

Impactos das Tecnologias nas Ciências Biológicas e da Saúde 2

Christiane Trevisan Slivinski
(Organizadora)



Atena
Editora

Ano 2019

Christiane Trevisan Slivinski
(Organizadora)

Impactos das Tecnologias nas Ciências Biológicas e da Saúde 2

Atena Editora
2019

2019 by Atena Editora

Copyright © da Atena Editora

Editora Chefe: Profª Drª Antonella Carvalho de Oliveira

Diagramação e Edição de Arte: Geraldo Alves e Natália Sandrini

Revisão: Os autores

Conselho Editorial

- Prof. Dr. Alan Mario Zuffo – Universidade Federal de Mato Grosso do Sul
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
Profª Drª Cristina Gaio – Universidade de Lisboa
Prof. Dr. Constantino Ribeiro de Oliveira Junior – Universidade Estadual de Ponta Grossa
Profª Drª Daiane Garabeli Trojan – Universidade Norte do Paraná
Prof. Dr. Darllan Collins da Cunha e Silva – Universidade Estadual Paulista
Profª Drª Deusilene Souza Vieira Dall’Acqua – Universidade Federal de Rondônia
Prof. Dr. Eloi Rufato Junior – Universidade Tecnológica Federal do Paraná
Prof. Dr. Fábio Steiner – Universidade Estadual de Mato Grosso do Sul
Prof. Dr. Gianfábio Pimentel Franco – Universidade Federal de Santa Maria
Prof. Dr. Gilmei Fleck – Universidade Estadual do Oeste do Paraná
Profª Drª Girlene Santos de Souza – Universidade Federal do Recôncavo da Bahia
Profª Drª Ivone Goulart Lopes – Istituto Internazionele delle Figlie de Maria Ausiliatrice
Profª Drª Juliane Sant’Ana Bento – Universidade Federal do Rio Grande do Sul
Prof. Dr. Julio Candido de Meirelles Junior – Universidade Federal Fluminense
Prof. Dr. Jorge González Aguilera – Universidade Federal de Mato Grosso do Sul
Profª Drª Lina Maria Gonçalves – Universidade Federal do Tocantins
Profª Drª Natiéli Piovesan – Instituto Federal do Rio Grande do Norte
Profª Drª Paola Andressa Scortegagna – Universidade Estadual de Ponta Grossa
Profª Drª Raissa Rachel Salustriano da Silva Matos – Universidade Federal do Maranhão
Prof. Dr. Ronilson Freitas de Souza – Universidade do Estado do Pará
Prof. Dr. Takeshy Tachizawa – Faculdade de Campo Limpo Paulista
Prof. Dr. Urandi João Rodrigues Junior – Universidade Federal do Oeste do Pará
Prof. Dr. Valdemar Antonio Paffaro Junior – Universidade Federal de Alfenas
Profª Drª Vanessa Bordin Viera – Universidade Federal de Campina Grande
Profª Drª Vanessa Lima Gonçalves – Universidade Estadual de Ponta Grossa
Prof. Dr. Willian Douglas Guilherme – Universidade Federal do Tocantins

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP) (eDOC BRASIL, Belo Horizonte/MG)

134 Impactos das tecnologias nas ciências biológicas e da saúde 2
[recurso eletrônico] / Organizadora Christiane Trevisan Slivinski. –
Ponta Grossa (PR): Atena Editora, 2019. – (Impactos das
Tecnologias nas Ciências Biológicas e da Saúde; v. 2)

Formato: PDF

Requisitos de sistema: Adobe Acrobat Reader

Modo de acesso: World Wide Web

Inclui bibliografia

ISBN 978-85-7247-038-4

DOI 10.22533/at.ed.384191601

1. Ciências biológicas. 2. Saúde. 3. Tecnologia. I. Slivinski,
Christiane Trevisan.

CDD 620.8

Elaborado por Maurício Amormino Júnior – CRB6/2422

O conteúdo dos artigos e seus dados em sua forma, correção e confiabilidade são de
responsabilidade exclusiva dos autores.

2019

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.

www.atenaeditora.com.br

APRESENTAÇÃO

A tecnologia está ganhando cada dia mais espaço na vida das pessoas e em tudo que as cerca. Compreende-se por tecnologia todo o conhecimento técnico e científico e sua aplicação utilizando ferramentas, processos e materiais que foram criados e podem ser utilizados a partir deste conhecimento. Quando, para o desenvolvimento da tecnologia estão envolvidos sistemas biológicos, seres vivos ou seus metabólitos, passa-se a trabalhar em uma área fundamental da ciência, a Biotecnologia.

Toda produção de conhecimento em Biotecnologia envolve áreas como Biologia, Química, Engenharia, Bioquímica, Biologia Molecular, Engenharia Bioquímica, Química Industrial, entre outras, impactando diretamente no desenvolvimento das Ciências Biológicas e da Saúde. A aplicação dos resultados obtidos nos estudos em Biotecnologia está permitindo um aumento gradativo nos avanços relacionados a qualidade de vida da população, preservação da saúde e bem estar.

Neste ebook é possível identificar vários destes aspectos, onde a produção científica realizada por pesquisadores das grandes academias possuem a proposta de aplicações que podem contribuir para um melhor aproveitamento dos recursos que a natureza nos oferece, bem como encontrar novas soluções para problemas relacionados à manutenção da vida em equilíbrio.

No volume 2 são apresentados artigos relacionados a Bioquímica, Tecnologia em Saúde e as Engenharias. Inicialmente é discutida a produção e ação de biocompostos tais como ácido hialurônico, enzimas fúngicas, asparaginase, lipase, biossurfactantes, xilanase e eritritol. Em seguida são apresentados aspectos relacionados a análise do mobiliário hospitalar, uso de oxigenoterapia hospitalar, engenharia clínica, e novos equipamentos utilizados para diagnóstico. Também são apresentados artigos que trabalham com a tecnologia da informação no desenvolvimento de sistemas e equipamentos para o tratamento dos pacientes.

No volume 3 estão apresentados estudos relacionados a Biologia Molecular envolvendo a leptospirose e diabetes melitus. Também foram investigados alguns impactos da tecnologia no estudo da microcefalia, agregação plaquetária, bem como melhorias no atendimento nas clínicas e farmácias da atenção básica em saúde.

Em seguida discute-se a respeito da utilização de extratos vegetais e fúngicos na farmacologia e preservação do meio ambiente. Finalmente são questionados conceitos envolvendo Educação em Saúde, onde são propostos novos materiais didáticos para o ensino de Bioquímica, Biologia, polinização de plantas, prevenção em saúde e educação continuada.

Christiane Trevisan Slivinski

SUMÁRIO

CAPÍTULO 1	1
ÁCIDO HIALURÔNICO MICROBIANO: PRODUÇÃO E APLICAÇÕES	
Hanny Cristina Braga Pereira Duffeck	
Nicole Caldas Pan	
Maria Antonia Pedrine Colabone Celligoi	
DOI 10.22533/at.ed.3841916011	
CAPÍTULO 2	15
AVALIAÇÃO DA PRODUÇÃO DE ENZIMAS HIDROLÍTICAS DE FUNGOS ISOLADOS DE <i>EUTERPE PRECATORIA</i> MART.	
Bárbara Nunes Batista	
Rosiane Rodrigues Matias	
Ana Milena Gómez Sepúlveda	
Rafael Lopes e Oliveira	
Patrícia Melchionna Albuquerque	
DOI 10.22533/at.ed.3841916012	
CAPÍTULO 3	26
DETERMINAÇÃO DOS PARÂMETROS IDEAIS DE CULTIVO DE <i>STREPTOMYCES PARVULUS</i> UFPEDA 3408 PARA PRODUÇÃO DA ENZIMA L- ASPARAGINASE	
Glêzia Renata da Silva Lacerda	
Islan D'Eric Gonçalves da Silva	
Luiz Eduardo Felix de Albuquerque	
Wanda Juliana Lopes e Silva	
Suellen Emilliany Feitosa Machado	
Silene Carneiro do Nascimento	
Gláucia Manoella de Souza Lima	
DOI 10.22533/at.ed.3841916013	
CAPÍTULO 4	36
IMOBILIZAÇÃO DE LIPASE DE <i>Botryosphaeria ribis</i> EC-01 EM RESÍDUO TÊXTIL	
Jéssica Borges de Oliveira	
Rafael Block Samulewski	
Josana Maria Messias	
Aline Thaís Bruni	
Aneli M. Barbosa-Dekker	
Robert F. H. Dekker	
Milena Martins Andrade	
DOI 10.22533/at.ed.3841916014	
CAPÍTULO 5	42
IMOBILIZAÇÃO DE LIPASES EM ZEÓLITA A OBTIDAS A PARTIR DA CINZA DE BIOMASSA DA BANANEIRA	
Orlando Baron	
Eduardo Radovanovic	
Sílvia Luciana Favaro	
Murilo Pereira Moisés	
Nadia Krieger	
Alessandra Machado Baron	
DOI 10.22533/at.ed.3841916015	

CAPÍTULO 6 48

PRODUÇÃO DE BIOSSURFACTANTES A PARTIR DE FUNGOS ENDOFÍTICOS ISOLADOS DA ESPÉCIE AMAZÔNICA *MYRCIA GUIANENSIS* E SUA TOLERÂNCIA AO ENDOSULFAN

Ana Milena Gómez Sepúlveda
Sergio Duvoisin Junior
Patrícia Melchionna Albuquerque

DOI 10.22533/at.ed.3841916016

CAPÍTULO 7 60

PRODUÇÃO E EXTRAÇÃO DE LIPASES DE *Penicillium corylophilum*

Lucas Marcondes Camargo
Ricardo de Sousa Rodrigues
Michael da Conceição de Castro
Josiane Geraldelo da Silva
Patrícia Salomão Garcia
Milena Martins Andrade
Alessandra Machado Baron

DOI 10.22533/at.ed.3841916017

CAPÍTULO 8 66

SELEÇÃO DE FUNGOS ENDOFÍTICOS ISOLADOS DE *MYRCIA GUIANENSIS* PRODUTORES DE XILANASE

Rosiane Rodrigues Matias
Ana Milena Gómez Sepúlveda
Bárbara Nunes Batista
Juliana Mesquita Vidal Martínez de Lucena
Patrícia Melchionna Albuquerque

DOI 10.22533/at.ed.3841916018

CAPÍTULO 9 75

UTILIZAÇÃO DE RESÍDUO MILHOCINA COMO FONTE DE VITAMINAS E NITROGÊNIO ORGÂNICO NA PRODUÇÃO DE ERITRITOL POR *Yarrowia lipolytica*

Luana Vieira da Silva
Maria Alice Zarur Coelho
Priscilla Filomena Fonseca Amaral
Patrick Fickers

DOI 10.22533/at.ed.3841916019

CAPÍTULO 10 84

ANÁLISE DE MOBILIÁRIO HOSPITALAR COM INCIDÊNCIA EM EVENTOS ADVERSOS

Lígia Reis Nóbrega
Selma Terezinha Milagre

DOI 10.22533/at.ed.38419160110

CAPÍTULO 11 88

ANÁLISE DO PROCESSO TECNOLÓGICO EM SAÚDE NO SERVIÇO DE OXIGENOTERAPIA DOMICILIAR

Bruno Pires Bastos
Renato Garcia Ojeda

DOI 10.22533/at.ed.38419160111

CAPÍTULO 12 98

CARACTERIZAÇÃO DA PRODUÇÃO CIENTÍFICA RECENTE SOBRE A ODONTOLOGIA HOSPITALAR NO BRASIL: UMA REVISÃO INTEGRATIVA

Wagner Couto Assis
Adriano Santos Sousa Oliveira
Danilo Lyrio de Oliveira
Ismar Eduardo Martins Filho
Alba Benemerita Alves Vilela

DOI 10.22533/at.ed.38419160112

CAPÍTULO 13 111

CARACTERIZAÇÃO DE PACIENTES COM ÚLCERA DE PÉ DIABÉTICO ATENDIDOS EM HOSPITAIS DA REDE PÚBLICA DE SÃO LUÍS MARANHÃO

Kezia Cristina Batista dos Santos
Tamires Barradas Cavalcante
Patrícia Amorim Danda
Gabriela Sellen Campos Ribeiro
Adrielly Haiany Coimbra Feitosa

DOI 10.22533/at.ed.38419160113

CAPÍTULO 14 123

APLICAÇÃO DE RTOS NA CRIAÇÃO DE DISPOSITIVO ELETROMÉDICO PARA AVALIAÇÃO DO BLOQUEIO NEUROMUSCULAR INTRAOPERATÓRIO

Matheus Leitzke Pinto
Gustavo Ott
Mauricio Campelo Tavares

DOI 10.22533/at.ed.38419160114

CAPÍTULO 15 138

ATUAÇÃO DO SETOR DE ENGENHARIA CLÍNICA: UM ESTUDO DE CASO NO HOSPITAL UNIVERSITÁRIO ONOFRE LOPES

Camila Beatriz Souza de Medeiros
Taline dos Santos Nóbrega
Beatriz Stransky

DOI 10.22533/at.ed.38419160115

CAPÍTULO 16 147

AUTOMAÇÃO DE BAIXO CUSTO PARA UMA CADEIRA DE RODAS

Samuel Roberto Marcondes
Aline Camile Stelf

DOI 10.22533/at.ed.38419160116

CAPÍTULO 17 154

CLASSIFICAÇÃO DE EEG COM REDES NEURAIS ARTIFICIAIS UTILIZANDO ALGORITMOS DE TREINAMENTO DO TIPO *EXTREME LEARNING MACHINE E BACK-PROPAGATION*

Tatiana Saldanha Tavares
Francisco Assis de Oliveira Nascimento
Cristiano Jacques Miosso

DOI 10.22533/at.ed.38419160117

CAPÍTULO 18	163
DESENVOLVIMENTO DE UM SISTEMA WEB PARA GESTÃO DE EQUIPAMENTOS MÉDICO-HOSPITALARES	
Antonio Domingues Neto José Felício da Silva	
DOI 10.22533/at.ed.38419160118	
CAPÍTULO 19	172
DETECÇÃO DE ACIDENTE VASCULAR CEREBRAL ISQUÊMICO AGUDO/SUBAGUDO BASEADA NA POSIÇÃO VENTRICULAR	
Cecília Burle de Aguiar Walisson da Silva Soares Severino Aires Araújo Neto Carlos Danilo Miranda Regis	
DOI 10.22533/at.ed.38419160119	
CAPÍTULO 20	185
DETECÇÃO DE MELANOMA UTILIZANDO DESCRITORES DE HARALICK	
Marília Gabriela Alves Rodrigues Santos Marina de Oliveira Alencar Walisson da Silva Soares Cecília Burle Aguiar Carlos Danilo Miranda Regis	
DOI 10.22533/at.ed.38419160120	
CAPÍTULO 21	194
HUMAN KNEE SIMULATION USING MULTILAYER PERCEPTRON ARTIFICIAL NEURAL NETWORK	
Ithallo Junior Alves Guimarães Roberto Aguiar Lima Vera Regina Fernandes da Silva Marães Lourdes Mattos Brasil	
DOI 10.22533/at.ed.38419160121	
CAPÍTULO 22	201
INFLUÊNCIA DO FILTRO DE <i>WIENER</i> NO REALCE DE CONTRASTE DE IMAGENS MAMOGRÁFICAS USANDO FUNÇÃO SIGMOID	
Michele Fúlvia Angelo Thalita Villaron Lima Talita Conte Granado Ana Claudia Patrocínio	
DOI 10.22533/at.ed.38419160122	
CAPÍTULO 23	212
MODELAGEM E IMPLEMENTAÇÃO DE BANCO DE DADOS PARA O GERENCIAMENTO DE PROPOSTAS EM INOVAÇÃO TECNOLÓGICA EM SAÚDE	
Lígia Reis Nóbrega Adriano de Oliveira Andrade Selma Terezinha Milagre	
DOI 10.22533/at.ed.38419160123	

CAPÍTULO 24 219

DETECÇÃO DE RESPOSTAS AUDITIVAS EM REGIME PERMANENTE USANDO COERÊNCIA MÚLTIPLA: OBTENÇÃO DE CONJUNTO ÓTIMO DE ELETRODOS PARA APLICAÇÃO ONLINE

Felipe Antunes
Glaucia de Moraes Silva
Brenda Ferreira da Silva Eloi
Leonardo Bonato Felix

DOI 10.22533/at.ed.38419160124

CAPÍTULO 25 227

PRÓTESE DE MEMBRO INFERIOR EM FIBRA DE CARBONO PARA USO COTIDIANO E LEVES EXERCÍCIOS

César Nunes Giracca
Tiago Moreno Volkmer

DOI 10.22533/at.ed.38419160125

CAPÍTULO 26 238

RECONSTRUÇÃO DE IMAGEM DE TOMOGRAFIA COMPUTADORIZADA POR FEIXE DE PRÓTONS, UTILIZANDO A TRANSFORMADA INVERSA DE RADON, BASEADA EM IMAGENS GERADAS POR SIMULAÇÃO COMPUTACIONAL

Fabrcio Loreni da Silva Cerutti
Gabriela Hoff
Marcelo Victor Wüst Zibetti
Hugo Reuters Schelin
Valeriy Viktorovich Denyak
Sergei Anatolyevich Paschuk
Ivan Evseev
Leonardo Zanin
Ediney Milhoretto

DOI 10.22533/at.ed.38419160126

CAPÍTULO 27 246

REVITALIZAÇÃO DE PROCESSADORAS AUTOMÁTICAS KODAK M35 X-OMAT PROX PROCESSOR

Fabrcio Loreni da Silva Cerutti
Jesiel Ricardo dos Reis
Oseas Santos Junior
Juliana do Carmo Badelli
Andressa Caron Brey
Jorge Luis Correia da Silva
Marcelo Zibetti

DOI 10.22533/at.ed.38419160127

CAPÍTULO 28 253

SIMULADOR MATERNO FETAL

Rodrigo Lopes Rezer
Marcelo Antunes Marciano
Anderson Alves dos Santos

DOI 10.22533/at.ed.38419160128

CAPÍTULO 29 262

UTILIZAÇÃO DE FERRAMENTAS COMPUTACIONAIS (CAE) NA OTIMIZAÇÃO DE PRÓTESES DE MÃO.

Francisco Gilfran Alves Milfont

Luiz Arturo Gómez Malagón

DOI 10.22533/at.ed.38419160129

SOBRE A ORGANIZADORA..... 271

DETERMINAÇÃO DOS PARÂMETROS IDEAIS DE CULTIVO DE *STREPTOMYCES PARVULUS* UFPEDA 3408 PARA PRODUÇÃO DA ENZIMA L-ASPARAGINASE

Glêzia Renata da Silva Lacerda

- Universidade Federal de Pernambuco,
Departamento de Antibióticos, Avenida Prof. Artur de Sá, s/n, Cidade Universitária, CEP 50670-901, Recife-PE, Brasil.

-Faculdade UNINASSAU, unidade Caruaru. BR 104, KM 68, n 1215 -Agamenon Magalhães, Caruaru - PE, 55000-000

Isllan D'Eric Gonçalves da Silva

- Universidade Federal de Pernambuco,
Departamento de Antibióticos, Avenida Prof. Artur de Sá, s/n, Cidade Universitária, CEP 50670-901, Recife-PE, Brasil.

Luiz Eduardo Felix de Albuquerque

- Universidade Federal de Pernambuco,
Departamento de Antibióticos, Avenida Prof. Artur de Sá, s/n, Cidade Universitária, CEP 50670-901, Recife-PE, Brasil.

Wanda Juliana Lopes e Silva

- Universidade Federal de Pernambuco,
Departamento de Antibióticos, Avenida Prof. Artur de Sá, s/n, Cidade Universitária, CEP 50670-901, Recife-PE, Brasil.

Suellen Emilliany Feitosa Machado

- Universidade Federal de Pernambuco,
Departamento de Antibióticos, Avenida Prof. Artur de Sá, s/n, Cidade Universitária, CEP 50670-901, Recife-PE, Brasil.
-Centro Universitário Maurício de Nassau, Graças, Recife – PE.

Silene Carneiro do Nascimento

- Universidade Federal de Pernambuco,
Departamento de Antibióticos, Avenida Prof. Artur

de Sá, s/n, Cidade Universitária, CEP 50670-901, Recife-PE, Brasil.

Gláucia Manoella de Souza Lima

- Universidade Federal de Pernambuco,
Departamento de Antibióticos, Avenida Prof. Artur de Sá, s/n, Cidade Universitária, CEP 50670-901, Recife-PE, Brasil.

RESUMO: L- asparaginase é uma enzima usada no tratamento da leucemia linfoblástica aguda. Ela é capaz de hidrolisar a L- asparagina em ácido aspártico e amônia. Alguns microrganismos são capazes de sintetizar essa substância, dentre eles, as actinobactérias. Este estudo avaliou as condições ideais para a produção de L- asparaginase a partir do microrganismo *Streptomyces parvulus* UFPEDA 3408, pertencente à Coleção de Cultura de Microrganismos da Universidade Federal de Pernambuco. Foi realizado um ensaio qualitativo pela adição do inóculo padronizado em meio ágar M9 e CZ adicionando vermelho de fenol e L-asparagina. As condições ideais de crescimento foram avaliadas pela produção da enzima em diferentes fontes de carbono (caldo M9 e TGY), tempo de fermentação (24 a 120 horas), o pH (5-9) e temperatura (25 °C a 50 °C). A determinação foi feita pela quantidade de amônia formada pela nesslerização. A análise qualitativa mostrou a produção da enzima por

meio de um halo cor de rosa em torno das colônias. O ensaio quantitativo evidenciou que o meio M9 foi o mais adequado para a produção da L-asparaginase, em um período de 96 horas, na temperatura de 35 °C e no pH 6. A definição das condições ideais de produção da enzima são fatores de grande importância para a produção de L-asparaginase. As actinobactérias isoladas de solo e a raízes das plantas da Caatinga, tem demonstrado uma grande capacidade de produzir diversas enzimas. O estudo destes micro-organismos oriundos do bioma Caatinga é importante devido ao seu alto potencial biotecnológico e possível aplicação dos seus compostos na indústria farmacêutica.

PALAVRAS- CHAVE: Actinobacteria; L-asparaginase; Produção.

ABSTRACT: L-asparaginase is an enzyme used in the treatment of Acute Lymphoblastic Leukemia. It is capable of hydrolyzing L-asparagine into aspartic acid and ammonia. Some microorganisms are able to synthesize this substance, among them the actinobacteria. This study evaluated the ideal conditions for the production of L-asparaginase from the microorganism *Streptomyces parvulus* UFPEDA 3408, belonging to the Collection of Culture of Microorganisms of the Federal University of Pernambuco. A qualitative assay was performed by addition of the standardized inoculum in M9 and CZ agar medium adding phenol red and L-asparagine. The ideal growth conditions were evaluated by the production of the enzyme in different carbon sources (M9 and TGY broth), fermentation time (24 to 120 hours), pH (5-9) and temperature (25 °C to 50 °C). The determination was made by the amount of ammonia formed by nesslerization. The qualitative analysis showed the production of the enzyme by means of a pink halo around the colonies. The quantitative assay showed that the M9 medium was the most suitable for the production of L-asparaginase over a period of 96 hours at a temperature of 35 °C and pH 6. The definition of the optimal conditions of enzyme production are factors of importance for the production of L-asparaginase. Actinobacteria isolated from soil and roots of Caatinga plants have demonstrated a great capacity to produce several enzymes. The study of these microorganisms from the Caatinga biome is important due to its high biotechnological potential and possible application of its compounds in the pharmaceutical industry.

KEYWORDS: Actinobacteria; L-asparaginase; Production.

INTRODUÇÃO

A L-asparaginase (E.C.3.5.1.1) é uma enzima responsável pela catálise da reação de hidrólise do aminoácido L-asparagina resultando em ácido aspártico e amônia, bastante utilizada no tratamento de Leucemia Linfoblástica Aguda (LLA) (NARTA et al, 2007). *Escherichia coli* e *Erwinia* (*E. chrysanthemi* e *E. carotovora*) são considerados os principais produtores de L-asparaginase disponível comercialmente, porém outras asparaginases bacterianas do gênero *Erwinia* já foram caracterizadas pela expressão heteróloga da enzima em células de *E. coli*. Os mecanismos de ação e toxicidade são

idênticos nas duas drogas, no entanto, as propriedades farmacocinéticas diferem uma da outra (KRASOTKINA et al, 2004; KOTZIA e LABROU, 2005).

Além das bactérias, a L-asparaginase pode ser isolada de outras diversas fontes como fungos filamentosos e leveduriformes, actinobactérias, vegetais, entre outros. Diversas pesquisas citam que alguns gêneros de fungos como *Aspergillus*, *Fusarium* e *Penicillium*, podem ser excelentes produtores de L-asparaginase (DUTTA et al, 2015; TIPPANI e SIVADEVUNI, 2012; SHAFEI et al, 2015). Durante os últimos anos, o estudo de actinobactérias produtoras de L-asparaginase aumentou bastante, principalmente devido a grande busca de micro-organismos que produzam uma enzima com menos efeitos adversos. As actinobactérias representam uma potencial fonte para a produção de L-asparaginase. A produção desta enzima tem sido relatada em *Streptomyces acrimycini*, *Streptomyces ginsengisoli*, *S. olivaceus*, *S. griseus* (SELVAM e VISHNUPRIYA, 2013; DESHPANDE et al, 2014; EL-NAGGAR et al, 2015; MEENA et a 2015a), e *Nocardioopsis alba* (MEENA et al., 2015b).

As actinobactérias pertencem a um grupo de bactérias Gram-positivas que está amplamente distribuído na natureza e representam um elemento de grande importância para a população de micro-organismos do solo, pois produzem metabólitos secundários de forte interesse para a biotecnologia (SILVA-LACERDA et al., 2016).

Estudos afirmam que as actinobactérias também são responsáveis pela produção de várias enzimas extracelulares tais como: celulasas, quitinases, proteases e amilases. Estes micro-organismos apresentam saída atraente, podendo ser cultivados em grandes quantidades e em um período de tempo relativamente curto (SILVA et al., 2012). As enzimas são proteínas biocatalisadoras de um enorme repertório de reações químicas, que são essenciais para a quebra de moléculas relacionadas com o crescimento e, conseqüentemente, com a vida de todos os organismos (HOLLIDAY; MITCHELL; THORNTON, 2009)

A LLA é uma neoplasia maligna de linfócitos, caracterizada pelo acúmulo de células imaturas na medula óssea, sangue periférico e órgãos linfóides (NEHMY et al., 2011). A Leucemia Linfoblástica Aguda é o tipo mais comum de leucemia encontrada na fase infantil, apresentando um pico de incidência entre o segundo e o quinto anos de vida, regredindo nas faixas etárias maiores (PUI, C. H.; RELLING; DOWNING, 2004).

Assim que a enzima L-Asparaginase é injetada na corrente sanguínea do indivíduo que apresenta a doença, as reservas de L-Asparagina, fonte de energia das células cancerosas, são totalmente convertidas em ácido aspártico e amônia. Sem o aminoácido para metabolizar, ocorre a lise das células tumorais, pois devido à um silenciamento gênico estas células não são capazes de sintetizar o aminoácido por si mesmas. Por outro lado, células normais não são afetadas pela ação da enzima, pois, ao contrário das células cancerosas, são capazes de sintetizar o aminoácido para seu desenvolvimento e sobrevivência (NARTA; KANWAR; AZMI, 2007).

Existem diversos micro-organismos produtores de L-Asparaginase e isso gera

uma grande vantagem para a aquisição de enzimas que possam ser de utilidade clínica. Porém, nem todas as L-asparaginases podem ser utilizadas no tratamento da LLA devido à sua elevada citotoxicidade. A padronização das condições de cultivo e produção desta enzima por *S. parvulus* UFPEDA 3408, representa o primeiro passo para um estudo mais aprofundado sobre aplicação deste composto na medicina. Este micro-organismo já tem sido relatado como potencial produtor de compostos antimicrobianos (SILVA-LACERDA et al, 2016). O grande potencial biotecnológico do gênero *Streptomyces*, a importante aplicabilidade dos compostos por ele produzidos, o pouco conhecimento sobre a bioprospecção dos micro-organismos do bioma Caatinga, são fatores que motivaram este estudo. Além disso, é de extrema importância considerar que as condições ambientais extremas desta região representam um ambiente favorável à produção de novas moléculas bioativas, como a enzima L-asparaginase.

OBJETIVOS

Este trabalho teve como objetivo determinar os principais parâmetros de produção da enzima L-asparaginase produzido pelo microrganismo *Streptomyces parvulus* UFPEDA 3408, visando a grande importância biotecnológica e econômica da enzima que possui um amplo uso clínico.

MATERIAIS E MÉTODOS

Linhagem *Streptomyces* e condições de cultivo

Streptomyces parvulus UFPEDA 3408 pertence à Coleção de Cultura de Microrganismos do Departamento de Antibióticos da Universidade Federal de Pernambuco (UFPEDA - 3408). A linhagem se encontrava preservada em óleo mineral e foi reativada em caldo ISP-2 (International *Streptomyces* Project) (SHIRLING E GOTTLIEB 1966) a 37°C durante 48 horas. Em seguida, a cultura de *Streptomyces* foi transferida para placas com meio ISP-4 ágar e incubadas a 37 °C por 48 a 120 h, para obtenção de culturas frescas para realização dos experimentos.

Ensaio Qualitativo da L-asparaginase

S. parvulus UFPEDA 3408 foi inoculado em placas de Petri contendo 20 mL dos meios de cultura M9 e TGY (GULATI et al., 1997) e, em seguida, foi incubado por 120 horas. Após o período de cultivo foi observada a presença de uma zona rosa ao redor da colônia, que implica na presença da produção da L-asparaginase, configurando dessa forma o ensaio qualitativo.

Produção da L-asparaginase

S. parvulus UFPEDA 3408 foi cultivado em meio M9 líquido [Na₂HPO₄.2H₂O, 6 g/L;

KH_2PO_4 , 3 g/L; NaCl, 0,5 g/L; L-asparagina, 5 g/L; $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 0,5 g/L; $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, 0,014 g/L; Glicose, 2 g/L; H_2O Destilada, 1 L] e no meio TGY [Glicose, 100 g/L; Tiptona, 5 g/L; Extrato de Levedura, 5 g/L; L-asparagina, 4 g/L; H_2O Destilada, 1 L] e a atividade enzimática foi medida após 120 horas de fermentação. Após a determinação do meio de cultivo que permitiu melhor produção da L-asparaginase, iniciou-se os estudos da influência do tempo (24 a 120 horas), temperatura (25 °C a 50 °C) e pH (5 a 9) (figura 1, a). Todos os experimentos foram realizados em triplicata e os valores médios com desvio padrão (SD) foram calculados.

Quantificação da L-asparaginase

Durante cada etapa de fermentação, alíquotas do fermentado foram retiradas e centrifugadas por 20 minutos a 6.160 g, para separação da biomassa do sobrenadante. Em seguida, a atividade da L-asparaginase foi determinada pela quantidade de amônia formada por Nesslerização (IMADA et al, 1973). Uma mistura de 0,5 mL de extrato de enzima (sobrenadante livre de célula), 0,5 mL de Tampão Tris-HCl 0,05 M (pH 8,0) contendo L-asparagina a 16 mM foi incubada por 30 min a 37 °C. A reação foi paralisada pela adição de 0,5 mL de ácido tricloroacético 1,5 M, centrifugada a 6.160 g por 3 min e 0,5 mL do sobrenadante foi diluído em 2,25 mL de água destilada e adicionado 0,25 mL do Reagente de Nessler. A leitura foi realizada em espectrofotômetro no comprimento de onda de 450 nm. Uma solução de sulfato de amônio foi utilizada para a preparação da reta padrão. Uma unidade internacional (UI) de L-asparaginase foi definida como a quantidade de enzima requerida para liberar 1 μM de amônia por minuto a 37 °C (figura 1, b).

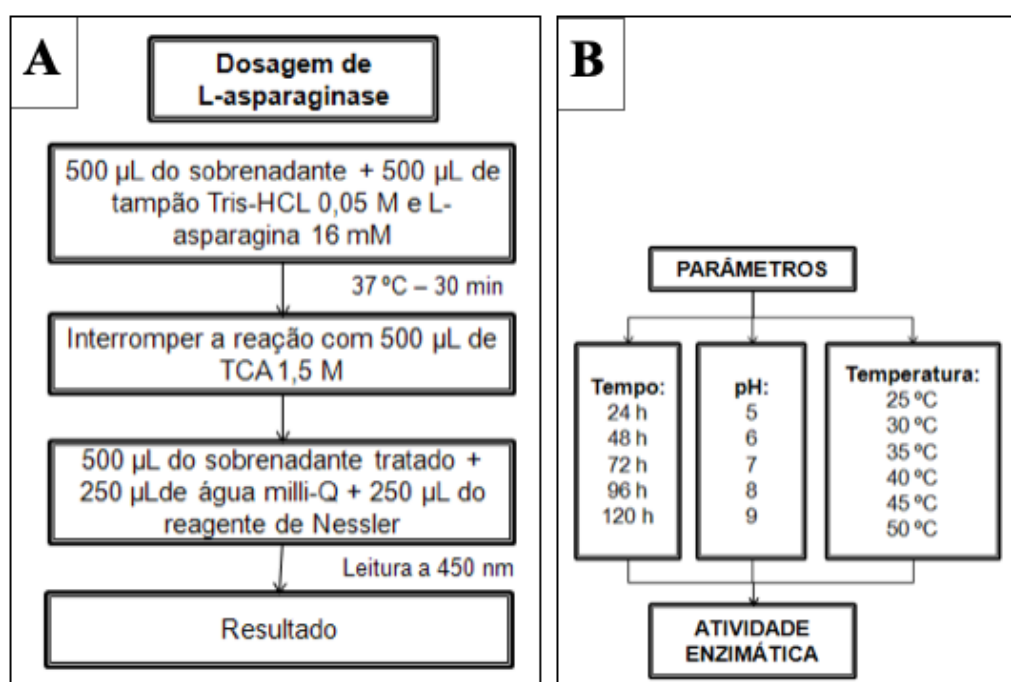


Figura 1: a) Determinação da atividade da L-asparaginase por Nesslerização (Imada et al, 1973) e b) Determinação dos parâmetros de otimização da produção de L-asparaginase por *Streptomyces parvulus* UFPEDA 3408

Análises Estatísticas

As análises estatísticas do experimento foram realizadas utilizando o programa Excel®2010 (Microsoft®).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Determinação das condições ideais para produção da enzima

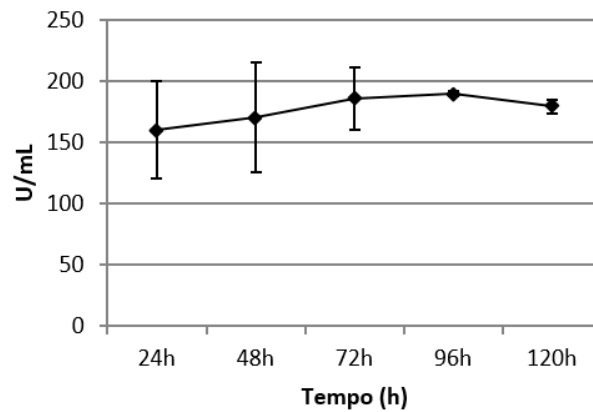
No ensaio qualitativo foi possível observar que *Streptomyces parvulus* UFPEDA 3408 é produtor da enzima L-asparaginase, devido à presença de uma zona rosa ao redor da colônia. De acordo com Gulati et al. (1997), a produção de L asparaginase é seguida de um aumento no pH das culturas evidenciando mudança de coloração confirmando positividade para produção desta enzima através da degradação da L-asparagina e liberação de amônia. Por esse motivo, o Vermelho de Fenol presente no meio de cultura é utilizado como indicador de pH, e permite uma melhor visualização da produção da enzima L-asparaginase em meios suplementado com L-asparagina. Esse indicador em meio ácido apresenta uma coloração amarelada, já em meio alcalino apresenta uma coloração rosa, justificando a mudança da coloração do meio de cultura a partir do cultivo de linhagens que apresentem a produção desta enzima.

Estudos realizados por Narayana et al (2008), constataram que inúmeras linhagens de *Streptomyces* spp. são bons produtores de L-asparaginase com obtenção de uma produção significativa desta enzima. Após a realização deste ensaio, foram feitos os testes para definir as melhores condições de produção da enzima.

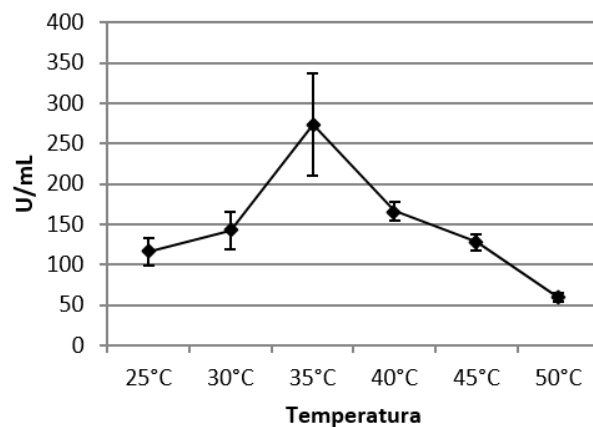
Com a finalidade de determinar as melhores condições para produção da enzima L-asparaginase, alguns parâmetros como meio de cultura, tempo, temperatura e pH foram testados. Foi possível determinar que *S. parvulus* UFPEDA 3408 apresentou melhor atividade enzimática de 101,90 U/mL quando cultivado no meio M-9 e comparado com a atividade enzimática da L-asparaginase no meio TGY (27,11 U/mL). O meio M9 apresentou melhor atividade, provavelmente porque ele possui fontes de carbono em número reduzido, dessa forma confere produção do metabólito bioativo. É comprovado que a pouca disponibilidade de nutrientes em um meio favorece uma maior produção de metabólitos secundários, entretanto causa uma condição de estresse para o micro-organismo. O meio TGY disponibiliza o dobro da concentração de glicose, propiciando apenas o crescimento do micro-organismo, em contrapartida, exibe uma menor produção do metabólito. (SILVA-LACERDA et al., 2016).

O tempo ideal foi de 96 h de fermentação, apresentando um pico de 189,91 U/mL. Dentre as temperaturas que foram testadas (25 °C a 50°C), a temperatura de 35°C apresentou melhor atividade com resultados que chegaram a 273,82 U/mL. O último parâmetro a ser testado foi o pH que variou entre 5 e 9, sendo o pH 6 o que

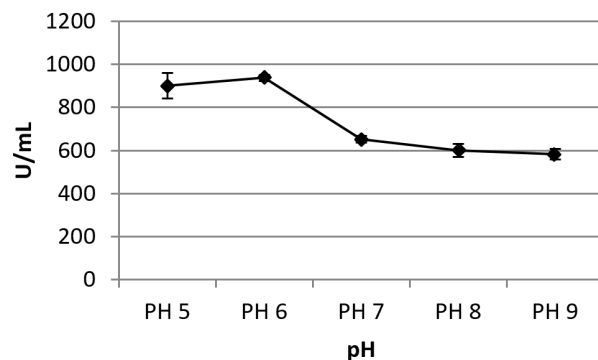
mais se destacou como a melhor condição para a produção da enzima, com atividade enzimática de 937,18 U/mL.



(a)



(b)



(c)

Figura 2: Parâmetros avaliados para determinação das melhores condições de produção da enzima L-asparaginase por *Streptomyces parvulus* UFPEDA 3408. (a) tempo de fermentação, (b) temperatura de incubação e (c) pH.

De acordo com os resultados demonstrados no gráfico em relação às temperaturas testadas (25 °C a 50 °C), é possível observar uma melhor atividade na temperatura de 35 °C mostrando um pico de atividade que chegou a 273,82 U/mL (figura 2, b). A enzima se mostrou efetiva nesta temperatura (35 °C), pois se aproximou da temperatura corporal. Foi observado que com o aumento da temperatura a produção enzimática decaiu, entretanto, ainda sim foi possível perceber produção enzimática. Narayana

et al. (2008) e Meena et al. (2015) apresentaram resultados semelhantes utilizando linhagens de *Streptomyces* evidenciando produção máxima de asparaginase entre 30-35 °C.

No presente estudo foi também verificado que a atividade máxima da L-asparaginase produzida pelo *S. parvulus* UFPEDA 3408 foi de 937,18 U/mL nas condições ideais ajustadas (figura 2, c). Este valor foi consideravelmente superior do que o relatado por Dias et al. (2016) no estudo usando *A. oryzae* como produtor da enzima, onde foi obtido um valor de 67.49 U/mL. Em comparação, a actinobactéria *S. parvulus* se sobressaiu para produção da enzima quanto ao fungo. A condições ideais de produção da enzima pelo *A. oryzae* foi melhor com 72h de fermentação e pH (8,0). No entanto, neste mesmo tempo de fermentação, *S. parvulus* já apresentava-se capaz de produzir 186,05 U/mL de L-asparaginase.

O microrganismo *S. parvulus* também apresentou destaque na produção de L-asparaginase quando comparada com bactérias produtoras, como a *Pseudomonas aeruginosa* relatada por Badoei-Dalfard (2015), que também obteve ótimos resultados, chegando a um pico de 785 U/ml. É importante ressaltar que ambos os estudos foram realizados utilizando condições semelhantes, inclusive o mesmo meio de cultura. Estudos realizados por Narayana et al (2008), constataram que inúmeras linhagens de *Streptomyces* spp. são bons produtores de L-asparaginase com obtenção de uma produção significativa desta enzima.

A otimização dos parâmetros nutricionais e metabólicos para cultivo de micro-organismos é uma importante estratégia para a produção não apenas de enzimas, mas de uma gama de metabólitos secundários (KHALILZADEH et al, 2004). Os fatores ambientais, tais como o pH, e fontes de carbono e de hidrogênio, tempo e temperatura, podem ter efeitos profundos sobre o início de desenvolvimento dos micro-organismos, e assim, a composição do meio deve ser considerada com muito cuidado no que diz respeito à produção de metabólitos (BARKA et al., 2016).

CONCLUSÃO

No presente estudo, o micro-organismo foi avaliado em condições diferentes onde foi possível determinar os principais parâmetros da produção da enzima L-asparaginase. Após ser cultivado em diferentes meios de cultura, temperatura, pH e tempo, foi visto que o micro-organismo apresenta um grande potencial biotecnológico, pois apresenta uma eleva da produção da enzima. A adequação dos parâmetros de produção da enzima representa um processo viável e de grande importância para obtenção de compostos altamente bioativos e com aplicabilidade clínica. Para que esta aplicabilidade seja possível, estudos complementares com L-asparaginase produzida por *S. parvulus* UFPEDA 3408 serão iniciados após a purificação da enzima.

REFERÊNCIAS

- ANZAI, K.; NAKASHIMA, T.; KUWAHARA, N.; SUZUKI, R., OHFUKU, Y., TAKESHITA, S., ANDO, K. Actinomycete bacteria isolated from the sediments at coastal and offshore area of Nagasaki prefecture, Japan: diversity and biological activity. **Journal of Bioscience and Bioengineering**, v. 106, p. 215-217, 2008.
- BADOEI-DALFARD, A. Purification and characterization of L-asparaginase from *Pseudomonas aeruginosa* strain SN004: Production optimization by statistical methods. **Biocatalysis and Agricultural Biotechnology**. v. 4(3), p 388–397, 2015.
- BARKA, E.A.; VATSA, P.; SANCHEZ, L.; GAVEAU-VAILLANT, A.N.; JACQUARD, C.; KLENK, H.P.; CLÉMENT, C.; OUHDOUCH, Y.; WEZEL, G.P.V. Taxonomy, Physiology, and Natural Products of Actinobacteria. **Microbiology and Molecular Biology Reviews**. V. 80 (1), p. 1-43, 2016.
- DESHPANDE, N.; CHOUBEY, P.; AGASHE, M. Studies on Optimization of Growth Parameters for L-Asparaginase Production by *Streptomyces ginsengisoli*. **ScientificWorldJournal**. 895167, 2014;
- DIAS, F.F.G.; SATO, H.H. Sequential optimization strategy for maximum L-asparaginase production from *Aspergillus oryzae* CCT 3940 **Biocatalysis and Agricultural Biotechnology**. v.6, p. 33–39, 2016.
- DUTTA, S.; GHOSH, S.; PRAMANIK, S. L-Asparaginase and L-glutaminase from *Aspergillus fumigatus* WL002: Production and Some Physicochemical Properties. **Appl Biochem Micro+**. 51(4): 425–431, 2015.
- EL-NAGGAR, N.E.; MOAWAD, H.; EL-SHWEIHY, N.M.; EL-EWASY, S.M. Optimization of Culture Conditions for Production of the Anti-Leukemic Glutaminase Free L-Asparaginase by Newly Isolated *Streptomyces olivaceus* NEAE-119 Using Response Surface Methodology. **Biomed Res Int**. 627031, 2015.
- GULATI, R.; SAXENA, R.K.; GUPTA, R. A rapid plate assay for screening L-asparaginase producing micro-organisms. **Lett. Appl. Microbiol.**, v. 24, p. 23-26, 1997.
- HOLLIDAY, G. L.; MITCHELL, J. B. O.; THORNTON, J. M. Understanding the functional roles of amino acid residues in enzyme catalysis. **Journal of Molecular Biology**, v. 390, p. 560-577, 2009.
- IMADA, A.; IGARASI, S.; NAKAHAMA, K.; ISONO, M. Asparaginase and Glutaminase Activities of Micro-organisms. **Journal of general microbiology**. 1973; 76:85-99.
- KHALILZADEH, R.; SHOJAOSADATI, S.A.; MAGHSOUDI, N.; MOHAMMADIAN-MOSAABADI, J.; MOHAMMADI, M.R.; BAHRAMI, A.; MALEKSABET, N.; NASSIRI-KHALILLI, M.A.; EBRAHIMI, M.; NADERIMANESH, H. Process development for production of recombinant human interferon-gamma expressed in *Escherichia coli*. **Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology**. v.31(2), p. 63-69, 2004.
- KOTZIA, G.A.; LABROU, N.E. Cloning, expression and characterisation of *Erwinia carotovora* L-asparaginase. **J Biotechnol**. 119(4): 309-323, 2005.
- KRASOTKINA, J.; BORISOVA, A.A.; GERVAZIEV, Y.V.; SOKOLOV, N.N. One-step purification and kinetic properties of the recombinant L-asparaginase from *Erwinia carotovora*. **Biotechnol. Appl. Biochem**. 39(2): 215-221, 2004.
- MEENA, B.; ANBURAJAN, L.; DHEENAN, P.S.; BEGUM, M.; VINITHKUMAR N.V.; DHARANI, G.; KIRUBAGARAN, R. Novel glutaminase free L-asparaginase from *Nocardopsis alba* NIOT-VKMA08: production, optimization, functional and molecular characterization. **Bioprocess Biosyst Eng**. 38:373–388, 2015b.

MEENA, B.; ANBURAJAN, L.; SATHISH, T.; RAGHAVAN, R.V.; DHARANI, G.; VINITHKUMAR, N. V.; KIRUBAGARAN, R. L-Asparaginase from *Streptomyces griseus* NIOT-VKMA29: optimization of process variables using factorial designs and molecular characterization of l-asparaginase gene. **Sci Rep.** 24(5): 12404, 2015a.

NARAYANA, K.J.P.; KUMAR, K.G.; VIJAYALAKSHMI, M.; L-asparaginase production by *Streptomyces albidoflavus*. **Indian. J. Microbiol.** v.48, p.331–336, 2008.

NARTA, K.; KANWAR, S. S.; AZMI, W. Pharmacological and clinical evaluation of l-asparaginase in the treatment of leukemia. **MeSH Critical Reviews in Oncology/Hematology.** v.61, p. 208–221, 2007.

NEHMY, R., et al. A perspectiva dos pais sobre a obtenção do diagnóstico de leucemia linfóide aguda em crianças e adolescentes: uma experiência no Brasil. **Revista Brasileira de Saúde Materna Infantil,** 11(3), p. 293-299, 2011.

PUI, C. H.; RELLING, M. V.; DOWNING, J. R. Acute Lymphoblastic Leukemia. **The new england journal of medicine,** v. 350 (15), p. 1535-1548, 2004.

SELVAM, K.; VISHNUPRIYA, B. Partial purification and cytotoxic activity of L-asparaginase from *Streptomyces acrimycini* NGP. **International Journal of Research in Pharmaceutical and Biomedical Sciences.** 4(3): 859-869, 2013.

SHAFEI, M.N.; EL-REFAI, H.A.; MOSTAFA, H.; EL-REFAI, A.H.; EL-BEIH, F.M.; EASA, S.M.; GOMAA, S.K. Purification, Characterization and Kinetic Properties of *Penicillium cyclopium* L-Asparaginase: Impact of L-asparaginase on Acrylamide Content in Potato Products and its Cytotoxic Activity. **Curr Trends Biotechnol Pharm.** 9(2): 132-140, 2015.

SHIRLING, E.B.; GOTTLIEB, D. Methods for characterization of *Streptomyces* species. **International journal of systematic bacteriology.** V. 16, p. 313-340, 1966.

SILVA, K., CASSETARI, A. S, LIMA, A. S, BRANDT, E., , PINNOCK, E., VANDAMMEC, P., MOREIRA, F. M. S. Diazotrophic Burkholderia species isolated from the Amazon region exhibit phenotypical, functional and genetic diversity. **Systematic and Applied Microbiology,** v.35, p.253-262, 2012.

SILVA-LACERDA, G.R. ; SANTANA, R.C.F. ; VICALVI-COSTA, M.C.V. ; SOLIDÔNIO, E.G.; SENA, K.X.F.R.; LIMA, G.M.S.; ARAÚJO, J.M. Antimicrobial potential of actinobacteria isolated from the rhizosphere of the Caatinga biome plant *Caesalpinia pyramidalis* Tul. **Genetics and Molecular Research.** v.15 (1), p 1-12, 2016.

TIPPANI, R.; SIVADEVUNI, G. Nutritional factors effecting the production of L-asparaginase by the *Fusarium* sp. **Afr J Biotechnol.** 11(15): 3692-3696 2012.

SOBRE A ORGANIZADORA

CHRISTIANE TREVISAN SLIVINSKI Possui Graduação em Licenciatura em Ciências Biológicas pela Universidade Estadual de Ponta Grossa (2000), Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos pela Universidade Estadual de Ponta Grossa (2007) e Doutorado em Ciências - Bioquímica pela Universidade Federal do Paraná (2012). Tem experiência na área de Bioquímica, com ênfase em Biotecnologia, atuando principalmente nos seguintes temas: inibição enzimática; fermentação em estado sólido; produção, caracterização bioquímica e purificação de proteínas (enzimas); e uso de resíduo agroindustrial para produção de biomoléculas (biossurfactantes). É professora na Universidade Estadual de Ponta Grossa nas disciplinas de Bioquímica e Química Geral desde 2006, lecionando para os cursos de Bacharelado e Licenciatura em Ciências Biológicas, Farmácia, Educação Física, Enfermagem, Odontologia, Química, Zootecnia, Agronomia, Engenharia de Alimentos. Também leciona no Centro de Ensino Superior dos Campos Gerais – CESCAGE desde 2012 para os cursos de Fisioterapia, Odontologia, Farmácia, Nutrição, Enfermagem e Agronomia, nas disciplinas de Bioquímica, Fisiologia, Biomorfologia, Genética, Metodologia Científica, Microbiologia de Alimentos, Nutrição Normal, Trabalho de Conclusão de Curso e Tecnologia de Produtos Agropecuários. Leciona nas Faculdades UNOPAR desde 2015 para o curso de Enfermagem nas disciplinas de Ciências Celulares e Moleculares, Microbiologia e Imunologia.

Agência Brasileira do ISBN

ISBN 978-85-7247-038-4



9 788572 470384