

PRODUÇÃO DE BIOAROMAS A PARTIR DE ISOEUGENOL UTILIZANDO FUNGOS ISOLADOS DO SEMI-ÁRIDO BAIANO.

Maria Hortência Machado Carneiro¹; Heiddy Marquez Alvarez²; Angélica Maria Lucchese³; Serly Santiago Machado⁴.

1. Bolsista PROBIC, Graduando em Engenharia Civil, UEFS, e-mail: hortenciamachado.uefs@yahoo.com.br.

2. Orientadora, Departamento de Ciências Exatas, UEFS, e-mail: marquezheiddy@gmail.com

3. Co-Orientadora, Departamento de Ciências Exatas, UEFS, e-mail: angelica.lucchese@gmail.com

4. Departamento de Exatas, Universidade Estadual de Feira de Santana, e-mail: sserly2005@yahoo.com.br

PALAVRAS-CHAVE: fungos, oxidação, isoeugenol, vanilina.

INTRODUÇÃO

Um dos aromatizantes mais utilizados pelas indústrias de alimentos, bebidas e fármacos é a vanilina, composto tradicionalmente extraído da orquídea *Vanilla planifolia*, de difícil cultivo e cujo processo de extração apresenta pouco rendimento, tornando o preço do produto bastante alto. Segundo Pacheco e Damasio (2010) “os custos da vanilina natural oscilam entre US\$ 1.200,00 e 4.000,00 por quilo, em contraste com o preço da vanilina sintética, cujo quilo custa menos de US\$ 15,00”.

Devido aos elevados custos e ao baixo rendimento na produção de vanilina natural tem-se buscado desde 1874 formas de sintetizar a vanilina através do eugenol para comercialização a preços mais baixos (PACHECO, JUNIOR e MORGADO, 2007).

Quimicamente o isoeugenol, um produto de isomerização do eugenol, é utilizado como material de partida na obtenção da vanilina, empregada na aromatização de doces, chocolates, sorvetes e tabacos (RAMACHANDRA e RAVISHANKAR, 1999). Ele pode ser facilmente extraído do óleo essencial de cravo da Índia, obtido através do botão florão do craveiro da Índia, de baixo custo por ser produzido em várias regiões da Bahia.

A vanilina sintetizada a partir do isoeugenol pode ser considerada um produto natural pois são produzidas por um processo biocatalítico, por meio de compostos de fontes renováveis mediante o uso de extrato enzimático bruto ou ainda por cultura de micro-organismos (DAUGSCH e PASTORE, 2005).

MATERIAIS E MÉTODOS

Triagem de Micro-organismos

Os micro-organismos (fungos) utilizados pertencem a Coleção de Cultura de Micro-organismos do Estado da Bahia (CCMB) da Universidade Estadual de Feira de Santana-BA, selecionados aleatoriamente. Os experimentos foram conduzidos no Laboratório de Química de Produtos Naturais e Bioativos da UEFS (Lapron). Para a manutenção da viabilidade destes micro-organismos sem mudanças morfológicas, fisiológicas ou genéticas, usou-se o método de preservação de Castellani (1967) a temperatura ambiente. Para verificação da pureza e reativação do crescimento os fungos foram repicados em meio ágar YM (Yeast Mold and Broth), constituído de 3,0 g extrato de levedura; 3,0 g de extrato de malte; 5,0 g de peptona; 5,0 g dextrose para 1L de água destilada e armazenados a 30 °C em câmara de incubação de Baixa Demanda de Oxigênio (BOD), durante 7 dias. Na realização da triagem utilizou-se a metodologia HOMANN, et al., (2004) de placas de multi-poços com modificações. Em frascos de 10 mL adicionou-se 5,0 mL do caldo YM para 1L de água

destilada, que foi autoclavado. Após esfriar acrescentou-se um disco de micro-organismo, com circunferência de 5 mm e incubou os frascos na BOD a 30 °C por 96 h, em repouso. Posteriormente uma alíquota de 10 µL de uma solução de isoeugenol em etanol 1:1 (v/v) e os mesmos foram armazenado no agitado orbital a 30°C, 150 rpm por 72h. Após este período de reação acrescentou-se 2,0 mL de acetato de etila para a extração do produto biotransformado. Os experimentos foram realizados em triplicata. As amostras diluídas em acetato de etila foram analisadas por cromatografia a gás (CG) em equipamento da marca Varian CP-3380 com detector de ionização de chama (DIC), com coluna quiral CYDEX-B (25m×0,22m×0,22 µm) da marca SGE. Mantendo-se um fluxo de 1 mL min⁻¹ de He (hélio) como gás de arraste, e aquecimento com temperatura inicial de 70°C com gradiente de 7°C min⁻¹ até 240°C, a temperatura do injetor e detector foi de 220°C. (tem que ver amanhã) A análise quantitativa foi obtida pela integração do cromatograma, pelo método da normalização e para determinação da conversão foi utilizada a relação entre as áreas do substrato e produto nos cromatogramas.

Os micro-organismos testados foram do gênero *Penicillium* sp, (07/06; 35/06; 101/06; 13/07; 26/07; 29/07; 35/07); *Periconia* (82/06) e *Myrotecium* (12/07). 55 espécies pertencentes aos diversos gêneros de fungos do semiárido entre eles: *Acremonium*, *Acrogenosporo*, *Alternria*, *Ascomycota*, *Aspergillus*, *Beltraniella*, *Chloridium*, *Cocleopu*, *Gonytrichum*, *Idriella*, *Memnoniella*, *Periconia*, *Picnídeo*, *Pithomyces*, *Pseudobotrytis*, *Sarcopodium*, *Speiropsis*, *Thozetella*, *Volutella*, *Beltrania*, *Chloridium Gonytrichum*, *Pestalotiopsis*, *Cladosporium*, *Dictyochaeta*, *Dictyosporium*, *Memnoniella*, *Curvularia*, *Stachybotrys*, *Speiropsis*, *Thozetella*, *Volutella*. Também foram testados. Estes micro-organismo são oriundos da Coleção de Cultura de Micro-organismos do Estado da Bahia (CCMB) da Universidade Estadual de Feira de Santana (UEFS) coletados nos municípios pertencentes ao semiárido brasileiro, de materiais vegetais em decomposição.

Substrato

O substrato isoeugenol foi adquirido comercialmente.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A primeira etapa deste trabalho envolvia a seleção de micro-organismo produtores de enzimas capazes de bioconverter o isoeugenol (produto de isomerização do eugenol) em vanilina.

A vanilina (conhecida como aroma da baunilha) é um produto de interesse devido a que é amplamente utilizado como flavorizante na indústria de alimentos, bebidas e também pela industria farmacêutica. O esquema da figura 1 mostra a transformação do eugenol em isoeugenol.

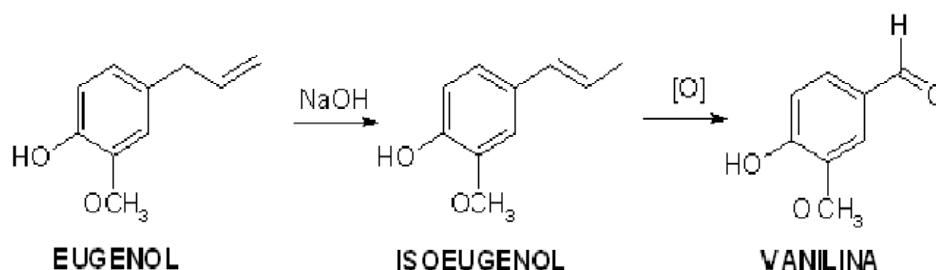


Figura 1. Obtenção da vanilina.

Os fungos estudados inicialmente, 26/07, 35/07, 4Ag12, 07/06, 42/07, 1MS, 101/06, 13/07, 2M2, 29/07, 86/06, 2M3, 35/06, 4Ag6, 88/06, 4Ag7, não biotransformaram o isoeugenol.

No Teste de Indução, após 24h de incubação em BOD, o fungo 101/13 (I2) foi o que apresentou maior crescimento visível, com um raio de 1,2 cm, os outros fungos não apresentaram um crescimento visível. Isso mostra que este fungo é capaz de metabolizar a única fonte de carbono disponível, o isoeugenol, e, portanto está produzindo as enzimas necessárias para metabolizar esse substrato.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Apesar de terem sido realizados diferentes testes com 55 espécies de microorganismos em diferentes tempos de reação, pode-se observar por cromatografia que não houve conversão de isoeugenol em vanilina. Isto se deve, principalmente, a capacidade antifúngica do isoeugenol e da vanilina que em pequena quantidade inibe o crescimento dos microorganismos.

REFERÊNCIAS

DOUGSCH, A. e PASTORE, G. **Obtenção de vanilina: oportunidade biotecnológica.** Química Nova, v.38, p642-645, 2005.

PACHECO, S.M.V.; MORGADO, A.F. e FURIGO JÚNIOR, A. **Biossíntese de vanilina por três isolados de *Pycnoporus sanguineus*.** In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ENGENHARIA QUÍMICA, 17, 2008, Recife. *CD Anais COBEQ 2008*. Recife, 2008.

RAMACHANDRA RAO S., RAVISHANKAR G. A., **Biotransformation of isoeugenol to vanilla flavour metabolites and capsaicin in suspended and immobilized cell cultures of *Capsicum frutescens*: study of the influence of β -cyclodextrin and fungal elicitor.** *Process Biochemistry* 1999, 35, 341 – 348.

PACHECO, S.N.V e DAMASIO, F. **Vanilina: origem, propriedades e produção.** Química Nova na Escola. v.32, p.216, Novembro 2010.