



Exacta

ISSN: 1678-5428

exacta@uninove.br

Universidade Nove de Julho

Brasil

Albuquerque, Ubirajara Samuel de; Emmanuel Sales, Amanda; Campos Takaki, Galba Maria;  
Saconi Messias, Arminda; Alves da Silva, Carlos Alberto  
Detecção de amilase e urease em bactérias mesofílicas isoladas de lodo de esgoto da Estação de  
Tratamento Mangueira, Recife - Pernambuco  
Exacta, vol. 8, núm. 3, 2010, pp. 289-298  
Universidade Nove de Julho  
São Paulo, Brasil

Disponível em: <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=81016924004>

- ▶ Como citar este artigo
- ▶ Número completo
- ▶ Mais artigos
- ▶ Home da revista no Redalyc

redalyc.org

Sistema de Informação Científica

Rede de Revistas Científicas da América Latina, Caribe , Espanha e Portugal  
Projeto acadêmico sem fins lucrativos desenvolvido no âmbito da iniciativa Acesso Aberto

# Detecção de amilase e urease em bactérias mesofílicas isoladas de lodo de esgoto da Estação de Tratamento Mangueira, Recife - Pernambuco

*Amylase and urease detection in isolated mesophilic bacteria of sewage sludge of the Station Treatment of Mangueira, Recife - Pernambuco, Brazil*

Ubirajara Samuel de Albuquerque

Mestre em Desenvolvimento de Processos Ambientais  
Universidade Católica de Pernambuco – Unicap  
Recife – PE [Brasil]  
[ubalbuquerque@hotmail.com.br](mailto:ubalbuquerque@hotmail.com.br)

Amanda Emmanuelle Sales

Centro de Ciências Biológicas e da Saúde (CCBS)  
Universidade Católica de Pernambuco – Unicap  
Recife – PE [Brasil]  
[amanda\\_mandau@hotmail.com](mailto:amanda_mandau@hotmail.com)

Galba Maria Campos Takaki

Centro de Ciências e Tecnologia (CCT)  
Universidade Católica de Pernambuco – Unicap  
Recife – PE [Brasil]  
[takaki@unicap.br](mailto:takaki@unicap.br)

Arminda Saconi Messias

Centro de Ciências e Tecnologia (CCT)  
Universidade Católica de Pernambuco – Unicap  
Recife – PE [Brasil]  
[saconi@unicap.br](mailto:saconi@unicap.br)

Carlos Alberto Alves da Silva

Centro de Ciências e Tecnologia (CCT)  
Universidade Católica de Pernambuco – Unicap  
Recife – PE [Brasil]  
[calves@unicap.br](mailto:calves@unicap.br)

## Resumo

As bactérias são abundantes na microbiota do solo e são responsáveis por diversas transformações enzimáticas que auxiliam na decomposição e mineralização de diversos nutrientes. Lodo de esgoto é um resíduo gerado durante tratamento biológico de água residuária, rico em matéria orgânica e nutrientes, possuindo muitas vezes em sua composição bactérias patogênicas e metais pesados. Foram feitas coletas de lodo de esgoto na Estação de Tratamento Mangueira, Recife (PE) para isolamento, identificação, detecção enzimática de bactérias mesofílicas (amilase e urease) a 28 e a 37 °C e detecção de metais pesados. Os resultados obtidos demonstraram que 28 °C apresentou maior quantidade de isolados. Em ambas as temperaturas, encontraram-se bactérias patogênicas, e nos ensaios enzimáticos, melhores resultados foram obtidos a 28 °C. A deteção de urease foi observada nas duas temperaturas. Detectou-se a presença de metais pesados no lodo: cádmio,  $2,2 \pm 0,0004$ ; zinco,  $600 \pm 0,01$ , e cobre,  $909,8 \pm 0,001$  em mg/kg, respectivamente.

**Palavras-chave:** Bactérias patogênicas. Enzimas hidrolíticas. Lodo de esgoto.

## Abstract

Bacteria are abundant in soil microbiota and they are responsible for various enzymatic transformations that aid in decomposition and mineralization of several nutrients. Sewage sludge is a residue generated during biological treatment of wastewater rich in organic matter and nutrients, and it has many times in its composition pathogenic bacteria and heavy metals. Samples were collected in sewage sludge at Mangueira station, Recife (PE) for the isolation, identification, detection of enzyme (amylase and urease) in mesophilic bacteria at 28 and 37 °C and detection of heavy metals. The results showed that 28 °C had higher amounts of isolates. At both temperatures, were found pathogenic bacteria, and enzymatic assays, best results were obtained at 28 °C. The urease detection was observed at the two temperatures. It was detected the presence of heavy metals in sludge: cadmium,  $2.2 \pm 0.0004$ ; zinc,  $600 \pm 0.01$ , and copper,  $909.8 \pm 0.001$  in mg/kg respectively.

**Key words:** Hydrolitic enzyme. Pathogenic bacteria. Sewage sludge.



## 1 Introdução

O lodo de esgoto é um resíduo rico em matéria orgânica, proveniente do tratamento de águas residuárias, cuja composição depende do tratamento empregado para purificar o esgoto e as características das suas fontes geradoras (população e indústrias). Dependendo da origem das águas residuárias, esse lodo pode conter quantidades elevadas de metais e/ou xenobiontes, além de micro-organismos considerados patogênicos para animais e seres humanos (CAMPOS e ALVES, 2008; KITAMURA et al., 2008; LEITE et al., 2009).

A aplicação desses resíduos no solo pode contribuir para um aumento da concentração de nutrientes, tais como nitrogênio e fósforo, e para o melhoramento dos atributos físicos de solos altamente intemperizados. No entanto, dependendo da origem do lodo de esgoto, o aumento da concentração de metais pesados pode contribuir para a contaminação do solo e acarretar possível efeito deletérico em plantas e micro-organismos (LEITA et al., 1995; VIG et al., 2003; LAMBAIS e DO CARMO, 2008).

O funcionamento do ecossistema do solo é largamente influenciado pela dinâmica da microbiota, a qual possui um papel fundamental na decomposição da matéria orgânica. A diversidade microbiana encontrada no lodo de esgoto é extremamente elevada, principalmente com relação à quantidade de bactérias mesofílicas patogênicas ou não (PAPKE e WARD, 2004; SIDHU e TOZE, 2009).

As enzimas microbianas têm participação essencial nos processos relacionados à qualidade do solo, uma vez que é por meio delas que os micro-organismos do solo degradam moléculas orgânicas complexas em simples que podem ser assimiladas. Além de permitir que os micro-organismos tenham acesso à energia e nutrientes presentes em

substratos complexos, as enzimas extracelulares são responsáveis pela decomposição e mineralização de nutrientes no solo, disponibilizando-os também para as plantas e promovendo a ciclagem de nutrientes no solo (MAKOL e NDAKIDEMI, 2008; CENCIANI et al., 2008; PASSOS et al., 2008; SAID e PIETRO, 2004).

A realização de análises referentes à atividade enzimática do solo, assim como de outras determinações biológicas e bioquímicas, têm detectado alterações nos solos pelo seu uso, manejo ou outras influências antrópicas, com maior antecedência do que os indicadores químicos e biológicos. Como as enzimas estão presentes em baixas concentrações no solo, a quantificação é feita de maneira indireta, pela medida de sua atividade, e não por sua quantidade (MATSUOKA et al., 2008; CHAER e TÓTOLA, 2007).

As ureases são amplamente distribuídas na natureza por participarem do ciclo do nitrogênio, contribuindo para liberação de sua forma inorgânica, catalisando a hidrólise da ureia a  $\text{CO}_2$  e  $\text{NH}_3$ , sendo detectada em micro-organismos, plantas e animais (KLOSE e TABATABAI, 2000; IMAMURA et al., 2006). As amilases são enzimas conversoras de amido, que pertencem à classe de hidrolases, sendo extensamente produzidas por micro-organismos, plantas e animais (MURALIKRISHNA e NIRMALA, 2005; PRAKASH GOUD et al., 2009). Embora elas possam ser derivadas de diversas fontes, as de origem microbiana são geralmente as mais procuradas pelas indústrias. As espécies do gênero *Bacillus* são consideradas as principais fontes de amilases (OLIVEIRA et al., 2007). Atualmente, são descritas na literatura quatro tipos de enzimas conversoras de amido: as endoamilases, as exoamilases, as desramificadoras e as transferases (VAN DER MAAREL et al., 2002).

O objetivo neste trabalho foi o isolamento e a identificação das bactérias mesofílicas presentes

no lodo de esgoto e avaliação da atividade enzimática desses isolados, por meio da detecção de amilase e urease em meio sólido, verificando o efeito da presença ou ausência de cloreto de sódio (NaCl) e da temperatura na atividade enzimática.

## 2 Materiais e métodos

### 2.1 Materiais

#### 2.1.1 Lodo de esgoto, solo agricultável e solo com adição de lodo

O lodo de esgoto foi coletado na Estação de Tratamento de Esgoto da Mangueira, localizada no bairro da Mangueira, Região Metropolitana do Recife (PE), oriundo do tratamento de esgoto tipicamente doméstico. O sistema de tratamento é formado por Reator Anaeróbio de Fluxo Ascendente e manta de lodo (UASB) e lagoa de polimento, com desidratação natural do lodo de excesso do UASB em leitos de secagem, com produção de aproximadamente 10 t/mês (massa seca com 60 % de umidade) de lodo de esgoto. O solo foi coletado na Estação Experimental de Itapirema-IPA, município de Goiana (PE), que, após coleta, foi seco ao ar e peneirado (5 mm). O solo recebeu doses de lodo de esgoto nas proporções de 0, 25, 50 e 75 t/ha, baseadas na determinação do teor de nitrogênio do resíduo.

### 2.2 Métodos

#### 2.2.1 Isolamento das bactérias mesofílicas

Foi utilizada a técnica das diluições múltiplas, onde foram pesadas 1 grama de cada tratamento (0, 25, 50 e 75 t/ha) e diluídas em tubos contendo água estéril nas seguintes diluições:  $10^{-1}$ ,  $10^{-2}$ ,  $10^{-3}$ ,  $10^{-4}$ ,  $10^{-5}$  e  $10^{-6}$ . Foram retirados 1 mL das três últimas diluições e colocadas em placas de Petri com meio Ágar Nutritivo (AN) contendo ou não NaCl na concentração de 5 %. As placas foram incubadas a 28 e 37 °C, durante cinco dias, com

acompanhamento diário. Foram verificadas as características macroscópicas das colônias isoladas nas temperaturas testadas, bem como a influência da presença do NaCl nas colônias isoladas.

#### 2.2.2 Seleção e identificação das colônias de bactérias

Após o período de incubação em diferentes temperaturas, as colônias foram selecionadas de acordo com a forma e a coloração apresentada nas placas de Petri com a presença ou não de cloreto de sódio (NaCl). Para a manutenção das amostras, as bactérias isoladas foram repicadas em tubos contendo o mesmo meio do isolamento, mantidas a 4 °C. As colônias foram identificadas segundo as metodologias descritas por Santamaria, Toranzos (2003) e Strom (1985) no meio Ágar Tríplice Açúcar Ferro (TSI – *triple sugar iron*). Colorações de Gram e de esporos para confirmação dos gêneros bacterianos isolados foram realizadas.

#### 2.2.3 Determinação de metais pesados

Os metais pesados foram determinados por espectrofotometria de absorção atômica com chama de ar-acetileno, com ajustes específicos para cada elemento.

#### 2.2.4 Detecção da atividade enzimática

##### 2.2.4.1 Detecção da amilase

Para a detecção da atividade amilolítica, foi utilizada a metodologia descrita por Hankin e Anagnostakis (1979), usando o meio Ágar Nutritivo, contendo 0,2 % de amido, posteriormente distribuído em placas de Petri. Após solidificação do meio, realizou-se um furo no centro da placa, por onde foi inoculada uma suspensão bacteriana previamente preparada de 100 µL. As placas foram incubadas a 28 e 35 °C, durante 96 horas, com acompanhamento diário. A produção da enzima foi evidenciada após lavagem das placas com uma solução de lugol, por meio da forma-



ção de um halo opaco em volta da colônia. Todos os ensaios foram realizados em triplicata.

#### 2.2.4.2 Detecção da urease

Para a detecção da atividade ureásica, foi empregado o método de Hankin e Anagnostakis (1979), utilizando o meio Ágar Nutriente (camada inferior), com adição de 5 % de ureia. A camada superior foi feita com ágar tampão fosfato, acrescido de 5 % de solução de ureia e 5% de solução de azul de bromotimol. Após solidificação do meio de cultura, foi realizado um furo no centro da placa de Petri, com diâmetro de 0,8 cm, em que foram inoculados 100 µL da suspensão bacteriana, previamente preparada. As placas foram incubadas a 28 e 37 °C, durante 96 horas, com acompanhamento diário. Após o período de crescimento microbiano, um halo amarelo claro em torno da colônia indicou a presença da urease. Todos os ensaios foram realizados em triplicata.

### 3 Resultados e discussão

Os micro-organismos estão diretamente envolvidos nos ciclos dos nutrientes do solo e, aliada à quantificação de bactérias e fungos totais, a avaliação de determinados grupos microbianos determinam como os processos bioquímicos estão ocorrendo (SILVEIRA et al., 2004). As avaliações das densidades populacionais na comunidade microbiana nos solos são importantes, tanto na identificação de fatores que exercem influência no equilíbrio microbiológico dos solos como na caracterização das relações entre os diferentes grupos e espécies de micro-organismos. Frequentemente, essas avaliações são realizadas com base em diluições seriadas da suspensão do material sólido disponível, com contagens das Unidades Formadoras de Colônias (UFC) em placas de Petri (RANJARD e RICHAUME, 2001; LIU et al., 2006).

Foram isoladas as bactérias mesofílicas presentes no lodo de esgoto, no solo agricultável e no solo com adição de lodo (0, 25, 50 e 75 t/ha) em diferentes temperaturas (28 e 37 °C) e em meios contendo ou não NaCl (Tabelas 1 e 2).

**Tabela 1: Isolamento de bactérias mesofílicas a 28 °C**

Amostra (t/hac)	Com NaCl	Sem NaCl
0	28	40
25	28	26
50	36	21
75	37	43
Total	129	130
Bactérias isoladas		259

Fonte: Os autores.

**Tabela 2: Isolamento de bactérias mesofílicas a 37 °C na presença e ausência de NaCl**

Amostra (t/hac)	Com NaCl	Sem NaCl
0	33	32
25	21	22
50	20	15
75	18	34
Total	92	103
Bactérias isoladas		195

Fonte: Os autores.

Nas amostras lodo de esgoto na temperatura de 28 °C foram isoladas 259 bactérias, sendo 129 colônias no meio contendo NaCl, e 130, sem NaCl. Verifica-se que a maior quantidade de bactérias foram isoladas na amostra de 75 t/ha sem a presença de NaCl (43). Na temperatura de 37 °C, foram isoladas 195 bactérias, sendo 92 no meio de cultura contendo NaCl, e 103 colônias, no meio com ausência salina. A maior quantidade de isolados mesofílicos (34) também foi verificada na amostra tratada de 75 t/ha sem a presença de NaCl.

Os resultados quantitativamente obtidos corroboram os dados descritos na literatura (TORSVIK et al., 1996; WARDLE, 2006; LIDSTROM,

KONOPHA, 2010), em que as avaliações das densidades populacionais na comunidade microbiana nos solos, são consideradas importantes na identificação de fatores que exercem influência no equilíbrio microbiológico desses, como na caracterização das relações entre as espécies de micro-organismos. A adequação dos procedimentos na preservação e no período de armazenamento das amostras de solo, do momento da coleta até sua utilização laboratorial, também é de importância fundamental no processo de avaliação das comunidades microbianas. As modificações das condições físicas, químicas e biológicas dessas amostras devem ser minimizadas, visto que a atividade desses seres microscópios é um processo dinâmico ao longo do tempo, e depende diretamente das condições ambientais (TORSVIK et al., 1996; WAGNER e LOY, 2002). A presença de excesso de sais inorgânicos e orgânicos no meio de cultura favorece o aparecimento de consórcios ou de micro-organismos halofílicos, que tendem a suportar uma descarga maior de poluentes ambientais, como os metais pesados, pois a ocorrência desses problemas não depende apenas da concentração, mas da espécie química presente, que varia em razão de fatores como o pH e o potencial de óxido-redução (SMITH, 2009; AN e KIM, 2009; GILLER et al., 2009).

Após o isolamento em diferentes temperaturas e na presença e ausência de NaCl, as colônias bacterianas foram mantidas em meio AN e receberam uma numeração prévia que identificava a temperatura de isolamento, o meio com presença ou ausência de sal e procedência da amostra. Em seguida, as colônias bacterianas foram selecionadas de acordo com suas características macroscópicas (cor, verso e reverso da colônia, produção de pigmentos). As colônias foram transferidas para o meio TSI para identificação, além da realização da Coloração de Gram. Nas Tabelas 3 e 4, encontram-se os resultados da identificação bacteriana das amostras em diferentes temperaturas de 28 e 37 °C.

**Tabela 3: Identificação das bactérias mesofílicas selecionadas e isoladas de lodo de esgoto e amostras tratadas a 28 °C**

Amostra	Procedência (t/hac)	Gênero
0198	75	<i>Alcaligenes sp</i>
0188	0	<i>Alcaligenes sp</i>
0136	50	<i>Alcaligenes sp</i>
0122	0	<i>Alcaligenes sp</i>
0133	0	<i>Bacillus sp</i>
0096	50	<i>Enterobacter sp</i>
0137	0	<i>Enterobacter sp</i>
0118	75	<i>Enterobacter sp</i>
0138	50	<i>Escherichia coli</i>
0140	0	<i>Escherichia coli</i>
0180	50	<i>Escherichia coli</i>
0195	50	<i>Escherichia coli</i>
0194	50	<i>Escherichia coli</i>
0135	50	<i>Escherichia coli</i>
0132	0	<i>Pseudomonas sp</i>
0191	25	<i>Pseudomonas sp</i>
0192	25	<i>Serratia SP</i>
0139	0	<i>Serratia SP</i>
0099	0	<i>Shigella sp</i>
0095	0	<i>Shigella sp</i>
0141	0	<i>Shigella sp</i>
0098	25	<i>Shigella sp</i>
0120	75	<i>Steptococcus sp</i>

Fonte: Os autores.

**Tabela 4: Identificação das bactérias mesofílicas selecionadas e isoladas de lodo de esgoto e amostras tratadas a 37 °C**

Amostra	Procedência (t/hac)	Gênero
0174	75	<i>Escherichia coli</i>
0113	25	<i>Escherichia coli</i>
0182	25	<i>Escherichia coli</i>
0146	75	<i>Alcaligenes sp</i>
0145	50	<i>Escherichia coli</i>
0116	0	<i>Shigella sp</i>
0102	0	<i>Escherichia coli</i>
0183	75	<i>Actinomycetes</i>
0148	75	<i>Escherichia coli</i>
0180	75	<i>Bacillus SP</i>
0172	75	<i>Shigella sp</i>
0173	25	<i>Shigella sp</i>
0173	25	<i>Actinomycetes</i>
0176	75	<i>Escherichia coli</i>
0177	25	<i>Actinomycetes</i>
0179	75	<i>Escherichia coli</i>

Fonte: Os autores.



Nas culturas isoladas a 28 °C, constatou-se a presença de bactérias patogênicas dos gêneros *Enterobacter*, *Serratia*, *Escherichia*, *Shigella*, *Pseudomonas*, *Bacillus*, *Enterobacter*, *Alcaligenes* em todas as amostras de lodo e de solo tratado.

Nas culturas isoladas a 37 °C descritas na Tabela 4, verifica-se a presença das mesmas espécies bacterianas isoladas a 28 °C, porém havendo um predomínio quantitativo de amostras de *Escherichia coli* e de outras bactérias entéricas patogênicas, e três de actinomicetos. Esses resultados revelam que as densidades de populações bacterianas específicas podem ser estimadas quantitativa e qualitativamente por meio de atributos que os micro-organismos apresentam e que possibilitam a sua diferenciação das demais comunidades bacterianas e microbianas presentes (DUDLEY et al., 1980; SANTAMARIA e TORANZOS, 2003; CAVINATTO e PAGANINI, 2007; VAZ-MOREIRA et al., 2008; JATINDER e TOZE, 2009). O lodo gerado no tratamento de esgoto, geralmente, apresenta uma alta taxa de matéria orgânica, fósforo, nitrogênio e micronutrientes (SINGH e AGRAWAL, 2008; JEZIERSKA-TYS e FRAC, 2008). Esse resíduo se for tratado com cal pode corrigir a acidez do solo, pois quando submetido ao processo de estabilização alcalina, seu pH torna-se básico. O nitrogênio é o principal componente do lodo de esgoto, a partir disso pode-se afirmar que o elemento é o referencial para limitação de suas taxas de aplicação (BETTIOL e CAMARGO, 2000; AGUSTINI e ONOFRE, 2007; COLODRO et al., 2007).

A problemática dos altos índices de metais pesados no lodo é um aspecto importante a ser considerado, uma vez que a contaminação do solo por esses metais causa diversos problemas irreversíveis no meio ambiente, impedindo o aproveitamento agrícola do lodo de esgoto. Os metais adicionados ao solo pelo lodo de esgoto podem mudar sua composição química, além disso, eles

podem permanecer no solo de uma forma extraível e disponível à absorção pelas plantas, e aos consórcios de micro-organismos nativos do solo por vários anos. Ante o exposto, foram realizados ensaios para determinação de elementos químicos na amostra de lodo de esgoto proveniente da Estação Mangueira (Tabela 5).

**Tabela 5: Caracterização química do lodo de esgoto da Estação de Tratamento Mangueira, Recife (PE)**

Elementos químicos	Teor encontrado (mg/kg)
Ca	1180 ± 0,02
Mg	755 ± 0,004
Al	14600 ± 0,3
Zn	600 ± 0,01
Cu	909,8 ± 0,001
Ni	10 ± 0,01
Cd	2,2 ± 0,0004
Fe	2390 ± 0,2
Mn	189 ± 0,003
Cr	22 ± 0,001

Fonte: Os autores.

Os resultados obtidos evidenciam uma baixa concentração de cádmio (2,2 mg/kg) e de níquel (10 mg/kg), e uma alta, de alumínio (14.600 mg/kg), cálcio (1.180 mg/kg), cobre (909,8 mg/kg) e zinco (600 mg/kg), respectivamente.

Esses resultados sugerem que aplicações de lodo de esgoto, possivelmente, operam como agente seletivo, estreitando a diversidade da população microbiana; porém, para as espécies que permanecem, o lodo de esgoto não tem efeito negativo, podendo aumentar o crescimento de alguns gêneros de micro-organismos, principalmente bactérias e fungos filamentosos. Os estudos realizados mostram a diminuição da diversidade da população microbiana do solo após aplicações de lodo de esgoto, entretanto verificando igual ou maior biomassa total do solo (WYSZKOWSKA e WYSZKOWSKI, 2002; NWUCHE e UGOJI, 2008).

As enzimas têm uma participação essencial nos processos relacionados à qualidade do solo, pois é por meio delas que os micro-organismos do solo degradam as moléculas orgânicas complexas em simples que podem ser assimiladas. As enzimas extracelulares são responsáveis pelos processos de decomposição e mineralização de nutrientes no solo, disponibilizando-os também para as plantas e promovendo a ciclagem desses nutrientes (GIANFREDA et al., 2002; ACOSTA-MARTÍNEZ et al., 2007; MAKOL e NDAKIDEMI, 2008; ALLINSON et al., 2010).

Foi realizado um estudo do potencial biotecnológico das bactérias mesofílicas isoladas e identificadas do lodo de esgoto da estação da Mangueira pela determinação em meio sólido da presença de amilase e urease em diferentes temperaturas de produção (28 e 37 °C). Os resultados obtidos estão descritos nas Tabelas 6 e 7, respectivamente.

Na Tabela 6, estão descritos os valores obtidos a 28 °C para a amilase, em que se observa que todos os isolados testados apresentaram atividade aminolítica, sendo o melhor resultado obtido com a amostra de *Streptococcus sp* (UCP 0120) que apresentou um halo de 70 mm. Na detecção de urease, das dez amostras testadas, cinco demonstraram mudança de coloração característica da urease, e as outras cinco, não apresentaram a mudança característica de coloração da enzima. Na Tabela 7, estão os valores obtidos para os ensaios enzimáticos a 37 °C. Observa-se que todas as amostras testadas não demonstraram atividade aminolítica, e que das sete testadas, cinco mostraram mudança de coloração característica da urease, e apenas duas amostras não a apresentaram.

As avaliações de atividades enzimáticas do solo podem ser úteis para indicar em que a medida ele está desempenhando seu potencial de ciclagem de nutrientes, nitrificação, oxidação e outros processos vitais desempenhados pelos

**Tabela 6: Detecção de amilase e urease em amostras de bactérias mesofílicas isoladas a 28°C**

Amostra	Amilase halos (mm)	Urease
Enterobacter sp (UCP 0137)	42	(+)
Bacillus sp (UCP 0119)	42	(-)
Serratia sp (UCP 0139)	27	(+)
Shigella sp (UCP 0099)	64	(+)
Streptococcus sp (UCP 0120)	70	(-)
Staphylococcus aureus (UCP 0095)	66	(-)
Escherichia coli (UCP 0140)	64	(+)
Pseudomonas sp (UCP 0206)	47	(+)
Serratia sp (UCP 0192)	52	(-)
Escherichia coli (UCP 0123)	50	(-)

(-) não detectado; (+) mudança intensa de coloração

Fonte: Os autores.

**Tabela 7: Detecção de amilase e urease em amostras de bactérias mesofílicas isoladas a 37 °C**

Amostra	Amilase halos (mm)	Urease
Alcaligenes sp (UCP 0183)	(-)	(-)
Shigella sp (UCP 0109)	(-)	(+)
Alcaligenes sp (UCP 0177)	(-)	(-)
Escherichia coli (UCP 0174)	(-)	(+)
Shigella sp (UCP 0173)	(-)	(+)
Escherichia coli (UCP 0178)	(-)	(+)
Escherichia coli (UCP 0176)	(-)	(+)

(-) não detectado; (+) mudança intensa de coloração

Fonte: Os autores.

micro-organismos. As enzimas estão presentes em baixas concentrações no solo, por isso a sua quantificação é realizada de maneira indireta pela medição de sua atividade, e não pela sua quantidade. Geralmente, a atividade é medida por meio da quebra de um substrato específico para cada enzima a ser avaliada, em condições padronizadas de pH e temperatura (GIANFREDA et al., 2002; KIZILKAYA e BAYRAKH, 2005; CALDWELL, 2005; SIVARAMAKRISHNAN et al., 2006; MAKOL e NDAKIDEMI, 2008; BURGESS e PLETSCHKE, 2008).



Na Tabela 8, encontram-se descritas as bactérias mesofílicas isoladas de lodo de esgoto a 28 e 37 °C. Verifica-se que a grande maioria delas é de origem patogênica que, mesmo após o tratamento do lodo de esgoto em diferentes quantidades de solo, ainda persistem até no solo tratado com 70 t/ha. A *Escherichia coli* foi detectada nas duas temperaturas testadas, sendo um sinal de alerta, pois ela é considerada um micro-organismo indicador da presença de coliformes fecais (EDRINGTON et al., 2009; MANSILHA et al., 2009; ARTHURSON, 2008).

**Tabela 8: Isolamento e identificação de bactérias mesofílicas isoladas de lodo de esgoto a 28 e 37 °C**

Amostra	Temperatura (°C)	Gênero
0174	28	<i>Escherichia coli</i>
0113	28	<i>Escherichia coli</i>
0182	37	<i>Escherichia coli</i>
0146	28	<i>Alcaligenes sp</i>
0145	37	<i>Escherichia coli</i>
0116	28	<i>Shiguella sp</i>
0102	37	<i>Escherichia coli</i>
0183	28	<i>Actinomycetes</i>
0148	37	<i>Escherichia coli</i>
0180	28	<i>Bacillus sp</i>
0172	28	<i>Shiguella sp</i>
0173	37	<i>Shiguella sp</i>
0120	28	<i>Streptococcus sp</i>
0176	37	<i>Escherichia coli</i>
0192	37	<i>Serratia sp</i>
0179	28	<i>Escherichia coli</i>

Fonte: Os autores.

## 4 Conclusões

Por meio dos resultados obtidos no isolamento e identificação das bactérias mesofílicas presentes no lodo de esgoto, foi verificada a existência de uma grande quantidade de bactérias patogênicas, principalmente de origem fecal, que mesmo após o tratamento do solo em diferentes concentrações, doses e temperaturas permaneceram nos solos tra-

tados, apresentando um potencial biotecnológico para produção de enzimas microbianas. A presença de metais pesados no lodo de esgoto, caracterizados como potencialmente perigosos aos seres humanos e animais, indica que a sua possível utilização como adubo, deve ser monitorada para não acarretar maiores problemas ambientais e de saúde coletiva.

## Agradecimentos

Os autores agradecem a Federação Internacional das Universidades Católicas (FIUC), à Universidade Católica de Pernambuco (UNICAP), à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), à Fundação de Amparo à Ciência e Tecnologia do Estado de Pernambuco (FACEPE) e ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq).

## Referências

- ACOSTA-MARTINEZ, et al. Enzyme activities as affected by soil properties and land use in a tropical watershed. *Applied Soil Ecology*, v. 35, n. 1, p. 35-45, 2007.
- ALLINSON, S. D.; WALLENSTEIN, M. D.; BRADFORD, M. A. Soil carbon response to warming dependent on microbial physiology. *Nature Geoscience*, v. 3, p.336-340, 2010.
- ARTHURSON, V. Proper sanitization of sewage sludge: a critical issue for a sustainable society. *Applied and Environmental Microbiology*. v. 74, n. 17, p. 5267-5275, 2008.
- AGUSTINI, D.; ONOFRE, S. B. Caracterização físico-química e microbiológica do lodo de esgoto produzido na Estação de Tratamento de Esgoto (ETE) de Pato Branco -PR. *Biology & Health Journal*, v.1, n.1/2, p. 85-92, 2007.
- AN, Y. J.; KIM, M. Effect of antimony on the microbial growth and the activities of soil enzymes. *Chemosphere*, v.74, p. 654-659, 2009.
- BETTIOL, W.; CAMARGO, O. A. (Eds.) *Impacto ambiental do uso agrícola do lodo de esgoto*. Jaguariúna: Embrapa Meio Ambiente, 312 p., 2000.

- BURGESS, J. E.; PLETSCHKE, B. I. Hydrolytic enzymes in sewage sludge treatment: a mini-review. *Water SA*, v. 34, n. 3, p. 343-350, 2008.
- CALDWELL, B. A. Enzyme activities as a component of soil biodiversity: a review. *Pedobiologia*, v. 49, p. 637-644, 2005.
- CAMPOS, F. S.; ALVES, M. C. Uso de lodo de esgoto na reestruturação de solo degradado. *Revista Brasileira de Ciência do Solo*, v. 32, p.1389-1397, 2008.
- CAVINATTO, A.S.; PAGANINI, W.S. Os microrganismos nas atividades de disposição de esgotos no solo- estudo de caso. *Engenharia Sanitária e Ambiental*, v.12, n 1, p. 42-51, 2007.
- CENCIANI, K. et al. Microbial enzymatic activity and thermal effect in a tropical soil treated with organic materials. *Science Agricola*, v. 65, n. 6, p.674-680, 2008.
- CHAER, G.M.; TÓTOLA, M.R. Impacto do manejo de resíduos orgânicos durante a reforma de plantios de eucalipto sobre indicadores de qualidade do solo. *Revista Brasileira de Ciência do Solo*, v. 31, n. 6, p.1381-1396, 2007.
- COLODRO, G. et al. Atividade microbiana em um latossolo degradado tratado com lodo de esgoto. *Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental*, v. 11, n. 2, p. 195-198, 2007.
- DUDLEY, D. J. et al. Enumeration of potentially pathogenic bacteria from sewage sludges. *Applied and Environmental Microbiology*, v. 39, n. 1, p. 118-126, 1980.
- EDDRINGTON, T. S. et al. Prevalence and Antimicrobial Resistance Profiles of *Escherichia coli* O157: H7 and *Salmonella* Isolated from Feedlot Lambs. *Journal of Food Production*, v. 72, p. 1713-1717, 2009.
- GIANFREDA, A. et al. Enzymes in soil: properties, behavior and potential applications. *Developments in Soil Science*, v. 28B, p. 301-327, 2002.
- GILLER, K. E.; WITTER, E.; McGRATH, S. P. Heavy metals and soil microbes. *Soil Biology & Biochemistry*, v. 41, n. 10, p.1-7, 2009.
- HANKIN, L.; ANAGNOSTAKIS, S. L. The use of solid media for detection of enzymes production by fungi. *Mycologia*, v. 67, p. 597-607, 1979.
- IMAMURA, A.; YUMOTO, T.; YANAI, J. Urease activity in soil as a factor affecting the sucession of ammonia fungi. *Journal of Florest Research*, v. 11, p. 131-135, 2006.
- JATINDER, P.S.S.; TOZE, S.G. Human pathogens and their indicators in biosolids: A literature review. *Environment International*, v.35, n. 1, p. 187-201, 2009.
- JEZIERSKA-TYS, S.; FRAC, M. Effect of sewage sludge on selected microbiological and biochemical indices of soil fertility in view of domestic and world wide studies: a review. *Acta Agrophysica*, v. 12, n. 2, p. 393-407, 2008.
- KIZILKAYA, R.; BAYRAKH, B. Effects of N-enriched sewage sludge on soil enzyme activities. *Applied Soil Ecology*, v. 30, p. 192-202, 2005.
- KITAMURA, A. E. et al. Recuperação de um solo degradado com a aplicação de adubos verdes e lodo de esgoto. *Revista Brasileira de Ciência do Solo*, v. 32, n. 1, p. 405-416, 2008.
- KLOSE, S.; TABATABAI, M. A. Urease activity of microbial biomass in soils as affected by cropping systems. *Biological and Fertility of Soils*, v. 31, p. 191-199, 2000.
- LAMBAIS, M. R.; DO CARMO, J. B. Impactos da aplicação de biossólidos na microbiota de solos tropicais. *Revista Brasileira de Ciência do Solo*, v. 32, p. 1129-1138, 2008.
- LEITA, L. et al. Bioavailability and effects of heavy metals on soil microbial biomass survival during laboratory incubation. *Biology and Fertility of Soils*, v. 19, p. 103-108, 1995.
- LEITE, V. D. et al. Tratamento anaeróbio de resíduos sólidos orgânicos com alta e baixa concentração de sólidos. *Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental*, v. 13, n. 2, p. 190-196, 2009.
- LIDSTROM, M. E.; KONOPHA, M. C. The role of physiological heterogeneity in microbial population behavior. *Nature Chemical Biology*, v. 6, n. 10, p.705-712, 2010.
- LIU, B.R. et al. A review of methods for studying microbial diversity in soils. *Pedosphere*, v. 16, n. 1, p. 18-24, 2006.
- MAKOL, J. H. J. R.; NDAKIDEMI, P. A. Selected soil enzymes: examples of their potential roles in the ecosystem. *African Journal of Biotechnology*, v. 3, n. 7, p. 181-191, 2008.
- MANSILHA, C. R. et al. Bathing waters: new directive, new standards, new quality approach. *Marine Pollution Bulletin*, v. 58, p. 1562-1565, 2009.
- MATSUOKA, M.; MENDES, I. C.; LOUREIRO, M. F. Biomassa microbiana e atividade enzimática em solos sob vegetação nativa e sistemas agrícolas anuais e perenes na região de Primavera do Leste. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, v. 43, n. 7, p. 879-885, 2008.
- MURALIKRISHNA, G.; NIRMALA, M. Cereal  $\alpha$ -amylases-an overview. *Carbohydrate Polymers*. v. 60, p. 163-173, 2005.



- NWUCHE, C. O.; UGOJI, E. O. Effects of heavy metal pollution on the soil microbial activity. *Journal Environmental Science and Technology*, v. 5, n. 2, p. 409-414, 2008.
- OLIVEIRA, A. N. et al. Produção de amilase por rizóbios, usando farinha de pupunha como substrato. *Revista Ciência e Tecnologia de Alimentos*, Campinas, v. 27, n. 1, p. 61-66, 2007.
- PASSOS, S. R. et al. Atividade enzimática e perfil da comunidade bacteriana em solo submetido à solarização e biofumigação. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, v. 43, n. 7, p. 879-885, 2008.
- PRAKASH GOUD, M. J. et al. Extracellular hydrolytic enzyme profiles of certain South Indian basidiomycetes. *African Journal of Biotechnology*, v. 8, n. 3, p. 354-360, 2009.
- PAPKE, R. T.; WARD, D. M. The importance of physical isolation to microbial diversification. *Microbial Ecology*, v. 48, n. 3, p. 293-303, 2004.
- RANJARD, L.; RICHAUME, A. Quantitative and qualitative microscale distribution of bacteria in soil. *Research Microbiology*, v. 152, p. 707-716, 2001.
- SAID, S.; PIETRO, R. C. L. R. Enzimas como agentes Biotecnológicos. Ribeirão Preto: Legis Summa, 412 p, 2004.
- SANTAMARIA, J.; TORANZOS, G. A. Enteric pathogens and soil: a short review. *International Microbiology*, v. 6, p. 5-9, 2003.
- SIDHU, J. P. S.; TOZE, S. G. Human pathogens and their indicators in biosolids: a literature review. *Environment International*, v. 35, n. 1, p. 187-201, 2009.
- SILVEIRA, R. B.; MELLONI, R.; PEREIRA, E. G. Atributos microbiológicos e bioquímicos como indicadores da recuperação de áreas degradadas, no sul de Minas Gerais. *Revista de Ciências Agrárias e Ambientais*, v. 2, n. 2, p. 21-29, 2004.
- SINGH, R. P.; AGRAWAL, M. Potential benefits and risks of land application of sewage sludge. *Waste Management*, v. 28, p. 347-358, 2008.
- SIVARAMAKRISHNAN, S. et al. Alpha amylases from microbial sources – an overview on recent developments. *Food Technology and Biotechnology*, v. 44, n. 2, p. 173-184, 2006.
- SMITH, S. R. A review of the bioavailability and impacts of heavy metals in municipal solid waste composts compared to sewage sludge. *Environmental International*, v. 35, p. 142-156, 2009.
- STROM, P. F. Identification of thermophilic bacteria in solid-waste composting. *Applied and Environmental Microbiology*, v. 50, n. 4, p. 906-913, 1985.
- TORSVIK, V.; SORHEIM, R.; GOKSOYR, J. Total bacterial diversity in soil and sediment communities – a review. *Journal of Industrial Microbiology*, v. 17, p. 170-178, 1996.
- VAN DER MAAREL et al. Properties and applications of starch-converting enzymes of the  $\alpha$ -amylase family. *Journal of Biotechnology*, v. 94, p. 137-155, 2002.
- VAZ-MOREIRA, I. et al. Diversity of bacterial isolates from commercial and homemade composts. *Microbial Ecology*, v. 55, p. 714-722, 2008.
- VIG, K. et al. Bioavailability and toxicity of cadmium to microorganisms and their activities in soil: a review, *Advances Environmental Residue*, v. 8, p. 121-135, 2003.
- WAGNER, M.; LOY, A. Bacterial community composition and function in sewage treatment systems. *Current Opinion in Biotechnology*, v. 13, p. 218-227, 2002.
- WARDLE, D. A. The influence of biotic interactions on soil biodiversity. *Ecology Letters*, v. 9, p. 870-886, 2006.
- WYSZKOWSKA, J.; WYSZKOWSKI, M. Effect of cadmium and magnesium on microbiological activity in soil. *Polish Journal of Environmental Studies*, v. 11, n. 5, p. 585-591, 2002.

Recebido em 27 jul. 2010 / aprovado em 7 dez. 2010

**Para referenciar este texto**

ALBUQUERQUE, U. S. de et al. Detecção de amilase e urease em bactérias mesofílicas isoladas de lodo de esgoto da Estação de Tratamento Mangueira, Recife – Pernambuco. *Exacta*, São Paulo, v. 8, n. 3, p. 289-298, 2010.