

através da avaliação da biomassa viável (ufc/ml), de acordo com CUNHA & LEITE (2000).

### 3.13 Testes de utilização de p-xileno

Culturas puras das linhagens bacterianas selecionadas com base na sua melhor capacidade de crescimento em frações individuais e em misturas de hidrocarbonetos aromáticos BTX, foram avaliadas quanto a capacidade de utilização de p-xileno, através do decaimento das concentrações desses compostos em relação a frascos controles abióticos. As culturas foram pré-condicionadas por 48 horas em meio mineral M2 ( $MgSO_4$  0,20 g/l;  $CaCl_2$  0,02 g/l;  $KH_2PO_4$  2,0 g/l;  $NH_4NO_3$  2,0 g/l;  $FeCl_3 \cdot 6H_2O$  0,05 g/l;  $K_2HPO_4$  2,0 g/l.; pH 7,0) (BICCA et al., 1999) contendo p-xileno, fornecido nas concentrações de 0,4 e 1% (v/v), centrifugadas a 5000 x g, por 10 minutos, lavadas duas vezes com tampão fosfato e ressuspensas em meio novo. Volumês correspondentes a 5% desse inoculo de células lavadas foram transferidos para meio novo contendo as mesmas concentrações de p-xileno (EL-SAYED, 1996).

Após a remoção das células por filtração em filtros com poros de 0,22  $\mu m$ , as concentrações dos compostos de amostras de 5 mL extraídas com volumes de 2 mL de acetato de etila em 3 extrações sucessivas, foram determinadas na Central de Análises Químicas Instrumentais do Instituto de Química de São Carlos-USP, através de: (a) espectroscopia de varredura na faixa do ultra-violeta (MOLLER & INGVORSEN, 1993) (dados não

mostrados), (b) cromatografia gasosa em cromatógrafo a gás HP-5890, coluna "cross-linked"-metil silicone (25m x 0,2 mm de diâmetro interno e 0,33  $\mu\text{m}$  de espessura do filme) com detector por Ionização em Chama, nas seguintes condições: temperatura do detector e do injetor, 250°C; temperatura inicial 80°C, mantidos por 2,6 minutos após a injeção da amostra, com rampa de aquecimento de 14°C/min, temperatura final de 250°C; volume de injeção de 2  $\mu\text{L}$ ; split 1:50; pressão 90 kPa; fluxo 1 mL/min; gás de arraste,  $\text{H}_2$ ; velocidade, 36 cm/s. Para a determinação do tempo de retenção, foram preparadas soluções de p-xileno em metanol.