



II CONPESQ Congresso de Pesquisa, Pós-Graduação e Inovação

Os novos rumos da ciência pós-pandemia

12 a 16 de abril de 2021 Universidade Federal do Cariri - UFCA

BIORREDUÇÃO A PARTIR DE CÉLULAS ÍNTEGRAS DE FEIJÃO-DE-PORCO (*Canavalia ensiformis*) COMO BIOCATALISADOR

Magno de Lima Silva¹

Não Preencher

Informar filiação, e-mail e financiamento
obrigatoriamente nos metadados

Anderson Zhong Fan²

Não Preencher

Informar filiação, e-mail e financiamento
obrigatoriamente nos metadados

Rhodivam Lucas Mendes Feitosa³

Não Preencher

Informar filiação, e-mail e financiamento
obrigatoriamente nos metadados

Wellyson Journey dos Santos Silva⁴

Não Preencher

Informar filiação, e-mail e financiamento
obrigatoriamente nos metadados

Allana Kellen Lima Santos Pereira⁵

Não Preencher

Informar filiação, e-mail e financiamento
obrigatoriamente nos metadados

RESUMO: Existe na literatura uma grande quantidade de vegetais utilizados em processos biocatalíticos como fonte de enzimas (Biocatalisadores). A indústria almeja uma grande parte dessas enzimas, pois tem forte interesse nas reações de biorredução de compostos carbonilados (Biocatálise), especificamente para produção de fármacos, cosméticos e agroquímicos. O trabalho em questão tem como objetivo geral estudar o potencial biocatalítico das fabáceas, para a biorredução de diferentes substratos carbonílicos. A metodologia consiste na biorredução de cetonas aromáticas e alifáticas a partir de redutases presentes em células íntegras da espécie

- 1 Será preenchido pela Comissão após avaliação com as informações dos metadados da submissão.
- 2 Será preenchido pela Comissão após avaliação com as informações dos metadados da submissão.
- 3 Será preenchido pela Comissão após avaliação com as informações dos metadados da submissão.
- 4 Será preenchido pela Comissão após avaliação com as informações dos metadados da submissão.
- 5 Será preenchido pela Comissão após avaliação com as informações dos metadados da submissão.

vegetal, feijão-de-porco (*Canavalia ensiformis*), para a biorredução de diferentes substratos carbonílicos, a fim de obtermos seus álcoois correspondentes. Foram utilizadas as sementes da espécie vegetal, feijão-de-porco, como biocatalisador, em solução aquosa, juntamente com os substratos (acetonaftona (1), 2,4-dicloroacetofenona (2), acetofenona (3), 4-aminoacetofenona (4)) onde em seguida, os produtos foram purificados em cromatografia em coluna e identificados através de espectroscopia no infravermelho. Os resultados obtidos a partir das biotransformações de cetonas utilizando o feijão-de-porco como biocatalisador, revelam a presença de enzimas redutases, mas não tão expressivas como responsáveis por biorreduções. Pôde-se perceber isso através do espectro de infravermelho do bioproduto com a presença de banda característica de hidroxila de álcool indicando que a ocorreu reação apenas no substrato: acetofenona (3). Nos substratos: 1-acetonaftona (1), 2,4-dicloroacetofenona (2) e 4-aminoacetofenona (4) não houve a formação dos bioproduto, logo não houve reação. Dessa forma, podemos afirmar que o feijão-de-porco atua como biocatalisador, porém não tão promissor em reações de biorredução.

PALAVRAS-CHAVE: Biocatálise; Feijão-de-porco; Compostos carbonilados; Enzimas.

ABSTRACT: There is a large amount of vegetables in the literature used in biocatalytic processes as a source of enzymes (Biocatalysts). The industry targets a large part of these enzymes, as it has a strong interest in the bioreduction reactions of carbonyl compounds (Biocatalysis), specifically for the production of drugs, cosmetics and agrochemicals. The work in question has as general objective to study the biocatalytic potential of fabaceas, for the bioreduction of different carbonyl substrates. The methodology consists of the bioreduction of aromatic and aliphatic ketones starting from reductases present in whole cells of the plant species, hog bean (*Canavalia ensiformis*), for the bioreduction of different carbonyl substrates, in order to obtain their corresponding alcohols. The seeds of the vegetable species, pig beans, were used as a biocatalyst, in aqueous solution, together with the substrates (acetonephton (1), 2,4-dichloroacetophenone (2), acetophenone (3), 4-aminoacetophenone (4)) where the products were then purified by column chromatography and identified by infrared spectroscopy. The results obtained from the biotransformations of ketones using the pork bean as a biocatalyst, reveal the presence of reductase enzymes, but not as expressive as responsible for bioreductions. This could be seen through the infrared spectrum of the bioproduct with the presence of a characteristic alcohol hydroxyl band indicating that the reaction occurred only on the substrate: acetophenone (3). In the substrates: 1-acetonephton (1), 2,4-dichloroacetophenone (2) and 4-aminoacetophenone (4) there was no formation of the bioproducts, so there was no reaction. Thus, we can affirm that the pig bean acts as a biocatalyst, but not so promising in bioreduction reactions.

Keywords: Biocatalysis; Pork beans; Carbonyl compounds; Enzymes.

1 INTRODUÇÃO

O Feijão-de-Porco (*Canavalia ensiformis*) é uma leguminosa de origem americana. É muito cultivado em regiões tropicais e equatoriais. Possui crescimento herbáceo ereto não trepador, atingindo 1,2 a 1,5 metros de altura (FORMENTINI, 2008). Devido ao seu elevado valor nutricional suas sementes são empregadas na alimentação do gado e suas folhas na alimentação humana. Ela é bastante resistente às variações das condições ambientais, insetos e

microorganismos (SILVA-LÓPEZ, 2012).

A biotransformação surgiu como um processo eficiente para a síntese de compostos orgânicos quirais e pode ser definida como modificações específicas da estrutura molecular de uma substância catalisada por meios biológicos (MACHADO *et al.*, 2009; DIAS; FERREIRA; CUNHA, 2012). As reações químicas envolvendo células inteiras, organelas celulares ou enzimas isoladas têm sido estudadas como agentes potenciais em reações de biotransformações (BERTINI *et al.*, 2012; MACHADO *et al.*, 2008). O crescente interesse é devido ao grande potencial biotecnológico das reações enzimáticas (ANDRADE *et al.*, 2006).

A exploração da biodiversidade na busca de novos catalisadores por técnicas de seleção de microorganismos, de plantas ou células animais, representam os métodos tradicionais de descoberta de novas enzimas para o desenvolvimento da biocatálise em escala industrial. A importância do uso de enzimas em biocatálise tem se mostrado cada vez mais evidente: a grande versatilidade de reações catalisadas, condições brandas de reação, natureza regio, quimio e enantiosseletiva são algumas de suas vantagens (CARVALHO *et al.*, 2005). A área multidisciplinar de biocatálise encontra-se atualmente em amplo desenvolvimento. Pesquisas realizadas em vários ramos da química e da biologia tem como principal objetivo o desenvolvimento de novos catalisadores para o uso industrial (CONTI *et al.*, 2001).

O emprego de células íntegras de vegetais na biorredução de cetonas para a produção de álcoois vem aumentando atualmente em relação ao uso de enzimas isoladas, pois não necessitam de cofatores e sua regeneração não é necessária para a manutenção de sua atividade catalítica. Destaca-se também, o fato que são de mais fácil obtenção, baixo custo e mais estáveis (SOUZA, 2012; KURBANOGLU *et al.*, 2010).

Células de vegetais são utilizadas em reações de biorredução de compostos carbonílicos e suas enzimas representam um importante meio para a obtenção de produtos de elevado valor agregado como fármacos ou insumos farmacêuticos em suas formas enantioméricas com elevada pureza ótica (SANTIAGO, 2017).

As pesquisas nas áreas de biocatálise crescem a cada dia, e seu trunfo é extremamente útil para a produção de novos materiais, e no melhoramento de processos, pois a fabricação de produtos enantiosseletivos, regioespecíficos, obtidos de forma límpida podem ser aplicados em diversos campos da ciência, em conotação a indústria (MORAES, 2014).

Nesse contexto o presente trabalho objetivou-se ampliar os estudos relacionados à biocatálise de compostos orgânicos, dando continuidade às pesquisas nessa área desenvolvidas

pelo nosso grupo, buscando a investigação de novas fontes vegetais com potencial promissor para biotransformação de substratos, destacando-se o feijão-de-porco (*Canavalia ensiformis*) na biorredução a partir de células íntegras.

2 METODOLOGIA

2.1 COLETA DO MATERIAL BOTÂNICO

A coleta do material botânico da espécie estudada nesta pesquisa foi realizada no campus do Centro de Ciências Agrárias e Biodiversidade da Universidade Federal do Cariri localizado no município de Crato-CE. O mesmo constituído integralmente pelas sementes de *Canavalia ensiformis*.

2.2 OBTENÇÃO DOS EXTRATOS ENZIMÁTICOS

Inicialmente o material vegetal, foi triturado em pedaços pequenos conforme figura 1 e pesado. Em seguida, foi lavado com uma solução de hipoclorito de sódio 5% por 10 minutos. Logo após, foi acondicionado em erlenmeyer.

Figura 1 - Sementes de feijão-de-porco trituradas



Fonte: Os autores.

2.3 REAÇÕES BIOCATALÍTICAS

A metodologia a ser empregada foi aquela desenvolvida por Machado (2006). Nos experimentos foram utilizadas as sementes da espécie vegetal, feijão-de-porco, como biocatalisador, em solução aquosa, juntamente com os substratos (acetonaftona (1), 2,4-dicloroacetofenona (2), acetofenona (3), 4-aminoacetofenona (4)) a serem testados e agitados em Shake (150 rpm). A biorredução de cetonas e aldeídos aromáticos e alifáticos foram

realizadas usando a proporção de 150 mL de água, 200 mg de substrato, acondicionada em Erlenmeyer (250 mL) (figura 2), e submetidas a agitação em Shaker (150 rpm) por um período de 72 h. As amostras então foram filtradas e o filtrado foi extraído com AcOEt (3x40mL). A purificação dos produtos foi efetuada através de coluna cromatográfica de sílica gel. As fases orgânicas foram secas com Na₂SO₄ anidro e concentradas sob pressão reduzidas.

Figura 2 - Material vegetal em solução aquosa



Fonte: Os autores.

2.4 CARACTERIZAÇÃO POR INFRAVERMELHO

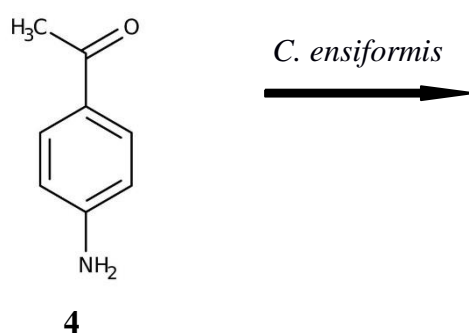
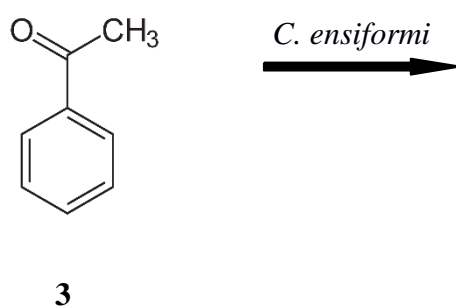
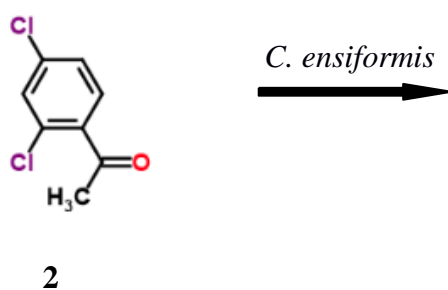
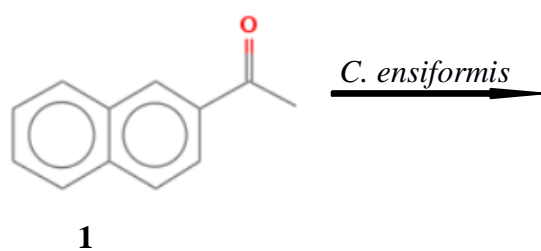
Os espectros de absorção na região do infravermelho foram registrados em espectrômetro para Perkin Elmer modelo Spectrum Two pertencente ao Laboratório de Caracterização de Materiais da UFCA. Onde para as substâncias sólidas, foram utilizadas pastilhas de KBr e para as demais foram preparados filmes.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

As biorreduções foram realizadas a 30°C durante 72 horas, para avaliar o potencial redutor das enzimas presentes nos biocatalisadores.

As biotransformações, especificamente as biorreduções, descrevem um sistema de redução economicamente viável e ambientalmente correto. Diferentes metodologias têm sido desenvolvidas no sentido de sintetizar álcoois. A redução estereosseletiva está sendo um dos métodos mais empregados, uma vez que permite a produção desses derivados em rendimentos quantitativos (BIZERRA *et al.*, 2010). A Figura 3 apresenta o esquema das biotransformações dos substratos (padrões) utilizados e os seus respectivos álcoois esperados.

Figura 3 - Esquema das biorreduções dos substratos aos seus respectivos álcoois



Fonte: Os autores.

3.1 REDUÇÃO DOS SUBSTRATOS COM NaBH₄

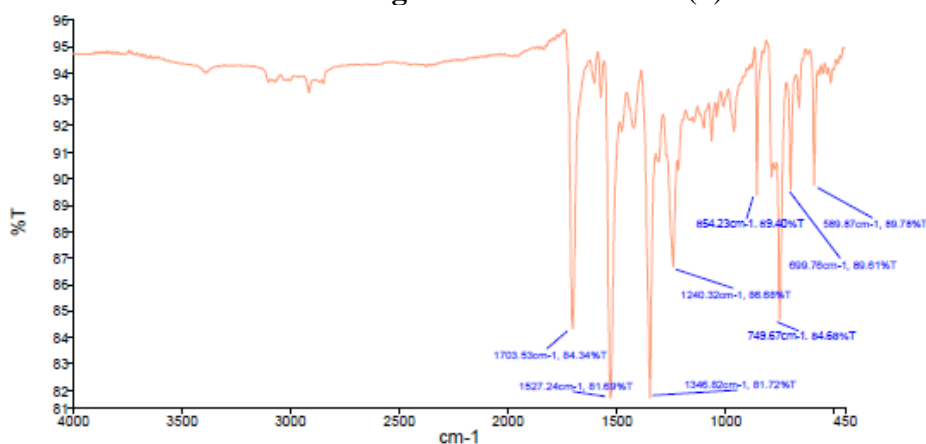
A síntese química dos álcoois padrões foi realizada com NaBH₄, um reagente quimiosseletivo empregado na redução de grupos carbonila. Este é um agente redutor brando que reage rapidamente com aldeídos e cetonas.

3.2 ACETONAFTONA (1)

As análises no infravermelho comprovam que não ocorreu a biorredução do composto

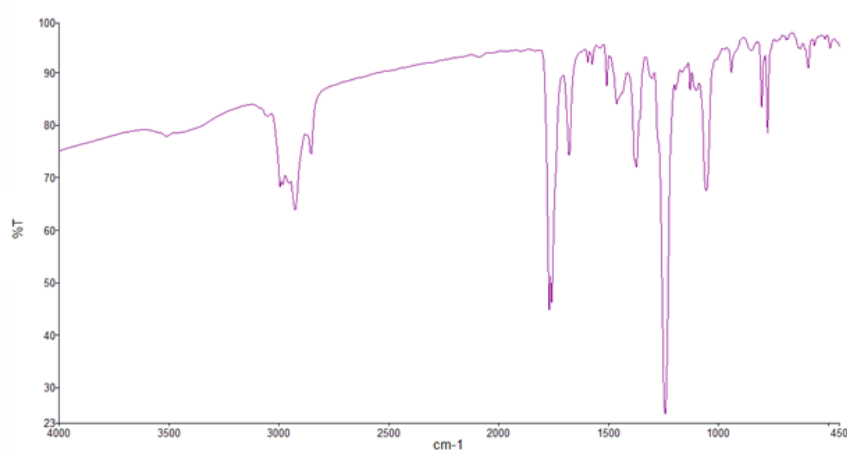
carbonílico ao álcool correspondente. A Figura 4 apresenta o espectro de IV obtido para o composto **1** (acetonaftona) e seu bioproduto de biorredução encontra-se na Figura 5. A partir da análise do espectro de infravermelho os compostos puderam ser caracterizados. No espectro IV do substrato **1** (Figura 4) verificamos a presença de banda de carbonila de cetona conjugada próxima a 1.700 cm^{-1} . Na Figura 5, espectro do bioproduto, constatamos que não houve reação de biorredução, pois não observamos uma banda em 3.300 cm^{-1} correspondente à hidroxila de álcool, o que nos sugere que não houve formação do álcool 1-naftiletanol.

Figura 4 - Acetonaftona (1)



Fonte: Os autores.

Figura 5 - Bioproduto da biorredução da 1-acetonaftona com células íntegras do feijão-de-porco



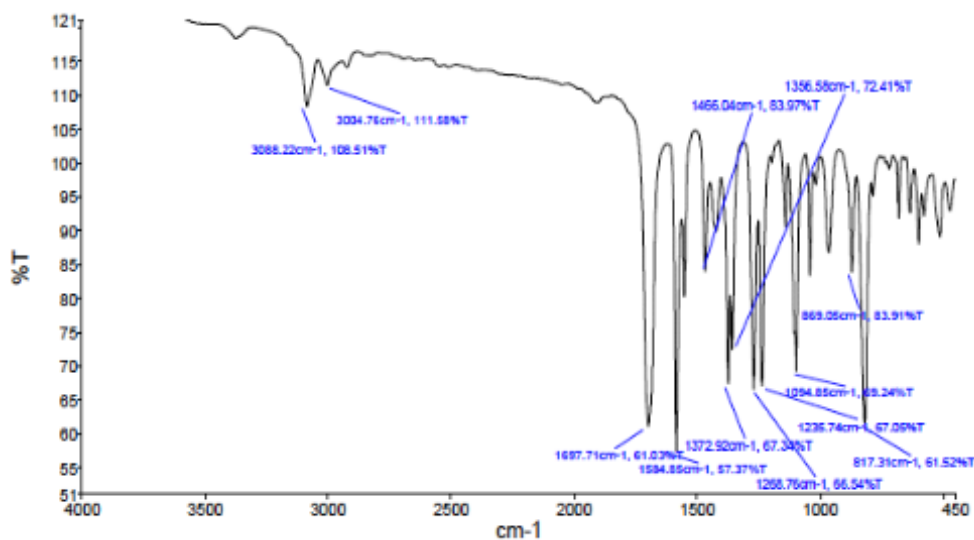
Fonte: Os autores.

3.3 2,4-DICLOROACETOFENONA (2)

As análises no infravermelho comprovam que não ocorreu a biorredução do composto

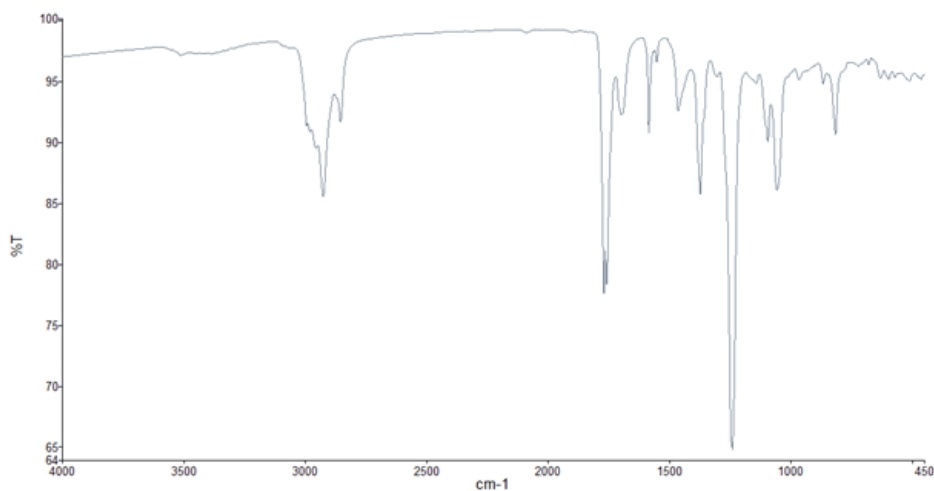
carbonílico ao álcool correspondente. As Figuras 6-7 representam os espectros de IV obtidos para o composto **2** (2,4-dicloroacetofenona) e seu bioproduto de biorredução. A partir da análise do espectro de infravermelho os compostos puderam ser caracterizados. No espectro IV do substrato **2** (Figura 6) verificamos a presença de banda de carbonila de cetona em 1.697 cm^{-1} . Na Figura 7, espectro do bioproduto, constatamos que não houve reação de biorredução, pois não observamos uma banda simétrica próxima a 3.300 cm^{-1} correspondente à hidroxila de álcool, o que nos sugere a não formação do álcool 1-(2,4-diclorofenil)etanol.

Figura 6 - 2,4-dicloroacetofenona (2)



Fonte: Os autores.

Figura 7 - Bioproduto da biorredução da 2,4-dicloroacetofenona com células íntegras do feijão-de-porco

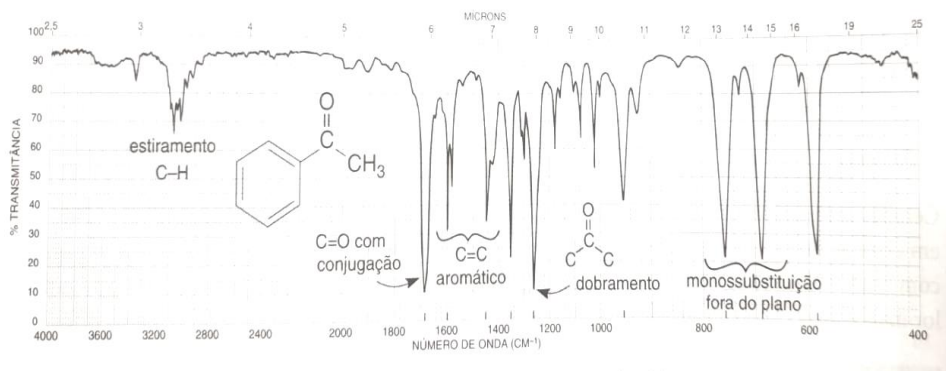


Fonte: Os autores.

3.4 ACETOFENONA (3)

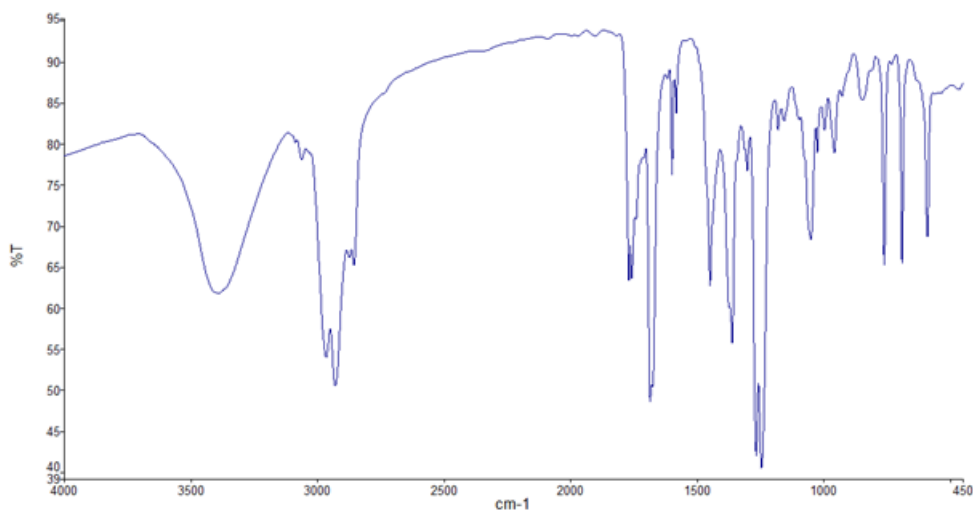
As análises no infravermelho comprovam que ocorreu a biorredução do composto carbonílico ao álcool correspondente. As Figuras 8-9 representam os espectros de IV obtidos para o composto **3** (acetofenona) e seu bioproduto de biorredução. A partir da análise do espectro de infravermelho os compostos puderam ser caracterizados. No espectro IV do substrato **3** (Figura 8) verificamos a presença de banda de carbonila de cetona conjugada em 1.709 cm^{-1} . Na Figura 9, espectro do bioproduto, constatamos que houve reação de biorredução, pois observamos uma banda próxima a 3.400 cm^{-1} correspondente à hidroxila de álcool, o que nos sugere a formação do álcool 1-feniletanol. Porém a reação não ocorreu totalmente, uma vez que verificamos no espectro do bioproduto a presença de banda próxima a 1.680 cm^{-1} de carbonila de cetona conjugada.

Figura 8 - Acetofenona (3)



Fonte: Pavia (2010).

Figura 9 - Bioproduto da biorredução da acetofenona com células íntegras do feijão-de-porco

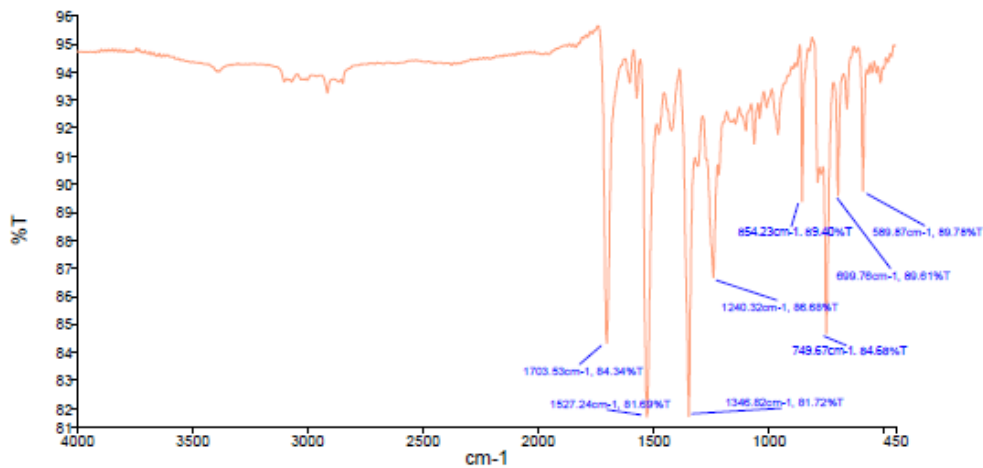


Fonte: Os autores.

3.5 4-AMINOACETOFENONA (4)

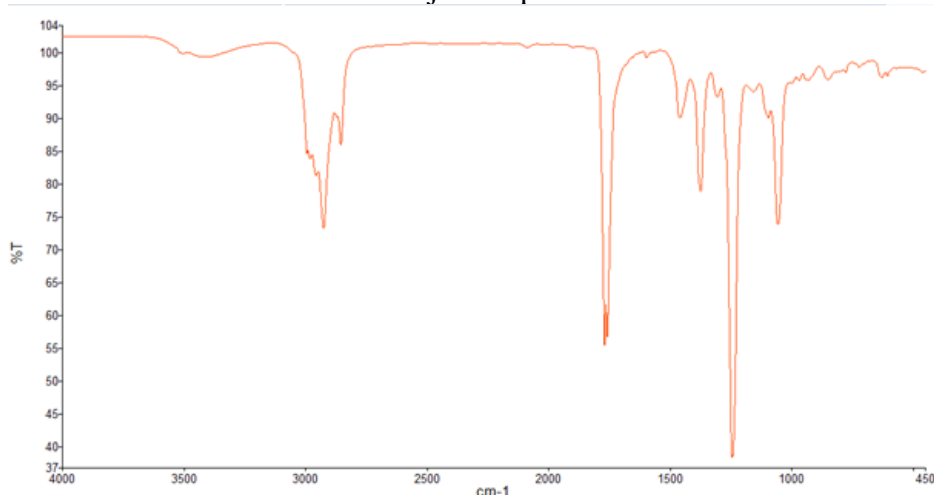
As análises no infravermelho comprovam que não ocorreu a biorredução do composto carbonílico ao álcool correspondente. As Figuras 10-11 representam os espectros de IV obtidos para o composto **4** (4-aminoacetofenona) e seu bioproduto de biorredução. A partir da análise do espectro de infravermelho os compostos puderam ser caracterizados. No espectro IV do substrato **4** (Figura 10) verificamos a presença de banda de carbonila de cetona em 1.705 cm^{-1} . Na Figura 11, espectro do bioproduto, constatamos que não houve reação de biorredução, pois não observamos uma banda simétrica próxima a 3.300 cm^{-1} correspondente à hidroxila de álcool, o que nos sugere a não formação do álcool 1-(4-aminofenil)etanol.

Figura 10 - 4-aminoacetofenona (**4**)



Fonte: o(s) autor(es)

Figura 11 - Bioproduto da biorredução da 4-aminoacetofenona com células íntegras do feijão-de-porco



Fonte: Os autores.

4 CONCLUSÃO

Os resultados obtidos a partir das biotransformações de cetonas utilizando o feijão-de-porco como biocatalisador, revelam a presença de enzimas redutases, mas não tão expressivas como responsáveis por biorreduções. Pode-se perceber isso através do espectro de infravermelho do bioproduto com a presença de banda característica de hidroxila de álcool indicando que a ocorreu reação apenas no substrato: acetofenona (**3**). Nos substratos: 1-acetonaftona (**1**), 2,4-dicloroacetofenona (**2**) e 4-aminoacetofenona (**4**) não houve a formação dos bioproduto, logo não houve reação. Dessa forma, podemos afirmar que o feijão-de-porco atua como biocatalisador, porém não tão promissor em reações de biorredução, de forma que há muito que se investigar tanto nesse vegetal quanto em outros, buscando através da biotecnologia, bioprodutos com mais aplicabilidade no setor industrial/sintético.

AGRADECIMENTOS

À professora Telma do Departamento de Química da UFC pelos substratos. Ao técnico João Victor pelos espectros de infravermelho. À UFCA.

REFERÊNCIAS

- ANDRADE, Leandro H. *et al.* Edible catalysts for clean chemical reactions: Bioreduction of aromatic ketones and biooxidation of secondary alcohols using plants. **Journal of Molecular Catalysis B-Enzymatic**, v.38, n.2, p.84-90, 2006. Disponível em: https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S138111770500202X?casa_token=81iF_wdKZVMAAAAAA:rfNvqUy94uQMoK1MzEEGsrRN-7H7bu4Vt6eYTuRfig4l1vswHqJjSLDMXMgE2xETxWj88pSye0Ua Acesso em: 21 fev. 2021.
- BERTINE, Luciana. M. *et al.* Soybean (Glycine max) as a versatile biocatalyst for organic synthesis. **African Journal of Biotechnology**, v.11, n.30, p.7766-7770, 2012. Disponível em: <https://www.ajol.info/index.php/ajb/article/view/127367> Acesso em: 21 fev. 2021.
- CARVALHO, Patrícia de O. *et al.* Potencial de biocatálise enantiosseletiva de lipases microbianas. **Química Nova**, v.28, p.614-621, 2005. Disponível em: https://www.scielo.br/scielo.php?pid=S0100-40422005000400012&script=sci_abstract&tlng=es Acesso em: 21 fev. 2021.
- CONTI, Roseli de; RODRIGUES, José Augusto. R.; MORAN, Paulo J. S. Biocatálise: avanços recentes. **Química Nova**, v.24, n.5, p.672-675, 2001. Disponível em: https://www.scielo.br/scielo.php?pid=S0100-40422001000500014&script=sci_arttext Acesso em: 21 fev. 2021.
- DIAS, F. R. F.; FERREIRA, V. F.; CUNHA, A. C. Uma Visão Geral dos Diferentes Tipos de

Catálise em Síntese Orgânica. **Revista Virtual de Química**, v.4, p.840-871, 2012. Disponível em: <http://rvq-sub.sbg.org.br/index.php/rvq/article/view/371> Acesso em: 21 fev. 2021.

FORMENTINI, E. A. Cartilha sobre adubação verde e compostagem. Vitória, 2008. Disponível em:

<https://biblioteca.incaper.es.gov.br/digital/bitstream/123456789/3718/1/cartilha-adubacao-verde-compostagem.pdf> . Acesso em: 12 jun. 2020.

KURBANOGLU, Esabi B. *et al.*. Continuous production of (S)-1-phenylethanol by immobilized cells of *Rhodotorula glutinis* with a specially designed process. **Tetrahedron: Asymmetry**. v. 21, p. 461–464, 2010. Disponível em:

https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0957416610000698?casa_token=KsVYEacA5hoAAAAA:3VmhlfZTDNB93rP0sh8YuzNYDNv8EkPpekKOFsXfprB8JmmVqGTSbe1UrbeqqaxNX1Fq0yYwUQ Acesso em: 21 fev. 2021.

MACHADO, Luciana L. *et al.* Bioreduction of Aldehydes and Ketones using *Manihot* species. **Phytochemistry**, v.67, p.1637-1643, 2006. Disponível em:

https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0031942206001087?casa_token=z_qVn2fJ4dQAAAAA:qgHz0Fe4ZfmgoZptkLC39XSgrUl_9XyDY1uP3h-8lmieFb7ZhpiPeWQoG2CF_QA8t6k_mR--CLli Acesso em: 21 fev. 2021.

MACHADO, Luciana L. *et al.* Bioreduction of aromatic aldehydes and ketones by fruits' barks of *Passiflora edulis*. **Journal of Molecular Catalysis B-Enzymatic**, v.54, n.3-4, p.130-133, 2008. Disponível em:

https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1381117707002822?casa_token=KskopITrcKEAAAAA:Y5p_513KLeMY3fnIu2vl_tchelg60YAITrEDCpcl_sGotn9nuEuW8tZtnvWfE_Nx9B-tPiL4WKvV Acesso em: 21 fev. 2021.

MACHADO, Luciana L. *et al.* Enantioselective acetylation of racemic alcohols by *Manihot esculenta* and *Passiflora edulis* preparations. **Journal of Molecular Catalysis B-Enzymatic**, v.60, n.3-4, p.157-162, 2009. Disponível em:

https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1381117709001374?casa_token=9pVyAeqEfHMAAAAA:TIIdM_YXuFtMLsV-seLudkYOV4E24FGBjH1SRQAFWK2PIxGZmZ-fpT7LD-1kFr03gzQgB_R7fCKJB Acesso em: 21 fev. 2021.

MORAES, M. I. **Biorredução de aldeídos e cetonas utilizando células íntegras de espécies vegetais cultivadas no Estado do Piauí**. 2014. Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal do Piauí, Edições UFPI, Teresina, Brasil, 2014.

PAVIA, Donald L. *et al.* **Introdução à espectroscopia**. São Paulo: Cengage Learning, 2010. 733p.

SANTIAGO, Paulo Alexandre Lima. **Estudo da redução de acetofenonas utilizando biocatalisadores da região amazônica para obtenção de substâncias com elevada pureza enantiomérica de interesse farmacológico**. 2017. 103 f. Dissertação (Mestrado) - Universidade do Estado do Amazonas, Manaus, 2017. Disponível em: <http://repositorioinstitucional.uea.edu.br/handle/riuea/2354> Acesso em: 21 fev. 2021.

SILVA-LÓPEZ, Raquel Elisa da. *Canavalia ensiformis* (L.) DC (Fabaceae). **Revista Fitos**, [S.l.], v. 7, n. 3, p. 146-154, 2012. Disponível em:

<https://www.arca.fiocruz.br/handle/icict/15134> Acesso em: 21 fev. 2021.

SOUZA, Juliana Maria Oliveira de. **Biorredução de cetonas aromáticas utilizando células íntegras de *Helianthus annuus L.* (Girassol).** 2012. 138 f. Dissertação (Mestrado) - Centro de Ciências, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2012. Disponível em: <http://repositorio.ufc.br/handle/riufc/14937> Acesso em: 21 fev. 2021.