

# MAPEAMENTO DE TECNOLOGIAS UTILIZANDO BIOSSURFACTANTES PARA REMEDIAÇÃO DE SOLOS CONTAMINADOS

Thayse Lopes Melgaço Bulcão <sup>1</sup>

Célia Karina Maia Cardoso <sup>2</sup>

Ícaro Thiago Andrade Moreira <sup>3</sup>

Ana Katerine de Carvalho Lima Lobato <sup>4</sup>

## RESUMO

A contaminação do solo é considerada uma grande preocupação ambiental pois acarreta efeitos nocivos não só ao meio ambiente, modificando suas características, como também aos seres vivos, podendo causar enfermidades a médio e longo prazo. Diversas técnicas físico-químicas têm sido utilizadas para remoção de poluentes do solo. Uma alternativa sustentável e que tem despertado o interesse dos pesquisadores é o uso de biossurfactantes. Essas biomoléculas têm características anfipáticas e atuam diminuindo a tensão superficial, funcionando como agentes emulsificantes. Dessa forma, ao entrarem em contato com o ambiente contaminado, são capazes de aumentar a mobilidade desse substrato facilitando sua remoção. Nesse estudo foi realizada uma prospecção de patentes na base de dados Espacenet ® sobre o uso de biossurfactantes na remediação de solos contaminados para determinar o seu nível de deposição mundial. Foi constatado que o país que mais depositou patentes foi a China com 72% das deposições totais, seguida pela Coreia do Sul com 6%. A primeira patente foi depositada em 1987 e a partir de 2002 ocorreu um crescimento na área impulsionado pela necessidade de produções sustentáveis. O microorganismo mais usado para produção de biossurfactantes foi o *Pseudomonas*. O uso de biossurfactantes para remediação possui grande potencial pois estes são compostos biodegradáveis, sintetizados a partir de recursos renováveis e que possuem baixa toxicidade, características de enorme valia no mercado atual.

**Palavras-chave:** Prospecção de patentes, Biossurfactantes, Biorremediação, Solo contaminado.

---

<sup>1</sup>Graduanda do Curso de Engenharia Química da Universidade Federal da Bahia - UFBA, [thaysebulcao@hotmail.com](mailto:thaysebulcao@hotmail.com);

<sup>2</sup>Doutoranda no Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química da Universidade Federal da Bahia - UFBA, [celia.karina@ufba.br](mailto:celia.karina@ufba.br);

<sup>3</sup>Professor Doutor no Departamento de Engenharia Ambiental da Universidade Federal da Bahia - UFBA, [icarotam@ufba.br](mailto:icarotam@ufba.br);

<sup>4</sup>Professora orientadora: Doutora em Engenharia Química, Universidade Salvador e Universidade Federal da Bahia, UNIFACS e UFBA, [ana.lobato@unifacs.br](mailto:ana.lobato@unifacs.br); [katerine.carvalho@ufba.br](mailto:katerine.carvalho@ufba.br).

## INTRODUÇÃO

O derramamento e o vazamento de óleo, que podem acontecer durante o seu transporte e o armazenamento, têm levantado cada vez mais preocupação, uma vez que o aumento crescente na demanda deste recurso pode ser associado a uma possibilidade maior da ocorrência de desastres. Esse tipo de incidente pode causar a contaminação de solos, transformando suas propriedades físico-químicas (DUFFY; PEAKE; MOHTADI, 1980) e levando à poluição de águas subterrâneas (YUN *et al.*, 2013). Esse vazamento além de introduzir compostos aromáticos como Benzeno, Tolueno, Etileno e Xileno (BTEX), que são nocivos aos seres humanos mesmo em baixas concentrações, agindo como depressores do sistema nervoso central (AMARAL *et al.*, 2017), podem também adicionar metais pesados que são altamente tóxicos para o meio ambiente (EKUNDAYO; OBUEKWE, 2000). Dessa forma, tem se mostrado necessário o desenvolvimento e aprimoramento de tecnologias que revertam os danos causados por tais contaminantes no solo, diminuindo o impacto causado por estes no meio ambiente e nos seres vivos.

Definir a melhor estratégia para a remediação das áreas contaminadas é um desafio pois a contaminação ocorre potencialmente em locais cujos frequentadores podem estar submetidos à riscos de saúde causados tanto a curto quanto a longo prazo (YUN *et al.*, 2013). Existem diversos tipos de tecnologias utilizadas para esse propósito como a lavagem do solo (FRUTOS *et al.*, 2012), a oxidação química (TSAI; KAO, 2009) e a biorremediação (SARKAR *et al.*, 2005). Atualmente os materiais de origem biológica como os biossurfactantes têm se mostrado cada vez mais atrativos para esta finalidade uma vez que são biodegradáveis e apresentam baixa toxicidade (MULLIGAN, 2009).

Os surfactantes são moléculas anfipáticas, ou seja, apresentam como característica uma parte hidrofílica e outra parte hidrofóbica. Devido a esse fator, eles possuem a capacidade de reduzir a tensão superficial e formar micelas, atuando como agentes emulsificantes (MULLIGAN, 2009). Em geral eles são produzidos a partir de derivados de petróleo, que é um recurso não-renovável. Uma alternativa mais sustentável à sua síntese é a produção de surfactantes a partir de agentes biológicos (BARROS *et al.*, 2007).

Os biossurfactantes são surfactantes obtidos por meio de micro-organismos como bactérias, fungos e leveduras e são de grande importância principalmente por causa da possibilidade de serem produzidos utilizando substratos renováveis, e também devido a sua baixa toxicidade e biodegradabilidade (NITSCHKE; PASTORE, 2002). Em virtude das suas

propriedades, eles podem ser utilizados para remediação de ambientes contaminados por metais pesados (MULLIGAN; WANG, 2006; FREIRE *et al.*, 2020) e por moléculas orgânicas apolares (MULLIGAN; EFTEKHARI, 2003), como é o caso do petróleo.

Ao entrar em contato com o solo o óleo derramado forma uma emulsão contendo água, sólidos e metais. Essa emulsão liga os hidrocarbonetos ao solo, assim sua degradação e a dos metais presentes é dificultada em função da reduzida biodisponibilidade desse substrato (GIDUDU; MUDENDA; CHIRWA, 2020). Após a inserção do biossurfactante a mobilidade do hidrocarboneto aumenta em decorrência da sua afinidade com a cauda hidrofóbica do biossurfactante. Este pode atuar diminuindo a tensão entre as fases imiscíveis e aumentando a solubilidade em fase aquosa, facilitando a retirada dos poluentes (MULLIGAN, 2009).

Por causa dessas propriedades, os biossurfactantes são uma opção atrativa para remediação de solos, despertando o interesse em desenvolvimento de pesquisa e tecnologias na área em todo o mundo. Assim, este trabalho apresenta como objetivo um estudo prospectivo da submissão de patentes no mundo visando o uso de biossurfactantes como estratégia na remediação de sedimentos contaminados, promovendo a identificação de possíveis demandas e de inovações tecnológicas.

## **METODOLOGIA**

A busca de patentes foi realizada em abril de 2021 através da base de dados internacional de acesso livre Espacenet® do *European Patent Office Patentes* (EPO) que, segundo a INPI (2021), possui um número de documentos superior a 120 milhões pertencentes a mais de 100 países. A principal limitação no estudo se deve ao período de sigilo dos escritórios de patente, ocasionando a ausência da análise de documentos que ainda não foram publicados.

Foi realizada uma busca avançada em títulos e resumos com base no tema abordado. Algumas tentativas foram realizadas usando diferentes palavras-chave (*Biosurfactant\**, *Adsorpt\**, *Remediat\**, *Enviroment\**, *Ground*, *Soil*, *Sediment*, *Sand*, *Oil*, *Petroleum*, *PHA*, *Hydrocarbon\**, *Metal*), como também, foi escolhido como código da Classificação Internacional de Patentes (WIPO, 2021), aquele que mais se encaixava na estratégia de busca (Código B09 - Eliminação de resíduos sólidos; recuperação de solo contaminado). Foram realizadas diferentes combinações do código com o operador AND e as palavras-chave previamente selecionadas.

Após a análise dos resultados, foram definidos os termos que seriam utilizados para a busca. Assim, foram selecionadas as palavras-chave com o operador AND para *biosurfactant\** e *soil* (ou referenciais similares como *sand* e *sediment*, utilizando nesse caso o operador booleano OR). Foi utilizado também o código B09 – Eliminação de resíduos sólidos; recuperação de solo contaminado. Os dados foram colocados no software Microsoft Excel para análise gráfica do número de patentes depositadas por ano, por país, por inventores de patentes e gênero dos microrganismos produtores de biosurfactantes utilizadas em âmbito mundial.

## REFERENCIAL TEÓRICO

Existem inúmeros trabalhos de pesquisadores que contemplam o uso de biosurfactante para recuperação de solos expostos a variados tipos de contaminantes, especialmente metais pesados e petróleo. Essas pesquisas abrangem diferentes tipos de cepas para produção desse agente e ratificam a sua possibilidade de aplicação e a eficácia do método.

No trabalho de Gidudu e Chirwa (2020) os biosurfactantes podem ser utilizados para melhorar a separação de fases na recuperação de solo contaminado. Eles são capazes de aumentar a taxa de remoção dos contaminantes por meio do aumento da biodisponibilidade e da redução da tensão superficial e da formação de micelas. Em sua pesquisa ele foi produzido a partir da cepa *Pseudomonas aeruginosa* e auxiliou de modo significativa a biodegradação e a recuperação do óleo derramado no solo durante as primeiras 96 horas do experimento. A porcentagem de recuperação do óleo foi de  $48,48 \pm 2,89\%$  para uma concentração de  $28 \text{ g.L}^{-1}$  de biosurfactante.

Segundo Pourfadakari, Jorfi E Ghafari (2020) a cepa de *Pseudomonas stutzeri* foi usada para produção de biosurfactante. Após sua produção, ele foi utilizado na lavagem de lama oleosa contaminada por hidrocarbonetos. Nessa técnica é possível separar os contaminantes da matriz sólida por meio do contato entre o contaminante, o solo e o agente de lavagem (biosurfactante). Para uma concentração de  $0,318 \text{ g.L}^{-1}$  de biosurfactante ocorreu uma remoção percentual de 41,6% do contaminante.

Para Mulligan (2021) os biosurfactantes apresentam potencial no uso para remediação por causa de sua biodegradabilidade, baixa toxicidade e eficácia. Assim seu uso, além de apresentar uma boa relação custo-benefício, respeita os indicadores de sustentabilidade como a conservação dos recursos naturais e a minimização da geração de resíduos.

O biossurfactante produzido pela cepa *Pseudomonas aeruginosa* foi utilizado para recuperação de solo contaminado com hidrocarbonetos policíclicos aromáticos no estudo de Chebbi e colaboradores (2017). A máxima remoção alcançada para uma concentração de 0,400 g.L<sup>-1</sup> de biossurfactante foi de 80% para fenatreno.

Conforme Phulpoto e colaboradores (2020) a surfactina é um dos tipos de biossurfactante mais eficiente devido a sua alta capacidade emulsificante. Em sua pesquisa foi utilizada a cepa *Bacillus nealsonii* para sua produção e o percentual de remoção de óleo de motor pesado como contaminante em sedimentos foi de 43,6 ± 0,08% para 0,01 g.L<sup>-1</sup> de surfactina e 46,7 ± 0,01% para uma concentração de 0,04 g.L<sup>-1</sup>.

Dessa forma, se pode concluir que o uso de biossurfactante para recuperação de solo contaminado apresenta boa eficácia em diversos estudos recentes e que sua produção pode realizada de modo eficiente por meio de microorganismos distintos, o que expande sua aplicação.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Para uma análise prévia da quantidade de patentes depositadas, foram feitas pesquisas usando diferentes tipos de palavras-chave como mostra a Tabela 1.

**Tabela 1** - Resultados da pesquisa no Espacenet®.

Palavras-chave	Pesquisa						
	1	2	3	4	5	6	7
<i>Biosurfactant*</i>	X	X	X	X	X	X	X
<i>Remediat*</i>	X	X		X			
<i>Adsorpt*</i>	X	X					
<i>Enviroment*</i>		X			X		
<i>Ground</i>		X	X	X			
<i>Soil</i>		X	X	X		X	X
<i>Sediment</i>						X	X
<i>Sand</i>						X	X
<i>Oil</i>				X	X		
<i>Petroleum</i>				X	X		
<i>PHA</i>				X			
<i>Hydrocarbon*</i>				X			
<i>Metal</i>				X	X		
<b>Código B09</b>							X
<b>Resultados</b>	6	4	22	19	70	90	51

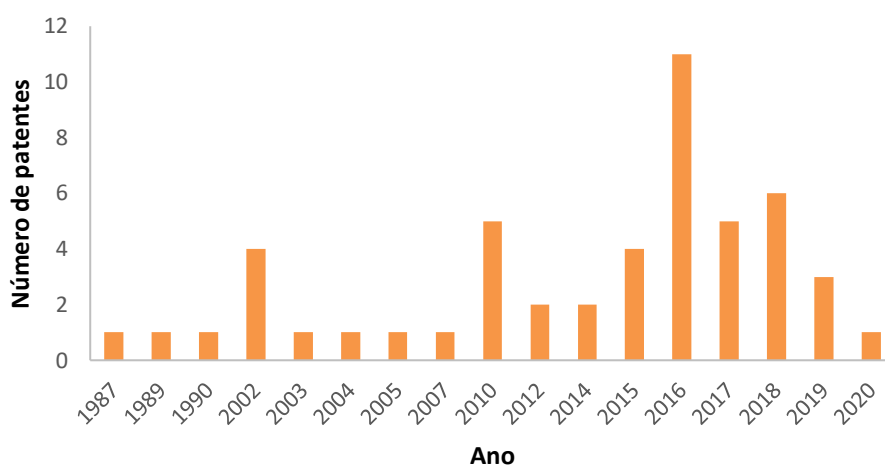
Fonte: Autoria própria (2021).

A pesquisa 7 foi selecionada por melhor se adequar ao tema de pesquisa, que abrange a remediação de solo (podendo ser também sedimentos ou areia) contaminado por poluentes não especificados, e por apresentar uma boa quantidade de depósito de patentes. Com os dados dessa busca foram encontrados 51 resultados. O resumo das patentes foi analisado e foi encontrada uma patente que não condizia com o tema de busca, sendo esta removida. O resultado com a remoção correspondeu a um total de 50 patentes selecionadas como base de dados para análise e discussão quantitativa e qualitativa.

De acordo com a Figura 1, baseada nos registros da plataforma Espacenet®, a primeira patente foi depositada no ano de 1987. De acordo com BARROS (2007) os primeiros relatos utilizando biossurfactante são de 1949 mas foi só a partir da década de 80 que os pesquisadores demonstram interesse em utilizar os biossurfactantes em detrimento aos surfactantes sintéticos. Em 1988 não houve deposições e tanto em 1989 quanto em 1990 foram efetuadas uma deposição em cada ano.

Entre 1990 e 2001 aconteceu uma estagnação nessa deposição respaldada pela diminuição do preço do petróleo, o que pode ter despertado maior interesse na produção dos surfactantes sintéticos em detrimento do produto biológico (ROOS, 2013). A partir de 2002, época em que aconteceu um crescimento súbito com a deposição de 4 patentes, se pode observar um interesse maior na área corroborado pelo aumento no número de deposições realizadas. Este aumento possivelmente ocorreu por causa da demanda no uso e no desenvolvimento de produtos sustentáveis. Esses bioprodutos, como os biossurfactantes, apresentam oposição aos sintéticos, como os surfactantes, que são derivados de petróleo e que têm apresentado declínio em sua utilização por causa da sua característica não durável (GARCIA, 2014).

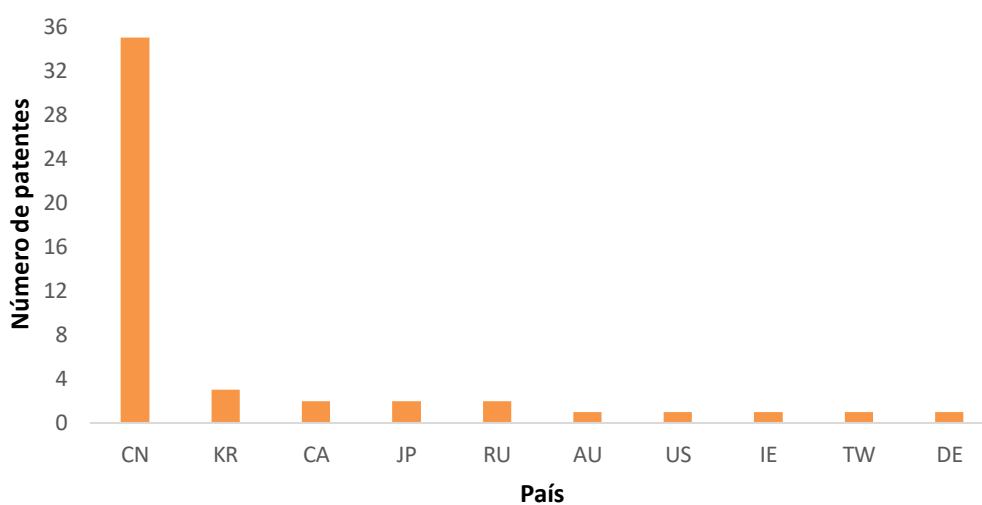
O maior montante de deposições até o presente momento aconteceu em 2016, apresentando uma disparidade significativa em relação aos outros anos com um total de 11 documentos. Esse pico de deposição pode ser explicado por causa do crescente interesse mundial na aplicação de tecnologias verdes, que causem menos impactos ambientais devido às suas características renováveis e/ou biodegradáveis (MORAIS, 2014; TEIXEIRA, 2018).



**Figura 1** – Evolução anual do número de patentes depositadas.

Fonte: Autoria própria (2021).

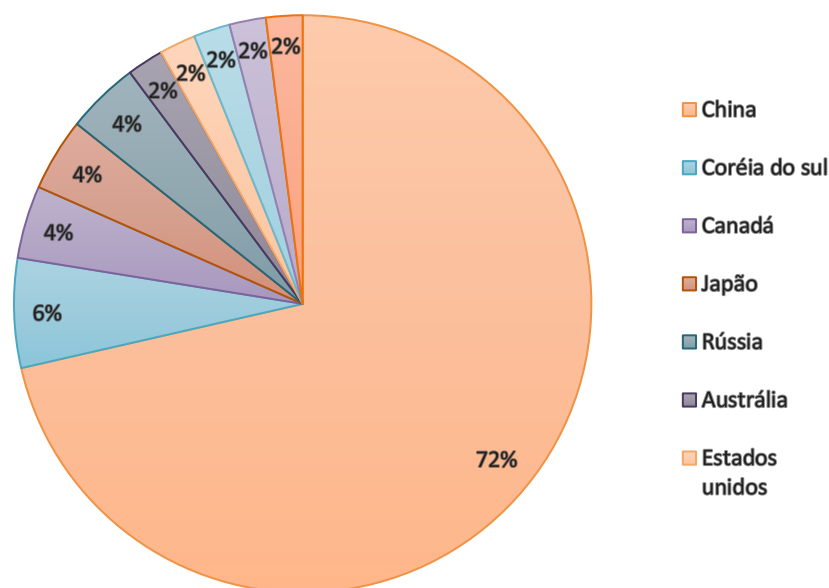
A Figura 2 representa o número de patentes depositadas por país enquanto a Figura 3 representa a porcentagem que cada país detém em relação ao número total de patentes.



**Figura 2** – Depósito de patentes por país (CN = China, KR = Coreia do Sul, CA = Canadá, JP = Japão, RU = Rússia, AU = Austrália, US = Estados Unidos, IE = Irlanda, TW = Taiwan, DE = Alemanha).

Fonte: Autoria própria (2021).





**Figura 3** – Depósito de patentes por país em porcentagem.

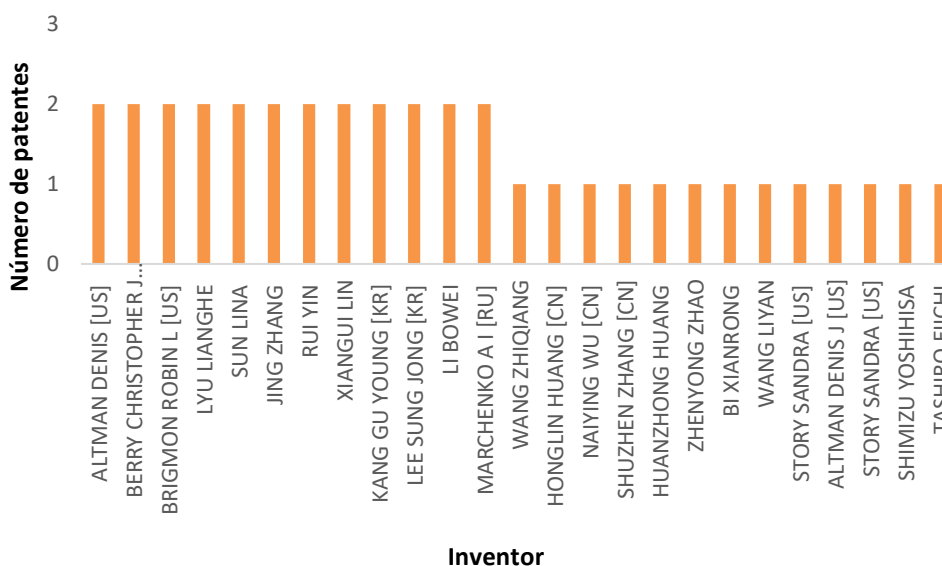
Fonte: Autoria própria (2021).

A partir da análise gráfica é possível concluir que o país que mais apresenta documentos depositados é a China com 72% do total, sendo assim a detentora da majoritária tecnologia nessa área, seguida pela Coreia do Sul com 6% das publicações. Esse cenário é uma consequência dos recursos econômicos favoráveis da China e do seu potencial em pesquisas científicas, uma vez que este é um país desenvolvido

Além disso, é possível inferir que nenhum país na América do Sul apresenta depósito de tecnologias nesse setor. A partir dessa constatação pode-se destacar nesse continente uma possível lacuna em pesquisas utilizando biossurfactantes para remediação de sedimentos, uma vez que as características naturais deste continente fornecem boa diversidade para a sua produção a partir dos substratos renováveis.

A análise gráfica da distribuição de patentes por inventores pode ser encontrada na Figura 4.



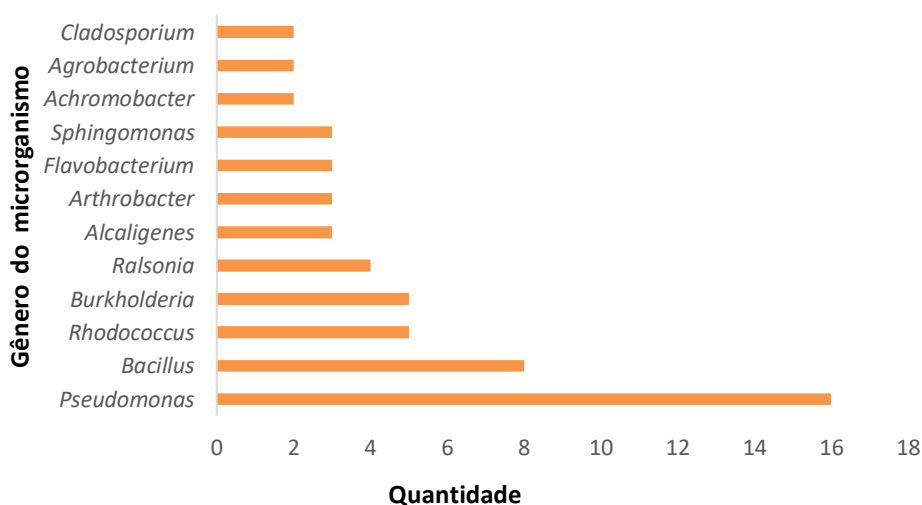


**Figura 4** – Distribuição das patentes por inventores.

Fonte: Autoria própria (2021).

Fundamentado nos dados se infere que o número de documentos depositados por inventor é muito baixo. Com base na Figura 4 a maior quantidade depositada foi de duas patentes por inventor, o que caracteriza uma distribuição homogênea. Essa constatação pode representar um amplo interesse de diferentes pesquisadores em desenvolver tecnologias na área.

Por último, foi efetuada uma busca na descrição de cada patente para identificar o gênero dos microrganismos mais utilizados para produção do biossurfactante. Os resultados podem ser observados na Figura 5.



**Figura 5** – Gênero dos microrganismos utilizados na produção do biossurfactante.

Fonte: Autoria própria (2021).

Constatou-se que os gêneros mais empregados para produção dos biossurfactantes foram o *Pseudomonas*, citado em 16 patentes, e o *Bacillus*, citado em 8. É importante ressaltar que em algumas patentes foram utilizados mais de um gênero, por isso a quantidade apresentada foi maior do que o número de patentes. Ademais, conclui-se que a bactéria é o tipo de microorganismo usado majoritariamente, apresentando uma variedade de gêneros disponíveis para a produção do biossurfactante.

## CONSIDERAÇÕES FINAIS

Através da análise foi possível delimitar um panorama geral acerca do que está sendo desenvolvido no que diz respeito ao uso mundial de biossurfactantes para recuperação de solo contaminado. Assim, notou-se um aumento na deposição de patentes nesse setor ao longo dos anos com ênfase na deposição majoritária da China. Além disso, foi identificada uma lacuna na produção e deposição de patentes por países da América do Sul que poderá ser explorada. Por fim, destacou-se a bactéria do gênero *Pseudomonas* como o microorganismo mais utilizado para a produção do biossurfactante.

Dessa forma, essa pesquisa indica que a deposição de patentes é essencial para o desenvolvimento de novas técnicas e metodologias - alavancando o desenvolvimento tecnológico - e que a aplicação da biorremediação de solos utilizando agentes biossurfactantes apresenta um cenário tático para o investimento nessa tecnologia.

## AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem o apoio financeiro do Programa de Recursos Humanos da Agência Nacional do Petróleo, Gás Natural e Biocombustíveis – PRH-ANP.

## REFERÊNCIAS

AMARAL, I. C. C.; CARVALHO, L. V. B.; PIMENTEL, J. N. S.; PEREIRA, A. C.; VIEIRA, J. C.; CASTRO, V. S.; BORGES, R. M.; ALVES, S. R.; NOGUEIRA, S. M.; TABALIPA, M. M.; OTERO, U. B.; OLIVEIRA, K. M. P. G.; CORRÊA, S. M.; FONSECA, A. S. M.; MOREIRA, J. C.; PERES, F.; TEIXEIRA, L. R.; MENEZES, M. A. C.; MATTOS, R. C. O. C.; SARCINELLI, P. N.; LARENTIS, A. L. Avaliação ambiental de BTEX (benzeno, tolueno, etilbenzeno, xilenos) e biomarcadores de genotoxicidade em trabalhadores de postos de combustíveis. **Revista Brasileira de Saúde Ocupacional**, v. 42, n. 1, p. 1–14, 2017.

- BARROS, F. F. C.; QUADROS, C. P.; JÚNIOR, M. R., M.; PASTORE, G. M. Surfactina: Propriedades químicas, tecnológicas e funcionais para aplicações em alimentos. **Quimica Nova**, v. 30, n. 2, p. 409–414, 2007.
- CHEBBI, A.; HENTATI, D.; ZAGHDEN, H.; BACCAR, N.; REZGUI, F.; CHALBI, M.; SAYADI, S.; CHAMKHA, M. Polycyclic aromatic hydrocarbon degradation and biosurfactant production by a newly isolated *Pseudomonas sp.* strain from used motor oil-contaminated soil. **International Biodeterioration and Biodegradation**, v. 122, p. 128–140, 2017.
- DUFFY, J. J.; PEAKE, E.; MOHTADI, M. F. Oil spills on land as potential sources of groundwater contamination. **Environment International**, v. 3, n. 2, p. 107–120, 1980.
- EKUNDAYO, E. O.; OBUEKWE, O. Properties of a Spill Site in a Typic Udipsamment of the Niger Delta Basin of Nigeria. **Environmental Monitoring and Assessment**, v. 60, n. 2, p. 235–249, 2000.
- FREIRE, A. A.; SIMONELLI, G.; ASSIS, D. J.; DRUZIAN, J. I.; LOBATO, A. K. C. L. Surfactin production using papaya peel aqueous extract as substrate and its application for iron adsorption. **Research, Society and Development**, v. 9, n. 7, p. 1-26, 2020.
- FRUTOS, F. J. G.; PÉREZ, R.; ESCOLANO, O.; RUBIO, A.; GIMENO, A.; FERNANDEZ, M. D.; CARBONELL, G.; PERUCHA, C.; LAGUNA, J. Remediation trials for hydrocarbon-contaminated sludge from a soil washing process: Evaluation of bioremediation technologies. **Journal of Hazardous Materials**, v. 199–200, p. 262–271, 2012.
- GARCIA, S. Q. Petróleo: Visão Geral e Aspectos Fundamentais nas Relações Internacionais. **Revista Política Hoje**, v. 23, n. 1, p. 129–148, 2014.
- GIDUDU, B.; CHIRWA, E. M. N. Biosurfactants as demulsification enhancers in bio-electrokinetic remediation of petroleum contaminated soil. **Process Safety and Environmental Protection**, v. 143, p. 332–339, 2020.
- GIDUDU, B.; MUDENDA, E.; CHIRWA, E. M. N. Biosurfactant produced by *Serratia sp.* and its application in bioremediation enhancement of oil sludge. **Chemical Engineering Transactions**, v. 79, n. 2, p. 433–438, 2020.
- Instituto Nacional de Propriedade Industrial (org.). **Guia Simplificado para buscas em bases de patentes gratuitas**: módulo 3: espacenet - busca internacional no escritório europeu de patentes. Rio de Janeiro: Inpi, 2020. 49 slides, color. Disponível em: <https://www.gov.br/inpi/pt-br/assuntos/arquivos-cepit/Mdulo3BaseEspacenetrevisado09112020.pdf>. Acesso em: 8 abr. 2021.
- MORAIS, S. M. P. **Prospecção Tecnológica em Documentos de Patentes Verdes**. Dissertação de mestrado da Universidade Federal da Paraíba, Programa de Pós-Graduação em Ciência da Informação. 2014. João Pessoa/PB.
- MULLIGAN, C. N. Recent advances in the environmental applications of biosurfactants. **Current Opinion in Colloid and Interface Science**, v. 14, n. 5, p. 372–378, 2009.
- MULLIGAN, C. N. Sustainable remediation of contaminated soil using biosurfactants. **Frontiers in Bioengineering and Biotechnology**, v. 9, p. 1–9, 2021.
- MULLIGAN, C. N.; EFTEKHARI, F. Remediation with surfactant foam of PCP-contaminated soil. **Engineering Geology**, v. 70, n. 4, p. 269–279, 2003.
- MULLIGAN, C. N.; WANG, S. Remediation of a heavy metal-contaminated soil by a rhamnolipid foam. **Engineering Geology**, v. 85, n. 2, p. 75–81, 2006.

- NITSCHKE, M.; PASTORE, G. M. Biosurfactantes: Propriedades e aplicações. **Quimica Nova**, v. 25, n. 5, p. 772–776, 2002.
- PHULPOTO, I. A.; YU, Z.; HU, B.; WANG, Y.; NDAYISENGA, F.; LI, J.; LIANG, H.; QAZI, M. A. Production and characterization of surfactin-like biosurfactant produced by novel strain *Bacillus nealsonii* S2MT and it's potential for oil contaminated soil remediation. **Microbial Cell Factories**, v. 19, n. 1, p. 1–12, 2020.
- POURFADAKARI, S.; JORFI, S.; GHAFARI, S. An efficient biosurfactant by pseudomonas stutzeri Z12 isolated from an extreme environment for remediation of soil contaminated with hydrocarbons. **Chemical and Biochemical Engineering Quarterly**, v. 34, n. 1, p. 35–48, 2020.
- ROOS, B. C. Economia do petróleo e desenvolvimento: estudo exploratório sobre as perspectivas do pré-sal brasileiro. Dissertação de mestrado da Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Programa de Pós-Graduação em Economia. p. 166. 2013. Natal/ RN.
- SARKAR, D.; FERGUSON, M.; DATTA, R.; BIRNBAUM, S. Bioremediation of petroleum hydrocarbons in contaminated soils: Comparison of biosolids addition, carbon supplementation, and monitored natural attenuation. **Environmental Pollution**, v. 136, n. 1, p. 187–195, 2005.
- TEIXEIRA, A. V. Os programas de patentes verdes frente ao desenvolvimento sustentável. **Revista de Direito, Inovação, Propriedade Intelectual e Concorrência**, v. 4, n. 1, p. 37–58, 2018.
- TSAI, T. T.; KAO, C. M. Treatment of petroleum-hydrocarbon contaminated soils using hydrogen peroxide oxidation catalyzed by waste basic oxygen furnace slag. **Journal of Hazardous Materials**, v. 170, n. 1, p. 466–472, 2009.
- WORLD INTELLECTUAL PROPERTY ORGANIZATION. International Patent Classification. 12 de fevereiro de 2021. Disponível em: <https://www.wipo.int/classifications/ipc/en/>. Acesso em: 07 de abril de 2021.
- YUN, J.; LEE, J. Y.; KHIM, J.; JI, W. Y. Assessing soil and groundwater contamination in a metropolitan redevelopment project. **Environmental Monitoring and Assessment**, v. 185, n. 8, p. 6855–6865, 2013.