



RESOLUÇÃO ENZIMÁTICA DO BUTAN-2-OL POR LIPASES ENCONTRADAS NAS CASCAS DO ABACAXI (*ANANAS COMOSUS*)

Barros de Oliveira, André Luiz¹, Marques da Fonseca, Aluísio², Colares, Regilany Paulo³

Resumo: A biocatálise é um ramo da biotecnologia que visa a transformação química de um composto por uso de enzimas de especificidade conhecida. Através dos tempos, o homem vem desenvolvendo esses processos por meio da experimentação, sem se dar conta de sua origem e tem trazido bastantes benefícios à sociedade, como por exemplo, nos processos fermentativos na produção de alimentos ou bebidas. Já existem diversos trabalhos que utilizam compostos de origem orgânica e as enzimas como catalisadores. As fontes enzimáticas são diversas, podendo ser encontradas em microrganismos, animais, vegetais ou comerciais (enzimas isoladas). As enzimas encontradas nas cascas do abacaxi têm grande relevância na química orgânica e uma forte ligação com a sustentabilidade e a química verde, para a aplicação em novas tecnologias, contribuindo para o conhecimento em Biotecnologia. Neste contexto, o presente projeto tem por finalidade verificar a enantiosseletividade da enzima bromelina, encontradas nas cascas do abacaxi (lipase), bem como, a utilização na forma imobilizada a fim de realizar reações de hidrólise, uma ferramenta na resolução de álcoois secundários de natureza quiral, como é o caso do butan-2-ol.

Palavras-chave: Biocatálise. Biotransformações. Lipase. Hidrólise.

INTRODUÇÃO

Muitos pesquisadores nos últimos anos têm utilizado materiais vegetais como catalisadores naturais. Isso se deve ao fato de que esses biocatalisadores possuem amplo potencial biotecnológico, principalmente para aplicação no setor industrial, como agente de obtenção de drogas, cosméticos, fungicidas e possuem grande importância sintética para produção de intermediários chaves quirais de interesse farmacológico e agroquímico (CORDEL et al., 2007).

¹ Universidade da Integração Internacional da Lusofonia Afro-Brasileira, Instituto de Engenharia e Desenvolvimento Sustentável, e-mail: andrebarros@unilab.edu.br

² Universidade Federal do Ceará, Instituto de Ciências Exatas e da Natureza, e-mail: aluisiomf@ufc.br

³ Universidade Federal do Ceará, Instituto de Ciências Exatas e da Natureza, regilany@unilab.edu.br



Os termos biocatálise, de maneira geral, abrangem os processos em que um catalisador biológico é utilizado para a conversão de um substrato em um número limitado de etapas enzimáticas. As biotransformações utilizando enzimas vegetais ou microrganismos vêm sendo utilizadas pelo homem desde os primórdios na fabricação de pães, bebidas alcólicas e de derivados do leite em processos fermentativos (JONG et al., 1992). As reações biocatalíticas são usualmente seguras, podendo ocorrer em condições brandas de temperatura, pH próximo de neutro, minimizando assim problemas de isomerização, racemização e epimerização de centros estereogênicos, que são frequentes quando se usam catalisadores convencionais (FABER, 2004; SILVERMAN, 2002; ALMEIDA, 1995; BARALDI et al., 2004)..

As lipases podem ser de origem animal (pancreática, hepática e gástrica), microbiana (bactérias e fungos) e vegetal, com variação em suas propriedades catalíticas. Lipases de origem microbiana ainda são as mais utilizadas, no entanto, o estudo de fontes vegetais (caule, folha e látex) tem crescido nos últimos anos (RAMOS et al., 2011).

METODOLOGIA

Foi verificado o potencial biotecnológico das cascas do abacaxi (*Ananas comosus* L.) como fonte de hidrolase/lipase na resolução enzimática do butan-2-ol acetilado. O processo de determinação de proteína utilizado da “metodologia de Lowry”, modificada por Hartree (HARTREE, 1972) que foi de 2% de enzima detectada.

Selecionou-se o álcool butan-2-ol para uma acetilação via química e obtenção do racemato. Realizou-se as reações em meio aquoso das células íntegras das cascas do abacaxi com o butan-2-ol acetilado racêmico;

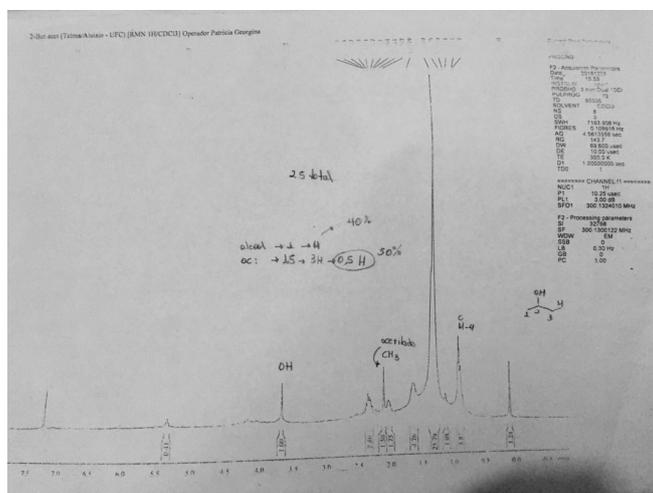
Para as leituras ópticas por polarímetro, verificou-se o ângulo da rotação do plano da luz polarizada. Os produtos que obtiverem centro estereogênico foram lidos por polarímetro e tiveram seus excessos enantioméricos calculados de acordo com metodologia da literatura (MACHADO et al., 2006). Calculou-se também a pureza óptica (excesso enantiomérico = e.e)..



RESULTADOS E DISCUSSÃO

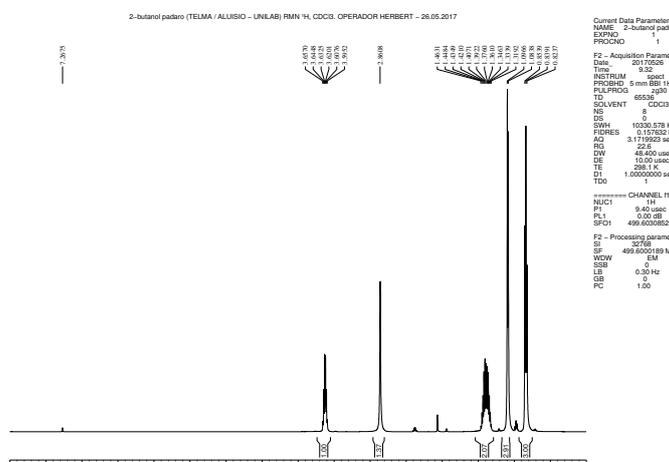
Análise da primeira amostra do experimento por acetilação realizada para verificar a eficácia do procedimento, a análise foi feita inicialmente pelo método de espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear de Hidrogênio no qual, por integração, foi obtido uma conversão de 40% de álcool e de 50% do acetilado.

FIGURA 1 - Análise de RMN ¹H da mistura.



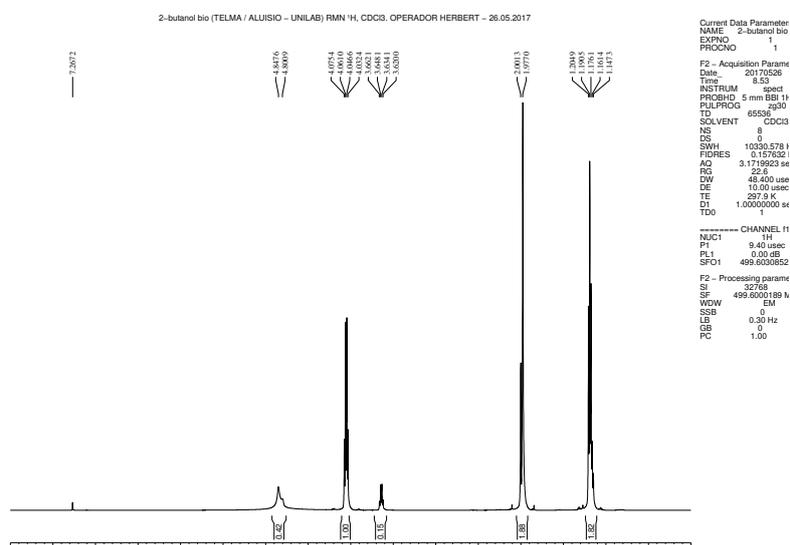
FONTE: Autores

FIGURA 2 - Análise RMN ¹H do 2-butanol padrão.



FONTE: Autores

FIGURA 5 - Análise de RMN ¹H do 2-butanol bio



FONTE: Autores

Além dos valores de RMN ¹H obtidos, foi realizado uma análise através do polarímetro, a mistura do composto acetilado com a enzima e o resultado está apresentado na tabela 1, onde foi possível verificar a rotação ótica do produto. Portanto, pode-se dizer que a enzima foi ativa pela enzima presente nas casca do abacaxi, com seletividade enantiomérica.

TABELA 1 - Dados polarímetro

Polarímetro						
Composto	Massa (g)	Conc. (g/mL)	Apha Observado	Atividade Optica	(+)	(-)
2-but acet (bio)	0,476	0,0476	0,032	0,672268908	1,344537815	-

FONTE: Autores

CONCLUSÕES

O rendimento da reação pelo método químico, utilizando anidrido acético e piridina com 2-butanol foi de 90%. Esse material apresentou-se na forma racêmica. Posteriormente, o mesmo passou por reação com as cascas do abacaxi (20g) em 140 mL



de água, onde se obteve uma conversão de 65% em massa. A enzima foi enantiosseletiva e realizou reação de hidrólise obtendo um e.e. de -98,6.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem a UNILAB pelo financiamento da bolsa de pesquisa.

REFERÊNCIAS

- ALMEIDA, T. L. de. **Redução de aldeídos monoterpênicos aromáticos utilizando *Saccharomyces cerevisiae* imobilizado em quitina**. 1995, Tese (Mestrado em Química Orgânica), Universidade Federal do Ceará;
- BARALDI, P. T.; CORRÊA, A. G., **Baker's Yeast, *Saccharomyces cerevisiae*, As a Tool for the Synthesis of Pheromones**, Química Nova, v. 27, 3, p. 421-431, 2004.
- CORDELL, G. A.; LEMOS, T. L. G.; MONTE, F. J. Q.; DE MATTOS, M. C. **Vegetables as Chemical Reagents**, Journal of Natural Products, v. 70, p. 478-492, 2007.
- FABER, K. **Biotransformations in Organic Chemistry**, Berlin/Heidelberg: Springer-Verlag. 5th. Ed., 2004
- MACHADO, L. L.; LEMOS, T. L. G. L.; DE MATTOS, M. C.; DE OLIVEIRA, M. C. F.; DE GONZALO, G.; GOTOR-FERNÁNDEZ, V.; GOTOR, V. **Immobilized *Manihot esculenta* preparation as a novel biocatalyst in the enantioselective acetylation of racemic alcohols**, Tetrahedron: Asymmetry, v. 19, 12, p. 1419-1424, 2008a.
- RAMOS L. P.; SILVA, F. R.; MANGRICH, A. S.; CORDEIRO C. S., **Tecnologias de Produção de Biodiesel**. Revista Virtual de Química, Curitiba, v. 3, n. 5, p. 385-405, 2011.
- SILVERMAN, R.B. **The Organic Chemistry of Enzyme-Catalyzed Reactions**. 2nd. Ed. London:Academic Press. 2002.