

# Uso de planejamento fatorial para a otimização da atividade da enzima PAL de *Piper cernuum*

Andréia de A. Morandim-Giannetti (PQ)<sup>1,2\*</sup>, Maysa Furlan<sup>2</sup> (PQ), Massuo Jorge Kato<sup>3</sup> (PQ)

andreia.morandim@gmail.com

<sup>1</sup>Departamento de Engenharia Química, Centro Universitário da FEI, Av. Humberto de Alencar Castelo Branco, 3972, 09850-901 São Bernardo do Campo - SP, Brazil

<sup>2</sup>Departamento de Química Orgânica, Instituto de Química, Universidade Estadual de São Paulo, Rua Francisco Degni, s/n, 14800-900 Araraquara - SP, Brazil

<sup>3</sup>Departamento de Química Fundamental, Instituto de Química, Universidade de São Paulo, Av. Prof. Lineu Prestes, 748, 05508-000, São Paulo - SP, Brazil

Palavras Chave: Piperaceae, *Piper cernuum*, PAL

## Introdução

A espécie *Piper cernuum* é muito utilizada na medicina tradicional devido principalmente às atividades biológicas detectadas na espécie. Com relação aos constituintes químicos, já foram isolados derivados fenilpropanoídicos, incluindo o sinapato de metila, a diidroxisinapato de metila e a cubebina, cuja biossíntese tem como etapa crucial a enzima fenilalanina amônia-ase (PAL), responsável pela catálise da reação de conversão da fenilalanina em ácido cinâmico (Fig. 1); o que justifica a realização do presente trabalho<sup>1</sup>.

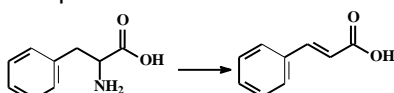


Fig. 1: Conversão da fenilalanina ao ácido cinâmico

## Resultados e Discussão

Para o desenvolvimento do trabalho, inicialmente foi determinado o melhor tampão extrator, tampão borato pH 8,8; sendo testados três diferentes (borato pH 8,8, borato pH 8,0 e fosfato pH 6,6). Após essa etapa, o ótimo enzimático da enzima fenilalanina amônia-ase (PAL) foi determinado através da utilização de um planejamento fatorial 3<sup>2</sup> sendo possível verificar que a melhor condição de atuação da enzima PAL foi: temperatura reacional de 41°C, pH de reação de 8,8 utilizando-se tampão borato e tempo de reação de 2 h<sup>2</sup> (Fig. 2 e 3).

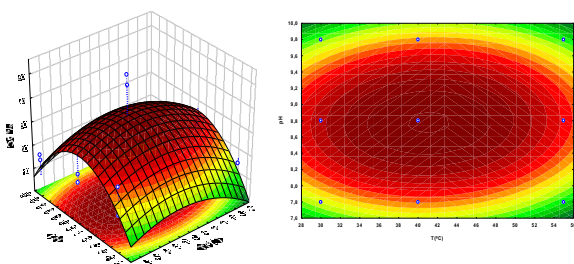


Fig. 2: Superfícies de resposta e de contorno obtidas durante a análise estatística

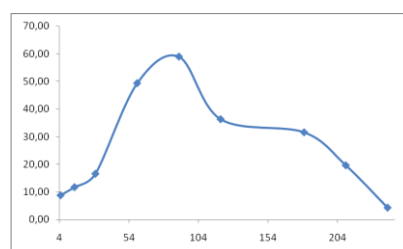


Fig. 3: Conversão da fenilalanina a ácido cinâmico variando-se o tempo de reação

Estabelecida o ótimo reacional com relação à atuação da enzima PAL, partiu-se para a etapa de purificação da enzima começando-se com a precipitação salina utilizando-se sulfato de amônio suficientes para uma saturação de 20 % (1), 40% (2), 60% (3) e 80 % (4) e 100 % (5) observando-se que provavelmente a enzima encontra-se presente na fração 2 e 3, uma vez que foi observada a reação nessas duas frações.

## Conclusões

Foi possível, através do desenvolvimento do presente trabalho, otimizar a condição de atuação da enzima PAL (41°C, pH de reação de 8,8 utilizando-se tampão borato e tempo de reação de 2 h). Foi possível também a realização de uma pré-purificação da enzima visando seu sequenciamento.

## Agradecimentos



BRUNS RE. Como fazer experimentos: pesquisa e desenvolvimento na ciência e na indústria, 2, ed, Campinas: UNICAMP, 2002, p. 401.

Danelutte AP; Costantin MB.; Delgado GE.; Braz-Filho R; Kato MJ. (2005). Journal of the Brazilian Chemical Society 16: 1425-1430