



## **FUNGOS DA PELE COMO BIOCATALISADORES NA OXIDAÇÃO DE COMPOSTOS DERIVADOS DE ENXOFRE.**

Evandro Silva (PIBIC/CNPq/UEM), Carla Porto (PQ), José E. Gonçalves (PQ), Arildo José Braz de Oliveira (PQ), Regina Aparecida Correia Gonçalves (PQ), Eduardo Jorge Pilau (Orientador), e-mail: ejpilau@uem.br.

Universidade Estadual de Maringá / Departamento de Química /Maringá, PR.

### **Ciências Exatas e da Terra- Química**

**Palavras-chave:** Biocatálise, enzimas, fungos da pele

### **Resumo:**

O presente estudo visou realizar o estudo do potencial enzimático de fungos isolados da pele humana, através de reações de biotransformação de insumos de fragrâncias derivados de enxofre. Compostos contendo enxofre possuem ampla aplicação na indústria cosmética e de perfumaria por serem substâncias que possuem alto poder olfativo (concentrações na ordem de baixos ppb). Devido a sua importância e aplicação, estudos do potencial enzimático de fungos filamentosos frente a essas substâncias foram realizados através de reações de biocatálise convencional e os produtos formados monitorados por cromatografia a gás acoplada a espectrometria de massas (CG-EM).

### **Introdução**

Ensaio de biocatálise vem, atualmente, sendo um dos métodos mais convenientes para a obtenção de moléculas de grande interesse industrial e acadêmico. Com a busca de processos ecologicamente corretos e a ampla diversidade de enzimas encontradas na natureza, reações utilizando enzimas para modificação estrutural de substâncias químicas tem sido estimulada, principalmente na indústria (MARSALOLI, 2013). Processos biocatalíticos podem ser realizados em condições reacionais brandas (temperatura ambiente, pressão atmosférica e pH entre 5 e 8) o que evita a formação de intermediários, minimiza o consumo de energia, além de possuir potencial de redução de custo, que são fatores relevantes dentro dos conceitos da química verde (DA SILVA, 2012). Além disso, enzimas são consideradas catalizadores altamente eficientes podendo realizar reações



orgânicas conhecidas de forma régio- e estéreo-seletiva. (MARSALOLI, 2014).

Atualmente há grande interesse industrial em reações de biotransformação oxidativas catalisadas por enzimas oxigenases, as quais podem realizar a inserção de um ou dois átomos de oxigênio (mono- e dioxigenases) em um ponto específico da molécula com alta regio- e estereosseletividade. A alteração enzimática de compostos derivados de enxofre pode ocorrer principalmente pela oxidação do enxofre para sulfóxido ou sulfona por enzimas mono-oxigenases. Os sulfóxidos enantiomericamente puros são intermediários sintéticos versáteis de numerosas reações (MATSUI, 2014). Neste contexto este trabalho teve como objetivo avaliar o potencial enzimático de fungos filamentosos da pele humana na oxidação de insumos de fragrância.

## **Materiais e métodos**

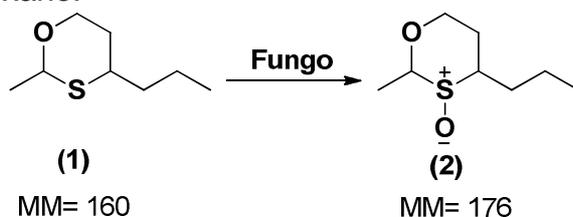
Para os ensaios de biocatálise foi utilizado como substrato a mistura *cis/trans*-2-metil-4-propil-1,3-oxatiano (oxano) (**1**), responsável pelo odor de maracujá e amplamente utilizado na indústria de fragrância. Os ensaios foram realizados com os fungos *Phoma* sp. (30M1-is1), *Aureobasidium* sp. (30M1-is2), *Cladosporium* sp. (28M7-is1), *Cladosporium* sp. (42M) e *Epicoccum* sp. (7M1) cultivados em placa de Petri contendo extrato de malte como meio de cultura (esterizado) por 48h em estufa. Após o crescimento, pequenos pedaços dos micélios foram recortados do ágar com auxílio de lâmina de bisturi estéril, transferidos para um Erlenmeyer de 250 ml contendo 50 ml de meio de cultivo líquido, inoculados por 1 dia em agitador orbital (28°C; 200 rpm) para obter o pré-inóculo, sendo posteriormente vertido em Erlenmeyer de 250 ml contendo 100 ml de meio de cultivo líquido, e inoculados de 2-4 dias em agitador orbital (28°C; 200 rpm). Após esse período de crescimento, as colônias (micélios) dos fungos filamentosos foram filtradas sob vácuo sendo adicionado após cerca de 2 g de massa celular (peso úmido) do micro-organismo a ser testado e 20 mg do substrato (oxano) em solução tampão fosfato ( $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ ;  $0,1\text{mol L}^{-1}$ ; pH 7,0) previamente esterilizada.

Os frascos reacionais foram mantidos sob agitação de 200 rpm, à 28°C e monitorados por alíquotas de 2 mL a cada 24, 48, 72 e 96h. As alíquotas retiradas foram tratadas com a adição de uma pequena porção de NaCl, extraídas com 2 mL de acetato de etila. A fase orgânica foi então coletada e seca com  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  anidro, e finalmente analisada por CG-EM.

## **Resultados e Discussão**

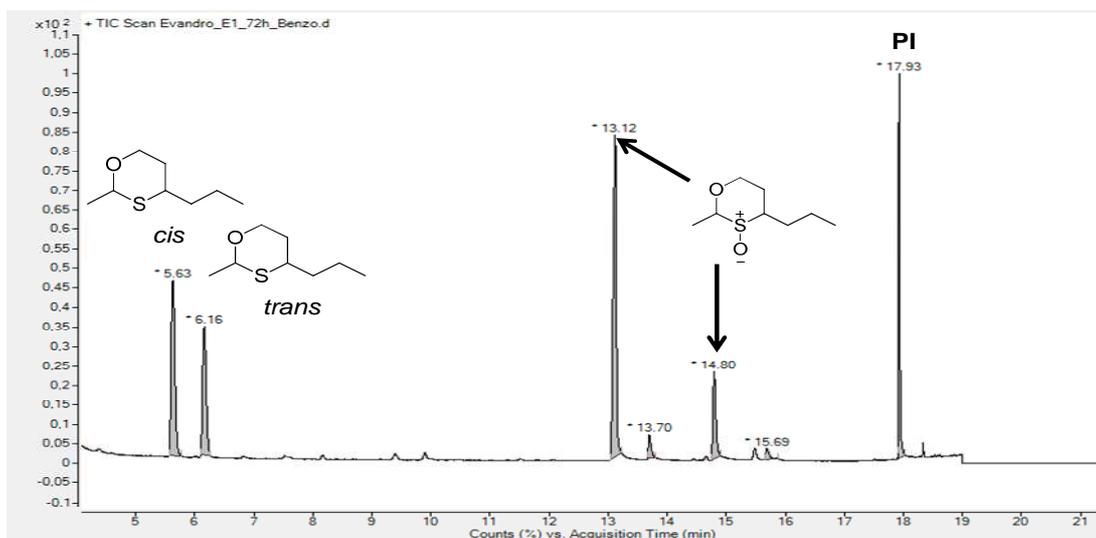


Dentre os substratos testados podemos destacar o fungo filamentoso *Aureobasidium sp.* (30M1-is2) que apresentou um alto potencial de oxidação para o substrato oxano.



**Figura 1** – Reação de oxidação do Oxano com a formação dos correspondentes sulfóxidos.

Na Figura 2, foi observado a formação de dois sinais cromatográficos com tempo de retenção de 13,12 e 14,80. Analisando os espectros de massas obtidos a partir desses sinais, foi possível observar que ambos apresentam os íons de  $m/z$  176 como  $[M]^+$  (íon molecular), que correspondem ao Oxano acrescido de um átomo de oxigênio  $[M+16]^+$  (Figura 1).

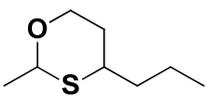
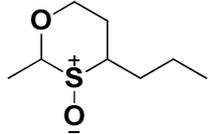


**Figura 2:** Cromatograma dos íons totais (CG-EM) da biocatálise Oxano com o fungo filamentoso *Aureobasidium sp.* (72h de reação). PI, Padrão Interno (benzofenona). Parâmetros de injeção: injetor modo Split (230°C) com divisão de vazão de 1:30; temperatura do forno inicial de 95°C, seguida de taxa de aquecimento de 3,5°C min<sup>-1</sup> até 160°C, então taxa de aquecimento de 40°C min<sup>-1</sup> até 260°C; volume de injeção de 4,0 µL; temperatura da fonte de íons 230°C e temperatura de interface 250°C.

A tabela 1 apresenta o percentual de conversão do substrato em produto, todos os micro-organismos testados foram capazes de oxidar o substrato **(1)** com altas taxas de conversão, com destaque para os micro-organismos *Phoma sp.* (30M1-is1) e *Aureobasidium sp.* (30M1-is2) com **90%** e **95%**, respectivamente.



**Tabela 1:** Biotransformação do derivado de enxofre por fungos filamentosos

Substrato	Produto	% Conversão do substrato 72h				
		30M1	30M2	28M	42M	7M
		90%	95%	67%	52%	70%

## Conclusões

Os ensaios de biocatálise de derivado de enxofre com os fungos filamentosos da pele humana confirmaram a presença de enzimas do tipo mono-oxigenases responsáveis pela oxidação do substrato testado. Demonstrando que fungos da pele são capazes de degradar compostos de fragrância como o Oxano, além de apresentarem grande potencial para serem empregados como biocatalisadores de reações de oxidação de enxofre, com rendimentos expressivos. Como continuidade deste trabalho, pretendemos estudar a seletividade das reações através de técnicas cromatográficas enantiosseletivas (usando colunas quirais).

## Agradecimentos

UEM/DQI, UEM/DFA, UNICESUMAR, PIBIC/CNPq, Universal CNPQ (Processo:477766/2013-2017) e à organização do evento.

## Referências

DA SILVA, C P. **Potencial enzimático da microbiota da pele humana e sua ação sobre insumos de fragrâncias.** 2012. 185f. Tese (Doutorado)-Programa de Pós Graduação em Química, Universidade Estadual de Campinas, Campinas 2012.

MARSAIOLI, A. J.; GONÇALVES, CAROLINE C. S.; Fatos e Tendências da Biotocatálise; **Quim. Nova**, v.36, n.10, p.1587-1590, 2013.

MARSAIOLI, A. J.; GONÇALVES, CAROLINE C. S.; Monitorando atividades enzimáticas com sondas fluorogênicas; **Quim. Nova**, v.37, n.6, p.1028-1036, 2014.

MATSUI, T; DEKISHIMA, Y; UEDA, M. Biotechnological production of chiral organic sulfoxides: current state and perspectives; **Applied microbiology and biotechnology**, v.98, p.7699-7706, 2014.