



VI-030 - AVALIAÇÃO MICROBIANA DE SOLOS IMPACTADOS POR RESÍDUOS DE HIDROCARBONETOS: PORTO DO RECIFE-PE

Franklin Santos Freire ⁽¹⁾

Biólogo. Mestre em Tecnologia Ambiental (ITEP-PE). Professor da disciplina de Ecologia do curso de Licenciatura em Ciências Biológicas do CESA-PE.

Sônia Valéria Pereira

Química. Doutora em Botânica (UFRPE). Pesquisadora do ITEP-PE. Coordenadora do Mestrado em Tecnologia Ambiental do ITEP-PE e do Laboratório de Tecnologia Ambiental-LABTAM-ITEP

Graziella de Sá Gattai

Bióloga. Mestre em Ciências Biológicas (UFPE). Pesquisadora do ITEP-PE.

Helio Alexandrino Viana da Silva Filho

Biólogo. Mestre em Tecnologia Ambiental (ITEP-PE).

Endereço ⁽¹⁾: Rua Gumecindo Cavalcanti, 33 – São Cristovão - Arcoverde - PE - CEP: 56.512-200 - Brasil - Tel: (87) 3822.2089 - e-mail: franklinfreire@bol.com.br

RESUMO

Na sociedade atual o meio ambiente tem sofrido diversos desequilíbrios ambientais ocasionados principalmente pela extração de recursos e pelo manuseio inadequado materiais de caráter poluidor, sendo o petróleo e os respectivos derivados os de maior interesse econômico. Estes combustíveis são os principais meios de geração de energia para os diversos tipos de veículos transportadores de matéria prima e mercadorias produzidas nas regiões desenvolvidas e em desenvolvimento, acentuando os riscos de acidentes ocasionados por possíveis derrames na estocagem, transporte, uso ou descarte destes produtos. Neste sentido, este trabalho teve como principais objetivos: a. Investigar, em escala de laboratório, a capacidade degradativa da microbiota autóctone na presença de concentrações variadas de hidrocarbonetos (0%, 2,5%, 5% e 7,5%); b. Isolar de fungos filamentosos tolerantes a presença do contaminante; c. Quantificar e analisar a capacidade de biodegradação do solo através da biomassa microbiana e do quociente metabólico; e d. Definir, em escala de laboratório, as condições ideais de biodegradação do composto xenobiótico. Neste estudo foram avaliados parâmetros indicativos de atividade microbiana, tais como: biológicos (carbono da biomassa microbiana, emissão de CO₂, quociente metabólico (qCO₂) e crescimento fúngico), químicos (pH, condutividade elétrica, análise da fertilidade e hidrocarbonetos totais) e físicos (composição física do solo) para análise e comparações. Os resultados obtidos sugerem que a adição de 5% de borra de petróleo no solo se apresentou com a condição ideal para a biodegradação do contaminante neste ambiente. Dos parâmetros avaliados, a emissão de CO₂ e o C microbiano foram considerados os mais indicativos de alterações na atividade microbiana no solo submetido à adição de hidrocarbonetos.

PALAVRAS-CHAVE: biorremediação, áreas degradadas, hidrocarbonetos, respirometria, biomassa, fungos filamentosos.

INTRODUÇÃO

Nos dias atuais, a exploração desenfreada das fontes não renováveis de energia, e mais precisamente do petróleo e seus derivados, tem exigido um aumento na produção, armazenamento e distribuição de produtos gerados para as diferentes áreas populacionais de produção industrial. Porém inerentes a estas atividades estão os riscos de poluição ambiental, quando estas são realizadas sem os devidos procedimentos preventivos.

A história de empresas petrolíferas no mundo é carregada por catástrofes no campo da mineração deste precioso produto e por acidentes oriundos de derrames com repercussão mundial: em 1978, mais de 200 mil toneladas de óleo foram derramados na costa da França pelo acidente com o navio Amoco Cadiz; em 1989, 40 mil toneladas vazaram do navio Exxon Valdez no litoral do Alasca; em 1991, o incêndio do navio Haven, na costa da Itália ocasionou o derrame de 140 mil toneladas de óleo; em 1991, na Guerra do Golfo, vários poços de petróleo foram sabotados e explodidos ocasionando um desastre na ordem de mais de 820 mil toneladas, contaminando vasta região do Kuwait.



No Brasil vários acidentes enumeram as estatísticas, mais especificamente com o óleo diesel, que é um dos principais derivados utilizados pela malha de transporte rodoviário. Nos últimos anos, ocorreram vários acidentes: o trem da Companhia América Latina Logística – ALL, que carregava 60 mil litros de óleo diesel, despejando grande parte para o córrego próximo a Fernandez Pinheiro no Paraná (2000); rompimento de duto da PETROBRÁS provocou vazamento de 4 mil litros de óleo diesel no Córrego Caninana, afluente do Rio Nhundiaquara no Amazonas, contaminando a flora e a fauna de toda região (2001); descarrilamento do trem da Ferrovia Novoeste que despejou 35 mil litros de óleo diesel em uma área de preservação ambiental de Campo Grande, Mato Grosso do Sul (2001); e o vazamento de óleo diesel em um tanque operado pela Shell no bairro Rancho Grande, São Paulo, contaminou o solo e por consequência o lençol freático e o manancial da cidade (2002).

Estes acidentes serviram para nortear estudos visando o desenvolvimento de tecnologias voltadas para o controle e a recuperação de áreas degradadas, entre elas a Biorremediação.

A biorremediação é o uso de microorganismos em processos de degradação de compostos poluentes no solo ou da água e sua transformação em outros menos recalcitrantes. Desde 1946, os microbiologistas isolam e identificam microorganismos capazes de degradar o petróleo, relacionando aqueles que conseguem utilizar os elementos degradados como fonte de carbono e transformando-os em biomassa, mesmo sabendo que os derrames de petróleo e derivados não eram considerados como um problema ambiental significativo.

Dentre as técnicas utilizadas em projetos de remediação ambiental uma das que apresenta considerável avanço quando aplicada é a Micorremediação, ou seja, o uso de fungos na biodegradação de solo contaminado por compostos xenobióticos. Os fungos realizam um trabalho considerado importante na natureza, degradando de celulose até polímeros. Na atualidade o uso de fungos em relação ao de bactérias para fim de biodegradação é muito raro, principalmente em países como o Brasil.

As pesquisas desenvolvidas até o momento procuram responder as várias questões envolvendo a aplicação da técnica da biorremediação: 1. Que tipos de componentes presentes no petróleo são biodegradáveis? 2. Quais fatores ambientais limitam e estimulam a degradação? e 3. Quais as populações de microorganismos capazes de degradar e qual a sua distribuição no ambiente? Até o momento o estudo e o uso da micorremediação como meio empregado para a biodegradação ainda são inexpressíveis no Brasil. Neste sentido são necessários estudos que indiquem metodologias apropriadas que permitam avaliar o impacto da presença de hidrocarbonetos na atividade microbiana do solo.

MATERIAL E MÉTODOS

A área selecionada para coleta das amostras está assentada sobre sedimentos recentes e sub-recentes por depósitos da chamada Planície de Recife. Esta planície está situada sobre depósitos quaternários compostos por areias e argilas de origem fluvio-marinha, provenientes do Grupo Barreiras e de origem caulínica, com influência direta da deposição de sedimentos da foz dos rios Capibaribe e Beberibe. Esta área de topografia plana (170.000 m²), denominada Área do Brum, é integrante da região estuarina dos rios Capibaribe e Beberibe, tendo sido ocupada por antigas instalações de recebimento, estocagem e distribuição de petróleo e derivados.

Ainda podemos identificar, dependendo da profundidade, uma modificação das camadas de material litológico, até 1,5m, predominando superficialmente aterros constituído de areias médias de diversas colorações, entre 1,5m e 10m de argilas siltosas de coloração marrom, ocre e cinza.

A hidrogeologia desta área apresenta dois aquíferos (cristalino e de camadas sedimentares), deixando evidentes situações bem distintas quanto à movimentação do lençol freático. Em maré baixa, o deslocamento obedece ao sentido sudoeste para nordeste, em direção ao rio Beberibe. No entanto na maré alta, a inversão do fluxo ocorre para o interior da ilha, em sentido ao Oceano Atlântico.

A seleção da área destinada à coleta do solo foi baseada em diagnóstico previamente realizado pela empresa GEO CSD, onde foi verificada a presença de derivados de petróleo no subsolo.



As tubulações responsáveis pela distribuição dos derivados de petróleo são na sua maioria subterrâneas, sendo os tanques assentados sobre bases de concreto sem pavimentação adequada (GEO CSD, 2002).

LOCAL DE ESTUDO

Na área selecionada para coleta, durante a década de 80, foram realizadas obras de manutenção e reforma portuária, identificando-se a presença subterrânea de hidrocarbonetos no lençol freático, sendo aplicado apenas medidas mitigadoras, impedindo sua chegada no nível do mar e possível acidente ambiental mais sério.

Das onze áreas antigas utilizadas para armazenamento e distribuição dos derivados de petróleo, somente duas ainda mantêm a atividade (BR Distribuidora e IPIRANGA). O solo retirado por escavação das áreas contaminadas por óleo está acondicionado em “bags” e dispostas em pátio de estocagem do Porto, sob a responsabilidade das empresas geradoras do resíduo.

DESENHO EXPERIMENTAL

As amostras de solo controle (SC) e de solo contaminado com borra de derivados de petróleo (SC+B) foram coletadas no mês de agosto de 2006, em uma antiga área de estocagem de derivados de petróleo da BR Distribuidora. As amostras de SC foram coletadas em uma área intacta (0-20 cm de profundidade) do Porto, onde nunca houve escavação, nem deposição de qualquer material que contenha hidrocarbonetos. As amostras de Borra (B) foram coletados do material armazenados em “bags” localizados na antiga área de estocagem do Porto do Recife.

As amostras de solo controle (SC) utilizadas no experimento receberam adição de borra nas concentrações de 2,5, 5,0 e 7,5%, sendo estabelecido como testemunha o tratamento de 0%.

Recipientes de vidro (1l) contendo 20g de solo foram preparados de forma a permitir que a cada semana amostras em triplicata dos tratamentos (0%, 2,5%, 5% e 7,5%) fossem analisadas. No total foram montadas 12 recipientes, mantidos fechados e incubados por um período de 56 dias.

Este sistema foi preparado para permitir a realização do ensaio, em escala de laboratório, visando à verificação de alterações na microbiota do solo através da análise da respirometria, biomassa microbiana, número de colônias fúngicas, bem como a análise de parâmetros físico-químicos do solo afetado.

Os parâmetros estudados estão descritos a seguir:

ANÁLISE DE SOLO

A análise de fertilidade foi realizada no Laboratório de Solo da empresa AGROLAB e as análises química, bioquímica e microbiológica foram realizadas nos seguintes Laboratórios da Associação Instituto de Tecnologia de Pernambuco - ITEP: Laboratório de Biotecnologia Ambiental, Laboratório de Microbiologia e Físico-Química de Alimentos e Laboratório de Fluidos.

CONDUTIVIDADE ELÉTRICA

As suspensões (1 solo: 2 água) de solo foram preparadas pesando-se 10g da amostra e adicionados a 20ml de água destilada. Após 24 horas, realizou-se a medição da CE no sobrenadante (FRIGHETTO, 2000).

pH

O pH foi determinado numa suspensão (1 solo: 2 água) após 24 horas de repouso sob agitação (FRIGHETTO, 2000).



RESPIROMETRIA

O método utilizado se baseia na absorção estática (por difusão) do CO_2 desprendido do solo por uma solução alcalina (KOH 0,5N), em um recipiente fechado e incubado por um período de 56 dias (GRISI, 1984).

As amostras de solo foram pesadas (20g cada) em copos plásticos em número de 5 repetições cada. Uma lâmina de água destilada foi colocada para manter a umidade nos potes de vidro, sendo depositados em seguida as amostras pesadas e um recipiente plástico contendo 10ml de KOH 0,5N. Os recipientes de 1l foram tampados e vedados com parafilm para não permitir a entrada e nem a saída de ar no interior dos mesmos.

A cada intervalo de 7 dias, os recipientes foram abertos e as soluções de KOH 0,5N foram transferidas para Erlenmeyers e procedida a titulação com HCl 0,1N, utilizando fenolftaleína e metilorange como indicadores.

BIOMASSA MICROBIANA

O método utilizado foi o de fumigação-extração (VANCE et al, 1987), seguindo o princípio do aumento dos teores de C e N, extraíveis por K_2SO_4 e oxidados com dicromato de potássio ($\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$). Estas substâncias, liberadas após fumigação do solo com clorofórmio, estão relacionadas aos constituintes celulares liberados das células microbianas após rompimento da membrana submetida a uma atmosfera de solvente lipolítico.

Este método prevê as etapas de fumigação com clorofórmio, extração com Sulfato de potássio e digestão ácida com dicromato de potássio do C microbiano. No processo de fumigação as amostras de solo em estudo (4g), contidas em recipientes com tampa, receberam 0,2 mL de clorofórmio e mantidas em repouso por 20 minutos. Em seguida as amostras foram transferidas para Erlenmeyer de 250mL e adicionados 40mL de Sulfato de potássio. Para efetuar a digestão das amostras, alíquotas de 8,0 mL do extrato foram transferidos para tubos, adicionados 2,0 mL de $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$, 5,0 mL de ácido fosfórico concentrado e 10ml de ácido sulfúrico concentrado e em seguida submetidos a aquecimento por 30 minutos a uma temperatura de 100°C. Após resfriamento as amostras foram tituladas com Sulfato ferroso amoniacal (0,333N), utilizando como indicador a ferroína. O mesmo procedimento foi utilizado para o solo não fumigado, excetuando-se a etapa de fumigação com clorofórmio.

O mesmo procedimento foi utilizado para o solo fumigado, acrescentando a presença de 0,2ml de clorofórmio. Os extratos depois de diluídos foram titulados com sulfato ferroso amoniacal (0,333N) e ferroína como indicador.

QUOCIENTE METABÓLICO – $q\text{CO}_2$

O $q\text{CO}_2$ (quociente metabólico) é o índice usado para avaliar as condições metabólicas da biomassa microbiana e é calculado pela relação entre a respiração basal e o C da biomassa microbiana (ANDERSON & DOMSCH, 1993).

O cálculo do $q\text{CO}_2$ foi realizado por meio da relação entre o CO_2 acumulado ($\mu\text{gC-CO}_2 \text{ g solo}^{-1}$) e o C da biomassa microbiana ($\mu\text{gC. g solo}^{-1}$).

CRESCIMENTO DE COLÔNIAS FÚNGICAS

Para isolamento dos fungos filamentosos foram pesados 10g de solo e diluídos em 90ml de água destilada, correspondendo a uma suspensão 1:10. Nas posteriores diluições foram transferidos 1ml das suspensões para tubos de ensaio contendo 9ml de água destilada até a concentração de 10^{-3} . Para cada diluição, foram tomados, em triplicata, 1,0ml da suspensão de solo e inoculados em placas de Petri contendo meio Batata-Dextrose-Ágar (BDA), com auxílio de alça de Drigalski. As placas foram incubadas a temperatura ambiente durante 7 dias, sendo os resultados expressos em Unidades Formadoras de Colônias (UFC g solo^{-1}).



HIDROCARBONETOS TOTAIS DE PETRÓLEO

A análise da presença de hidrocarbonetos totais de petróleo (HTP) foi realizada no Laboratório de Fluidos do ITEP (método de cromatografia gasosa) e no Laboratório de Microbiologia e Físico-Química de Alimentos – LMFQA .

RESULTADOS: ANÁLISE DE SOLO

A Tabela 1 descreve a análise física do solo estudado, sendo SN o solo nativo e SC o solo controle. A Tabela 2 descreve a análise química do solo nativo e contaminado.

Tabela 1. Análise física do solo nativo e contaminado

Solo	Densidade do solo (g/cm ³)	Areia Grossa g/Kg	Areia Fina g/Kg	Silte g/Kg	Argila g/Kg	Classificação Textural
SN	1,65	853	101	26	20	AR
SC	1,65	853	101	26	20	AR

Tabela 2. Análise química do solo nativo e contaminado.

Solo	Carbono g/Kg	Nitrogênio g/Kg	Relação C/N	Matéria Orgânica g/Kg	pH (1:2)	Fósforo Assimilável mg/Kg
SN	1,19	0,2	5,50	1,90	7,9	16
SC	2,28	0,3	7,33	3,79	7,7	28

CONDUTIVIDADE ELÉTRICA

A Tabela 3 descreve os valores relativos a condutividade elétrica do solo evidenciando pequena diferença entre os valores encontrados nas concentrações do experimento.

Tabela 3. Valores médios de condutividade elétrica do solo nativo e contaminado submetidos a diferentes concentrações de hidrocarbonetos (0; 2,5; 5 e 7,5%).

Tratamentos	0%	2,5%	5,0%	7,5%
CE (µs/m)	98,3	90,85	91,85	94,6

pH

Segundo CANALS (2005), o pH considerado ótimo para a biodegradação de compostos xenobióticos está entre 6 e 8 em temperatura ambiente (20° - 30°C). Uma variação acentuada no pH pode afetar de forma considerável a microbiota e a velocidade de degradação dos compostos. Esta reação se apresenta de forma mais específica para os cátions que são mais solúveis em pH ácido e para os ânions solúveis em pH alcalino.

Conforme apresentado na Figura 1, foi possível verificar variação do pH (7,77 - 8,30) das amostras submetidas à contaminação por hidrocarbonetos durante os 56 dias do experimento. Estudos realizados por DIBBLE e BARTHA (1979) sugerem que sob condição de pH neutro, o processo de degradação de compostos recalcitrantes é mais eficiente.



Os solos contaminados na concentração de 2,5 e 5% apresentaram a menor taxa de variação do pH entre os 56 dias de experimento.

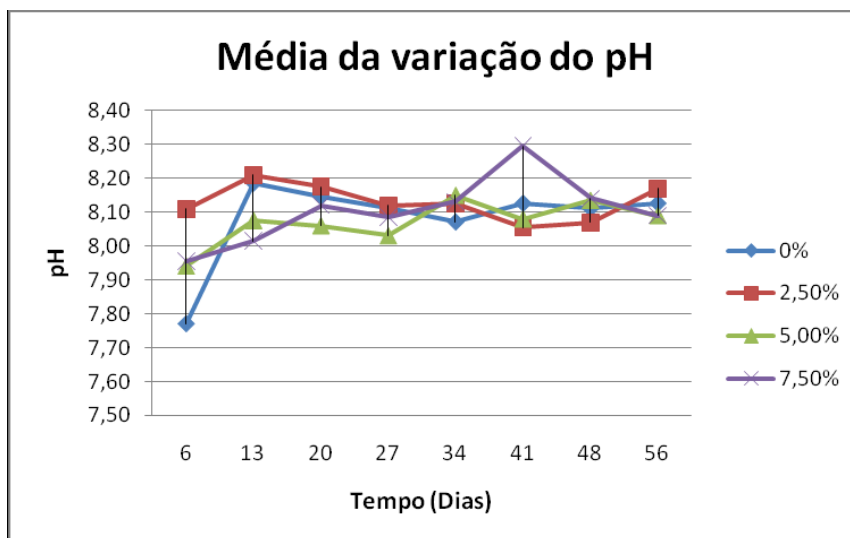


Figura 1. Comportamento do pH (1:2) no solo submetido aos tratamentos (0%; 2,5%; 5,0% e 7,5%), durante 56 dias, a temperatura ambiente (25-28°C).

RESPIROMETRIA

Com relação a emissão de CO_2 do solo, foi verificado aumento a partir do 20º dia de experimento em função da adição de doses de hidrocarbonetos. Esta alteração sugere que a atividade microbiana do solo foi estimulada pela presença do hidrocarboneto, promovendo a degradação e conseqüentemente aumento na emissão de CO_2 . Foi evidenciada uma adaptação da microbiota durante a primeira semana de análise do experimento, seguida de uma curva de crescimento exponencial da população, atingindo uma terceira fase, esta de estacionamento (Figura 2), o que comprova a rápida adaptação dos microorganismos presentes no SC nas suas diversas concentrações (0%, 2,5%, 5% e 7,5%).

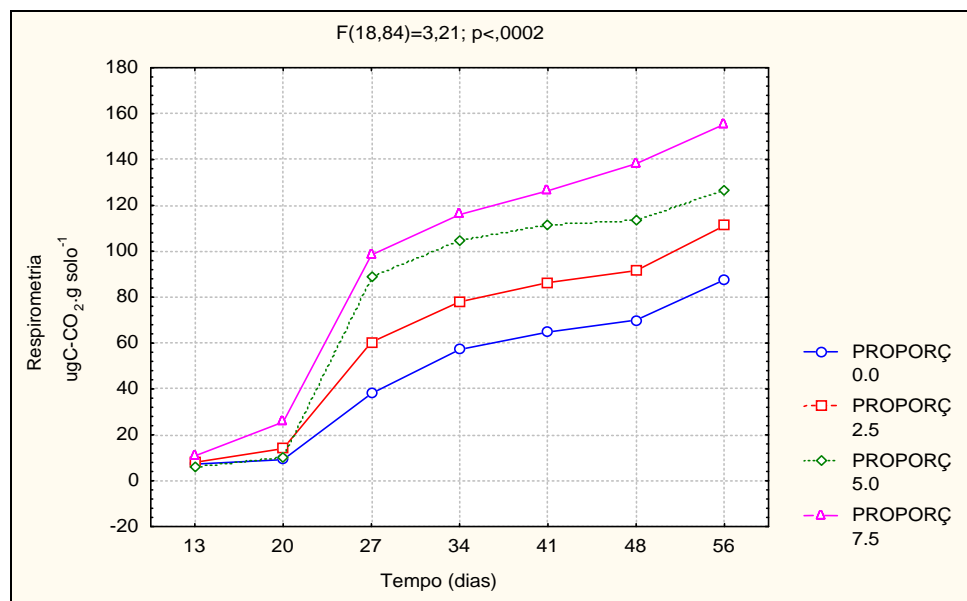


Figura 2. Valores médios de C-CO_2 (µgC-CO₂.g solo⁻¹) referente ao solo nativo (SN) e contaminado (SC) submetido aos tratamentos (0; 2,5; 5,0 e 7,5%), durante 56 dias a temperatura ambiente (25-28°C).



BIOMASSA MICROBIANA

Os resultados indicam maior concentração de carbono microbiano no solo contaminado com hidrocarbonetos com a concentração de 5% (Figura 3), em relação aos outros tratamentos. Foi evidenciada variação entre o 20º e o 34º dia de experimento, demonstrando a presença de comunidade microbiana heterotrófica. Na concentração de 2,5% de hidrocarbonetos não foi observado diferença em relação ao solo nativo quanto à presença de carbono microbiano mantendo-se constante durante o período de incubação. O solo recebendo 7,5% de contaminante apresenta valores superiores ao solo nativo e ao contaminado com 2,5%, mas inferior à concentração de 5%, sugerindo que a alta porcentagem adicionada de contaminante pode afetar a comunidade microbiana do solo.

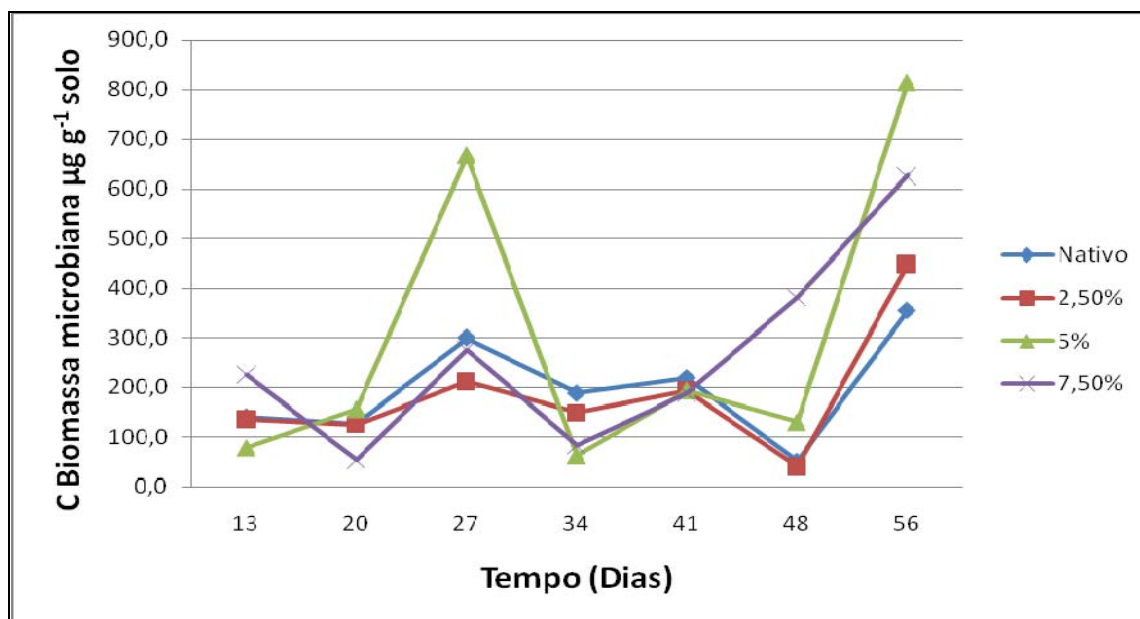


Figura 3. Carbono microbiano ($\mu\text{g C g}^{-1}$ solo seco) estimado nas amostras de solo nativo (SN) e contaminado (SC) submetido aos tratamentos (0; 2,5; 5,0 e 7,5%), durante 56 dias a temperatura ambiente (25-28°C).

QUOCIENTE METABÓLICO – $q\text{CO}_2$

Segundo PAULA et. al. (2006) os valores mais elevados de $q\text{CO}_2$ pode indicar um estresse fisiológico na comunidade microbiana. Foi observado que o solo contaminado com as concentrações de 2,5 e 7,5% apresentaram os valores de coeficiente metabólico superiores aos outros tratamentos (Figura 4).

Ao final dos 56 dias de experimento ficou evidenciado comportamento similar das amostras submetidas ao tratamento de 5% e o solo nativo, indicando que nesta concentração a atividade metabólica permanece estável. (Figura 4).

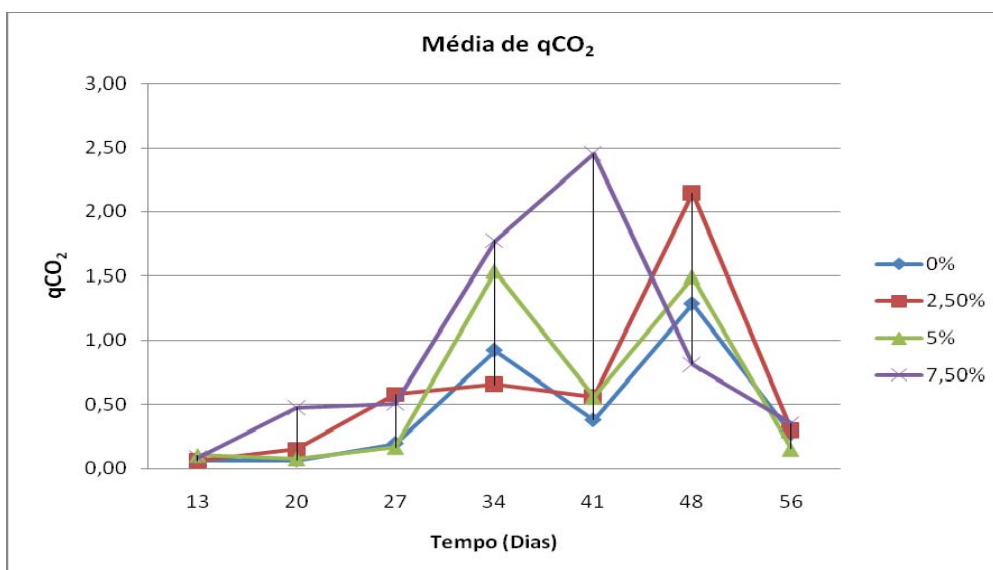


Figura 4. Valores médios do coeficiente metabólico ($\mu\text{gC} - \text{CO}_2$) observado durante 56 dias de incubação a temperatura ambiente.

UNIDADE FORMADORA DE COLÔNIA - UFC

A contagem de colônias fúngicas (UFC) não é considerada uma estimativa confiável em função principalmente das limitações de cultivo de microorganismos em condições de laboratório. No entanto, este parâmetro pode sugerir alterações na composição da comunidade fúngica, evidenciado pelo número e diversidades de colônias formadas. Neste estudo, foi observado que no solo nativo (concentração de 0%), a microbiota permaneceu constante durante o período de 56 dias. Por outro lado, as amostras que receberam doses de hidrocarbonetos nas concentrações de 2,5% e 7,5% apresentaram declínio no número de colônias após a 1ª semana de incubação, sendo observado crescimento a partir da 2ª semana. No tratamento referente a concentração de 5%, foi possível constatar maior crescimento fúngico em relação aos outros tratamentos estudados (Figura 5).

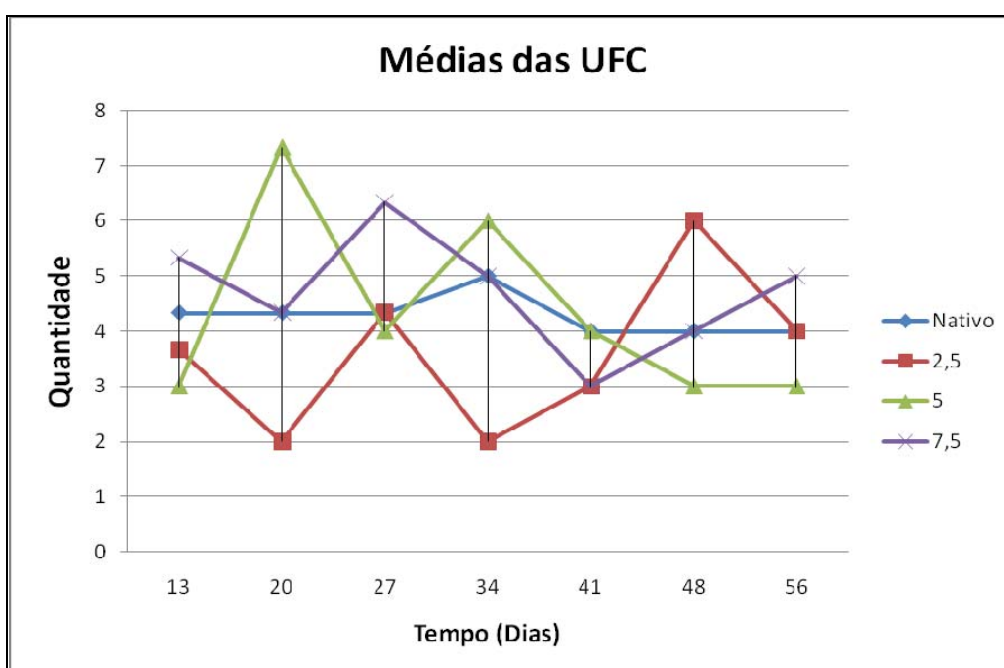


Figura 5. Médias do número de colônias fúngicas (UFC) formadas no solo nativo (SN) e contaminado (SC) submetido aos tratamentos (0; 2,5; 5,0 e 7,5%), durante 56 dias a temperatura ambiente (25-28°C).



HIDROCARBONETO TOTAL DE PETRÓLEO

Na análise quantitativa de hidrocarbonetos totais de petróleo (1000 ppm e 5000 ppm) pelo método de cromatografia gasosa, usando hexano como diluente, não foi possível detectar a presença deste tipo de composto. Este resultado pode estar relacionado ao fato de que o material tem principalmente hidrocarbonetos de cadeia longa, o que inviabilizou a quantificação por esta técnica. No entanto, a quantificação pelo método de extração com hexano (STANDARD METHODS FOR THE EXAMINATION OF WATER AND WASTEWATER, 1998) foi possível evidenciar a presença de hidrocarboneto total nas amostras de solo com as respectivas concentrações (Tabela 4).

Tabela 4. Valores médios de óleos presentes na borra e nas amostras de solo submetidas a diferentes concentrações de hidrocarbonetos (2,5; 5 e 7,5%).

Solos/tratamentos	Resíduo (borra)	2,5%	5,0%	7,5%
	1,39	0,18	0,24	0,30

MATÉRIA ORGÂNICA

Nas análises das amostras de solo contaminado e das respectivas concentrações utilizadas (0%, 2,5% 5% e 7,5%) foi possível observar (Tabela 5) um aumento da concentração de matéria orgânica presente no solo contaminado (Borra) em função da adição do contaminante. Estes valores apresentados de MO sugerem que o aumento da emissão de CO₂ observado durante o experimento pode estar relacionado ao produto da reação de oxidação do carbono, oriundo do contaminante adicionado no solo.

Tabela 5. Valores médios do teor de matéria orgânica nas amostras de solo submetidas a diferentes concentrações de hidrocarbonetos (0; 2,5; 5 e 7,5%).

Solos/tratamentos	Resíduo (borra)	0%	2,5%	5,0%	7,5%
	2,71	0,60	0,81	1,02	1,20

A matéria orgânica do solo (MOS) desempenha um papel fundamental nos processos químicos, físicos e biológicos do solo. Nos processos de reabilitação de áreas impactados, o aporte de MOS representa o ponto de partida, influenciando diversos atributos do solo.

CONCLUSÕES

Com base no trabalho realizado, concluiu-se que:

O composto xenobiótico presente no solo contaminado é biodegradável passível de aplicação da técnica de biorremediação;

O aumento da emissão de CO₂ do solo em função da adição de doses crescentes de hidrocarbonetos indica habilidade de adaptação da microbiota em condições do estudo;

A estimativa do carbono microbiano indica que o tratamento de 5% de hidrocarbonetos no solo foi o mais apropriado para as condições estabelecidas;

Os valores de coeficientes metabólicos (q_{CO_2}) sugerem que a concentração de 7,5% é o limite máximo de biodegradação de borra de petróleo no solo, nas condições de estudo;

A capacidade de crescimento fúngico no solo contaminado com hidrocarbonetos foi comprovada pelo cultivo em meio de cultura, em condições de laboratório;

O pH do solo controle (SN) e do solo contaminado (SC) não sofre variação considerável, mantendo-se dentro dos padrões relatados em diversos trabalhos sobre biorremediação.



REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. ANDERSON, J.P.E. e DOMSCH, K.H. The metabolic quotient for CO₂ (qCO₂) as a specific activity parameter to assess the effects of environmental conditions, such as pH, on the microbial biomass of forest soils. *Soil Biol. Biochem.*, 25:393-395. 1993.
2. CANALS, M.V., Biorremediación de suelos contaminados por hidrocarburos: caracterización microbiológica, química y ecotoxicológica. Facultat de Biologia. Universitat de Barcelona. Barcelona. 352p. 2004.
3. DIBBLE, J. R. e BARTHA, R. Effect of environmental parameters on the biodegradation of oil sludge. *Appl. Env. Microbiol.* 37:729-739. 1979.
4. FRIGHETTO, R.T.S. Análise da biomassa microbiana em carbono: método de fumigação-extração. In. Indicadores biológicos e bioquímicos da qualidade do solo. Manual Técnico. EMBRAPA. São Paulo. 2000.
5. GRISI, B. M.; Metodologia da determinação de biomassa microbiana de solo. *Revista Brasileira de Ciências do Solo*, v.8, n. 2, p. 167-172. 1984.
6. PAULA, A.M.; SOARES, R.F.S.; SIQUEIRA, J.O. Biomassa, atividade microbiana e fungos micorrízicos em solo de “landfarming” de resíduos petroquímicos. *Rev. Bras. de Eng. Agrícola e Ambiental*, v. 10, n.2, p. 448-455, 2006.
7. VANCE et al. An extraction method for measuring soil microbial biomass C. *Soil Biology and Biochemistry*, v.19, p. 703-707, 1987.
8. STANDARD METHODS FOR THE EXAMINATION OF WATER AND WASTEWATER. 20th Edition, pag.5-39. 1998.