

**José Max Barbosa de Oliveira Junior  
(Organizador)**

# **Análise Crítica das Ciências Biológicas e da Natureza 3**

**Atena**  
Editora  
Ano 2019

José Max Barbosa de Oliveira Junior  
(Organizador)

# Análise Crítica das Ciências Biológicas e da Natureza 3

Atena Editora  
2019

2019 by Atena Editora  
Copyright © Atena Editora  
Copyright do Texto © 2019 Os Autores  
Copyright da Edição © 2019 Atena Editora  
Editora Executiva: Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Antonella Carvalho de Oliveira  
Diagramação: Natália Sandrini  
Edição de Arte: Lorena Prestes  
Revisão: Os Autores

O conteúdo dos artigos e seus dados em sua forma, correção e confiabilidade são de responsabilidade exclusiva dos autores. Permitido o download da obra e o compartilhamento desde que sejam atribuídos créditos aos autores, mas sem a possibilidade de alterá-la de nenhuma forma ou utilizá-la para fins comerciais.

### **Conselho Editorial**

#### **Ciências Humanas e Sociais Aplicadas**

Prof. Dr. Álvaro Augusto de Borba Barreto – Universidade Federal de Pelotas  
Prof. Dr. Antonio Carlos Frasson – Universidade Tecnológica Federal do Paraná  
Prof. Dr. Antonio Isidro-Filho – Universidade de Brasília  
Prof. Dr. Constantino Ribeiro de Oliveira Junior – Universidade Estadual de Ponta Grossa  
Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Cristina Gaio – Universidade de Lisboa  
Prof. Dr. Deyvison de Lima Oliveira – Universidade Federal de Rondônia  
Prof. Dr. Gilmei Fleck – Universidade Estadual do Oeste do Paraná  
Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Ivone Goulart Lopes – Istituto Internazionale delle Figlie di Maria Ausiliatrice  
Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Juliane Sant’Ana Bento – Universidade Federal do Rio Grande do Sul  
Prof. Dr. Julio Candido de Meirelles Junior – Universidade Federal Fluminense  
Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Lina Maria Gonçalves – Universidade Federal do Tocantins  
Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Natiéli Piovesan – Instituto Federal do Rio Grande do Norte  
Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Paola Andressa Scortegagna – Universidade Estadual de Ponta Grossa  
Prof. Dr. Urandi João Rodrigues Junior – Universidade Federal do Oeste do Pará  
Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Vanessa Bordin Viera – Universidade Federal de Campina Grande  
Prof. Dr. Willian Douglas Guilherme – Universidade Federal do Tocantins

#### **Ciências Agrárias e Multidisciplinar**

Prof. Dr. Alan Mario Zuffo – Universidade Federal de Mato Grosso do Sul  
Prof. Dr. Alexandre Igor Azevedo Pereira – Instituto Federal Goiano  
Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Daiane Garabeli Trojan – Universidade Norte do Paraná  
Prof. Dr. Darllan Collins da Cunha e Silva – Universidade Estadual Paulista  
Prof. Dr. Fábio Steiner – Universidade Estadual de Mato Grosso do Sul  
Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Girlene Santos de Souza – Universidade Federal do Recôncavo da Bahia  
Prof. Dr. Jorge González Aguilera – Universidade Federal de Mato Grosso do Sul  
Prof. Dr. Ronilson Freitas de Souza – Universidade do Estado do Pará  
Prof. Dr. Valdemar Antonio Paffaro Junior – Universidade Federal de Alfenas

### **Ciências Biológicas e da Saúde**

Prof. Dr. Gianfábio Pimentel Franco – Universidade Federal de Santa Maria  
Prof. Dr. Benedito Rodrigues da Silva Neto – Universidade Federal de Goiás  
Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Elane Schwinden Prudêncio – Universidade Federal de Santa Catarina  
Prof. Dr. José Max Barbosa de Oliveira Junior – Universidade Federal do Oeste do Pará  
Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Natiéli Piovesan – Instituto Federal do Rio Grande do Norte  
Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Raissa Rachel Salustriano da Silva Matos – Universidade Federal do Maranhão  
Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Vanessa Lima Gonçalves – Universidade Estadual de Ponta Grossa  
Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Vanessa Bordin Viera – Universidade Federal de Campina Grande

### **Ciências Exatas e da Terra e Engenharias**

Prof. Dr. Adélio Alcino Sampaio Castro Machado – Universidade do Porto  
Prof. Dr. Eloi Rufato Junior – Universidade Tecnológica Federal do Paraná  
Prof. Dr. Fabrício Menezes Ramos – Instituto Federal do Pará  
Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Natiéli Piovesan – Instituto Federal do Rio Grande do Norte  
Prof. Dr. Takeshy Tachizawa – Faculdade de Campo Limpo Paulista

### **Conselho Técnico Científico**

Prof. Msc. Abrãao Carvalho Nogueira – Universidade Federal do Espírito Santo  
Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Andreza Lopes – Instituto de Pesquisa e Desenvolvimento Acadêmico  
Prof. Msc. Carlos Antônio dos Santos – Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro  
Prof.<sup>a</sup> Msc. Jaqueline Oliveira Rezende – Universidade Federal de Uberlândia  
Prof. Msc. Leonardo Tullio – Universidade Estadual de Ponta Grossa  
Prof. Dr. Welleson Feitosa Gazel – Universidade Paulista  
Prof. Msc. André Flávio Gonçalves Silva – Universidade Federal do Maranhão  
Prof.<sup>a</sup> Msc. Renata Luciane Polsaque Young Blood – UniSecal  
Prof. Msc. Daniel da Silva Miranda – Universidade Federal do Pará

<b>Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP) (eDOC BRASIL, Belo Horizonte/MG)</b>	
A532	Análise crítica das ciências biológicas e da natureza 3 [recurso eletrônico] / Organizador José Max Barbosa de Oliveira Junior. – Ponta Grossa, PR: Atena Editora, 2019. – (Análise Crítica das Ciências Biológicas e da Natureza; v. 3)  Formato: PDF Requisitos de sistema: Adobe Acrobat Reader. Modo de acesso: World Wide Web. Inclui bibliografia ISBN 978-85-7247-359-0 DOI 10.22533/at.ed.590192705  1. Ciências biológicas – Pesquisa – Brasil. I. Oliveira Junior, José Max Barbosa de. II. Série.  CDD 610.72
<b>Elaborado por Maurício Amormino Júnior – CRB6/2422</b>	

Atena Editora  
Ponta Grossa – Paraná - Brasil  
[www.atenaeditora.com.br](http://www.atenaeditora.com.br)  
contato@atenaeditora.com.br

## APRESENTAÇÃO

A obra *“Análise Crítica das Ciências Biológicas e da Natureza”* consiste de uma série de livros de publicação da Atena Editora. Com 96 capítulos apresenta uma visão holística e integrada da grande área das Ciências Biológicas e da Natureza, com produção de conhecimento que permeiam as mais distintas temáticas dessas grandes áreas.

Os 96 capítulos do livro trazem conhecimentos relevantes para toda comunidade acadêmico-científica e sociedade civil, auxiliando no entendimento do meio ambiente em geral (físico, biológico e antrópico), suprimindo lacunas que possam hoje existir e contribuindo para que os profissionais tenham uma visão holística e possam atuar em diferentes regiões do Brasil e do mundo. As estudos que integram a *“Análise Crítica das Ciências Biológicas e da Natureza”* demonstram que tanto as Ciências Biológicas como da Natureza (principalmente química, física e biologia) e suas tecnologias são fundamentais para promoção do desenvolvimento de saberes, competências e habilidades para a investigação, observação, interpretação e divulgação/interação social no ensino de ciências (biológicas e da natureza) sob pilares do desenvolvimento social e da sustentabilidade, na perspectiva de saberes multi e interdisciplinares.

Em suma, convidamos todos os leitores a aproveitarem as relevantes informações que o livro traz, e que, o mesmo possa atuar como um veículo adequado para difundir e ampliar o conhecimento em Ciências Biológicas e da Natureza, com base nos resultados aqui dispostos.

Excelente leitura!

José Max Barbosa de Oliveira Junior

## SUMÁRIO

<b>CAPÍTULO 1</b> .....	<b>1</b>
INIBIÇÃO DA PEÇONHA DE <i>Bothrops alternatus</i> (URUTU) 'IN VIVO' PELO PRINCÍPIO ATIVO ISOLADO VEGETAL LUPEOL	
Benedito Matheus dos Santos Klaus Casaro Saturnino Vanderlúcia Fonseca de Paula Mirian Machado Mendes	
<b>DOI 10.22533/at.ed.5901927051</b>	
<b>CAPÍTULO 2</b> .....	<b>7</b>
INVESTIGAÇÃO DAS ATIVIDADES TÓXICA, ANTIDIARREICA E ANTIESPASMÓDICA DAS PARTES AÉREAS DE <i>SIDA RHOMBIFOLIA</i> L. (MALVACEAE)	
Rafael Lima Marinho Paiva Antônio Raphael Lima de Farias Cavalcanti Rayane Fernandes Pessoa Indyra Alencar Duarte Figueiredo Sarah Rebeca Dantas Ferreira Otemberg Souza Chaves Micaelly da Silva Oliveira Maria de Fátima Vanderlei de Souza Fabiana de Andrade Cavalcante	
<b>DOI 10.22533/at.ed.5901927052</b>	
<b>CAPÍTULO 3</b> .....	<b>22</b>
INVESTIGAÇÃO DE LECTINA E INIBIDOR DE TRIPSINA EM TUBÉRCULOS DE INHAME ( <i>Dioscorea alata</i> ) CULTIVADO NO NORDESTE DO BRASIL	
Julia Mariano Caju de Oliveira Edilza Silva do Nascimento Tatiane Santi Gadelha Carlos Alberto de Almeida Gadelha	
<b>DOI 10.22533/at.ed.5901927053</b>	
<b>CAPÍTULO 4</b> .....	<b>38</b>
ISOLAMENTO E IDENTIFICAÇÃO DE FUNGOS FILAMENTOSOS ALERGÊNICOS ENCONTRADOS EM PEÇAS ANATÔMICAS HUMANAS CONSERVADAS EM SOLUÇÃO DE FORMALDEÍDO	
Hércules Gonçalves de Almeida Medeiros Adna Cristina Barbosa de Sousa	
<b>DOI 10.22533/at.ed.5901927054</b>	
<b>CAPÍTULO 5</b> .....	<b>50</b>
MEIO AMBIENTE GENÉTICO E EMBRIÕES EXCEDENTÁRIOS	
Odair Bufolo Daiane Silva Berdusco Freire Andréia de Fátima Selvati Bredariol	
<b>DOI 10.22533/at.ed.5901927055</b>	

**CAPÍTULO 6 ..... 62**

PRODUÇÃO DE ÁCIDOS PROPANOICO E ACÉTICO POR *PROPIONIBACTERIUM ACIDIPROPIONICI* ADSORVIDA EM MONTMORILONITA K-10

Taciani do Santos Bella de Jesus  
Lucidio Cristovão Fardelone  
Gustavo Paim Valença  
José Roberto Nunhez  
José Augusto Rosário Rodrigues  
Paulo José Samenho Moran

**DOI 10.22533/at.ed.5901927056**

**CAPÍTULO 7 ..... 72**

PRODUÇÃO DE B-GLUCANASES E AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIMICROBIANA E REDUÇÃO DE BIOFILME DE *Candida albicans*

Glaucia Hollaender Braun  
Henrique Pereira Ramos  
Maria Laura Lucas Natal  
Rosemeire Cristina Linhari Rodrigues Pietro

**DOI 10.22533/at.ed.5901927057**

**CAPÍTULO 8 ..... 80**

PRODUCTION AND STABILITY OF LIPASE AND PECTINASE PRESENT IN AGROINDUSTRIAL RESIDUES

Millena Cristiane de Medeiros Bezerra Jácome  
Carlos Eduardo de Araújo Padilha  
Murilo Ricardo do Nascimento Arrais  
Maria Cecília Bezerra Caldas  
Everaldo Silvino dos Santos

**DOI 10.22533/at.ed.5901927058**

**CAPÍTULO 9 ..... 84**

PROPRIEDADES FÍSICAS E MECÂNICAS DE UM CIMENTO DE IONÔMERO DE VIDRO APÓS ADIÇÃO DE NANOPARTÍCULAS DE TiO<sub>2</sub>

Luis Eduardo Genaro  
Luana Mafra Marti  
Ana Carolina Bosco Mendes  
Rafael Amorim Martins  
Angela Cristina Cilense Zuanon

**DOI 10.22533/at.ed.5901927059**

**CAPÍTULO 10 ..... 91**

PURIFICATION OF A XYLANASE FROM *Penicillium crustosum* AND ITS POTENTIAL USE IN CLARIFYING FRUIT JUICE

Jaina Caroline Lunkes  
Vanessa Cristina Arfelli  
Jorge William Fischdick Bittencourt  
Rafael Andrade Menolli  
Alexandre Maller  
Jose Luís da Conceição Silva  
Rita de Cássia Garcia Simão  
Marina Kimiko Kadowaki

**DOI 10.22533/at.ed.59019270510**

**CAPÍTULO 11 ..... 101**

SENSIBILIDADE CELULAR E DE BIOFILME DE *Enterococcus* sp. AOS DESINFETANTES DE USO INDUSTRIAL

Luciana Furlaneto Maia  
Naieli Mücke  
Márcia Regina Terra  
Danielle Karine Ohashi  
Talita Butzske Bússolo  
Márcia Cristina Furlaneto

**DOI 10.22533/at.ed.59019270511**

**CAPÍTULO 12 ..... 115**

SIMULAÇÃO NUMÉRICA DA PROPAGAÇÃO DE ONDAS CISALHANTES EM ROCHAS SEDIMENTARES A PARTIR DE IMAGENS MICROTOMOGRÁFICAS DE RAIOS X

Túlio Medeiros  
José Agnelo Soares  
Ronildo Otávio de Oliveira Neto  
Juliana Targino Batista

**DOI 10.22533/at.ed.59019270512**

**CAPÍTULO 13 ..... 127**

STABILITY OF PECTINASE OF ASPERGILLUS NIGER IOC 4003 IN DIFFERENT SALTS FOR PURIFICATION IN BIPHASIC AQUEOUS SYSTEM

Millena Cristiane de Medeiros Bezerra Jácome  
Murilo Ricardo do Nascimento Arrais  
Carlos Eduardo de Araújo Padilha  
Everaldo Silvino dos Santos

**DOI 10.22533/at.ed.59019270513**

**CAPÍTULO 14 ..... 131**

TÉCNICA DE FISH APLICADA NA IDENTIFICAÇÃO DA MICROBIOTA DE REATOR DE LODO ATIVADO UTILIZADO NA DEGRADAÇÃO DE BLENIDAS

Lívia Cordi  
Nelson Durán

**DOI 10.22533/at.ed.59019270514**

**CAPÍTULO 15 ..... 142**

TEMPERATURE AND pH EFFECTS ON THE ACTIVITY AND STABILITY OF THR XYLANASES PRODUCED BY THE THERMOPHILIC FUNGUS *Rasamsonia emersonii* S10

Jéssica de Araujo Zandoni  
Eleni Gomes  
Gustavo O. Bonilla-Rodriguez

**DOI 10.22533/at.ed.59019270515**

**CAPÍTULO 16 ..... 147**

TRIAGEM DE TRATAMENTO DE *Luffa cylindrica* PARA IMOBILIZAÇÃO DE *Saccharomyces cerevisiae* VISANDO A PRODUÇÃO DE INVERTASE

Beatriz Paes Silva  
Brenda Kischkel  
Nicolle Ramos dos Santos  
André Álvares Monge Neto

**DOI 10.22533/at.ed.59019270516**



**CAPÍTULO 17 ..... 159**

AÇÃO FIBRINOLÍTICA DE PROTEASES PRODUZIDAS POR BACTÉRIAS ISOLADAS DE AMBIENTES AMAZÔNICOS

Thayana Cruz de Souza  
Anni Kelle Serrão de Lima  
Michele Silva de Jesus  
Raimundo Felipe da Cruz Filho  
Wim Maurits Sylvain Degrave  
Leila de Mendonça Lima  
Ormezinda Celeste Cristo Fernandes

**DOI 10.22533/at.ed.59019270517**

**CAPÍTULO 18 ..... 164**

ÁCIDO CÍTRICO: UM ENFOQUE MOLECULAR

Letícia Fernanda Bossa  
Daniele Sartori

**DOI 10.22533/at.ed.59019270518**

**CAPÍTULO 19 ..... 174**

ACTINOBACTÉRIAS ISOLADAS DE MANGUEZAL E SEU POTENCIAL BIOTECNOLÓGICO

Gabriela Xavier Schneider  
Jean Carlos Ramos de Almeida  
Kassiely Zamarchi  
Débora Santos  
Danyelle Stringari  
Renata Rodrigues Gomes

**DOI 10.22533/at.ed.59019270519**

**CAPÍTULO 20 ..... 188**

IDENTIFICAÇÃO DE BACTÉRIAS COM A CAPACIDADE DE BIODEGRADAÇÃO DO HERBICIDA ÁCIDO 2,4-DICLOROFENOXIACÉTICO

Juliana Barbosa Succar  
Andressa Sbrano da Silva  
Lidiane Coelho Berbert  
Vinícius Ribeiro Flores  
João Victor Rego Ferreira  
Alexander Machado Cardoso  
Ida Carolina Neves Direito

**DOI 10.22533/at.ed.59019270520**

**CAPÍTULO 21 ..... 199**

REABILITAÇÃO DE ÁREAS DEGRADADAS PELA MINERAÇÃO DE QUARTZITO COM INSTALAÇÃO DE USINA SUSTENTÁVEL

Gabriel Silva Gomes

**DOI 10.22533/at.ed.59019270521**

<b>CAPÍTULO 22</b> .....	<b>218</b>
COMPOSIÇÃO FITOQUÍMICA E TOXICIDADE DAS FOLHAS DE <i>Nectandra megapotamica</i> (Spreng.) Mez (LAURACEAE)	
Viviane Mallmann	
Lucas Wagner Ribeiro Aragão	
Edineia Messias Martins Bartieres	
Valdeci José Pestana	
Shaline Séfara Lopes Fernandes	
Rogério César de Lara da Silva	
Tauane Catilza Lopes Fernandes	
Ana Francisca Gomes da Silva	
<b>DOI 10.22533/at.ed.59019270522</b>	
<b>CAPÍTULO 23</b> .....	<b>223</b>
CRESCIMENTO DE MUDAS DE <i>Dipteryx odorata</i> (Aubl.) Willd. (Fabaceae) EM SUBSTRATOS ORGÂNICOS COMPOSTOS COM RESÍDUOS DE CASTANHA-DO-BRASIL	
Givanildo Sousa Gonçalves	
Lúcia Filgueiras Braga	
Letícia Queiroz de Souza Cunha	
<b>DOI 10.22533/at.ed.59019270523</b>	
<b>CAPÍTULO 24</b> .....	<b>236</b>
SUBSTRATOS ORGÂNICOS NO CRESCIMENTO DE MUDAS DE <i>Dipteryx odorata</i> (Aubl.) Willd. (Fabaceae)	
Givanildo Sousa Gonçalves	
Lúcia Filgueiras Braga	
Letícia Queiroz de Souza Cunha	
<b>DOI 10.22533/at.ed.59019270524</b>	
<b>SOBRE O ORGANIZADOR</b> .....	<b>253</b>

## AÇÃO FIBRINOLÍTICA DE PROTEASES PRODUZIDAS POR BACTÉRIAS ISOLADAS DE AMBIENTES AMAZÔNICOS

### **Thayana Cruz de Souza**

Instituto Leônidas e Maria Deane-ILMD/Fiocruz,  
Manaus - AM

### **Anni Kelle Serrão de Lima**

Instituto Leônidas e Maria Deane-ILMD/Fiocruz,  
Manaus - AM

### **Michele Silva de Jesus**

Instituto Leônidas e Maria Deane-ILMD/Fiocruz,  
Manaus - AM

### **Raimundo Felipe da Cruz Filho**

Universidade Federal do Amazonas (UFAM),  
Manaus – AM

### **Wim Maurits Sylvain Degrave**

Instituto Oswaldo Cruz (IOC)/Fiocruz, Rio de  
Janeiro - RJ

### **Leila de Mendonça Lima**

Instituto Oswaldo Cruz (IOC)/Fiocruz, Rio de  
Janeiro - RJ

### **Ormezinda Celeste Cristo Fernandes**

Instituto Leônidas e Maria Deane-ILMD/Fiocruz,  
Manaus - AM

foi isolar bactérias produtoras de proteases com ação fibrinolítica. A atividade proteolítica foi investigada em Agar leite. Em seguida, foi feita a fermentação submersa para obtenção do extrato bruto, a partir disso, realizou-se a quantificação da atividade proteolítica e avaliação quanto ao potencial fibrinolítico dos extratos em placa de fibrina. Das 150 amostras analisadas, 58% das culturas foram positivas para protease e 18% apresentaram ação fibrinolítica, destacando as espécies do gênero *Pseudomonas aeruginosa* CBAM 529 e CBAM 526 com 345 U/mL e 279 U/mL de atividade proteolítica, respectivamente. Esses resultados sugerem que as bactérias isoladas de ambientes amazônicos são microorganismos promissores para produção de proteases fibrinolíticas que podem ser alternativas para aplicação farmacêutica.

**PALAVRAS-CHAVE:** proteases, fermentação, fibrina, *Pseudomonas*

### **INTRODUÇÃO**

A trombose é considerada uma das principais causas de doenças cardiovasculares na vida moderna (Silva et al. 2013; Ashis & Sudhir, 2011), pois pode levar a infarto cerebral e do miocárdio, devido à coágulos de sangue não lisados (Abidi et al. 2014)

Um certo número de proteases que pode

**RESUMO:** A trombose é considerada uma das principais causas de doenças cardiovasculares na vida moderna, pois pode levar a infarto cerebral e do miocárdio, devido à coágulos de sangue não lisados. Devido a isso, as proteases que podem interferir na coagulação do sangue têm sido investigadas a partir de várias fontes microbianas. Portanto, o objetivo desse trabalho

interferir na coagulação do sangue tem sido purificada e caracterizada a partir de várias fontes, incluindo micro-organismos. Algumas destas proteases são enzimas fibrinolíticas capazes de digerir a fibrina (Sumi et al. 1995). Atualmente os agentes fibrinolíticos disponíveis para uso clínico são principalmente ativadores de plasminogênio, tais como o ativador de plasminogênio tissular, uroquinase e a estreptoquinase. Apesar da sua utilização generalizada, estes agentes apresentam baixa especificidade para fibrina, são muito caros e causam efeitos indesejados.

Conseqüentemente, a busca por enzimas fibrinolíticas para utilização na terapia contra trombose é um exercício contínuo, sendo que as proteases de origem microbiana são preferidas em comparação as que são obtidas a partir de fontes vegetais e animais, uma vez que aquelas possuem quase todas as características desejadas para as suas aplicações biotecnológicas, tais como baixo tempo de produção, facilidade de cultivo e de manipulação genética (Abidi et al. 2014).

Neste sentido, esse estudo teve como objetivo isolar, identificar e incorporar na Coleção de Bactérias da Amazônia (CBAM) culturas de bactérias produtoras de proteases, e investiga-las quanto à ação fibrinolítica.

## **MATERIAL E MÉTODOS**

### **Microrganismos e Investigação da Produção de Proteases**

Para este estudo foram utilizadas 150 culturas de bactérias isoladas de solo e água. As amostras produtoras de proteases foram identificadas com o Kit de identificação BBL Cristal e incorporadas na Coleção de Bactérias da Amazônia (CBAM/FIOCRUZ-Brasil).

Para obtenção do inóculo, as culturas foram subcultivadas em Agar Nutriente em placas de Petri ( $\varnothing=90\text{mm}\times 15\text{mm}$ ). Os cultivos foram mantidos a 37 °C por 24 horas (cultura estoque). A partir desta cultura, foi feito um inóculo central de cada amostra em Ágar Leite (Teixeira et al. 2011), para a investigação da produção de proteases. As placas foram incubadas por 24 horas a 37 °C. A formação de halos translúcidos ao redor da colônia indicou atividade positiva para enzima.

#### *Preparo do inóculo e obtenção do extrato enzimático*

A fermentação submersa foi realizada transferindo-se 1 mL da suspensão celular similar a escala de MC Farland 0,5 em frascos de Erlenmeyers (50 mL) contendo 30 mL da solução de Manachini (1987) suplementado com gelatina a 0,5%. A fermentação submersa foi conduzida em agitador orbital durante 24 h/150 rpm/37 °C. O extrato foi separado da biomassa por filtração a vácuo. No extrato bruto recuperado foi

determinada a atividade proteolítica.

### Quantificação da atividade proteolítica

A quantificação da atividade proteolítica foi feita de acordo com Fleuri & Sato (2008) utilizando caseína como substrato (Sigma Chemical Co., St Louis, MO) em tampão fostato 0,15M. Uma unidade da atividade enzimática foi definida como a quantidade de enzima capaz de produzir alteração de 0,01 na absorbância a 280 nm por minuto.

### Avaliação da atividade fibrinolítica

Os extratos brutos com ação proteolítica foram submetidos ao método de placa de fibrina de acordo com o método descrito por Astrup e Mullertz (1952), com pequenas modificações. A placa de fibrina (9 cm de diâmetro contendo 3 mm de espessura de gel de fibrina) foi preparada vertendo-se a mistura de 10 mL de fibrinogênio [0,5% (p/v)] e gel de agarose [1% (p/v)] com 0,1 mL de uma suspensão de trombina (100 unidades NIH/mL). Em seguida, foram confeccionados furos de 0,5 mm de diâmetro para aplicação de 20 µL do extrato enzimático fibrinolítico bruto, e posteriormente as placas foram incubadas a 37 °C durante 18 horas e o diâmetro do halo translúcido foi medido .

## RESULTADOS E DISCUSSÕES

Foram analisadas 150 culturas de bactérias isoladas de solo e água da região amazônica, das quais 58% foram produtoras de protease. Pode-se destacar as culturas de *Pseudomonas aeruginosa* CBAM 529 e CBAM 526 com 345 U/mL e 279 U/mL de atividade proteolítica, respectivamente.

Quanto à atividade fibrinolítica, 18% das culturas apresentaram positividade no teste em placa de fibrina com variação de 7 a 27 mm no diâmetro dos halos. Pode-se destacar as amostras CBAM 516 *P. aeruginosa* (27 mm), CBAM 529 *P. aeruginosa* (27 mm), CBAM 368 *Burkholderia cepacia* (26 mm), CBAM 519 *Serratia marcescens* (25 mm) CBAM 546 *Bacillus cereus* (25 mm).

Todas as culturas que apresentaram ação proteolítica foram identificadas e incorporadas na Coleção de Bactérias da Amazônia (CBAM). Sendo mais prevalente os gêneros *Bacillus* e *Pseudomonas* com 45% e 32% de amostras isoladas e produtoras de enzima, respectivamente.

De acordo com Raju & Divakar (2014) o gênero *Bacillus* é um dos mais importantes entre os microrganismos que têm sido encontrados para produzir as enzimas fibrinolíticas. Ao longo do tempo, foram sendo descobertas enzimas fibrinolíticas de origem bacteriana, tais como a Nattokinase (NK) a partir de *B. natto* (Sumi et al. 1987) e Subtilisina DFE e substilisin DJ- 4 a partir de *B. amyloliquefacien* (Pegui et al.

2002). Outro estudo indica que a nattokinase também pode ser purificada a partir do sobrenadante da cultura de estirpe TKU015 de *Pseudomonas* sp. isolada a partir do solo e que apresenta elevada atividade sobre a fibrina (Wang et al. 2009).

Esses resultados sugerem que as bactérias isoladas na Amazônia e depositadas na CBAM são micro-organismos promissores para produção de enzimas fibrinolíticas que podem ser alternativas para aplicação farmacêutica no tratamento contra trombose.

## CONCLUSÕES

Esse trabalho confirma o enorme potencial biotecnológico da biodiversidade brasileira, enfatizando as culturas bacterianas isoladas em ambientes amazônicos. Vale ressaltar que essas culturas capazes de produzir proteases com ação fibrinolítica e que podem ser usadas para o desenvolvimento de agentes terapêuticos estão mantidas na Coleção de Bactérias da Amazônia (CBAM), portanto, as informações contidas nesta coleção são recursos-chave para que o país possa utilizá-las no estabelecimento de estratégias rápidas e eficientes para o desenvolvimento científico e tecnológico.

## REFERÊNCIAS

- ASTRUP T, MULLERTZ S. 1952. The fibrin plate method for estimating of fibrinolytic activity. Arch Biochem Biophys;40:346–51. [http://dx.doi.org/10.1016/0003-9861\(52\)90121-5](http://dx.doi.org/10.1016/0003-9861(52)90121-5).
- FLEURI LF, SATO HH. 2008. Study of different parameters in the production of Lytic enzymes. Ciencia e Tecnologia de Alimentos, Campinas, 28 299-310 pp.
- MANACHINI PL, FORTINA MG, PARINI C. 1987. Purification and properties of an endopolygalacturonase produced by *Rhizopus stolonifer*. Biotechnology Letters 9: 219-224.
- Holden RW 1990 Plasminogen activators: Pharmacology and therapy. Radiology 174 993–1001
- PENG Y AND ZHANG YZ. 2002. Isolation and characterization of fibrinolytic enzyme producing strain DC-4 from Chinese douche and primary analysis of the enzyme property. Chin High Technol Lett 2002; 12: 30-34.
- RAJU EVN, DIVAKAR G. 2014. An overview on microbial fibrinolytic proteases. International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research. Vol. 5(3): 643-656.
- SILVA GMM, MARQUES DAV, PORTO TS, FILHO JLL, TEIXEIRA JAC, JÚNIOR AP, PORTO ALF. Extraction of fibrinolytic proteases from *Streptomyces* sp. DPUA1576 using PEG-phosphate aqueous two-phase systems. Fluid Phase Equilibria 339 p. 52– 57.
- SUMI H, NAKAJIMA N, YATAGAI C. 1995. A unique strong fibrinolytic enzyme (datsuwokinase) in skipjack “Shiokara”, a Japanese traditional fermented food. Comp. Biochem. Physiol. 112B 543–547
- SUMI H, HAMADA H, TSUSHIMA H, MIHARA H AND MURAKI H. 1987. A novel fibrinolytic enzyme (nattokinase) in the vegetable cheese Natto; a typical and popular soybean food in the Japanese diet. Experientia; 43(10): 1110- 1111.
- TEIXEIRA MFS, SILVA, TA, PALHETA, RA, CARNEIRO, ALB, ATAYDE, HM. 2011. Fungos da Amazônia: Uma riqueza inexplorada (Aplicações biotecnológicas). Manaus. Edua.

WANG, SL, CHEN, HJ, LIANG, TW, LIN YD. 2009. A novel nattokinase produced by *Pseudomonas* sp. TKU015 using shrimp shells as substrate. *Process Biochemistry*. 44:2009) 70–76.

Agência Brasileira do ISBN  
ISBN 978-85-7247-359-0

