRA E SIQUEIRA, 2006).

Bioensaios de toxicidade são importantes na determinação da eficácia do processo de biorremediação, não considerando apenas a diminuição na concentração dos hidrocarbonetos no ambiente e/ou os altos índices de atividade microbiana (LOPES, 2014). Métodos biológicos, como por exemplo, a avaliação da fitotoxicidade tem se mostrado importantes ferramentas na avaliação da qualidade do solo sendo mais adequados para a determinação de possíveis riscos que os contaminantes possam oferecer quando presentes no solo (TANG et al., 2011).

Esse método de avaliação da fitotoxicidade utilizando sementes inoculadas diretamente no solo traz a vantagem de diminuir dúvidas sobre a presença ou não do contaminante na amostra. Segundo Marín e colaboradores (2006), nos bioensaios realizados com solução aquosa são avaliados apenas os contaminantes que estão presentes nesse extrato.

A adequada oxigenação do solo é de suma importância para o desenvolvimento e desempenho dos microrganismos aeróbios, o que pode ser melhorado utilizando materiais estruturantes para aumentar a aeração. Os materiais estruturantes mais comuns são a serragem, palhas e cascas de origem vegetal, resíduos agrícolas, dentre diversos outros (SANTOS, 2007).

A casca de arroz e o cavaco de madeira, considerados passivos ambientais das suas respectivas indústrias, surgem como alternativa interessante para aplicação em solos contaminados. Ambos são materiais disponíveis e baratos e podem ser utilizados como agentes na biorremediação do solo impactado com borra oleosa.

Segundo o Instituto de Pesquisa Aplicada a Economia (IPEA), o Brasil é o nono maior produtor mundial de arroz. O estado do Rio Grande do Sul se destaca dentre os estados sendo o maior em geração de casca de arroz do país, com uma quantia de 1,24 milhões de toneladas ao ano e um dos principais produtores de lenha oriundo da silvicultura (IBGE, 2010; MINISTÉRIO DE MINAS E ENERGIA, 2014).

Nesse contexto, o presente trabalho visa avaliar o potencial fitotóxico após o processo de biorremediação de solos contaminados com borra oleosa petroquímica utilizando casca de arroz e cavaco de madeira, como material estruturante.

2. MATERIAL E MÉTODOS

A amostra de borra oleosa foi coletada de Valos de Tratamento e Disposição de uma unidade de tratamento de resíduos sólidos localizada no sul do Brasil. As amostras de solo foram coletadas de 10 pontos distintos a uma profundidade de 0-30 cm de uma célula de *Landfarming* e acondicionadas em sacos plásticos em temperatura ambiente. Essa célula não recebia borra oleosa há cerca de 4 meses. O solo foi homogeneizado e peneirado em peneiras de 2 mm.

2.1. Montagem dos Experimentos

Em frascos de vidro de 1 L com fechamento hermético foram montados os ensaios de biorremediação, nos quais foram adicionados 200 g de solo e adicionado 1% de borra oleosa. A umidade dos solos foi ajustada para 80% da capacidade de campo com água destilada. Os frascos foram mantidos em estufa a 30°C durante 84 dias. Em média, a cada 5 dias foi realizado o revolvimento do solo no frasco com o intuito de homogeneizar e promover a aeração dos solos

(CERQUEIRA, 2014). A adição de água destilada, borra oleosa e os materiais estruturantes foram realizados sob homogeneização.

Foram testados dois materiais estruturantes, casca de arroz e cavaco de madeira, e em diferentes proporções, 5 e 10%, sendo montados os seguintes experimentos em triplicata:

Ba – Branco: frasco vazio;

CN – Controle: solo sem contaminação de borra oleosa em laboratório;

AN - Atenuação natural: solo contaminado com borra oleosa;

CA5 - solo contaminado com borra oleosa e adicionado de 5% de casca de arroz;

CA10 - solo contaminado com borra oleosa e adicionado de 10% de casca de arroz;

CM5 - solo contaminado com borra oleosa e adicionado de 5% de cavaco de madeira;

CM10 - solo contaminado com borra oleosa e adicionado de 10% de cavaco de madeira;

Para avaliação do potencial fitotóxico após o processo de biodegradação foram analisados os solos antes e após a aplicação das técnicas de biorremediação. Para isto, foram realizados ensaios utilizando duas diferentes espécies de hortaliças. Esta técnica foi realizada para avaliar a reação de organismos vivos na presença dos hidrocarbonetos e de possíveis metabólitos tóxicos envolvidos na degradação destes.

Os ensaios de fitotoxicidade das amostras de solo dos diferentes tratamentos foram realizados no tempo inicial e final de processo, de acordo com Lopes (2014). Foram utilizados dois organismos-teste: *Brassica oleracea* (repolho) e *Eruca sativa* (rúcula). As sementes utilizadas foram de um mesmo fornecedor (FELTRIN) e do mesmo lote.

Para a realização dos bioensaios foram adicionados, em copos plásticos com capacidade de 50 ml, 25 g de solo, 2 ml de água destilada e 10 sementes do organismo-teste. Para cada tratamento foram realizados bioensaios em triplicata. Depois de semeado, os copos plásticos foram cobertos com plástico filme para não haver perda de umidade, e incubados em uma estufa climatizada a 21ºC, no escuro, durante 120 horas. Foi realizado o ensaio de fitotoxicidade também para o controle negativo a fim de verificar a eficácia do ensaio.

Após 120 horas, recipientes foram retirados da estufa e foram realizadas as medições do hipocótilo e da raiz dos organismos-teste, assim como realizada a contagem de sementes germinadas.

As análises realizadas para cada experimento, utilizando a metodologia de Lopes (2014), foram: germinação relativa das sementes, desenvolvimento da raiz, desenvolvimento do hipocótilo e o índice de germinação.

Germinação relativa das sementes (%G)

A determinação da germinação das sementes dos tratamentos foi feita em relação a quantidade de sementes germinadas no controle negativo (CN). Foram consideradas germinadas as sementes que desenvolveram raiz e hipocótilo maiores ou iguais a 2 mm, conforme a equação:

$$\%G = (SGa/SGc)*100 \qquad (1)$$

Onde,

Sga = número total de sementes germinadas na amostra analisada;

SGc = número total de sementes germinadas no CN.

Desenvolvimento da raiz e do hipocótilo (%R)

Para a determinação do desenvolvimento de cada plântula, foram efetuadas as medidas de tamanho da raiz e do hipocótilo utilizando um escalímetro.

O cálculo foi desenvolvido utilizando a média do alongamento da raiz e do hipocótilo nas sementes germinadas nos tratamentos e da média do alongamento da raiz e do hipocótilo nas sementes germinadas no controle negativo, conforme equação:

$$(\%R) = (MRa/MRc)*100 \qquad (2)$$

Onde,

MRa = média do alongamento da raiz nas sementes germinadas no experimento analisado;

MRc = média do alongamento da raiz nas sementes germinadas no CN.

Índice de germinação (IG)

A determinação do índice de germinação foi calculada a partir das medidas de germinação relativa das sementes ao CN (%G) e do alongamento da raiz e do hipocótilo relativo ao CN (%R), conforme a equação:

$$IG = [(\%G)*(\%R)]/100 \qquad (3)$$

Os resultados obtidos foram analisados empregando o teste de Tukey (comparação entre médias) a um nível de confiança de 95%, utilizando o software *Statistica* 7.1.

3. RESULTADOS E DISCUSSÕES

Testes de toxicidade podem ser definidos como procedimentos nos quais as respostas dos organismos-teste são utilizadas para detectar ou avaliar os efeitos, adversos ou não, de uma ou mais substâncias sobre os sistemas biológicos (LAITANO e MATIAS, 2006). Essa avaliação é necessária quando se deseja certificar que não houve formação de metabólitos tóxicos durante a degradação da borra oleosa.

Com o objetivo de avaliar a ecotoxicidade dos solos de *Landfarming* impactados com borra oleosa petroquímica após diferentes tratamentos de biorremediação e adicionando a casca de arroz e cavaco de madeira como material estruturante, foram realizados ensaios fitotoxicológicos com dois organismos testes (rúcula e repolho), onde foram avaliados: a germinação das sementes, o desenvolvimento da raiz e do hipocótilo e o índice de germinação.

As Figuras 1 e 2 mostram os resultados obtidos de germinação relativa nos ensaios utilizando rúcula e repolho, respectivamente. A medida da germinação relativa (%G) representa, em porcentagem, a relação entre a quantidade de sementes germinadas no tratamento avaliado e no controle negativo.

O experimento que mostrou maior resposta de germinação relativa, utilizando as sementes de rúcula (Figura 1), foi o ensaio CA5 (111,1%), fato este que se repetiu nos ensaios utilizando sementes de repolho (Figura 2), onde a maior germinação alcançou a mesma porcentagem (111,11) tanto para o ensaio CA5, quanto para o ensaio CA10.

Figura 1. Germinação relativa das sementes de rúcula

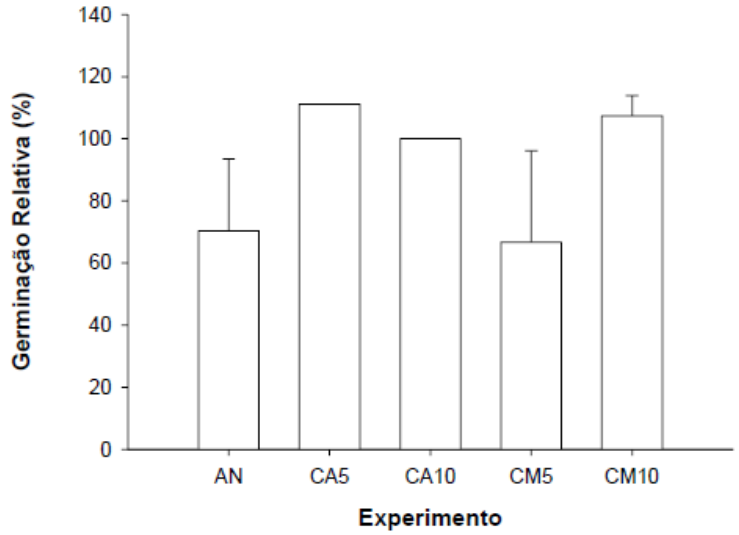
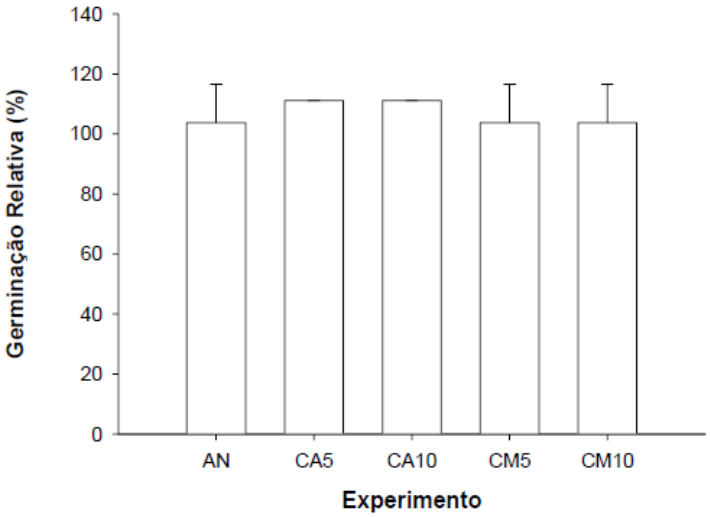


Figura 2. Germinação relativa das sementes de repolho.



As Figuras 3 e 4 exibem os valores obtidos de desenvolvimento relativo da raiz e do hipocótilo (%R) para as sementes de rúcula e repolho, respectivamente. O desenvolvimento relativo da raiz e do hipocótilo é calculado a partir da relação entre a média do alongamento da raiz e do hipocótilo das sementes germinadas na amostra e a média do alongamento da raiz e do hipocótilo do controle negativo**.**

No desenvolvimento relativo da raiz, o melhor resultado para ambas sementes ocorreu no experimento CA10, apresentando 257,30% para rúcula e 192,76% para o repolho.

Figura 3. Desenvolvimento relativo da raiz da rúcula.

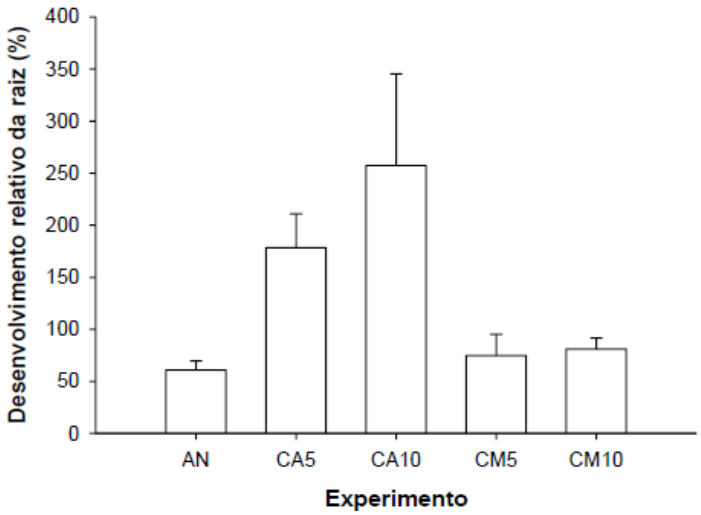
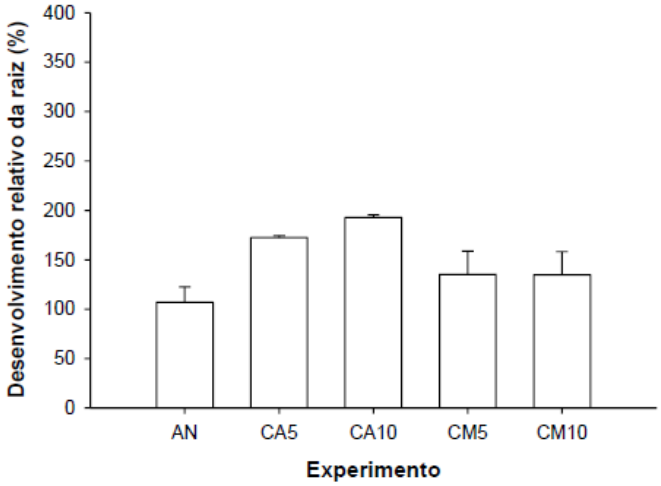


Figura 4. Desenvolvimento relativo da raiz do repolho.



Os resultados índice de germinação são apresentados nas Figuras 5 e 6 para rúcula e repolho respectivamente. Esse índice é calculado com base na porcentagem de germinação e do desenvolvimento da raiz e do hipocótilo.

Figura 5. Índice de germinação para rúcula.

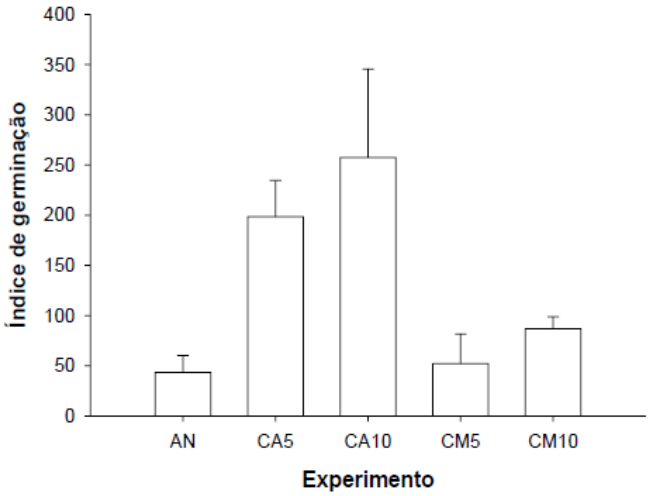
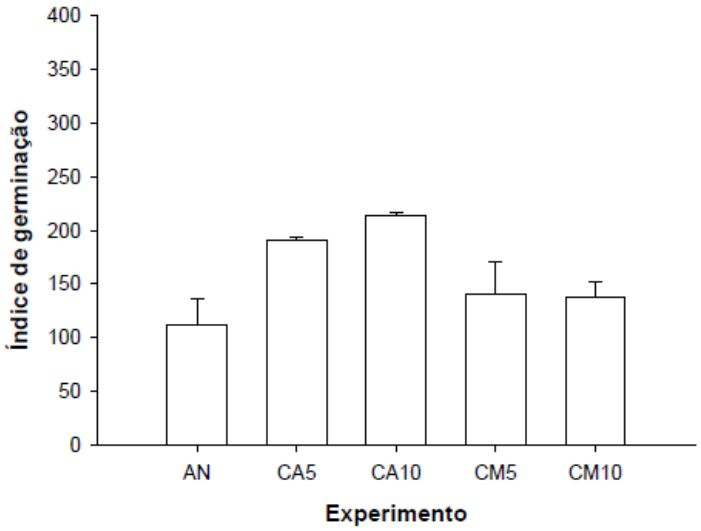


Figura 6. Índice de germinação para repolho.



Os maiores índices de germinação foram encontrados, tanto para a rúcula como para o repolho, no ensaio CA10. Os valores obtidos foram de 257,3 e 214,17 para a rúcula e para o repolho, respectivamente.

Comparando os valores de índice de germinação nas Figuras 5 e 6, observa-se que houve uma redução da toxicidade do solo, pois todos os tratamentos com adição de material estruturante obtiveram valores maiores no tempo final que a atenuação natural, mostrando que os tratamentos aplicados são mais eficientes na degradação de contaminantes e não geram compostos intermediários tóxicos para organismos vivos.

Os valores altos encontrados podem ser explicados pelo fato de que os cálculos se baseavam no controle negativo. O solo utilizado como controle negativo era proveniente de células de *Landfarming*, que, mesmo não tendo sido utilizada há aproximadamente quatro meses, ainda poderia conter hidrocarbonetos, visto a recalcitrância dos mesmos. Sendo assim, o controle negativo apresentou baixos valores de alongamento de raiz e hipocótilo e por ser uma medida inversamente proporcional aumentou os valores de desenvolvimento de raiz e consequentemente de índice de germinação.

Em estudo realizado por Lopes (2014) utilizando alface e rúcula como organismos-testes para avaliar a fitotoxicidade de solos contaminados com óleo lubrificante e biorremediados com a adição de surfactante comercial e biossurfactante foi concluído que os tratamentos de biorremediação diminuíram os efeitos fitotóxicos do contaminante em um período de 180 dias.

Souza (2010) avaliou a fitotoxicidade, através de bioensaios com sementes de cebola, em solos contaminados com borra oleosa e biorremediados com adição de 20% casca de arroz e observou que houve diminuição do efeito de clastogenicidade e mutagenicidade após 180 dias de tratamento.

A Tabela 1 mostra as porcentagens de sementes germinadas de repolho e rúcula nos ensaios realizados, comparando os tempos inicial e final de biorremediação.

Tabela 1. Porcentagem de germinação do controle negativo, atenuação natural e tratamentos de biorremediação no período inicial e final.

Tempo	Tratamentos	Sementes germinadas REPOLHO (%)	Sementes germinadas RÚCULA (%)
Inicial	CN	83,33	73,33
	AN	36,67	30
Final	AN	93,3	63,3
	CA5	100	100
	CA10	100	90
	CM5	93,3	60
	CM10	93,3	96,6

Observa-se na Tabela 1, que nos bioensaios com sementes de repolho houve, no tempo final, diminuição da ecotoxicidade do solo no tratamento de atenuação natural tanto quanto houve nos demais tratamentos envolvendo a adição de material estruturante. O mesmo não ocorreu com as sementes de rúcula, onde a atenuação natural e o ensaio CM5 obtiveram porcentagens de germinação menores no tempo final comparando com o controle negativo no tempo inicial, mas mesmo assim maiores que a porcentagem de germinação da atenuação natural no tempo zero. Isso indica que houve diminuição da ecotoxicidade com menor eficiência. Esse comportamento corrobora com os resultados obtidos na respirometria, pois o tratamento CM5 apresentou a menor produção de C-CO_2 dentre os tratamentos com adição de material estruturante.

As sementes, quando comparadas em relação ao estresse provocado pelo contaminante, observa-se que a rúcula foi mais sensível. O mesmo comportamento foi descrito por Lapa (2014) em estudo utilizando rúcula e alface como bioindicadores da ecotoxicidade de um solo contaminado com borra oleosa petroquímica pós-tratamento com bioaumentação e bioestimulação, onde foi observado que a rúcula foi a mais sensível. Em diversos estudos, o tamanho das sementes foi relatado como causador da maior sensibilidade de sementes a fatores ambientais adversos, sendo as menores as mais

sensíveis, como por exemplo, a rúcula (CRUZ, 2013; SATERBAK et al., 1999; WIERZBICKA e OBIDZINSKA, 1998).

Os tratamentos que apresentaram melhores resultados quanto à diminuição da ecotoxicidade do solo após a biorremediação foram os ensaios que tiveram adição de casca de arroz nas duas porcentagens. O tratamento mais eficiente para a biorremediação de solo de *Landfarming* impactado com borra oleosa foi o experimento com adição de 10% de casca de arroz, pois apresentou melhores resultados tanto nas análises respirométricas quanto nas análises de fitotoxicidade. Isso demonstra que a casca de arroz além de promover a degradação dos hidrocarbonetos diminuiu a ecotoxicidade do solo. Apesar do tratamento contendo 10% de cavaco de madeira ter apresentado maior produção de C-CO_2 nas análises respirométricas, apresentou valores menores de índice de germinação nas análises de fitotoxicidade.

4. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os solos apresentaram redução da toxicidade após os 84 dias de tratamentos de biorremediação. Os experimentos onde houve adição de material estruturante apresentaram índices de germinação maiores quando comparados à atenuação natural.

Frente aos resultados as sementes de rúculas mostraram ser mais sensíveis a estresse ambiental que as sementes de repolho.

Os melhores resultados foram observados quando a proporção de material estruturante foi de 10% tanto de casca de arroz quanto de cavaco de madeira. A adição de 10% de casca de arroz apresentou os melhores resultados nas análises respirométricas e nas análises de fitotoxicidade, sendo assim o tratamento com maior eficiência no tratamento da borra oleosa no solo de *Landfarming.*

5. REFERÊNCIAS

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS - ABNT. **NBR 10004**: Resíduos sólidos – Classificação. 2 ed. Rio de Janeiro: ABNT, 71 p, 2004.

BOOPATHY, R. Use of anaerobic soil slurry reactors for the removal of petroleum hydrocarbons in soil. **International Biodeterioration & Biodegradation**, v. 52, p. 161-166, 2003.

CERQUEIRA, V. S; PERALBA, M. C. R.; CAMARGO, F. A. O.; BENTO, F.M. Comparison of bioremediation strategies for soil impacted with petrochemical oily sludge. **International Biodeterioration & Biodegradation,** v. 95, p. 338-345, 2014.

CERQUEIRA, V.S. **Biorremediação de borra oleosa proveniente de indústria petroquímica em microcosmos**. Porto Alegre, 196 p., 2011. Dissertação (Doutorado) – Universidade Federal do Rio Grande do Sul.

CHAUHAN, A.; RAHMAN, F.; OAKESHOTT, J.G.; JAIN, R.K. Bacterial Metabolism of polycyclic aromatic hydrocarbons: strategies for bioremediation. **Indian Journal of Microbiology**, v. 48, n. 1, p. 95–113, 2008.

CRUZ, J.M. et al. Toxicity assessment of contaminated soil using seeds as bioindicators. **Journal of Applied Biotechnology**, v.1, p.1-10, 2013.

DORN, P.B.; SALANITRO, J.P. Temporal ecological assessment of oil contaminated soils before and after bioremediation. **Chemosphere,** v. 40, p. 419-426, 2000.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA - IBGE. **Estatística da Produção Agrícola,** 2012**.** Disponível em

<http://www.ibge.gov.br/home/estatistica/indicadores/agropecuaria/lspa/estProdAgr_201203.pdf.> Acesso em 23 de jul. 2015.

LAITANO, K. S.; MATIAS, W. G. Testes de toxicidade com *Daphnia magna*: uma ferramenta para avaliação de um reator experimental UASB. **Journal of the Brazilian Society of Ecotoxicology**, v. 1, n. 1, p. 43-47, 2006.

LIU, P. W. G.; CHANG, T. C.; WHANG, L. M.; KAO, C. H.; PAN, P. T.; CHENG, S. S. Bioremediation of petroleum hydrocarbon contaminated soil: Effects of strategies and microbial community shift. **International Biodeterioration & Biodegradation**, v. 65, n. 8, p. 1119-1127, 2011.

LOPES, P.R.M. **Biorremediação de solo contaminado com óleo lubrificante pela aplicação de diferentes soluções de surfactante químico e biossurfactante produzido por *Pseudomonas aeruginosa* LBI.** 2014. 185f. Tese (Doutorado em Ciências Biológicas) – Universidade Estadual Paulista, Rio Claro, 2014.

MARIANO, J. B. **Impactos Ambientais do Refino de Petróleo**. Rio de Janeiro, 216 p., 2001. Dissertação (Mestrado) – UFRJ, Rio de Janeiro, 2001.

MARÍN, J. A.; MORENO, J. L.; HERNÁNDES, T.; GARCÍA, C. Bioremediation by composting of heavy oil refinery sludge in semiarid conditions. **Biodegradation**, v. 17, n. 3, p. 251-261, 2006.
MINISTÉRIO DE MINAS E ENERGIA. **Inventário Energético de Resíduos Rurais**. Rio de Janeiro, 2014.

MOLINA-BARAHONA, L.; RODRÍGUEZ-VÁZQUEZ R.; HERNÁNDEZ-VELASCO, M.; VEGA-JARQUÍN, C.; ZAPATA-PÉREZ, O.;MENDOZA-CANTÚ, A.; ALBORES, A. Diesel removal from contaminated soils by bio stimulation and supplementation with crop residues. **Applied Soil Ecology**, v. 27, p. 165- 175, 2004.

MOREIRA, F.M.S.; SIQUEIRA, J.O. **Microbiologia e bioquímica do solo**. Lavras: Editora UFLA, 2006.

OPEC – Organization of the Petroleum Exporting Countries. **Monthly Oil Market Price.** Vienna, 2015. Disponível em: <http://www.opec.org/opec_web/en/publications/338.htm > Acesso em: 25 ago. 2015.

SANTOS, R. M. **Avaliação da adição do pó da casca de coco verde, como material estruturante, na biorremediação de solo contaminado por petróleo.** 2007. 143 p. Dissertação (Mestrado em Ciências) Pós-Graduação em Tecnologia de Processos Químicos e Bioquímicos, Escola de Química - Universidade Federal do Rio de Janeiro, 2007.

SATERBAK, A.; TOY, R. J.; WONG, D. C. L.; MCMAIN, B. J.; WILLIAMS, M. P., DORN, P. B.; SALANITRO, J. P. Ecotoxicological and analytical assessment of hydrocarbon-contaminated soils and application to ecological risk assessment. **Environmental Toxicology And Chemistry**, v. 18, n. 7, p. 1591-1607, 1999.

SOUZA, T. S. **Análise da toxicidade e da mutagenicidade de um solo de landfarming, proveniente de uma refinaria de petróleo, antes e depois de processos que visam estimular a biodegradação de hidrocarbonetos**.Rio Claro, 237 p., 2010. Dissertação (Doutorado) - Universidade Estadual Paulista.

TANG, J.; WANG, M.; WANG, F.; SUN, Q.; ZHOU, Q. Eco-toxicity of petroleum hydrocarbon contaminated soil. **Journal of Environmental Sciences**, v. 23, n. 5, p. 845-851, 2011.

WIERZBICKA, M.; OBIDZINSKA, J. The effect of lead on seed imbibition and germination in different plant species, **Plant Science**, v. 137, p. 155-171, 1998.