

13ª Mostra da Produção Universitária

Rio Grande/RS, Brasil, 14 a 17 de outubro de 2014.

USO DA FOSFATASE ALCALINA PARA DETERMINAÇÃO DE ATIVIDADE MICROBIANA EM SOLO VEGETAL

TAVELLA, Ronan Adler
HONSCHA, Laiz Coutelle
DA SILVA JÚNIOR, Flavio Manoel Rodrigues
ronan_tavella@hotmail.com

Evento: 13ª Mostra da Produção Universitária
Área do conhecimento: Toxicologia

Palavras-chave: toxicidade, micro-organismos, fosfatase alcalina

1 INTRODUÇÃO

Inúmeras substâncias tóxicas presentes no solo podem ser capazes de causar efeitos deletérios à biota, e entre os seres que podem ser afetados por estas substâncias estão os micro-organismos. Uma das formas de mensurar os impactos na microbiota é avaliando a atividade de algumas enzimas, dentre elas a fosfatase alcalina. Isto é possível, pois compostos tóxicos liberados por atividades antropogênicas podem causar morte de micro-organismos e consequente diminuição da atividade da fosfatase alcalina. Com isto, o objetivo do estudo foi avaliar o uso do kit de fosfatase alcalina *liquiform* (Labtest) (para plasma sanguíneo) em solo vegetal como medida de atividade microbiana.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

A fosfatase alcalina é uma fosfomonohidrolase com capacidade de hidrolisar pirofosfato, monoésteres e diésteres de fosfato, e também pode catalisar reações de transforforilação. Ela é dita alcalina, pois possui a habilidade de efetuar estas reações de modo mais eficiente em pH acima do neutro (pH 8-11). (SIMÃO, 2008)

O método consiste na hidrólise do *p*-nitrofenilfosfato, pela fosfatase alcalina, liberando *p*-nitrofenol, sendo este um composto que possui elevada absorvância em 405nm e é diretamente proporcional à atividade enzimática da fosfatase alcalina.

3 MATERIAIS E MÉTODOS (ou PROCEDIMENTO METODOLÓGICO)

A metodologia utilizada nos experimentos segue, com algumas modificações, o método desenvolvido por Bowers e McComb (1965). O solo vegetal utilizado no experimento foi coletado de uma área não-contaminada dentro do campus da Universidade Federal do Rio Grande (FURG) e foram feitos 5 diferentes tratamentos; solo normal, solo com adição de solução de glicose (8%), solo com adição de solução de carvão mineral (8%), solo estéril (autoclave, 121°C por 30 min) e solo estéril (micro-ondas por 2 minutos) estes foram nomeados amostra 1, 2, 3, 4 e 5, respectivamente. As amostras 2 e 3 permaneceram por 1 dia incubadas a temperatura de 37 °C antes de serem realizados os testes. Vale ressaltar a utilização de um grupo extra, o grupo branco que continha somente o reagente de

13ª Mostra da Produção Universitária

Rio Grande/RS, Brasil, 14 a 17 de outubro de 2014.

trabalho, sendo este reagente uma solução contendo tampão pH 10,4, sulfato de zinco 1mmol/L, fenol 10mmol/L, HEDTA 1,6mmol/L, acetato de magnésio 2,0mmol/L, *p*-nitrofenil fosfato 12mmol/L e azida sódica 6,4mmol/L.

Os diferentes grupos foram avaliados de acordo com o protocolo presente no kit de fosfatase alcalina *liquiform* (Labtest), havendo apenas algumas modificações, como o uso de 0,1g de cada solo, nos testes, em conjunto com 1mL de reagente de trabalho preparado com o kit e a adição de um pequeno período de pré-incubação em banho-maria (15-30min). Após isso, a absorbância das amostras Foi determinada a partir de duas leituras de absorbâncias com intervalo de 2 minutos para cada amostra em comprimento de onda de 405nm.

4 RESULTADOS e DISCUSSÃO

As médias de atividade da fosfatase alcalina obtidas estão representadas na tabela 1.

Tabela 1 – Atividades da fosfatase alcalina

Amostra	Atividade da fosfatase alcalina (U/L)
Solo normal	71
Solo com adição de glicose	93
Solo com adição de carvão mineral	64
Solo estéril (autoclave)	11
Solo estéril (micro-ondas)	25

A avaliação da eficiência do kit comercial para mensurar a atividade da fosfatase alcalina se deu a partir da comparação de uma mesma amostra de solo vegetal tratada sob diferentes perspectivas, tais como a adição de fonte de nutrientes que estimule a atividade enzimática (solo + glicose), a adição de um contaminante reconhecidamente tóxico que pode interferir negativamente na atividade enzimática (solo + carvão) e a esterilização por duas diferentes formas (autoclave e micro-ondas).

Os resultados mostram a eficiência do ensaio para detectar atividade da fosfatase alcalina no solo e encoraja estudos de seletividade, linearidade, sensibilidade, precisão, exatidão e robustez para validação do método em estudos de avaliação da qualidade do solo.

5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

O kit de fosfatase alcalina *liquiform* (Labtest) mostrou-se um método simples e útil para uso na determinação dessas enzimas em solo vegetal.

REFERÊNCIAS

BOWERS JR, G. N.; McCOMB, R. B. A Continuous Spectrophotometric Method for Measuring the Activity of Serum Alkaline Phosphatase. *Clinical Chemistry*, v.12, n. 2, p. 70-89, 1965.

13ª Mostra da Produção Universitária

Rio Grande/RS, Brasil, 14 a 17 de outubro de 2014.

SIMÃO, A. M. S. Estudos das características cinéticas da fosfatase alcalina reconstituída em sistemas vesiculares. Tese (Doutorado) - Departamento de Química, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto. 148 f, 2008.