



# ENEPEX

ENCONTRO DE ENSINO,  
PESQUISA E EXTENSÃO

8° ENEPE UFGD • 5° EPEX UEMS

## DESENVOLVIMENTO DE ENZIMAS IMOBILIZADAS EM SUPORTE DE QUITOSANA VISANDO À APLICAÇÃO EM REAÇÕES DE MANNICH

Felipe Oliveira Nunes<sup>1</sup>, Nelson Luís de Campos Domingues<sup>2</sup>.

UFGD\_FACET, C. Postal 533, 79.804-970 Rodovia Dourados-MS, E-mail:

felipe\_nunes23@hotmail.com

<sup>1</sup> Bolsista de iniciação Científica UFGD. <sup>2</sup> Professor adjunto 3 UFGD

### RESUMO

Este trabalho visou à obtenção de novos biocatalizadores, feitos a partir da imobilização de variadas enzimas em suporte de quitosana  $\beta(1-4)$ -2-amino-2-deoxi-D-gilcose aplicados na reação de Mannich. O suporte de quitosana foi imerso em solução de glutaraldeído sem agitação, posteriormente filtrado e o sólido foi agitado em solução enzimática. Após o preparo, o catalisador foi inserido na reação de Mannich que consiste na adição de um aldeído, uma cetona e uma amina. A enzima imobilizada obteve um melhor resultado, considerando o tempo e o rendimento observado. O processo de imobilização é viável, pois reduz o tempo reacional mantendo um rendimento próximo ao original e possibilita a reutilização do catalisador.

**Palavras-chave:** Biocatalizadores, imobilização enzimática, quitosana.

### INTRODUÇÃO

Biocatálise é uma área que vem sendo muito explorada recentemente, principalmente a área de catálise enzimática. Catalisadores enzimáticos possuem alta seletividade, atividade e especificidade, o que torna a biocatálise mais vantajosa comparada à catálise química.

Um pequeno problema encontrado ao utilizar enzimas como catalisadores é como retirá-las do meio reacional. Isso torna o processo catalítico caro decorrente do

valor agregado correspondente às enzimas e torna o processo em larga escala economicamente inviável. Ao utilizar enzimas imobilizadas esse tipo de problema praticamente não existe, visto que as mesmas são imobilizadas em suporte sólido praticamente insolúvel. Assim, o catalisador pode ser retirado facilmente do meio reacional e torna-se possível a reutilização do mesmo.

Imobilização de enzimas é uma área de grande interesse para a química sintética e para a indústria, pois permite a reutilização do catalisador várias vezes sem perdas significativas de rendimento. Isso torna possível a aplicação destes materiais em diversos tipos de reação, e são capazes de gerar uma grande quantidade de compostos enantiomericamente puros.

Neste trabalho utilizou-se quitosana  $\beta(1-4)$ -2-amino-2-deoxi-D-gilcose como suporte para as imobilizações, por ser considerado um excelente suporte para imobilização de enzimas devido à grande presença de grupos amino e hidroxilas disponíveis em sua estrutura. Possuem propriedades hidrofílicas, biocompatível, biodegradável, e antibactericida, tem baixo custo e vem sendo abundantemente empregada em áreas como medicina, agricultura, farmacologia e entre outras. (OLIVEIRA; VIERA 2006)

Portanto, este trabalho tem como objetivo o desenvolvimento de novos catalisadores enzimáticos suportados em quitosana e a aplicação destes nas reações de Mannich.

### **REAÇÃO DE MANNICH:**

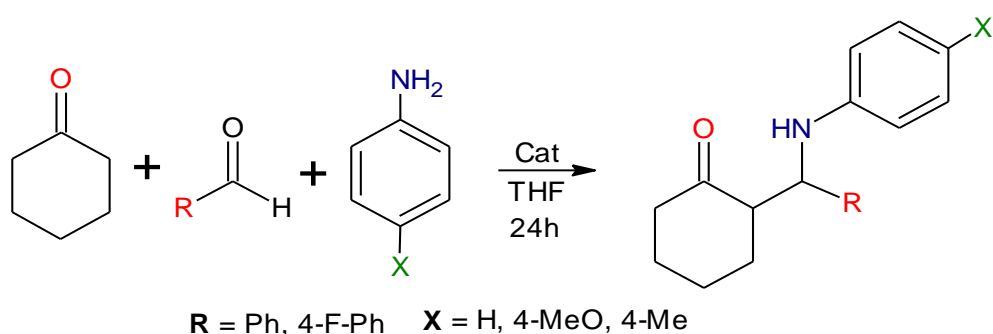
As reações de mannich consistem, basicamente, na condensação de um substrato contendo hidrogênio ativo como por exemplo, fenóis, heterocíclicos nitrogenados, entre outros, juntamente com um aldeído, principalmente formaldeído, e uma amina primária ou secundária como a anilina.

O grande valor agregado às bases de mannich atribui-se ao fato de que esses compostos são muito reativos, permitindo a obtenção de vários outros compostos a partir dos mesmos, como aminoálcoois. Além de possuir uma alta reatividade, eles conferem uma função básica, tornando assim seus derivados solúveis em solventes aquosos, quando estão em forma de sais de amina.

## METODOLOGIA

A imobilização das enzimas foi realizada em 1,0 g suporte de quitosana, por meio de imersão da mesma em glutaraldeído por 1 hora. A solução foi filtrada e o sólido resultante foi imerso em uma solução enzimática com 0,45g de enzima em 10 ml de água, por 12 horas sobre agitação. Após as 12 horas o catalisador foi filtrado, lavado com água destilada e seco por 24 horas.

Após a imobilização a atividade catalítica da enzima imobilizada foi testada nas reações de Mannich, como descrito na figura 1.



**Figura 1:** Esquema geral da reação de Mannich

Os rendimentos obtidos pelas reações de Mannich estão representados a seguir, na Tabela 1.

Exp	Reação	Catalisador/ quantidade (g)	Rend (%)
1	M1	Q/ 0,1	-
2	M1	QIQ* / 0,05g	20
3	M1	Q*/0,1	5
4	M1	QIQ*/ 0,5g	40
5	M2	QIQ*/ 0,5g	80
6	M3	QIQ*/ 0,5g	75

7	M4	QIQ*/ 0,5g	50
8	M5	QIQ*/ 0,5g	56

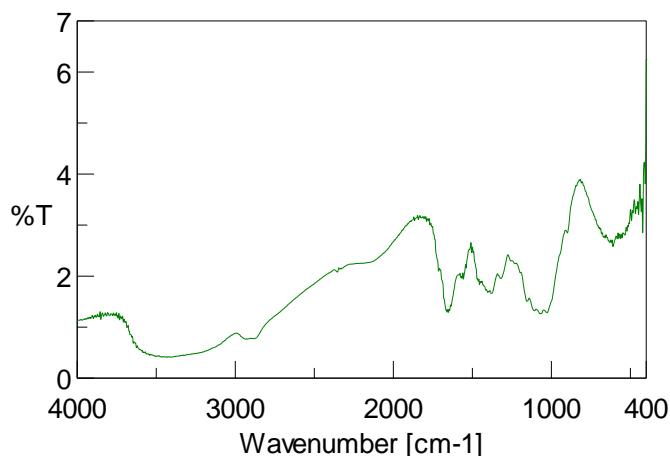
**Tabela 1.** Tabelas de Rendimentos

M1=Ciclohexanona, anilina e formaldeído (4,92: 4,92: 4,92 mmol);  
M2=Ciclohexanona, anilina e 4-fluorbenzaldeído (4,92: 4,92: 4,92 mmol);  
M3=Ciclohexanona, anilina e benzaldeído (4,92: 4,92: 4,92 mmol);  
M4=Ciclohexanona p-Toluidina, formaldeído (4,92: 4,92: 4,92 mmol);  
M5=Ciclohexanona, p-anisidina, formaldeído (4,92: 4,92: 4,92 mmol)  
Q\*=Quitosana. QIQ\* = quimosina suportada em quitosana. Q=quimosina.

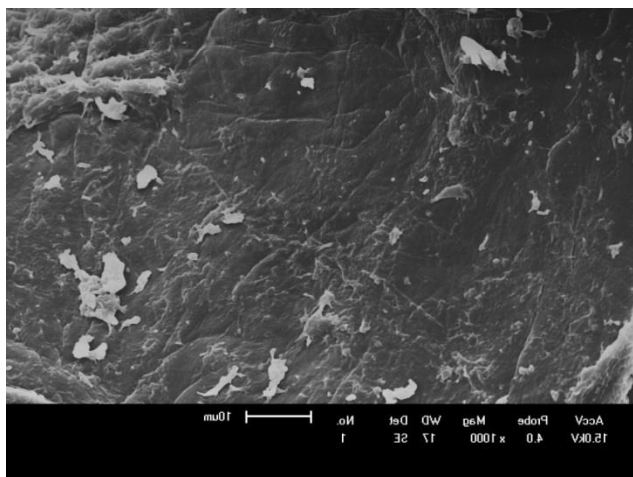
Como podemos observar, a reação contendo apenas a quimosina livre (exp 1) não apresentou resultado. Todavia a utilização de uma quantidade cinco vezes menor da enzima suportada em quitosana apresentou rendimento de 20%. Este dado nos informa que há uma concomitância entre a catálise realizada pelos grupamentos NH<sub>2</sub> presentes na quitosana (exp 3) bem como a biocatálise realizada pela enzima. Então, a quantidade foi aumentada e as reações produziram melhores resultados, principalmente para aldeídos benzoicos contendo átomo muito eletronegativo (F). É de suma importância mencionar que a utilização de quimosina nas reações de Mannich não é citada na literatura.

Cumpramos informar que novos estudos estão em processo voltados tanto à reutilização do catalisador quanto ao aumento do rendimento do produto desejado e dados promissores estão sendo obtidos.

Foram feitas análises por meio de um espectrômetro de infravermelho com Transformada de Fourier e por Microscopia Eletrônica de Varredura, as imagens seguem abaixo:



**Figura 2:** FT-IR de Quimosina imobilizada em quitosana.



**Figura 3.** Microscopia eletrônica de varredura

## CONCLUSÃO

Com esse trabalho comprovou-se a efetividade do método de imobilização enzimática em quitosana. Através dos espectros de FT-IR observa-se que a imobilização da enzima ao suporte orgânico ocorreu com sucesso, pois as bandas presentes no material resultante correspondem às bandas observadas na enzima e na quitosana. Já a atividade catalítica pode ser comprovada por meio da reação de Mannich, sendo a quimosina a enzima imobilizada mais viável considerando tempo gasto e o rendimento gerado.

## AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem o apoio recebido pela UGFD, CNPq, LACOB.

## REFERÊNCIAS

1. DEMIR, S.; GÖK, B. S.; KAHRAMAN, M. V.,  $\alpha$ -amylase immobilization on functionalized nano  $\text{CaCO}_3$  by covalent attachment. *Starch/Starke* 2012, 64, 3.
2. R. W. Z. de OLIVEIRA ; I. C. VIEIRA , Construção e aplicação de biossensores usando diferentes procedimentos de imobilização da peroxidase de vegetal em matriz de quitosana. *Quim. Nova*, 2006, 29, 932.

3. CASTRO, H. F.; ANDERSON, W. A. Fine chemical by biotransformation using lipases. *Química Nova*, v. 18, n. 16, p. 544-554, 1995.
4. LIMA, S. A. C. Síntese de derivados de  $\beta$ -aminocetônicos via reação de Mannich utilizando biocatalizadores. 30 de março de 2012. 82 f. Dissertação (Mestrado em ciência e Tecnologia Ambiental)-UFGD Dourados-MS 2012.
5. A.J.R de Narváez; E.I Ferreira, aplicação das bases de mannich no campo de desenvolvimento de fármacos. *Química Nova*, v. 8, n. 1, 1985.