

# Isolamento e avaliação do potencial enzimático da microbiota proveniente do petróleo do campo de Miranga, bacia de Recôncavo-BA.

Michel R. de B. Chaves<sup>1</sup>(PG)\*, Anita J. Marsaioli<sup>1</sup>(PQ)

<sup>1</sup> Instituto de Química, Universidade Estadual de Campinas, Caixa Postal 6154, 13084-971 Campinas-SP, Brasil.

\*e-mail: michel.chaves@iqm.unicamp.br

Palavras Chave: enriquecimento microbiano, atividade enzimática, HTS.

## Introdução

A presença de micro-organismos nos reservatórios de petróleo tem causado problemas em várias etapas da sua produção comercial. As principais consequências são a corrosão de tanques de estocagem e equipamentos de transferência, além da degradação do petróleo,<sup>1</sup> levando a perda de grau API e teor de hidrocarbonetos saturados, aumento da densidade, teor de enxofre, acidez e viscosidade.<sup>2</sup>

A complexa microbiota envolvida nesses processos de degradação requer o emprego de técnicas de triagem enzimática e de identificação rápidas para uma grande quantidade de micro-organismos. Para isso, ensaios de triagem de alto desempenho (*High-Throughput Screening* - HTS)<sup>3</sup> e de espectrometria de massas (*Matrix Assisted Laser Desorption Ionization-Time of Flight* - MALDI-ToF)<sup>4</sup> têm se tornado ferramentas de grande utilidade.

## Resultados e Discussão

Os enriquecimentos foram realizados em meios de cultura seletivos como NA, TSA, MA, GYM e Zinder, com acréscimo de 1,5% de NaCl em alguns desses meios, simulando ambientes salinos. Assim, foi possível isolar 54 micro-organismos e 4 consórcios microbianos, empregando a água de formação e o óleo.

Depois de isolados, os micro-organismos tiveram suas atividades enzimáticas avaliadas por meio de ensaios miniaturizados de reações em cascata com sondas fluorogênicas (figura 1).

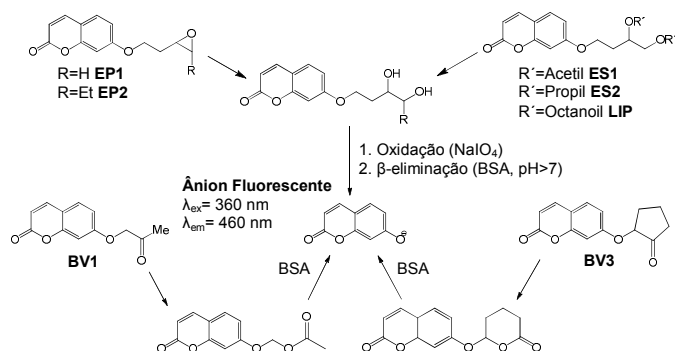


Figura 1. Representação das reações em cascata das sondas fluorogênicas durante a detecção das atividades enzimáticas.

Os ensaios foram realizados em quadruplicata e os controles negativos e positivos em duplicata. As atividades enzimáticas foram obtidas por meio de sinais de fluorescência do íon umberiferila formado ao fim da reação. Foram empregadas 7 sondas fluorogênicas, entre esterases (ES1 e ES2), epóxidos hidrolases (EP1 e EP2), lipases (LIP) e mono-oxigenases (BV1 e BV3).

Dos 54 micro-organismos isolados, 42 apresentaram atividade enzimática (conversão  $\geq 10\%$ ) para hidrolases (epóxido hidrolase, esterase ou lipase) e 22 apresentaram atividade para mono-oxigenases. Além dos micro-organismos isolados, o consórcio microbiano CoM2 também apresentou atividades enzimáticas para essas classes de enzimas. A figura 2 ilustra a proporção de micro-organismos com atividade enzimática em cada meio de cultura empregada para o isolamento.

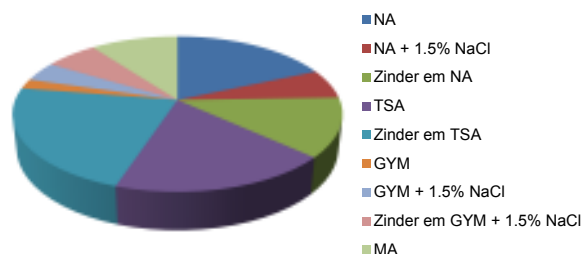


Figura 2. Percentual de micro-organismos e consórcios com atividade enzimática em cada meio de cultura empregado no isolamento.

## Conclusões

A atividade enzimática apresentada por 42 dos 54 micro-organismos isolados e 1 dos 4 consórcios microbianos, demonstra o grande potencial enzimático da microbiota do petróleo do campo de Miranga, bacia de Recôncavo-BA.

## Agradecimentos

PETROBRÁS, FAPESP.

<sup>1</sup> Magot, M.; Ollivier, B.; Patel, B. K. C. *Antonie van Leeuwenhoek*. **2000**, *77*, 103-116.

<sup>2</sup> White, N.; Thompson, M.; Barwise, T. *Nature*, **2003**, *426*, 334-343.

<sup>3</sup> Bessler, M. K.; Jaeger, K. E. *Trends in Biotechnol.* **2006**, *6*, 248-250.

<sup>4</sup> Pennanec, X.; Dufour, A.; Haras, D.; Rehel, K. *Rapid Commun. Mass Spectrom.* **2010**, *24*, 384-392.