

12º CONGRESSO BRASILEIRO DE PESQUISA E DESENVOLVIMENTO EM PETRÓLEO E GÁS



TÍTULO DO TRABALHO:

USO DE PROCESSOS ANAERÓBIOS PARA BIODEGRADAÇÃO E BIORREMEDIAÇÃO DE RESÍDUOS DA INDÚSTRIA DO PETRÓLEO: VANTAGENS E LIMITAÇÕES

AUTORES:

Guilherme Gomes de Sousa Magalhães, Liliana Andréa dos Santos, Leocádia Terezinha Cordeiro Beltrame, Tatiana Souza Porto, André Felipe de Melo Sales Santos

INSTITUIÇÃO:

Universidade Federal Rural de Pernambuco - UFRPE

USO DE PROCESSOS ANAERÓBIOS PARA BIODEGRADAÇÃO E BIORREMEDIÇÃO DE RESÍDUOS DA INDÚSTRIA DO PETRÓLEO: VANTAGENS E LIMITAÇÕES

Resumo

O petróleo tem sido utilizado para diversas finalidades há séculos, mas seu uso e valor comercial aumentaram significativamente após a Segunda Guerra Mundial devido à sua ampla aplicabilidade, incluindo a produção de plástico, betume e combustíveis. Formado a partir de processos geoquímicos e biológicos, que alteraram as moléculas orgânicas sob altas temperaturas e pressão ao longo de milhões de anos, o petróleo é um recurso natural valioso e versátil. No entanto, sua extração, comercialização e uso apresentam sérios desafios ambientais na atualidade. No presente estudo foram compiladas informações sobre a aplicabilidade de processos anaeróbios para biodegradação de petróleo, através de uma revisão bibliográfica na plataforma SCOPUS. Foram selecionados 114 documentos aderentes ao tema-foco, no período estudado (2020-2023), publicados por diversos países onde se destacaram principalmente da China e os Estados Unidos, com 25 e 24 documentos, respectivamente. Esta revisão permitiu uma visão sobre as tendências de pesquisas e avanços na área de biodegradação anaeróbia do petróleo nas últimas décadas. A análise dos documentos indicou que, a biodegradabilidade anaeróbia, apesar de apresentar claras limitações técnicas bem relatadas na literatura clássica, pode ser otimizada com o uso de processos auxiliares como da utilização de estimuladores (aceptores de elétrons, nutrientes, microrganismos específicos) ou de processos biotecnológicos (biorretores, biobarreiras) com possibilidades de uso *in situ* e *ex situ*. Embora os processos anaeróbios sejam limitados a ambientes sem a presença de oxigênio, eles têm um grande potencial biodegradador. A capacidade de degradar compostos complexos do petróleo em condições anaeróbias, também pode se mostrar como um ponto forte, uma vez que abre novas possibilidades para a remediação de áreas contaminadas de difícil acesso (altas profundidades) onde a utilização de processos aeróbios seja restrito ou inviável.

Palavras-chave: Petróleo, Biodegradabilidade, Processos Anaeróbios, Biorremediação.

Abstract

Oil has been used for various purposes for a long time, but its commercial value increased significantly after World War II due to its wide applicability, including the production of plastic, bitumen, and fuels. Formed from the compression of organic molecules under high temperatures and pressure over millions of years, oil is a valuable and versatile natural resource. However, its extraction and use pose serious environmental challenges. This study aims to compile information on the applicability of anaerobic processes for the biodegradation of oil and its derivatives. For this purpose, a bibliometric review was conducted through the Scopus platform, gathering 114 documents from various countries, mainly from China and the United States. This review provided a global perspective on research and advancements in the field of anaerobic biodegradation of oil and its derivatives. The analysis of the documents indicated that, over the studied period, anaerobic biodegradability evolved from being seen as limited to being more thoroughly investigated, primarily through bioaugmentation and stimulation of organisms and their genetic sequencing. Utilizing various technologies such as reactive barriers and reactors, in addition to the stimulation of present organisms, and with methods of injecting electron acceptors like nitrate and sulfate being the most common, satisfactory results were obtained. Although anaerobic processes are limited to environments without the presence of oxygen, they have great biodegradation potential. The ability to degrade complex oil compounds under anaerobic conditions can also be a strong

point, as it opens new possibilities for the remediation of contaminated areas where access to oxygen is restricted or unfeasible.

Keywords: Petróleo, Biodegradação, Anaeróbico Process, Biorremediação.

Introdução

O petróleo tem sido utilizado pela humanidade para diversas finalidades. A diversificação do seu uso acompanhou o crescente desenvolvimento científico e tecnológico ampliando sua importância econômica e social, mas também a complexidade seus impactos ambientais de sua cadeia produtiva. No final da Segunda Guerra Mundial, ele passou a ser visto como uma commodity de grande valor e interesse comercial, em função de sua ampla aplicabilidade, desde a produção de plástico e betume até a produção de combustíveis (Ribeiro, Alba, Sene, 2018).

O petróleo é formado a partir da compactação de moléculas de proteínas, lipídeos, carboidratos e outros, onde após longa exposição à altas temperaturas e pressão, gera-se o petróleo. Este pode ser encontrado e extraído de diversas maneiras, as quais possuem grande impacto no ecossistema local, o qual é intensificado em casos de acidentes (Robinson, Hsu, 2017). Segundo a Energy Information Administration dos EUA (2024), no ano de 2023, a produção global de petróleo atingiu cerca de 101,81 milhões barris.dia⁻¹, com os EUA, Arábia Saudita e Rússia, como os três maiores produtores globais, com cerca de 22%, 11% e 11% da produção global, respectivamente.

O impacto ambiental gerado pela extração, derramamentos e consumo, está diretamente relacionado à sua composição química. O petróleo, é formado por uma combinação complexa de moléculas orgânicas, alifáticas, hidrocarbonetos monocromáticos e policíclicos aromáticos, os quais tem efeito nocivo ao ser humano e outras formas de vida (Pereira, Freitas, 2012; Silva *et al.*, 2021).

Quando submetido ao processo de refinamento, são gerados produtos combustíveis como: diesel, querosene e gasolina, os quais quando queimados, geram gases responsáveis pelo efeito estufa (GEE), tornando-o um dos maiores causadores da crise climática contemporânea (Martins *et al.*, 2015; Silva *et al.*, 2021).

Dessa forma, se faz necessário a adoção de medidas mitigadoras, para minimizar o impacto causado, em especial nos casos onde existe contaminação direta de água e solo. Nestes casos, uma remediação baseada na atuação de processos biológicos, através da bioconversão destes materiais em energia para microrganismos degradadores, apresenta uma solução eficiente e pouco danosa à região afetada (Pereira, Freitas, 2012).

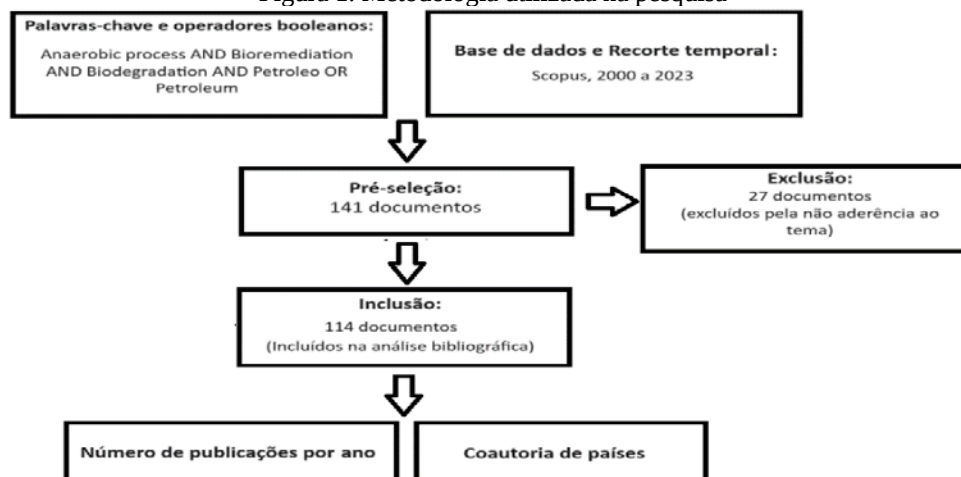
Uma vez que o petróleo, sendo formado por moléculas orgânica, é sujeito à processos biológicos sendo utilizado como fonte de carbono, nutrientes e energia para microrganismos aeróbios e anaeróbios (Bacosa *et al.*, 2018). Os processos anaeróbios em particular possuem vantagens inerentes a maior simplicidade operacional e possibilidade de ganhos energéticos indiretos como da produção de biogás. Entretanto, nos processos biodegradativos o foco principal está na eliminação das moléculas potencialmente poluidoras e recalcitrantes de forma mais barata, efetiva e com menos impactos.

O objetivo deste trabalho foi realizar uma revisão bibliográfica sobre o tema-foco biodegradabilidade anaeróbica do petróleo, com o objetivo de compilar dados sobre a biodegradabilidade, os microrganismos atuantes e as condições propícias para a atuação destes, bem como verificar o estado da arte e as tendências e limitações destacadas na literatura mais atualizada.

Metodologia

Foi realizado um levantamento bibliográfico através da base de dados *Scopus*, por se tratar de plataforma reconhecida pela qualidade e amplitude. A coleta de dados foi realizada no dia 14 de julho de 2023, a partir da plataforma de periódicos nacional CapesCafe. Na Figura 1 apresenta-se a sequência metodológica utilizada para a seleção dos artigos utilizados na avaliação do tema-foco do trabalho e que representam o seu estado da arte.

Figura 1. Metodologia utilizada na pesquisa



Fonte: Autores (2024)

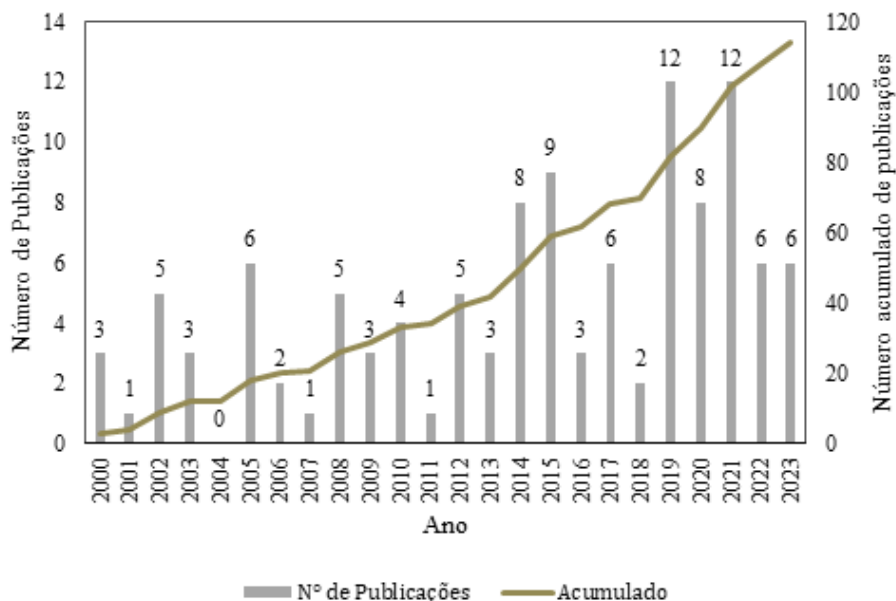
A busca teve por objetivo encontrar artigos nacionais e internacionais, utilizando palavras-chave em inglês em um recorte temporal de 24 anos (2000 - 2023). As palavras-chave utilizadas para este levantamento bibliográfico foram relacionadas ao tema em foco. Foram utilizadas as seguintes palavras na língua inglesa: *Anaerobic Process*, *Biodegradation*, *Petroleum* e *Bioremediation*. Após a busca, os artigos encontrados passaram por um minucioso processo de avaliação individual, leitura e confirmação de sua relação com a temática pesquisada e avaliação crítica. Esses artigos foram exportados para programas como Excel® e Word®, onde foram compilados para análise e elaboração de gráficos e tabelas. Foram utilizados softwares VOSviewer® para a construção das nuvens bibliométricas e a plataforma on line MapChat.net para a construção do gráfico de distribuição geográfica da produção científica.

Resultados e Discussão

Através da revisão bibliográfica das produções acadêmicas das últimas duas décadas, foi possível observar a evolução da pesquisa nesta área e identificar as abordagens e tendências relacionadas as inovações tecnológicas em contraponto as limitações já reconhecidas para uso de processos anaeróbios no tratamento de resíduos de petróleo e derivados. Foram obtidos 141 artigos sobre o tema, sendo contabilizados 114 artigos relevantes e sendo 27 excluídos após serem avaliados como não aderentes ao tema-foco. No Gráfico da Figura 2 apresenta-se a evolução das publicações selecionadas no recorte de tempo determinado. Verificou-se um aumento linear no número das publicações em 2 décadas, demonstrando uma manutenção crescente, mas estável e consistente, do interesse da comunidade científica no tema-foco.

Em termos da distribuição geográficas (Figura 3) das publicações observadas para o tema-foco, essa temática tem sido objeto de pesquisa em diversos países ao redor do mundo, devido à problemática global da contaminação por petróleo e derivados em água e solo.

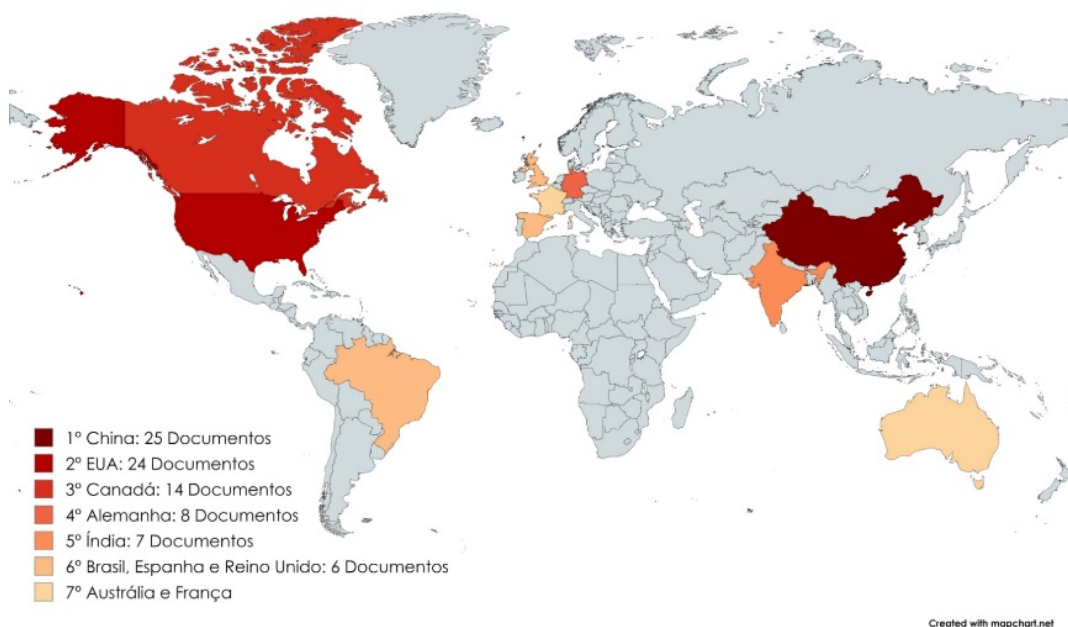
Figura 2. Número de publicações por ano



Fonte: Autores (2024)

Os países com o maior número de publicações foram: a China (1º) e Estados Unidos (2º), com 25 e 24 documentos, e 1309 e 526 citações, respectivamente, seguidos pelo Canadá (3º), com 14 documentos e 686 citações (Figura 3). Destacaram-se também a Alemanha (4º) e Índia (5º). No 6º lugar figuram o Brasil, Reino Unido e Espanha e no 7º Austrália e França. Os artigos a se destacar abordaram temas ligados a dificuldade da biodegradabilidade anaeróbia, técnicas de estímulo *in situ* e *ex situ* e influência de fatores ambientais e microrganismos.

Figura 3. Publicações por Países (TOP 7)



Fonte: Autores (2024)

Biodegradabilidade anaeróbia de compostos de petróleo

A biodegradabilidade do petróleo e seus derivados por processos anaeróbios é geralmente considerada limitada em comparação com a biodegradação aeróbia. No entanto, estudos mostram que uma vasta gama de componentes orgânicos do petróleo pode ser degradada em condições anaeróbias.

Durante todo o período muitos métodos e tecnologias foram desenvolvidas para viabilizar o uso de processos anaeróbios na degradação do petróleo como método para remediação. A biodegradação anaeróbia envolve uma sequência complexa de processos metabólicos que quebram moléculas mais complexas em moléculas mais simples, existindo muitas vias para a degradação de hidrocarbonetos, via metanogênese a partir da redução desses em CO₂, CH₄, Acetato e H₂ (Dolfing, Larter, Head, 2008). Durante esse processo, há a produção de gases como o metano (CH₄), que pode ser aproveitado para geração de energia.

Estratégias *in situ*: estímulo da biodegradabilidade anaeróbia pelo uso de aceptores de elétrons e biobarreiras

Em ambientes de águas profundas, por exemplo, esta técnica pode ser empregada, visto que o oxigênio é limitado ou inexistente e a aeração artificial é difícil ou inviável (no caso da biorremediação *in situ*), a adoção de técnicas anaeróbias pode ser uma opção viável. Contudo, este processo é mais lento e, em alguns casos, requer o aumento de aceptores de elétrons para estimular a degradação, além de gerar pouca energia, o que limita a degradação (Wang *et al.*, 2021). Destacaram-se o Sulfato e Nitrato como os aceptores mais comuns e eficientes para potencializar a biodegradação anaeróbia de petróleo e em água ou sedimentos. A injeção desses aceptores atuam estimulando a atividade microbiana de organismos degradadores. Alguns dos principais poluentes estudados foram: hidrocarbonetos aromáticos, como benzeno, tolueno, etilbenzeno e xileno (BTEX), hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (HPA) e éter metil tert-butilico (MTBE) (Anderson, Lovley, 2000; Cunningham *et al.*, 2000; Youngster, Somsamak, Haggblom, 2008). Contudo, estes aceptores podem ter efeito negativo quando em altas concentrações. Yang, et al (2013) destaca que com o acúmulo de produtos intermediários tóxicos (metabólitos), podem inibir o crescimento dos microrganismos anaeróbios prejudicando o processo de biodegradação.

Tecnologias envolvendo biobarreiras para redução de compostos carbonáceos e redutoras de sulfato, foram estudadas, com taxas de degradação de 70% e 92% para MTBE e tolueno, respectivamente (Hsia *et al.*, 2021), e de 95% e 99% para hidrocarbonetos alifáticos clorados totais e hidrocarbonetos de petróleo, respectivamente (Casiraghi *et al.*, 2022).

Estratégias *ex situ*: biorreatores, biopilhas e biolavagem

Na abordagem da biorremediação *ex situ*, destacaram-se o uso de biorreatores de membrana (MBR) (Kim *et al.*, 2006) e reatores UASB para a degradação de petróleo leve, médio e pesado (Rincon *et al.*, 2003). No caso do petróleo leve, foi observada uma remoção de até 87%, enquanto as taxas para o petróleo médio e pesado foram de 20% e 37%, respectivamente. Zou (2015) alcançou uma remoção de 89,4% para óleo pesado, utilizando um reator UASB combinado com um filtro biológico aerado (FBA) de dois estágios.

As biopilhas envolvem a escavação do solo contaminado e sua disposição em camadas ou "pilhas" em uma área específica fora do local original da contaminação, para posterior tratamento com microrganismos, nutrientes e, às vezes, oxigênio, para promover a degradação dos poluentes. O processo é monitorado e controlado, com o objetivo de acelerar a degradação dos contaminantes no solo.

Na biolavagem o solo contaminado é removido do local de origem e tratado em uma instalação externa. O tratamento envolve a lavagem do solo com soluções aquosas (normalmente água ou soluções contendo surfactantes ou agentes quelantes) que removem os contaminantes. Em algumas versões do processo, microrganismos podem ser usados para degradar os contaminantes que são solubilizados pela lavagem. Essa técnica entretanto, gera efluente que deve ser tratados à *posteriori* da remoção da fração sólida (sólido tratado) do meio reacional.

Influência de parâmetros ambientais e comunidade microbiana

A compreensão dos parâmetros ambientais nos quais esses processos se beneficiam, são de grande importância para tomada de decisão, no estudo de Zekri e Chaalal (2005) no qual investigaram o impacto de parâmetros físico-químicos na biodegradabilidade do petróleo em água, indicaram que temperaturas mais altas favorecem a biodegradabilidade, enquanto concentrações maiores de óleo a reduzem. A salinidade também mostrou influência significativa. Enquanto Farahani e Mirbagheri (2012), indicam que condições de pH 7,5, temperatura de 30°C e proporção de C: N: P igual a 100:5:1, 100:10:1 e 100:5:1 para NH_4NO_3 , $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, $(\text{NH}_2)_2\text{CO}$ como fontes de N, respectivamente, seria a mais adequada. A comunidade microbiana responsável pela degradação pode ser bastante diversa, nos anos mais recentes, estudos destacaram a presença de comunidades microbianas como *Thermotogales*, *Synergistales*, *Deferribacterales*, *Thermoanaerobacterales* e *Methanobacteriaceae* na degradação de petróleo (Gieg *et al.*, 2010). Pesquisas na área da genética para identificar genes, enzimas e microrganismos envolvidos na degradação, destacando a presença de *Synergistetes* e Proteobacterias (Scherr *et al.*, 2012). Já em solos contaminados, predominam Firmicutes, já Yeung *et al.* (2013) e Scherr *et al.* (2012) utilizaram o gene 16S rRNA para investigar *Pseudomonas*, *Thiobacillus* e *Geobacter*, associados à biodegradação anaeróbia de hidrocarbonetos.

Conclusões

O petróleo é um material amplamente utilizado em diversos setores da indústria, porém representa um grande problema devido ao seu status como combustível fóssil, contribuindo para o efeito estufa e a contaminação ambiental. Os derivados de petróleo têm efeitos nocivos tanto para a saúde humana e animal, quanto para os ecossistemas.

A aplicação de processos biológicos, em particular os anaeróbios, surge como uma solução emergente para ajudar na solução dessa problemática, permitindo o uso de diversas técnicas de remediação *in situ* e *ex situ* em meios líquidos e sólidos que apresentam diferentes características físico-químicas. Isso inclui a bioaugmentação e bioestimulação das comunidades microbianas presentes no ambiente impactado, sem impactos significativos ou minimizados no ambiente, uso de biobarreiras e biorreatores.

A evolução da pesquisa na área, com novos estudos focados, por exemplo, na caracterização de genes específicos, uso de enzimas e microrganismos específicos com elevada capacidade biodegradativa, evidencia que esses processos podem ser amplamente utilizados e potencializados com o advento da genética e do uso de novas tecnologias. A aplicação tecnologias anaeróbias para remediação de áreas onde o processo de aeração é muito custoso ou inviável *in-situ*, torna-a a melhor opção, com custos mais reduzidos e ganhos ambientais significativos.

Referências Bibliográficas

- ANDERSON, R. T.; LOVLEY, D. R. Anaerobic bioremediation of benzene under sulfate-reducing conditions in a petroleum-contaminated aquifer. **Environmental Science and Technology**. v. 34, n. 11, p. 2261 – 2266. 2000. DOI: 10.1021/es991211a
- BACOSA, H. P.; ERDNER, D. L.; ROSENHEIM, B. E.; SHETTY, P.; SEITZ, K. W. BAKER, B. J.; LIU, Z. Hydrocarbon degradation and response of seafloor sediment bacterial community in the northern Gulf of Mexico to light Louisiana sweet crude oil. **The ISME Journal**. v. 12, n. 10, p. 2532 – 2543. 2018. <https://doi.org/10.1038/s41396-018-0190-1>
- CASIRAGHI, G.; PEDRETTI, D.; BERETTA, G. P.; BERTOLINI, M.; BOZZETTO, G.; CAVALCA, L.; FERRARI, L.; MASETTI, M.; TERRENGHI, J. Piloting Activities for the Design of a Large-scale Biobarrier Involving *In situ* Sequential Anaerobic–aerobic Bioremediation of Organochlorides and Hydrocarbons. **Water, Air, and Soil Pollution**. v. 233, n. 10. 2022. DOI: 10.1007/s11270-022-058861
- CUNNINGHAM, J. A.; HOPKINS, G. D.; LEBRON, C. A.; REINHARD, M. Enhanced anaerobic bioremediation of groundwater contaminated by fuel hydrocarbons at seal beach, California. **Biodegradation**. v. 11, n. 2-3, p. 159 – 170. 2000. DOI: 10.1023/A:1011167709913
- DOLFING, J.; LARTER, S. R.; HEAD, I. M. Thermodynamic constraints on methanogenic crude oil biodegradation. **ISME Journal**. v. 2, n. 4, p. 442 – 452. 2008. DOI: 10.1038/ismej.2007.111.
- EIA – Energy Information Administration. Petroleum and other liquids. Washington. 2024. Disponível em: <https://www.eia.gov/international/data/world/petroleum-and-other-liquids/annual-refined-petroleum-products>
- FARAHANI, M.; MIRBAGHERI, S. A. Using indigenous microorganisms to reduce petroleum contamination in tehran oil refinery contaminated soil. **Journal of Environmental Studies**. v. 38, n. 61, p. 1 – 8. 2012.
- GIEG, L. M.; DAVIDORA, I. A.; DUNCAN, K. E.; SUFLITA, J. M. Methanogenesis, sulfate reduction and crude oil biodegradation in hot Alaskan oilfields. **Environmental Microbiology**. v. 12, n. 11, p. 3074 – 3086. 2010. DOI: 10.1111/j.1462-2920.2010.02282.x
- HSIA, K. F.; CHEN, C. C.; OU, J. H.; LO, K. H.; SHEU, Y. T.; KAO, C. M. Treatment of petroleum hydrocarbon-polluted groundwater with innovative *in situ* sulfate-releasing biobarrier. **Journal of Cleaner Production**. V. 295. 2021. DOI: 10.1016/j.jclepro.2021.126424
- KIM, B. R.; ANDERSON, J. E.; MUELLER, S. A.; GAINES, W. A.; SZAFRANSKI, M. J.; BREMMER, A. L.; YAREMA, G. J.; GUCIARDO, C. D.; LINDEN, S.; DOHERTY, T. E. Design and startup of a membrane-biological-reactor system at a ford-engine plant for treating oily wastewater. **Water Environment Research**. v. 78, n. 4, p. 362 – 371. 2006.
- MARTINS, S. S. S.; SILVA, M. P.; AZEVEDO, M. O.; SILVA, V. P. Produção de petróleo e impactos ambientais: algumas considerações. **Holos**. v. 6, p. 54 – 76. 2015. DOI: 10.15628/holos.2015.2201

PEREIRA, A. R. B.; FREITAS, D. A. F. USO DE MICROORGANISMOS PARA A BIORREMEDIAÇÃO DE AMBIENTES IMPACTADOS. **Rev. Elet. em Gestão, Educação e Tecnologia Ambiental**. v. 6, n. 6, p. 975 – 1006. 2012.

RIBEIRO, C. G.; ALBA, H. B.; SENE, T. S. A oscilação do preço do petróleo: uma análise sobre o período entre 2010-2015. **Ei Estudos Internacionais**. v. 6, n. 1, p. 87 – 106. 2018. <http://doi.org/10.5752/P.2317-773X.2017v6.n1.p87>

RINCON, N.; CHACIN, E.; MARIN, J.; FERNANDEZ, N.; TORRIJOS, M.; MOLETTA, R. Anaerobic biodegradability of water separated from extracted crude oil. **Environmental Technology**. v. 24, n. 8, p. 963 – 970. 2003. DOI: 10.1080/09593330309385634

ROBINSON, P.R., HSU, C.S. (2017). Petroleum and Its Products. In: Kent, J., Bommaraju, T., Barnicki, S. (eds) *Handbook of Industrial Chemistry and Biotechnology*. **Springer**, Cham. https://doi.org/10.1007/978-3-319-52287-6_2

SCHERR, K. E.; LUNDAA, T.; KLOSE, V.; BOCHMANN, G.; LOIBNER, A. P. Changes in bacterial communities from anaerobic digesters during petroleum hydrocarbon degradation. **Journal of Biotechnology**. v. 157, n. 4, p. 564 – 572. 2012. DOI: 10.1016/j.jbiotec.2011.09.003

SILVA, D. C. P.; MELO, C. S.; OLIVEIRA, A. B.; SANTOS, N. M. M.; PINTO, L. C. Derramamento de Óleo no Mar e Implicações Tóxicas da Exposição aos Compostos Químicos do Petróleo. **Revista Contexto & Saúde**. v. 21, n. 44, p. 332 – 344. 2021.

WANG, B.; KUANG, S.; SHAO, H.; WANG, L.; WANG, H. Anaerobic-petroleum degrading bacteria: Diversity and biotechnological applications for improving coastal soil. **Ecotoxicology and Environmental Safety**. v. 224. 2021. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2021.112646>

YANG, X.; YE, J.; LYU, L.; WU, Q.; ZHANG, R. Anaerobic biodegradation of pyrene by paracoccus denitrificans under various nitrate/nitrite-reducing conditions. **Water, Air, and Soil Pollution**. . 224, n. 5. 2013. DOI: 10.1007/s11270-013-1578-1

YEUNG, C. W.; VAN STEMPOORT, D. R.; SPOELSTRA, J.; BICKERTON, G.; VORALEK, J.; GREER, C. W. Bacterial community evidence for anaerobic degradation of petroleum hydrocarbons in cold climate groundwater. **Cold Regions Science and Technology**. v. 86, p. 55 – 68. 2013. DOI: 10.1016/j.coldregions.2012.10.013

YOUNGSTER, L. K. G.; SOMSAMAK, P.; HAGGBLOM, M. M. Effects of co-substrates and inhibitors on the anaerobic O-demethylation of methyl tert-butyl ether (MTBE). **Applied Microbiology and Biotechnology**. v. 80, n. 6, p. 1113 – 1120. 2008. DOI: 10.1007/s00253-008-1697-6

ZEKRI, A. Y.; CHAALAL, O. Effect of temperature on biodegradation of crude oil. **Energy Sources**. v. 27, n. 1-2, p. 233 – 244. 2005. DOI: 10.1080/00908310490448299

ZOU, X. L. Treatment of heavy oil wastewater by UASB-BAFs using the combination of yeast and bacteria. **Environmental Technology (United Kingdom)**. v. 36, n. 18, p. 2381 – 2389. 2015. DOI: 10.1080/09593330.2015.1030346