

## ATENUAÇÃO NATURAL EM SOLO RESIDUAL DE BASALTO CONTAMINADO COM MISTURAS DE DIESEL E BIODIESEL

*NATURAL ATTENUATION IN BASALTIC RESIDUAL SOIL CONTAMINATED WITH BLENDS OF DIESEL AND BIODIESEL*

**Antonio Thomé<sup>1</sup>, Cleomar Reginatto<sup>2</sup>, Iziquiel Cecchin<sup>3</sup>, Luciane Maria Colla<sup>4</sup>**

<sup>1</sup>Professor Titular, Programa de Pós-Graduação em Engenharia Civil e Ambiental (PPGEng), Universidade de Passo Fundo (UPF). BR 285, Bairro São José, Passo Fundo, RS, CEP: 99052-900. E-mail: thome@upf.br

<sup>2</sup>Mestre pelo Programa de Pós Graduação em Engenharia Civil e Ambiental, Universidade de Passo Fundo (UPF), Doutorando pelo Programa de Pós Graduação em Engenharia Civil, Universidade Federal do Rio grande do Sul (UFRGS). E-mail: cleomarreginato@hotmail.com

<sup>3</sup>Mestrando pelo Programa de Pós Graduação em Engenharia Civil e Ambiental, Universidade de Passo Fundo E-mail: iziquielc@gmail.com

<sup>4</sup>Professora Adjunta, Programa de Pós Graduação em Engenharia Civil e Ambiental (PPGEng), Universidade de Passo Fundo (UPF) E-mail: lmcolla@upf.br

### RESUMO

Os biocombustíveis (biodiesel) quando usados em misturas com combustíveis fósseis (diesel) tornando-se potenciais contaminantes de solos. A atenuação natural devido ao baixo custo e pouca intervenção nas condições naturais da área é uma técnica competitiva na descontaminação de solos. O objetivo deste trabalho foi avaliar a degradação, em laboratório, em solo residual de basalto contaminado com misturas de diesel e biodiesel. O solo foi contaminado na proporção de 4% em relação à massa de solo seco e compactado na densidade natural de 1,6 g/cm<sup>3</sup>. A umidade final do solo, após a contaminação, foi de 34%. Foram utilizados seis diferentes percentuais de biodiesel junto ao diesel: B0, B5, B12,5, B20, B50 e B100 moldados em biorreatores em duplicata. Amostras foram coletadas após 105 dias do início do ensaio e essas foram analisadas pelo método de Soxhlet e cromatografia gasosa. Os resultados demonstraram que as misturas com maior porcentagem de biodiesel apresentaram maior degradação. Isso demonstra que, além do biodiesel ser mais biodegradável que o diesel, ele também auxilia na degradação das misturas fósseis. Até 12,5% de biodiesel na mistura não houve diferença significativa na degradação.

**Palavras-chave:** Biorremediação, Soxhlet, Cromatografia Gasosa, Contaminação de Solos.

### ABSTRACT

Biofuels (biodiesel) when used in mixtures with fossil fuels (diesel oil) become potential soil contaminants. The natural attenuation due to the low cost and little intervention in the natural conditions of the area is a competitive technique in soil decontamination. The aim of this study was to evaluate the degradation in laboratory of a residual soil from basalt contaminated with diesel and biodiesel mixtures. The soil was contaminated with a proportion of 4% relating to the mass of dry soil and compacted in the natural density of 1.6 g/cm<sup>3</sup>. The final soil moisture after contamination was 34%. It was used six different percentages of biodiesel called: B0, B5, B12.5, B20, B50, and B100. The mixture were molded in bioreactors in duplicate. Samples were collected after 105 days and they were analyzed by the Soxhlet extraction method and gas chromatography. The results showed that mixtures with higher percentage of biodiesel are more degradable. This shows that besides biodiesel being more biodegradable than diesel, it also assists in the degradation of fossil mixtures. To up to 12,5% of biodiesel in the mixture there was no significant difference in degradation.

**Keywords:** Bioremediation, Soxhlet, Gas chromatography, Soil Contamination.

### 1 – INTRODUÇÃO

O uso cada vez maior dos combustíveis fósseis e os elevados níveis de contaminação atmosférica, solo e água fazem surgir combustíveis alternativos, como é o caso dos biocombustíveis, dentre eles o biodiesel (PRINCE *et al.*, 2008).

O uso do biodiesel tem sido amplamente incentivado em muitos países e as projeções indicam aumento global de substituição de combustíveis fósseis por biocombustíveis. Além dos benefícios ambientais do biodiesel, tais como menor emissão de partículas e gases de efeito estufa e a não liberação de enxofre e compostos aromáticos voláteis na atmosfera, o biodiesel também tem

baixa toxicidade e é mais facilmente biodegradado no meio ambiente (MARCHETTI *et al.*, 2007; MARIANO *et al.*, 2008; SHARMA *et al.*, 2008; MURUGESAN *et al.*, 2009; DEMIRBAS, 2009; BÜCKER *et al.*, 2011).

No Brasil, a aplicação do biodiesel como combustível alternativo junto ao diesel tornou-se obrigatória a partir da lei nº 11.097, de 13 de janeiro de 2005. Em janeiro de 2008 passou a ser obrigatório o uso de 2% de biodiesel adicionado ao diesel, de acordo com as normas da Agência Nacional do Petróleo (ANP) (JUNIOR *et al.*, 2009). Em 2009, o percentual foi elevado para 4% e em 2010 para 5%, tendo a previsão de que se possa chegar a 20% no futuro.

Nos países da União Europeia (UE), especialmente na Alemanha, a mistura atinge 5% e, muitas vezes, o biodiesel pode ser usado até mesmo em sua forma pura (SCHLEICHER *et al.*, 2008).

Em caso de acidentes ambientais envolvendo combustíveis, uma grande variedade de processos físico-químicos e biológicos tem sido utilizada para remediar solos contaminados, mas muitos destes acabam esbarrando no alto custo da técnica e grande intervenção na área. A biorremediação é uma tecnologia já conhecida internacionalmente e muito desenvolvida para remover contaminantes oleosos, principalmente devido à eficiência e o custo quando comparados a alternativas físico-químicas de tratamento (ABDUSALAM e OMALE, 2009; KARAMALIDIS *et al.*, 2010).

Os microrganismos são considerados biodegradadores eficientes devido a sua abundância, a diversidade de espécies e sua versatilidade catabólica e anabólica, bem como a sua capacidade de adaptação a condições ambientais adversas (MORAES e TORNISIELO, 2009). Esses microrganismos apresentam importância na aplicação da biorremediação por meio das técnicas de atenuação natural, bioaugmentação e bioestimulação (BENTO *et al.*, 2005; LIN *et al.*, 2010).

A atenuação natural é a resposta de sistemas hidrogeológicos à contaminação envolvendo processos químicos, físicos e biológicos que, sob condições favoráveis, agem sem intervenção humana, reduzindo massa, toxicidade, mobilidade, volume ou concentração de contaminantes no solo com o tempo (BOSCOV 2008). Segundo Jacques *et al.* (2007), a atenuação natural é a técnica que utiliza processos naturais para degradação e redução das concentrações de contaminantes para níveis aceitáveis.

Embora o biodiesel seja um combustível biodegradável, o seu comportamento em relação à sua biodegradação ainda é desconhecido em vários tipos de solos e ainda não se sabe se as diferentes concentrações de biodiesel adicionadas ao óleo diesel influenciam na degradação por microrganismos indígenas (autóctones) em um solo residual de basalto. Desta forma, o objetivo deste trabalho foi avaliar a atenuação natural como técnica de

biorremediação em um solo argiloso contaminado com diferentes misturas de diesel e biodiesel.

## 2 – MATERIAIS E MÉTODOS

O estudo foi realizado no Laboratório de Geotecnia Ambiental, da universidade de Passo Fundo, na cidade de Passo Fundo, RS, Brasil. Todos os materiais, equipamentos e procedimentos para a realização do trabalho estão descritos a seguir.

### 2.1 Local de estudo

O estudo foi realizado no Laboratório de Geotecnia Ambiental, da universidade de Passo Fundo, na cidade de Passo Fundo, RS, Brasil.

### 2.2 Solo

O solo utilizado é de origem residual e pertence à província geológica do Planalto Riograndense, segundo a geologia do Rio Grande do Sul, e à Bacia do Paraná, segundo a geologia do Brasil (BERTORELLI e HARALYI, 1998). O solo foi coletado do Campo Experimental de Geotecnia da Universidade de Passo Fundo. O mesmo foi coletado de forma deformada do horizonte B do perfil do solo a 1,5 m de profundidade. A Tabela 1 apresenta características geotécnicas e físico-químicas do solo.

Tabela 1 – Caracterização geotécnica e físico-química do solo

Parâmetro	Valor
Agila (%)	68
Silte (%)	5
Areia (%)	27
Limite de Liquidez (%)	53
Limite de Plasticidade (%)	42
Peso específico real dos grãos (kN/m <sup>3</sup> )	26,7
Umidade Natural (%)	34,0
Peso específico natural (kN/m <sup>3</sup> )	16,3
Índice de Vazios	1,2
Grau de Saturação (%)	75,7
Porosidade (%)	54
pH	5,4
Matéria Orgânica (%)	< 0,8
Capacidade de Troca Catiônica (cmolc/dm <sup>3</sup> )	8,6
Condutividade hidráulica (cm/s)	1,39x10 <sup>-3</sup>

A classificação pedológica, segundo Streck *et al.* (2008), é de um Latossolo Vermelho distrófico húmico (unidade Passo Fundo). Do ponto de vista geotécnico é classificado como CH, ou argila de alta plasticidade.

O solo apresenta pH ácido, alto teor de argila, baixo teor de matéria orgânica e baixa CTC, típica de solos com predominância do argilo-mineral caulinita (STRECK *et al.*, 2008).

### 2.3 Biorreatores

Para montagem do experimento foram utilizados cilindros de alumínio, que funcionaram como biorreatores. Estes possuíam 24 cm de diâmetro e 24 cm de altura. A Figura 1 mostra os biorreatores utilizados no experimento.



Figura 1 – Biorreatores utilizados no experimento

### 2.4 Contaminação do solo e montagem dos biorreatores

O solo foi submetido à secagem natural ao sol para remoção da umidade para um valor menor que 30%, sendo posteriormente armazenado em sacos plásticos.

A massa de solo foi inicialmente acrescida de água até atingir 30% de umidade, homogeneizada e adicionada de diferentes proporções de diesel e biodiesel, sendo estas B0, B5, B12,5, B20, B50 e B100 (o valor junto ao B expressa a porcentagem de biodiesel junto ao diesel). A contaminação foi feita com 4% de contaminante em relação à massa seca de solo, sendo que a umidade final foi de 34%. A massa total de solo contida no biorreator foi dividida em cinco partes iguais e, para cada parte, foi feita a contaminação e compactação dentro do recipiente do biorreator, na massa específica natural de campo (1600 kg/m<sup>3</sup>). Os biorreatores foram montados em laboratório, com condições de temperatura controlada de 24 °C. Os experimentos foram realizados em duplicata, totalizando 12 biorreatores.

### 2.5 Coleta do solo contaminado e avaliação do processo de degradação

O experimento foi realizado durante 105 dias, sendo coletadas amostras de solo ao final do experimento.

A degradação das misturas de diesel e biodiesel foi avaliada por meio da determinação de óleos e graxas do solo, por meio do método de Soxhlet, baseado na quantificação gravimétrica do material extraído com solvente (hexano), adaptado do “Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater” (APHA, 2005).

A degradação das cadeias carbônicas foi avaliada por meio de cromatografia gasosa. Os contaminantes foram quantificados por um Cromatógrafo de Gás Varian (modelo 3400) equipado com um detector de ionização de chama. O hidrogênio foi utilizado como gás portador, a

uma taxa de fluxo de 2 mL.min<sup>-1</sup>. As temperaturas do injetor e detector foram 250 °C e 300 °C, respectivamente. Uma coluna PE WAX capilar de polietilenoglicol (30 m x 0,25 mm x 0,25 mm) foi utilizada para determinação de hidrocarbonetos, com uma temperatura do forno inicial de 35 °C, indo até 5 °C min<sup>-1</sup> a 245 °C, e permanecendo à temperatura último durante 20 min. Os Hidrocarbonetos foram identificados por comparação dos tempos de retenção com os padrões específicos quantificados por normalização das áreas.

### 2.6 Tratamento dos dados e análise estatística

Os resultados foram avaliados por meio da Análise de Variância e comparação de médias pelo Teste de Tukey a 5% de significância utilizando o *software* Statistica 5.5.

## 3 – RESULTADOS E DISCUSSÕES

Os resultados quantitativos e qualitativos da degradação do contaminante durante o período de teste estão apresentados e discutidos a seguir.

### 3.1 Remoção de óleos e graxas dos solos contaminados pelo processo de atenuação natural

Os resultados de percentual de óleos e graxas no solo representam a fração residual dos contaminantes não degradados na atenuação natural após 105 dias de biorremediação, sendo que a contaminação inicial para todas as misturas foi de 4%. A Tabela 2 apresenta os percentuais de degradação obtidos em relação ao tempo inicial do ensaio para as diferentes misturas estudadas.

Observou-se que a degradação dos contaminantes ocorreu em todas as misturas estudadas, sendo que a mistura B100 apresentou o maior percentual de degradação, chegando próximo a 90%. Ainda, o percentual de degradação aumentou com o teor de biodiesel adicionado nas misturas, conforme mostrado na Tabela 2.

Tabela 2 – Porcentagem de degradação das diferentes misturas após 105 dias

Mistura	% de degradação
B0	60,37 ± 0,53D
B5	57,37 ± 3,71D
B12,5	60,62 ± 0,88D
B20	70,75 ± 1,06C
B50	80,00 ± 0,01B
B100	89,25 ± 1,06A

Médias seguidas por letras diferentes representam diferença significativa em um nível de significância de 5%.

A comparação das médias de degradação por meio do teste de Tukey demonstrou que as misturas utilizadas com percentuais de biodiesel inferiores a 20% (B12,5; B5 e B0)

apresentaram degradação iguais estatisticamente ( $p > 0,05$ ), enquanto que as degradações obtidas a partir da mistura B20 foram gradativamente superiores ( $p < 0,05$ ). Esses dados corroboram o estudo feito por Mariano *et al.*, (2008) em que comparando diferentes misturas de diesel e biodiesel concluiu que as misturas estudadas com 2% e 5% não apresentaram diferenças significativas de degradação, mas com a porcentagem de 20% apresentaram diferenças significativas. Ainda um aumento na biodegradabilidade de misturas de diesel e biodiesel foi demonstrado por outros autores (BENTO *et al.* 2006; PASQUALINO *et al.*, 2006; MARIANO *et al.*, 2008; JUNIOR *et al.*, 2009)

A degradação dos metil ésteres presentes no biodiesel primeiramente envolve a ação de lipases produzidas pelos microrganismos, sendo obtidos ácidos graxos, os quais são convertidos diretamente até acetil-CoA para posterior conversão a  $CO_2$  por meio do ciclo de Krebs em um processo metabólico denominado beta-oxidação (BERG *et al.*, 2006). Em comparação, os hidrocarbonetos de cadeia linear presentes do diesel (alcanos, alcenos) primeiramente precisam ser convertidos a alcoóis, aldeídos e posteriormente a ácidos graxos, para então serem convertidos pela beta-oxidação (FRITSCHER e HOFRICHTER, 2008). Já compostos aromáticos, como os HPAs e BTEX, também presentes no óleo diesel envolvem a conversão do substrato aromático em um metabólito como o catecol, com posterior abertura do anel por enzimas denominadas dioxigenases e conversão a compostos como acetil-CoA, oxalato e piruvato, os quais são intermediários do processo respiratório (LEMOES *et al.*, 2009).

O bom resultado de degradação apresenta influencia da presença do biodiesel nas amostras. Inicialmente os microrganismos utilizaram fontes de carbono mais lábeis, como a fração biodiesel e hidrocarbonetos alifáticos, assim, provavelmente, conseguiram estabelecer uma estrutura populacional significativa após um período de adaptação. Puderam, também, exibir um suporte enzimático, a fim de biodisponibilizar uma quantidade significativa de carbono de fácil obtenção para produção de energia pela célula – o que possivelmente contribuiu para a degradação das frações mais recalcitrantes da mistura, como os hidrocarbonetos aromáticos policíclicos. Vários autores reforçam que a biodegradação das frações pesadas de derivados do petróleo pode ser tanto estimulada quanto aumentada, devido ao fenômeno do cometabolismo microbiano (ZHANG *et al.*, 1998; PASQUALINO *et al.*, 2006). O fenômeno vem sendo bastante discutido e estudado, principalmente para misturas de diesel/biodiesel (PASQUALINO *et al.*, 2006; OWSIANIAK *et al.*, 2009).

### 3.2 Degradação das cadeias carbônicas

A avaliação da degradação por meio da cromatografia gasosa permitiu analisar as cadeias carbônicas compostas

por 12 a 30 carbonos (C12 a C30), correspondendo a cadeias pertencentes às frações leve e pesada. Na fração leve fazem parte os carbonos compreendidos entre o C12 e o C23 e na fração pesada fazem parte os carbonos compreendidos entre o C24 e o C40 (BENTO *et al.*, 2003). As Tabelas 3 e 4 apresentam os resultados de degradação das cadeias carbônicas no solo atenuado, divididos em fração leve e fração pesada, respectivamente.

Tabela 3 – Percentuais de degradação das cadeias carbônicas da fração leve após 105 dias de ensaio

Carbono	B0	B5	B12,5	B20	B50	B100
C12	59,6	58,9	*	92,1	90,6	96,4
C13	49,1	58,7	52,0	82,3	82,6	91,1
C14	41,5	53,4	27,9	69,0	50,2	78,3
C15	19,5	49,2	12,5	59,3	48,2	78,8
C16	35,4	45,5	28,4	52,1	*	68,7
C17	52,7	56,2	54,4	52,1	*	97,8
C18	56,8	63,7	68,2	54,1	99,6	95,7
C19	64,6	55,6	69,1	53,6	97,6	77,4
C20	60,2	50,3	74,5	51,8	97,9	95,7
C21	74,7	51,8	56,9	82,2	*	99,3
C22	65,2	40,6	85,5	14,6	99,9	85,9
C23	80,3	39,6	55,0	55,9	99,1	93,6
Média	55,1B	52,1B	53,1B	59,9B	85,1A	88,2A

Para a fração leve dos hidrocarbonetos, a análise estatística (teste de Tukey,  $P < 0,05$ ) demonstrou que as amostras com percentual de biodiesel inferior a 50% apresentam degradações estatisticamente iguais, enquanto que as amostras acima disto apresentaram valores diferentes e superiores de degradação.

Tabela 4 – Percentuais (%) de degradação das cadeias carbônicas da fração pesada após 105 dias de ensaio

Carbono	B0	B5	B12,5	B20	B50	B100
C24	61,1	99,3	85,9	82,9	83,3	80,1
C25	98,8	95,5	*	83,1	92,5	94,4
C26	77,1	50,9	*	70,7	92,6	88,3
C28	92,3	82,3	85,9	94,3	97,9	97,6
C30	59,7	72,1	84,4	76,2	97,7	97,3
Média	77,7A	80,1A	85,4A	81,5A	92,8A	91,5A

Na fração pesada não se observa diferença significativa de degradação para nenhuma amostra analisada, (teste de Tukey,  $P > 0,05$ ).

Observa-se, nas Tabelas 3 e 4, que os carbonos da fração pesada apresentam uma degradação maior do que na leve, porém, vale observar, que na fração pesada foram menos carbonos analisados e não o total como na fração leve. Além disso, os carbonos da fração pesada podem estar sofrendo transformações em outras cadeias de carbonos e não estarem realmente sendo degradados. Porém, considerando os resultados totais de degradação das frações leve e pesada, verificou-se que tanto os carbonos da fração leve como os carbonos da fração pesada apresentaram maior degradação conforme aumentou o teor de biodiesel na mistura, o que vai ao encontro dos resultados já apresentados de porcentagem de degradação de óleos e graxas.

#### 4 – CONCLUSÕES

Nos ensaios realizados chegou-se a uma degradação de 90% em 105 dias de aplicação da técnica de atenuação natural para a mistura B100. Para o B0 um valor máximo de 60% de degradação foi conseguido. Para os dados de cromatografia gasosa a maior degradação também ocorreu nas misturas com maior porcentagem de biodiesel, chegando a valores de 90% para a mistura B100.

A análise estatística para a degradação das misturas validou os dados mostrando que as misturas B20, B50 e B100 apresentaram valores de degradação com diferenças significativas quanto à porcentagem de biodiesel. Já as amostras B0, B5 e B12,5 não apresentaram diferenças de degradação, ou seja, a porcentagem de biodiesel abaixo de 20% não apresenta diferença significativa de degradação na mistura.

O uso da técnica de atenuação é uma boa alternativa para descontaminar solos argilosos contaminados com misturas de diesel e biodiesel. Ainda, os usos do biodiesel como combustível, além de ser ambientalmente mais adequado, pela menor geração de gases poluentes na sua queima, ainda é mais biodegradável e auxilia na degradação de combustíveis fósseis, utilizados na mistura, pelo efeito do cometabolismo.

#### REFERÊNCIAS

ABDULSALAM, S. OMALE, A. B. Comparison of biostimulation and bioaugmentation techniques for the remediation of used motor oil contaminated soil. **Braz. arch. biol. technol. [online]**, v. 52(3), p. 747-754, 2009.  
AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION (APHA). **Standard methods for the examination of water & wastewater**. 21<sup>st</sup> ed. Washington; 2005. ca. 1260 p.  
BENTO F. M.; CAMARGO, F. A. O.; OKEKE B.C., FRANKENBERGER, William T. Comparative bioremediation of soils contaminated with diesel oil by

natural attenuation, biostimulation and bioaugmentation. **Bioresource Technology**, v. 96, p. 1049–1055, 2005.  
BENTO, F. M.; CAMARGO, F. A. O.; OKEKE, B. Bioremediation of soil contaminated by diesel oil. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 34 (Suppl.1), p.65-68, 2003.  
BENTO, F. M.; CAMARGO, F. A. O.; GAYLARDE, C. C.; VISCARDI, S. L.; MENENDEZ, A.; DARODA, R. Suscetibilidade do Óleo Diesel com 2 e 5% de biodiesel à contaminação microbiana durante a estocagem. **Revista Biodiesel**, v. 4, p. 24-26, 2006.  
BERG, J. M.; TYMOCZKO, J. L.; STRYER, L. **Biochemistry**, 6<sup>th</sup> ed. W.H. Freeman, 2006, 1120 p.  
BERTORELLI, A. E.; HARALYI, N. Geologia do Brasil. In: OLIVEIRA, A. M. S.; BRITO, S. N. A. (Coord.) **Geologia de engenharia**. São Paulo: Associação Brasileira de Geologia de Engenharia, 1998, 584 p.  
BOSCOV, M. E. G. **Geotecnia ambiental**. São Paulo: Oficina de Textos, 2008, 248 p.  
BÜCKER, F.; NAIARA, A. S.; ROESCH, L. F.; JACQUES, R. J. S.; PERALBA, M. C. R.; CAMARGO, F. A. O.; BENTO, F. M. Impact of biodiesel on biodeterioration of stored Brazilian diesel oil. **International Biodeterioration & Biodegradation**, v. 65, p. 172-178, 2011.  
DEMELLO, J. A.; CARMICHAEL, C. A.; PEACOCK, E. E.; NELSON, R. K.; AREY, J. S.; REDDY, C. M. Biodegradation and environmental behavior of biodiesel mixtures in the sea: An initial study. **Marine Pollution Bulletin**, v. 54, p. 894-904, 2007.  
DEMIRBAS, A. Progress and recent trends in biodiesel fuels. **Energy Conversion and Management**, v. 50, p. 14-34, 2009.  
FEPAM-RS – Fundação Estadual de Proteção Ambiental Henrique Luiz Roessler. **Acidentes de transporte de cargas perigosas**. Disponível em: <[http://www.fepam.rs.gov.br/emergencia/rel\\_acidentes.asp?pagina\\_Atual=2&navegacao=next&ordem](http://www.fepam.rs.gov.br/emergencia/rel_acidentes.asp?pagina_Atual=2&navegacao=next&ordem)>. Acesso em: 02 jan. 2012.  
FRITSCH, W.; HOFRICHTER, M. Aerobic Degradation by microorganisms. In **Biotechnology Environmental Processes II**. Jördening, H. J. and Winter, J. Volume 11b, Second Edition, 2008.  
JACQUES, R. J. S.; BENTO, F. M.; ANTONIOLLI, Z. I. C.; FLÁVIO, A. O. Biorremediação de solos contaminados com hidrocarbonetos aromáticos policíclicos. **Cienc. Rural [online]**, vol.37, n. 4, p. 1192-1201, 2007.  
JUNIOR, J. S.; MARIANO, A. P.; ANGELIS, D. F. Biodegradation of biodiesel/ diesel blends by *Candida viswanathii*. **African Journal of Biotechnology**, v. 8, p. 2774-2778, 2009.  
KARAMALIDIS, A. K.; EVANGELOU, A. C.; KARABIKA, E.; KOUKKOU, A. I.; DRAINAS, C.; VOUDRIAS, E. A. Laboratory scale bioremediation of

petroleum-contaminated soil by indigenous microorganisms and added *Pseudomonas aeruginosa* strain Spet. **Bioresource Technology**, v. 101: p. 6545-6552, 2010.

LEMOS, J. L. S.; OLIVEIRA, S. D.; BARROS, C. A.; SCHLITTLER, L. A. F. S. Hidrocarbonetos aromáticos policíclicos (HAP), propriedades e fatores que afetam sua degradação. **Diálogos e Ciência**, Ano III, n. 11, 2009.

LIN, T.; PAN, P.; CHENG, S. Ex situ bioremediation of oil-contaminated soil. **Journal of Hazardous Materials**, v. 176, p. 27–34, 2010.

MARCHETTI, J. M.; MIGUEL, V. U.; ERRAZU, A. F. Possible methods for biodiesel production. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 11, p. 1300-1311, 2007.

MARIANO, A. P.; TOMASELE, R. C.; OLIVEIRA, L. M.; CONTIEIRO, J.; ANGELIS, D. F. Biodegradability of diesel and biodiesel blends. **African Journal of Biotechnology**, v.7, p. 1323-1328, 2008.

MORAES, B. E.; TORNISIELO, T. M. S. Biodegradation of Oil Refinery Residues Using Mixed- Culture of Microorganisms Isolated from a Landfarming. **Brazilian archives of Biology and Technology**, v. 52(6) p. 1571-1578, 2009.

MURUGESAN, A.; UMARANI, C.; CHINNUSAMY, T. R.; KRISHNAN, M.; SUBRAMANIAN, R.; NEDUZCHEZHAIN, N. Production and analysis of biodiesel from non edible oils: a review. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 13, p. 825-834, 2009.

OWSIANIAK, M.; LUKASZ C.; SZULC A.; STANIEWSKI, J.; ANDRZEJ O.; AGNIESZKA K.; OLEJNIK S.; HERMANN J. Biodegradation of diesel/biodiesel blends by a consortium of hydrocarbon degraders: Effect of the type of blend and the addition of biosurfactants. **Bioresource Technology**, v. 100, p. 1497–1500, 2009.

PASQUALINO, J. C.; MONTANE, D.; SALVADÓ, J. Synergic effects of biodiesel in the biodegradability of fossil-derived fuels. **Biomass and Bioenergy**, v. 30, p. 874–879, 2006.

PRINCE, R. C.; HAITMANEK, C.; LEE, C. C. The primary aerobic biodegradation of biodiesel B20. **Chemosphere**, v.71, p. 1446-1451, 2008.

SCHLEICHER, T.; WERKMEISTER, R.; RUSS, W.; MEYER-PITTRUF, R. Microbiological stability of biodiesel-diesel mixtures. **Bioresource Technology**, v. 100, p. 724-730, 2008.

SHARMA, Y. C.; SINGH, B.; UPADHYAY, S. N. Advancements in development and characterization of biodiesel: A review. **Fuel**, v. 87, p. 2355-2373, 2008.

STRECK, E. V. **Solos do Rio Grande do Sul**. 2. ed. Porto Alegre: EMATER, RS, BRASIL, 2008.

ZHANG, X.; PETERSON, C. L.; REECE, D.; HAWS, R.; MOLLER, G. Biodegradability of biodiesel in the aquatic environment. **ASABE**, v. 41, p.1423-1430, 1998.