



**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

**CÉLULAS ÍNTEGRAS DE GRÃO-DE-BICO (*Cicer  
arietinum*) COMO BIOCATALISADOR EM BIORREDUÇÕES**

**Anderson Zhong Fan<sup>1</sup>**

Não Preencher

Informar filiação, e-mail e financiamento  
obrigatoriamente nos metadados

**Magno de Lima Silva<sup>2</sup>**

Não Preencher

Informar filiação, e-mail e financiamento  
obrigatoriamente nos metadados

**Rhodium Lucas Mendes Feitosa<sup>3</sup>**

Não Preencher

Informar filiação, e-mail e financiamento  
obrigatoriamente nos metadados

**Allana Kellen Lima Santos Pereira<sup>4</sup>**

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.

---

<sup>1</sup> Será preenchido pela Comissão após avaliação com as informações dos metadados da submissão.

<sup>2</sup> Será preenchido pela Comissão após avaliação com as informações dos metadados da submissão.

<sup>3</sup> Será preenchido pela Comissão após avaliação com as informações dos metadados da submissão.

<sup>4</sup> Será preenchido pela Comissão após avaliação com as informações dos metadados da submissão.

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 partir de redutases presentes em células íntegras da espécie vegetal, grão-de-bico (*Cicer arietinum*), para a biorredução de diferentes substratos carbonílicos, a fim de obtermos seus álcoois correspondentes.

Dessa forma, os produtos foram purificados em cromatografia em coluna e identificados através de cromatografia em camada delgada (CCD) e espectroscopia no infravermelho (IV), os excessos enantioméricos (% ee) dos produtos quirais serão determinados através de Cromatógrafo Gasoso (CG-DIC) e Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE) utilizando coluna quiral. Foi realizada a extração do concentrado enzimático do grão-de-bico e será determinado o teor de proteínas dele. Para essa determinação serão utilizados dois métodos rotineiros de laboratórios: o Método de Lowry, modificado por Hartree (HARTREE, 1972) e o Método de Bradford (BRADFORD, 1976). A partir dos resultados obtidos se chegará à conclusão se ocorreram as biotransformações esperadas ou não.

**Palavras-chave:** Biocatálise. Espécies vegetais. Compostos carbonilados. Enzimas.

## 1 INTRODUÇÃO

As plantas têm sido consideradas sistemas enzimáticos adequados para serem empregados em biocatálise. A maioria das reações catalisadas por plantas são processos redox (redução de aldeídos e cetonas, oxidação de álcoois racêmicos (BIZERRA et al., 2010; FABER, 2011).

O uso de enzimas como catalisadores em química orgânica envolve a especificidade (químio-, regio- e enantiosseletividade) e a velocidade que a transformação desejada é efetuada (LIMA, ANGNES, 1999; MACHADO et al., 2009). A utilização de enzimas vem crescendo nos últimos anos em diferentes campos de aplicação, tais como a indústria química, farmacêutica, cosmética ou de alimentos (ILLANES et al., 2012). A biocatálise é uma ferramenta importante na química orgânica sintética, porque há uma necessidade cada vez maior para produzir compostos intermediários opticamente ativos em condições verdes (MIRABAL-GALLARDO, SORIANO, SANTOS, 2013).

Atualmente, as enzimas são empregadas industrialmente em diversos processos de produção como, por exemplo, produção de papel, tecidos, detergentes, alimentos, couro,

cosméticos, biocombustíveis e produtos de química fina. A versatilidade das enzimas traz vários benefícios, podendo catalisar a transformação de substratos não naturais, de forma regio-, enantio-, e quimiosseletiva. Como toda a reação pode ser realizada em temperatura ambiente e pressão (atm) regular, podemos evitar a formação de subprodutos provenientes, por exemplo, de processos de isomerização e de rearranjos. Então, o uso de enzimas como biocatalisadores é bastante expressiva para a indústria farmacêutica, permitindo que intermediários quirais sejam obtidos por processos em sintonia com os preceitos da química verde e da biotecnologia branca, diminuindo-se a geração de resíduos e o consumo de energia.

Nesse contexto, o presente trabalho visa ampliar os estudos relacionados à biocatálise de compostos orgânicos, dando continuidade às pesquisas nessa área, buscando a investigação de novas fontes vegetais com potencial promissor para biotransformação de substratos, destacando-se o grão-de-bico (*Cicer arietinum*) na biorredução a partir de células íntegras.

O grão-de-bico é fonte de grande valor nutricional onde este diferencia-se das outras leguminosas por sua digestibilidade, baixo teor de substâncias antinutricionais, além de apresentar a melhor disponibilidade de ferro (CANNIATTI-BRAZACA & SILVA). Com relação a sua proteína essa leguminosa possui uma boa fonte de carboidratos e proteínas, os quais somados constituem cerca de 80% do peso da semente seca (WILLIAMS & SINGH, 1987).

O estudo inicia-se com as biotransformações em compostos carbonílicos (substratos) tais como aldeídos e cetonas aromáticas e alifáticas utilizando as células íntegras de espécies vegetais, com ênfase nas da família Fabaceae. Em seguida dar-se-á o processo de imobilização enzimática, e essas enzimas imobilizadas serão submetidas a novas biotransformações com os mesmos substratos. Então pode-se comparar as conversões quando utilizadas as células íntegras e quando utilizadas as enzimas imobilizadas, analisando assim a eficácia das mesmas. E por último a identificação proteica das espécies vegetais experimentadas.

## 2 METODOLOGIA

O biocatalisador utilizado para a realização das biorredução foi o grão-de-bico (*Cicer arietinum*) que foi adquirido em um supermercado no município de Juazeiro do Norte.

Para obtenção dos extratos enzimáticos o material vegetal (Figura 1), foi apenas pesado. Em seguida, foi lavado com uma solução de hipoclorito de sódio 5% por 10 minutos. Logo após, foi acondicionado em um erlenmeyer.

**Figura 1:** Grão-de-bico utilizado.



**Fonte:** Própria (2020).

Já para as reações biocatalíticas a metodologia empregada foi a desenvolvida por Machado (2006). Nos experimentos foram utilizadas o *Cicer arietinum* ou popularmente chamado de grão-de-bico, como biocatalisador, em solução aquosa, juntamente com os substratos (1-acetonaftona (1), 2,4-dicloroacetofenona (2), acetofenona (3), 4-aminoacetofenona (4)) a serem testados e agitados em Shaker. 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 Acetato de Etila (3x40mL). As fases orgânicas foram secas com Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anidro e concentradas sob pressão reduzida.

**Figura 2:** Material vegetal em solução aquosa



Fonte: Própria (2020).

As frações obtidas foram analisadas inicialmente por cromatografia em camada delgada CCD, recromatografadas em gel de sílica e analisadas por infravermelho (IV).

A caracterização dos produtos de biotransformações foi realizada através da análise dos dados espectroscópicos obtidos na análise por IV. A descrição do modelo e condição do aparelho utilizado para caracterização das substâncias encontram-se a seguir:

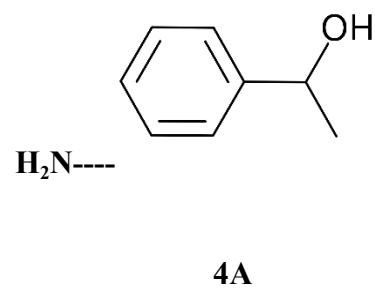
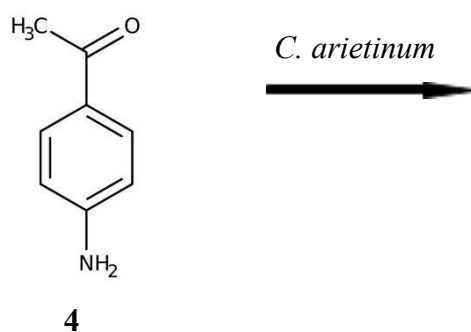
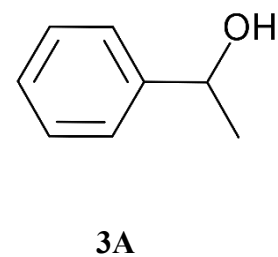
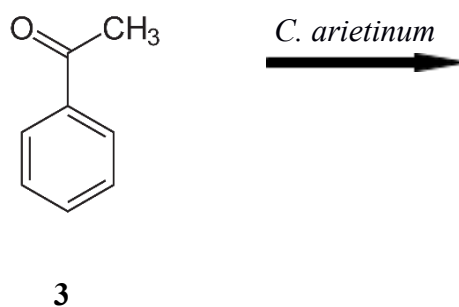
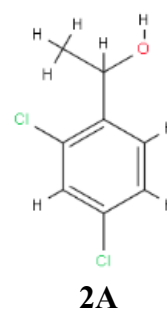
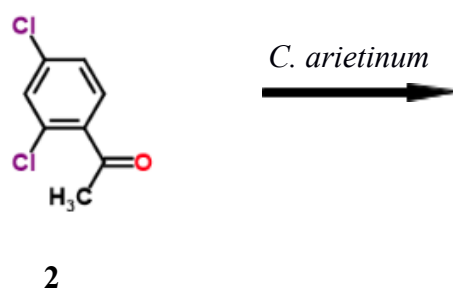
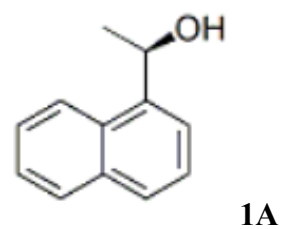
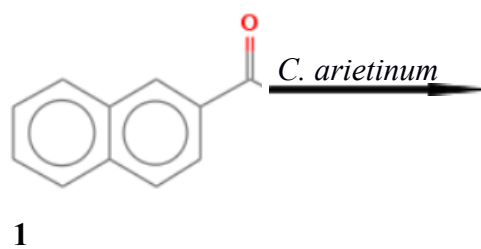
Os espectros de absorção na região do infravermelho foram registrados em espectrômetro para Perkin Elmer modelo Spectrum Two pertencente ao Laboratório de Caracterização de Materiais da UFCA. Onde para as substâncias sólidas, foram utilizadas pastilhas de KBr e para as demais foram preparados filmes.

### 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 estereoseletiva 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 seus respectivos álcoois esperados.

**Figura 3:** Esquema das biorreduções dos substratos aos seus respectivos álcoois



Fonte: Própria (2020).

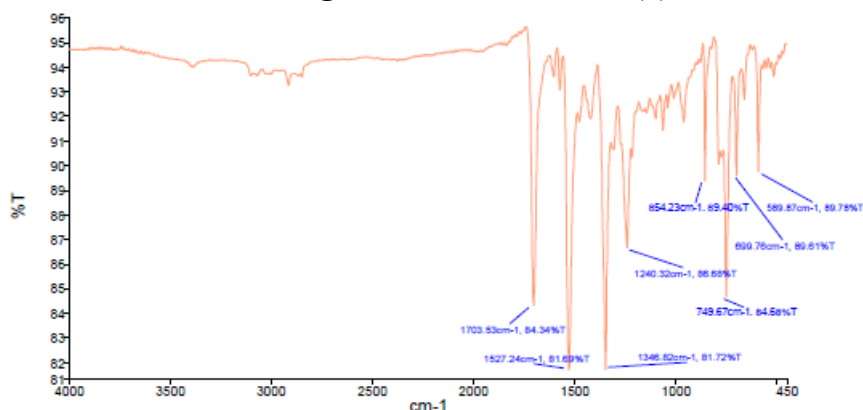
### 3.1 Redução dos substratos com NaBH<sub>4</sub>

A síntese química dos álcoois padrões foi realizada com NaBH<sub>4</sub>, um reagente quimiosseletivo empregado na redução de grupos carbonila. Este é um agente redutor brando que reage rapidamente com aldeídos e cetonas.

### 3.2 1-ACETONAFTONA (1)

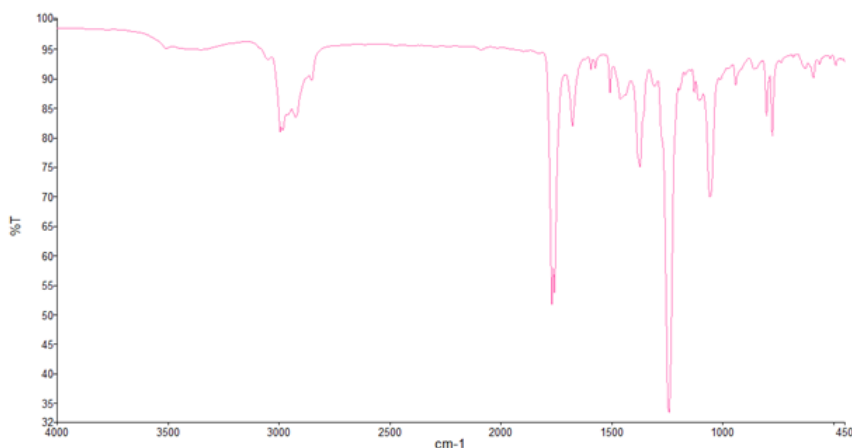
As análises no infravermelho comprovam que não ocorreu a biorredução do composto carbonílico ao álcool correspondente. A Figura 4 apresenta o espectro de IV obtido para o composto **1** (1-acetonaftona) e seu bioproduto de biorredução encontra-se na Figura 5. A partir da análise do espectro de infravermelho 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 1.703 cm<sup>-1</sup>. Na Figura 5, espectro do bioproduto, constatamos que não houve reação de biorredução, pois não observamos uma banda em 3.300 cm<sup>-1</sup> correspondente à hidroxila de álcool, o que nos sugere que não houve formação do álcool 1-naftiletanol.

**Figura 4:** 1-Acetonaftona (1)



Fonte: Própria (2020).

**Figura 5:** Bioproduto da biorredução da 1-acetonaftona com células íntegras do grão-de-bico

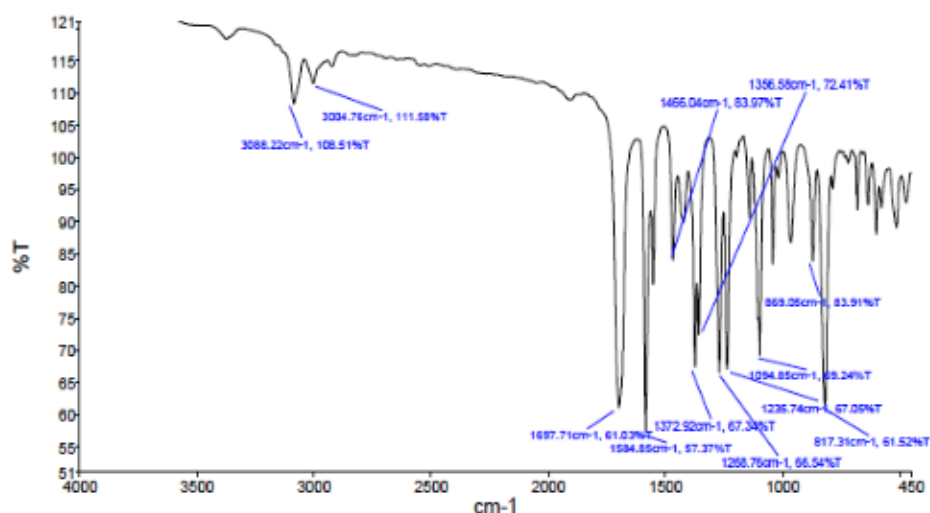


Fonte: Própria (2021).

### 3.3 2,4-DICLOROACETOFENONA (2)

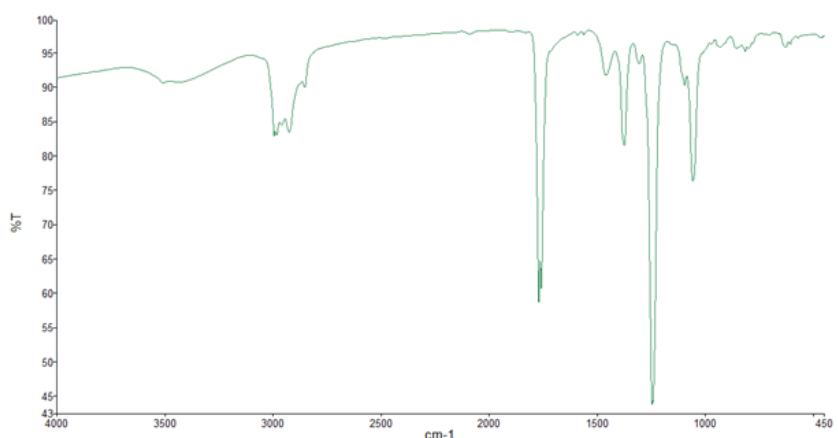
As análises no infravermelho comprovam que não ocorreu a biorredução do composto carbonílico ao álcool correspondente. As Figuras 6-7 representam os espectros de IV obtidos para o composto **2** (2,4-dicloroacetofenona) e seu bioproduto de biorredução. A partir da análise do espectro de infravermelho os compostos puderam ser caracterizados. No espectro IV do substrato **2** (Figura 6) verificamos a presença de banda de carbonila de cetona em  $1.697\text{ cm}^{-1}$ . Na Figura 7, espectro do bioproduto, constatamos que não houve reação de biorredução, pois não observamos uma banda simétrica próxima a  $3.300\text{ cm}^{-1}$  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: Própria (2020).

**Figura 7:** Bioproduto da biorredução da 2,4-dicloroacetofenona com células íntegras do grão-de-bico

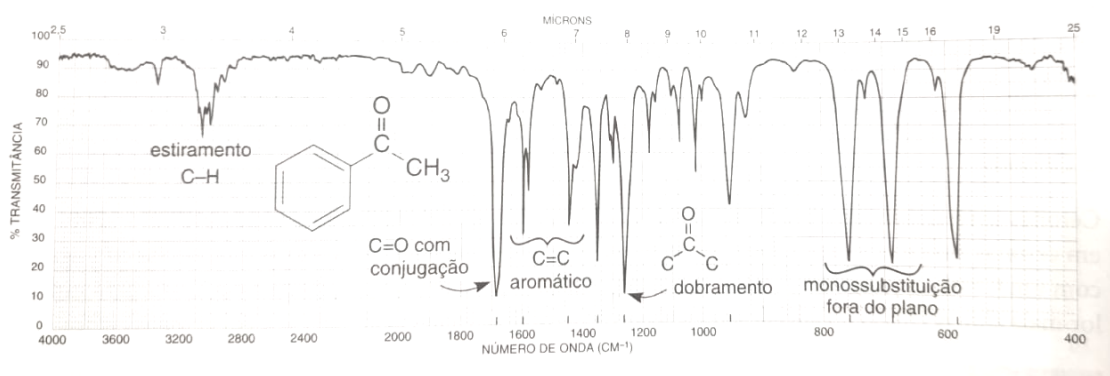


Fonte: Própria (2021).

### 3.4 ACETOFENONA (3)

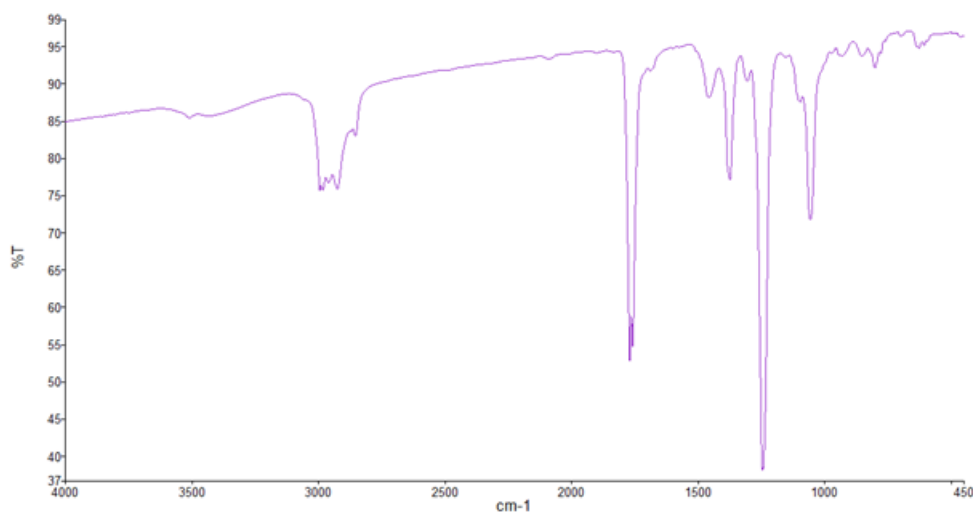
As análises no infravermelho comprovam que não ocorreu a biorredução do composto carbonílico ao álcool correspondente. As Figuras 8-9 representam os espectros de IV obtidos para o composto **3** (acetofenona) e seu bioproduto de biorredução. A partir da análise do espectro de infravermelho os compostos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

Figura 8: Acetofenona (3)



Fonte: PAVIA (2010)

Figura 9: Bioproduto da biorredução da acetofenona com células íntegras do grão-de-bico

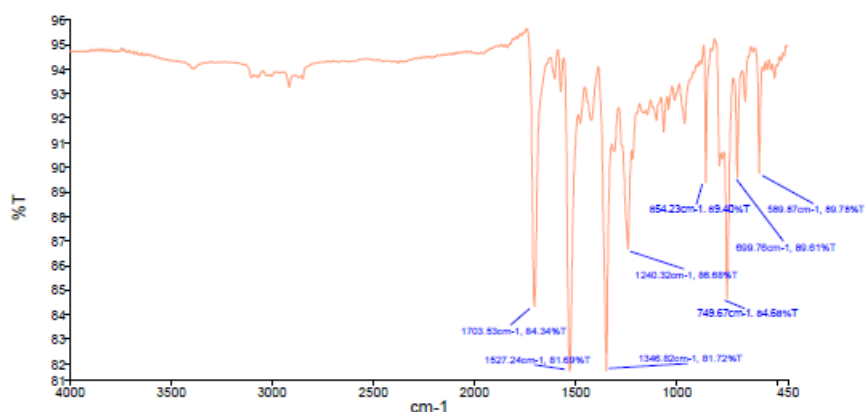


Fonte: Própria (2021).

### 3.5 4-AMINOACETOFENONA (4)

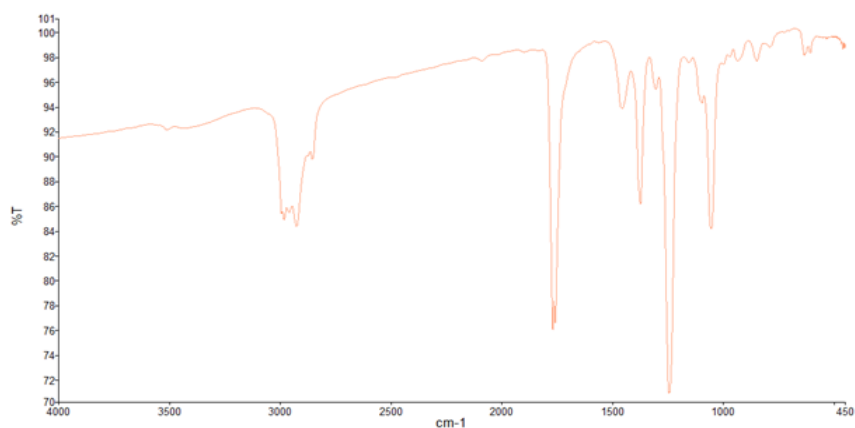
As análises no infravermelho comprovam que não ocorreu a biorredução do composto carbonílico ao álcool correspondente. As Figuras 10-11 representam os espectros de IV obtidos para o composto **4** (4-aminoacetofenona) e seu bioproduto de biorredução. A partir da análise do espectro de infravermelho os compostos puderam ser caracterizados. No espectro IV do substrato **4** (Figura 10) verificamos a presença de banda de carbonila de cetona em  $1.703\text{ cm}^{-1}$ . Na Figura 11, espectro do bioproduto, constatamos que não houve reação de biorredução, pois não observamos uma banda simétrica próxima a  $3.300\text{ cm}^{-1}$  correspondente à hidroxila de álcool, o que nos sugere a não formação do álcool 1-(4-aminofenil)etanol.

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



Fonte: Própria (2020).

**Figura 11:** Bioproduto da biorredução da 4-aminoacetofenona com células íntegras do grão-de-bico



Fonte: Própria (2021).

#### 4 CONCLUSÃO

As biotransformações dos substratos: acetonaftona (1), 2,4-dicloroacetofenona (2), acetofenona (3), 4-aminoacetofenona (4), todas cetonas, utilizando o grão-de-bico como biocatalisador, revelam a ausência de enzimas redutases, portanto, nenhum dos substratos foi convertido aos seus álcoois correspondentes. Conclui-se esse resultado através dos espectros de infravermelho dos bioprodutos que não apresentam a banda característica de hidroxila de álcool. Assim, pode-se afirmar que o grão-de-bico não atua como biocatalisador em reações de biorredução.

#### AGRADECIMENTOS

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

#### REFERÊNCIAS

ALCALDE, M. et al. Environmental biocatalysis: from remediation with enzymes to novel green processes. **Trends in Biotechnology**, v.24, n.6, p.281-287, 2006.

ANDRADE, L. 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.

BRADFORD, M. M. A. Rapid and Sensitive Method for the Quantitation of Microgram Quantities of Protein Utilizing the Principle of Protein-Dye Binding. **Analytical Biochemistry**, v.72, p.248- 254, 1976.

BIRCH, A. N. et al. Influence of commercial baker's yeasts on bread aroma profiles. **Food Research International**, v.52, n.1, p.160-166, 2013.

BIZERRA, A. M. C. et al. Reduction processes biocatalyzed by *Vigna unguiculata*. *Tetrahedron-Asymmetry*, v.21, n.5, p.566-570, 2010.

CANNIATTI-BRAZACA, S.G.; SILVA, F.C. da. Enhancers and inhibitors of iron availability in legumes. *Plant Food for Human Nutrition*, v. 58, p. 1-8, 2004.

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-dubacao-verde-compostagem.pdf>>. Acesso em: 12 jun. 2020.

HARTREE, E. F. Determination of protein a modification of the Lowry Method that gives a linearphotometric response. **Analytical Biochemistry**, v.48, p.422-427, 1972.

ILLANES, A. et al. Recent trends in biocatalysis engineering. **Bioresource Technology**, v.115, p.48-57, 2012

KURBANOGLU, E. B.; ZILBEYAZ, K.; KURBANOGLU, N. I.; OZDAL, M.; TASKIN, M.; ALGUR, O. F. 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.

LIMA, A. W. O.; ANGNES, L. Biocatálise em meios aquo-restritos: fundamentos e aplicações em química analítica. **Química Nova**, v.22, p.229-245, 1999.

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**, v.67, p.1637-1643, 2006.

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

MIRABAL-GALLARDO, Y.; SORIANO, M. D. P. C.; SANTOS, L. S. Stereoselective bioreduction of  $\beta$ -carboline imines through cell-free extracts from earthworms (*Eisenia foetida*). **Tetrahedron Asymmetry**, v.24, n.8, p.440-443, 2013.

Pavia, D.L., Lampman, G.M., Kriz, G.S., Vyvyan, J.R., **Introdução à Espectroscopia**, Cengage Learning, 2010.

SANTIAGO, P. A. L. **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 em Biotecnologia e Recursos Naturais) - Universidade do Estado do Amazonas, Manaus, 2017.

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

SOUZA, J. M. O. **Biorredução de cetonas aromáticas utilizando células íntegras de *Helianthus annuus* L. (Girassol).** 2012. 138 f. Dissertação (Mestrado em Química) - Centro de Ciências, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2012.

Williams, P.C. and Singh, U. (1987) **Nutritional quality and the evaluation of quality in breeding programs.** In: Saxena, M.C. and Singh, K.B., Eds., *The Chickpea*, CAB International, Wallingford