

# REDUÇÃO DE COMPOSTOS CARBONÍLICOS POR FUNGOS ISOLADOS NA BAHIA

Danielle Silva Santana<sup>1</sup>; Heiddy Marquez Alvarez<sup>2</sup>; Serly Santiago Machado<sup>3</sup>; Angelica Maria Lucchese<sup>4</sup>

<sup>1</sup>. Graduada em Ciências Farmacêuticas, Universidade Estadual de Feira de Santana, e-mail: [danyasantana\\_5@hotmail.com](mailto:danyasantana_5@hotmail.com)

<sup>2</sup>. Orientadora, Departamento de Exatas, Universidade Estadual de Feira de Santana, e-mail: [marquezheiddy@gmail.com](mailto:marquezheiddy@gmail.com)

<sup>3</sup>. Departamento de Exatas, Universidade Estadual de Feira de Santana, e-mail: [sserly2005@yahoo.com.br](mailto:sserly2005@yahoo.com.br)

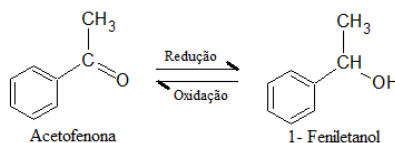
<sup>4</sup>. Departamento de Exatas, Universidade Estadual de Feira de Santana, e-mail: [angelica.lucchese@gmail.com](mailto:angelica.lucchese@gmail.com)

**PALAVRAS-CHAVE:** biocatálise, fungos, semi-árido, redução, acetofenona

## INTRODUÇÃO

Alguns produtos de interesse em diversas áreas industriais podem ser obtidos com sucesso através do processo biocatalítico realizado em laboratório, tendo micro-organismos como fonte de enzimas para catalisar as reações (CONTI et al, 2001). Culturas microbianas podem ser utilizadas para catalisar a redução de cetonas a álcoois quirais que podem ser utilizados como intermediários na síntese de vários fármacos (HOMANN et al, 2004). A investigação do potencial biocatalítico desses micro-organismos, em especial o fungo do gênero *Aspergillus* na redução da acetofenona proporcionará o aumento do conhecimento da atuação enzimática dessa espécie em transformações de cetonas, bem como a obtenção de produtos de interesse industrial.

O produto esperado para esta reação é o 1-feniletanol (figura 1), que é um álcool quiral de interesse industrial, que pode ser útil, dentre outras aplicações, como intermediário para a produção de fármacos. O objetivo geral da pesquisa foi desenvolver um processo biocatalítico utilizando fungos isolados no semiárido baiano que permita biorreduzir compostos carbonílicos.



**Figura 1** – Esquema da redução e oxidação envolvendo acetofenona e 1-feniletanol

## MATERIAL E MÉTODO

### Micro-organismo

Os fungos do gênero *Aspergillus* foi cedido pelo Laboratório de Micologia da Universidade Estadual de Feira de Santana (UEFS) tendo sido coletado de folhas em decomposição na região do semiárido. Com estes fungos, codificados como 26/07 e 35/07, foi realizada a investigação de potencial biocatalítico de cada um, utilizando como modelo a molécula de acetofenona, para a identificação de sua potencialidade como biorredutor.

### Avaliação do crescimento em meio líquido

Para a avaliação do crescimento em meio líquido, os fungos foram pré-cultivados em meio YM (3 g extrato de levedura, 3 g extrato de malte, 5 g peptona, 3 g dextrose, 20 g Ágar, 1 L de água destilada), distribuídos em placas de Petri com 9 cm de diâmetro, previamente esterilizadas em autoclave. As placas foram colocadas na BOD, durante 8 dias, a 30 °C, para que os fungos crescessem. Após os 8 dias de crescimento dos fungos, foram colocados 5 discos (circunferência com 6 mm de diâmetro) de fungos em recipientes de vidro de 250 mL contendo 100 mL de meio YM líquido (3 g extrato de levedura, 3 g extrato de malte, 5 g peptona, 3 g dextrose, 1 L de água destilada). Foram preparadas cinco repetições para cada dia e esses tratamentos foram colocados na estufa para que houvesse o crescimento. Durante 14 dias, cinco tratamentos por dia foram filtrados à vácuo e o micro-organismo retido no

papel filtro foi colocado na estufa, a 60 °C, durante 24 h para secar. Após esse período, obteve-se a massa seca do micro-organismo a cada dia, em quintuplicata.

### **Avaliação da cinética reacional**

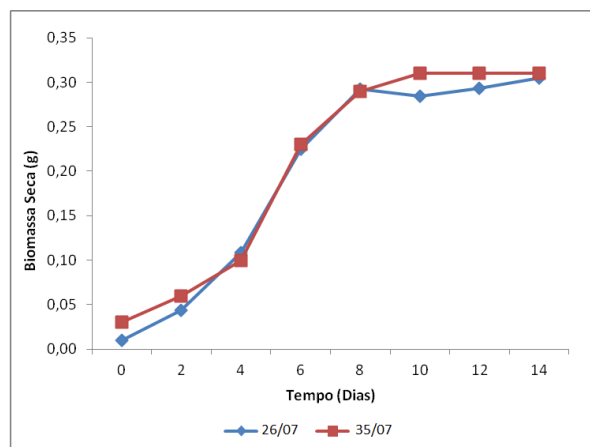
Para isso, 5 discos de micro-organismos, pré-cultivados nas mesmas condições já citadas, foram adicionados a 100 mL de meio YM, preparado conforme citado. Estes tratamentos (também feitos em quintuplicata) foram colocados na BOD, a 30 °C, durante 4 dias para que os micro-organismos crescessem. Após esse período, foram adicionados aos tratamentos 200 µL de solução de substrato (50% acetofenona, 50% etanol).

Os tratamentos que receberam a solução de substrato foram transferidos para uma câmara incubadora com agitação orbital (Shaker; Marconi modelo MA-420), a 30 °C e 150 rpm. A partir desse momento, foram feitas coletas diárias de 2 mL de meio reacional de cada tratamento durante 5 dias. As amostras coletadas foram extraídas em 2 mL de acetato de etila e analisadas por cromatografia gasosa, para avaliar a porcentagem de conversão da acetofenona a cada dia.

Diante dos resultados deste experimento, selecionou-se apenas um dos fungos (aquele que melhor reagiu) para dar prosseguimento aos testes. Em seguida, foi realizado mais um experimento para testar a influência de uma variável no processo de conversão da acetofenona. Alterou-se a inclusão da agitação nos 4 dias de crescimento dos micro-organismos, sendo que estes foram colocados na câmara incubadora de agitação orbital, a 30 °C e 150 rpm para o crescimento. As demais condições do experimento foram mantidas.

## **RESULTADOS E DISCUSSÃO**

Diante da avaliação diária do crescimento dos fungos em estudo, foi possível a construção da curva de crescimento dos mesmos em meio YM líquido, que foi determinada através da avaliação da produção massa seca durante 14 dias e está apresentada na Figura 2.



**Figura 2** – Curva de crescimentos dos fungos 26/07 e 35/07 em meio YM líquido durante 14 dias

É possível observar através da análise da curva de crescimento que a fase log (fase de crescimento) dos fungos em estudo situa-se entre o 2º e 8º dia de incubação. A partir do 8º dia, tem-se início a fase estacionária (fase em que os micro-organismo se multiplicam e morrem concomitantemente). Tendo em vista que na fase log a produção enzimática é elevada e que na fase estacionária tem-se uma grande concentração de metabólitos secundários que podem interferir na reação, escolheu-se o 4º dia (mais ou menos o meio da fase log) para a adição do substrato e início da reação.

Pela avaliação da cinética de reação com coletas diárias do experimento realizado com os dois fungos no meio YM com crescimento de 4 dias em repouso e reação sob agitação, foi

possível a construção da Tabela 1, que traz a conversão (c) e o excesso enantiomérico (ee) que foram determinados por CG.

**Tabela 1** – Cinética de reação dos fungos 26/07 e 35/07 em meio YM líquido com crescimento de 4 dias em repouso e reação sob agitação

Tempo (h)	26/07		35/07	
	c(%)	ee(%)	c(%)	ee(%)
24	67	96 (S)	70	96 (S)
48	91	95 (S)	87	95 (S)
72	82	94 (S)	93	94 (S)
96	83	94 (S)	88	95 (S)
120	84	98 (S)	88	94 (S)

c = conversão; ee = excesso enantiomérico.

Com os resultados da cinética reacional dispostos na tabela acima, é possível perceber que as duas linhagens de *Aspergillus* em estudo foram capazes de biorreduzir a acetofenona a (S)-1-feniletanol com conversões e excessos enantioméricos elevados. Os melhores tempos de incubação foram de 48 horas para a cepa 26/07 e 72 horas para a cepa 35/07. Após esse tempo de conversão máxima, pode acontecer a reação inversa ou reações de degradação dos produtos, o que faz com que a porcentagem de conversão seja menor a partir desses dias. Da mesma maneira, Araújo (2010) encontrou comportamento da cinética de conversão de acetofenona semelhante, empregando a levedura *Candida tropicalis*, observando que, com tempos maiores para a biotransformação, houve um decréscimo na conversão, que pode ser justificado pela presença de um sistema competitivo no qual há concomitante oxidação do produto formado.

Diante desses resultados, foi escolhida apenas uma cepa para dar continuidade aos testes. A cepa escolhida foi a 26/07 pelo fato de ela apresentar um pico máximo de conversão da acetofenona com 48 horas de reação (tempo menor do que o apresentado pela cepa 35/07). A cepa 26/07 também apresentou porcentagens de conversão maiores que 90% com excessos enantioméricos para o enantiômero S também acima de 90%. A partir disso, outro experimento foi realizado, modificando-se algumas condições reacionais no intuito de verificar a interferência dessas modificações nas porcentagens de conversão e enantiosseletividade dos produtos.

A partir do experimento realizado com o fungo 26/07 no meio YM com crescimento de 4 dias e reação sob agitação, foi possível a construção da Tabela 2, que traz a conversão (c) e o excesso enantiomérico (ee) que foram determinados por CG.

**Tabela 2** – Cinética de reação do fungo 26/07 em meio YM líquido com crescimento de 4 dias e reação sob agitação

Tempo (h)	26/07	
	c(%)	ee(%)
24	12	80 (S)
48	25	76 (S)
72	31	69 (S)
96	34	69 (S)
120	36	69 (S)

c = conversão; ee = excesso enantiomérico.

Comparando-se os resultados desse experimento com os resultados da tabela 1, é possível perceber que a agitação no crescimento dos fungos contribuiu para a redução das porcentagens de conversão e dos excessos enantioméricos. As porcentagens de conversão ficaram abaixo de 36% e os excessos para o enantiômero S ficaram abaixo de 80%.

### CONSIDERAÇÕES FINAIS

Diante dos resultados, é possível concluir que a agitação no crescimento dos fungos foi prejudicial para a conversão da acetofenona, tendo em vista que as porcentagens de conversão nestas condições foram bem menores em relação às porcentagens de conversão obtidas no experimento realizado com crescimento dos fungos em repouso. Como a meta deste trabalho é a busca de biocatalisadores para utilização em processos de redução, na derivatização de produtos naturais carbonilados, conversões mais elevadas em baixos tempos reacionais são desejáveis. Desta forma, sugere-se que novas condições reacionais sejam avaliadas com o objetivo de identificar as melhores que possam levar ao produto de redução com rendimentos mais elevados e/ou em menores tempos de reação.

### REFERÊNCIAS

ARAÚJO, D. M. F. **Síntese quimioenzimática da (S)-5-hidroxi-2-(1-hidroxi-2-nafto[2,3-b]furano-4,9-diona e emprego das leveduras *Candida tropicalis* e *Pichia membranifaciens* na redução da acetofenona e derivados**. 2010. 219f. Tese (Doutorado) – Universidade Federal do Ceará, Fortaleza.

CONTI, R.; RODRIGUES, J. A. R.; MORAN, P. J. S. Biocatálise: avanços recentes. **Química Nova**, Campinas, v. 24, n. 5, p. 672-675, 2001. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/qn/v24n5/a14v24n5.pdf>>. Acesso em: 16 out. 2010.

HOMANN, M. J.; VAIL, R. B.; PREVITE, E.; TAMAREZ, M.; MORGAN, B. DODDS, D. R.; ZAKS, A. Rapid identification of enantioselective ketone reductions using targeted microbial libraries. **Science Direct**. Tetrahedron, n. 6, 2004.