



DETECÇÃO DE ENZIMAS UREASE E ESTERASE PRODUZIDAS POR FUNGOS DE RESTINGA

**GLÓRIA ANDRÉIA FERREIRA HERNANDEZ¹, LUANA PINTO DE SOUZA TAVARES¹,
VICENTE MUSSI-DIAS^{2,3}, ADÃO VALMIR DOS SANTOS⁴, MARIA DAS GRAÇAS MACHADO
FREIRE⁵**

(1) Auxiliar técnico em Química LAQUIBIO/ISECENSA, RJ; (2) Pesquisador do Laboratório de Química e Biomoléculas – LAQUIBIO/ISECENSA; (3) Laboratório de Entomologia e Fitopatologia - LEF/CCTA/UENF, RJ; (4) Pesquisador do Laboratório de Biotecnologia – LBT/UENF, RJ; (5) Pesquisadora Orientadora – Laboratório de Química e Biomoléculas – LAQUIBIO/ISECENSA, Institutos Superiores de Ensino do CENSA – ISECENSA, Rua Salvador Correa, 139, Centro, Campos dos Goytacazes, RJ, Brasil

Em estudos de biodegradação de plásticos por enzimas produzidas por fungos, a esterase e urease, dentre outras têm sido indicadas como responsáveis pela degradação de poliuretano (PU). Tais enzimas podem ser detectadas em meio de cultura líquido contendo um substrato específico. A medida em que os fungos crescem, havendo a produção destas enzimas, ocorre a alteração da coloração de um indicador presente no meio. No entanto, tais indicadores, quando presentes no meio de cultivo, podem exigir uma quantidade maior de produção de enzima pelos fungos, em função do volume utilizado no ensaio. Ainda, em alguns casos, o indicador pode provocar a inibição o crescimento dos fungos. Dessa forma, o objetivo deste trabalho foi ajustar uma metodologia mais adequada para a seleção rápida de fungos produtores de esterase e urease. Para os ensaios, mais de 40 diferentes gêneros de fungos de restinga foram cultivados em frascos contendo meio de cultura líquido, composto por sais e poliuretano, este último como única fonte de carbono. Para fins de comparação, também foram feitos meios contendo indutores. Nos frascos para a produção de esterase, adicionou-se o indutor acetato de etila, preparado em acetona na concentração $2 \mu\text{L}/\text{mL}$, e nos frascos para a produção de urease, uréia na concentração de $20 \text{ g}/\text{L}$. Os frascos foram mantidos sob agitação em shaker, a 40 rpm, por um período de até 15 dias. No preparo dos papéis indicadores para a presença das enzimas, discos de 0,5 cm de diâmetro de membrana de nitrocelulose ($0,22 \mu\text{m}$) foram embebidos com azul de bromotimol (0,05%) para a detecção da esterase e vermelho de fenol ($0,16 \text{ g}/1000\text{mL}$) para a urease. Alíquotas de $10 \mu\text{L}$ do extrato produzido pelos fungos foram obtidas após 15 dias de incubação e aplicadas, separadamente, sobre os discos de membrana indicadora. A visualização da produção da enzima esterase foi determinada pela viragem da cor da membrana de azul para amarela. Já para a indicação de produção da enzima urease, a cor passou de amarela para rosa. Assim, os resultados indicaram que o uso de membranas impregnadas com os indicadores específicos foi eficiente na detecção da produção das enzimas esterase e urease pelos fungos testados. Esta metodologia permitiu avaliar a produção qualitativa destas enzimas, podendo também ser aplicada na determinação do início da produção das mesmas e ao longo do período de cultivo dos fungos.

Palavras-chave: degradação enzimática, biorremediação, bioprospecção.

Instituição de fomento: PROVIC/ISECENSA.