

Biotransformações usando enzimas imobilizadas de *Manihot esculenta*

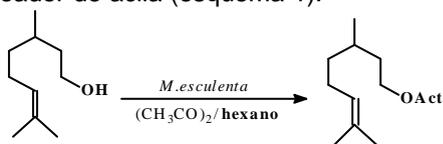
Luciana L. Machado¹ (PG), Marcos C. de Mattos¹ (PQ), Maria Conceição F. de Oliveira¹ (PQ), Francisco J. Q. Monte¹ (PQ), Geoffrey A. Cordell² (PQ) Telma L. G. Lemos*¹ (PQ), tlemos@dqoi.ufc.br

Departamento de Química Orgânica e Inorgânica- Laboratório de Biotransformação e Produtos Naturais, Universidade Federal do Ceará ¹. Department of Medicinal Chemistry and Pharmacognosy, College of Pharmacy, University of Illinois at Chicago²

Palavras Chave: enzima imobilizada, citrônolol, acetilação e *M. esculenta*.

Introdução

Em estudos anteriores reportamos a eficiência das enzimas presentes em espécies de *Manihot dulcis* (macaxeira) e da *Manihot esculenta* (mandioca), com células integras em reações de redução de cetonas e aldeídos e hidrólises de ésteres¹. Dando continuidade aos estudos decidimos explorar o potencial enzimático da “manipueira” refugio industrial obtido da *M. esculenta*. Investigou-se a potencialidade das enzimas como um possível substituto dos reagentes convencionais em reações orgânicas de redução e hidrólises, podendo assim minimizar gastos com vantagens sobre os reagentes comerciais utilizados. Na busca de ampliar os tipos de reações realizadas com esse complexo enzimático realizou-se a imobilização das enzimas presentes na manipueira. As técnicas de imobilização têm se tornado importante por proporcionar a reutilização das enzimas e promover o aumento da estabilidade, reduzir custos e aumentar, em alguns casos a atividade enzimática. Esse trabalho tem como objetivo avaliar a ação das enzimas imobilizadas da *M. esculenta* como catalisador em reação de esterificação do citrônolol e anidrido acético como grupo doador de acila (esquema 1).



Resultados e Discussão

Determinou-se inicialmente o teor das proteínas presentes na manipueira, usando metodologia da literatura², detectando 25337,6µg/mL de proteínas (enzimas) correspondendo a 1.75% em 2 mL de solução da manipueira. O processo de imobilização das enzimas presente na *M. esculenta* foi desenvolvido usando metodologia adaptada da literatura³, utilizando o alginato e CaCl₂, como agente aglutinante. As esferas obtidas foram secas e armazenadas a temperatura ambiente. Selecionou-se o monoterpene citrônolol como substrato para reação de acetilação e o anidrido acético como grupo doador de acila. As reações foram monitoradas por CCD observando a formação do produto acetilado.

28ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química

Passamos então a determinar os parâmetros ideais para esta reação. Determinada a concentração ideal substrato/ complexo enzimático como sendo 200 mg enzima / 200 mg substrato. Os resultados deste experimento são apresentados no gráfico 1. Além deste parâmetro determinou-se o tempo ideal da reação que foi de 60 horas com uma conversão de 81,8% e cujos resultados são mostrados no gráfico 2. Após otimizar a quantidade de enzima e tempo, decidiu-se verificar a eficiência do complexo enzimático em reutilização das esferas. Realizou-se o experimento nas condições detectadas e a reação foi repetida com as mesmas enzimas por seis vezes, mantendo a atividade catalítica conforme mostrado no gráfico 3. Estes resultados mostram que o complexo enzimático de *M. esculenta* é estável e pode ser reutilizado por várias vezes.

Todos compostos das reações foram identificados e quantificados por técnicas espectroscópicas: CG-MS e RMN ¹H.

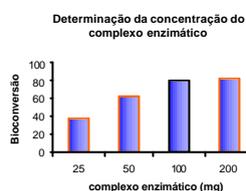


Gráfico 1

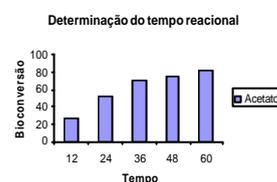


Gráfico 2



Gráfico 3

Conclusões

Os resultados apresentados até o momento em reações usando as enzimas imobilizadas de *M. esculenta* são bastante promissores em reação de acetilação com álcool primário.

Agradecimentos

Ao CNPq, CAPES

- ¹ . Machado, L. L.; Souza, J.S N.; Mattos, M. C.; Sakata, S. K.; Cordell, G. A; Lemos, T.L.G. Bioreduction of aldehydes and ketones using Manihot species, *Phytochemistry*, **2006**, 67, 1637.
- ². Hartree, E. F. Determination of protein: A Modification of the lowry Method that Gives a Linear Photometric Response. *Analytical Biochemistry*, **1972**, 48, 422
- ³ Kalogeris. E., Sanakis Y., Mamma. D, Christakopoulos. P. Kekos D., Stamatis, H. Properties of catechol 1,2-dioxygenase from *Pseudomonas putida* immobilized in calcium alginate hydrogels. *Enzyme and Microbial Technology*, **2006**, 39, 1113.