

UNIVERSIDADE TECNOLÓGICA FEDERAL DO PARANÁ

DEPARTAMENTO DE QUÍMICA

CURSO DE BACHARELADO EM QUÍMICA

FILIFE KALIL DA SILVA NAVES

**BIORREDUÇÃO DA DIBENZALACETONA MEDIADA POR
ENZIMAS PRESENTES NA CENOURA**

TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO

**PATO BRANCO
2021**

FILIPPE KALIL DA SILVA NAVES

**BIORREDUÇÃO DA DIBENZALACETONA MEDIADA POR
ENZIMAS PRESENTES NA CENOURA**

**ENZYME-MEDIATED BIOREDUCTION OF DIBENZALACETONE
PRESENT IN CARROT**

Trabalho de conclusão de curso, apresentado à Comissão de Diplomação do Curso de Bacharelado em Química da Universidade Tecnológica Federal do Paraná (UTFPR), Campus Pato Branco, como requisito parcial para obtenção do título de Bacharel em Química.

Orientador: Prof. Dr. Davi Costa Silva

Pato Branco – PR
2021



[4.0 Internacional](https://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/)

Esta licença permite download e compartilhamento do trabalho desde que sejam atribuídos créditos ao(s) autor(es), sem a possibilidade de alterá-lo ou utilizá-lo para fins comerciais. Conteúdos elaborados por terceiros, citados e referenciados nesta obra não são cobertos pela licença.



TERMO DE APROVAÇÃO

BIORREDUÇÃO DA DIBENZALACETONA MEDIADA POR ENZIMAS PRESENTES NA CENOURA

por

FILIPE KALIL DA SILVA NAVES

Este Trabalho de Conclusão de Curso (TCC) foi apresentado(a) em 02 de dezembro de 2021 às 16 horas como requisito parcial para a obtenção do título de Bacharel em Química. O candidato foi arguido pela Banca Examinadora composta pelos professores abaixo assinados. Após deliberação, a Banca Examinadora considerou o trabalho Aprovado.

Davi Costa Silva
Prof. Orientador

Sirlei Dias Teixeira
Membro titular

Andressa Pilonetto
Membro titular

Nota: O Documento original e assinado pela Banca Examinadora encontra-se no SEI processo 23064.050687/2021-18 e documento 2430035.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente a Deus, que comanda tudo ao nosso redor e nos dá força. Agradeço às minhas irmãs, Franciele e Maria Carolina, cuja presença foi essencial na minha vida.

O professor Davi, pela orientação no trabalho e por todas as oportunidades, confiança e incentivo. Enfim, por estar presente durante minha formação, por sempre me induzir a ser um estudante e pessoa melhor.

Aos colegas de laboratório da Central de Análises e Solos que ajudaram com avaliações críticas nas análises e na utilização dos equipamentos.

Agradeço todos os dias, aos meus pais Lafaiete e Cassia, e aos meus tios, Valéria e Vilmar, pelo exemplo de força e determinação. Por sempre apoiarem minhas decisões e ambições na vida.

A todos os meus colegas que me acompanharam nesta jornada, dando ênfase a Yasmin, Rodolfo, Felipe, Lucas, Natalia e Marcus por estarem presentes nomeu dia a dia possibilitando um crescimento pessoal e emocional.

Ao Colégio Celtas por me proporcionar um ensino de qualidade e as professoras Bruna e Fabiana, por garantir que um sonho distante se torna-se realidade a partir de esforço e dedicação

Por último e não menos importante, agradeço a Universidade Tecnológica Federal do Paraná, campus Pato Branco, pela qualidade de ensino e por todas as oportunidades de chegar até a formação.

Gratidão por todos que passaram em meu caminho e momentos inesquecíveis durante o período dessa Graduação.

RESUMO

NAVES, Filipe K. S. Biorredução da dibenzalacetona mediada por enzimas presentes na cenoura. 2021. 65 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Bacharel em Química), Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Pato Branco, 2021.

Reações baseadas em processos de redução de compostos carbonílicos α , β -insaturados por meio de enzimas vegetais vem se apresentando um eficiente método na síntese orgânica, além de utilizar condições brandas de reação que são menos prejudiciais ao meio ambiente. De maneira geral foi realizada a biorredução da dibenzalacetona (1,5-difenilpenta-1,4-dien-3-ona), por enzimas desidrogenases presentes na cenoura (*Daucus carota*). As enzimas apresentaram eficientes resultados para quebra de ligações específicas na molécula, assim apontando seu caráter seletivo, que as diferenciam de catalisadores químicos clássicos. Ocorreram variações entre as sínteses com o intuito de avaliar um melhor rendimento para a reação. Foi apontado o caráter fotoprotetor da dibenzalacetona, com o intuito de avaliar se ocorreria a perda desta característica após a biotransformação. Na caracterização empregou-se a Cromatografia de Camada Fina (CCF), a Espectroscopia de Absorção Molecular na região do Infravermelho com Transformada de Fourier (IV-TF), Espectroscopia de Absorção Molecular na região do ultravioleta-visível (UV-Vis) e Cromatografia Gasosa acoplada ao Espectrômetro de Massas (CG/EM). Por meio das análises cromatográficas e espectrométricas de massas, foi discutido quais produtos foram formados, além das condições mais promissoras para a síntese. Pela espectroscopia de UV-Vis foi apontada a característica fotoprotetora e pelo (IV-TF) quais bandas serão afetadas pela síntese.

Palavras-chave: Biorredução, dibenzalacetona, enzimas desidrogenases, CG/EM, IV-TF UV-Vis, CCF.

ABSTRACTS

NAVES, Filipe K. S. Enzyme-mediated bioreduction of dibenzalacetone present in carrots. 2021. 65 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Bacharel em Química), Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Pato Branco, 2021.

The reduction using plant enzymes has been an efficient method for the organic synthesis of new compounds, in addition to using mild reaction conditions that are less harmful to the environment. In general, the bioreduction of dibenzalacetone (1,5-diphenyl-1,4-pentadien-3-one) by dehydrogenase enzymes present in carrots (*Daucus carota*) was performed. The enzymes showed efficient results for breaking specific bonds in the molecule, thus pointing out their selective character, which differentiates them from classical chemical catalysts. There were variations between the syntheses in order to assess a better yield for the reaction. The photoprotective character of dibenzalacetone was pointed out, in order to assess whether this characteristic would be lost after biotransformation. The characterization used Thin Layer Chromatography (TLC), Infrared Molecular Absorption Spectroscopy with Fourier Transform (IV-TF), Molecular Absorption Spectrophotometer (UV-Vis) and Gas Chromatography coupled to the Mass Spectrometer (CG/EM). Through chromatography, it was discussed which products were formed, which conditions are more promising for synthesis, in addition to the molecule fragmentations. By UV-vis, the photoprotective characteristic was pointed out, and by (IV-TF) which bands will be affected by the synthesis.

Key Words: Bioreduction, dibenzalacetone, dehydrogenase enzymes, CG/MS, IV-TF UV-Vis, CCF.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Biotransformação da (+)-carvona mediada por cultura de células em suspensão de <i>C. roseus</i>	17
Figura 2: Ligação substrato enzima.....	20
Figura 3: Classificação das enzimas pela UIBBM.....	22
Figura 4: Classificação da oxiredutases.....	23
Figura 5: Comparação entre uma reação na presença e ausência de catalisadores, em relação a barreira de energia de ativação.....	24
Figura 6: Diagrama representando uma reação enantiosseletiva catalisada por enzimas, em comparação com a energia livre dos estados de transição.....	25
Figura 7: Dibenzalacetona.....	25
Figura 8: Classificação da emissão solar, de acordo com o comprimento de onda ..	26
Figura 9: Diferentes formas de penetração da luz solar na pele humana.....	27
Figura 10: Boa distribuição das partículas do filtro físico.....	29
Figura 11: Síntese da dibenzalacetona a partir de denzaldeídos e acetonas.....	39
Figura 12: Benzalacetona.....	39
Figura 13: Compostos dispostos nos cromatogramas.....	40
Figura 14: separação líquido-líquido, fase superior de interesse e fase inferior água.....	41
Figura 15: Cromatograma da Dibenzalacetona antes de sofrer a biorredução	42
Figura 16: Cromatograma da biorredução da amostra 1	43
Figura 17: Os espectros a cima representam respectivamente os picos (A), (B), (C) e (D).....	46
Figura 18: Fragmentos da dibenzalacetona e derivados.....	48
Figura 19: formação do fragmento de 131 e 103 m/z.....	48
Figura 20: Formação do fragmento de 103 m/z.....	49
Figura 21: Formação dos fragmentos de 103 e 131 m/z	49
Figura 22: Formação do fragmento de 91 m/z.....	50
Figura 23: Cromatograma da amostra 2.....	50
Figura 24: Espectros dos compostos em (A), (B), (C) e (D) da amostra 2	52
Figura 25: Cromatogramas de variações em tempo de reação, temperatura e agitação.....	53
Figura 26: CCF da dibenzalacetona	55

Figura 27: CCF dos produtos da biorredução.....	55
Figura 28: Espectroscopia de absorção molecular na região do infravermelho com transformada de Fourier da dibenzalacetona	57
Figura 29: Valores de máxima absorção dos isômeros da dibenzalacetona	58
Figura 30: Espectro de UV-vis com o produto da biorredução	59

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Incidência e comprimento de onda dos raios UV-A, UV-B e UV-C.....	28
Tabela 2: Variações dos fatores que serão submetidas as amostras na biorredução.	35
Tabela 3: Rendimento da reação	44
Tabela 4: Fatores de retenção	56
Tabela 5: Comprimento de ondas e incidência terrestre dos raios UV	58

LISTA DE FLUXOGRAMA

Fluxograma 1: Representação das etapas da biorredução.....	36
--	----

LISTA DE SÍMBOLOS E NOMENCLATURA

AcOEt	Acetato de etila
CCF	Cromatografia de camada fina.
CG/EM	Cromatografia gasosa acoplada a espectrômetro de massas
CH ₂ Cl ₂	Diclorometano
Et ₂ O	Éter dietílico
IV-TF	Espectroscopia de absorção molecular na região do infravermelho com transformada de Fourier
KBr	Pastilhas de brometo de potássio
PDB	Banco de dados de proteínas
RF	Fator de retenção
RTA	Reflectância Total Atenuada
UIBBM	União Internacional de Bioquímica e Biologia Molecular
UV-Vis	Espectrofotômetro de Absorção Molecular UV-Vis
ADHS	Álcool desidrogenase
FPS	Fator de proteção solar

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	14
2 OBJETIVOS	16
2.1 OBJETIVOS GERAL	16
2.2 OBJETIVO ESPECÍFICOS	16
3 REFERENCIAL TEÓRICO	17
3.1 BIORREDUÇÃO	17
3.2 BIOCATALISADORES	19
3.3 ENZIMAS	19
3.4 CATALISE ENZIMÁTICA	23
3.5 1,5-DIFENILPENTA-1,4-DIEN-3-ONA (DIBENZILACETONA)	25
3.6 RADIAÇÃO ELETROMAGNÉTICA	26
3.7 PROTETORES SOLAR	28
3.8 CROMATOGRAFIA GASOSA E ESPECTROMETRIA DE MASSAS	30
3.9 ESPECTROFOTÔMETRO DE INFRAVERMELHO COM TRANSFORMADA DE FOURIER	32
4. MATERIAIS E MÉTODOS	33
4.1 MATERIAIS	33
4.2 INFRAESTRUTURA DISPONÍVEL	33
4.3 COLETA DO BIOCATALISADOR (CENOURA) E A BIORREDUÇÃO DA 1,5- DIFENILPENTA-1,4-DIEN-3-ONA (DIBENZALACETONA)	33
4.4 CROMATOGRAFIAS DE CAMADA FINA	36
4.5 ESPECTROSCOPIA DE ABSORÇÃO MOLECULAR NA REGIÃO DO INFRAVERMELHO COM TRANSFORMADA DE FOURIER (IV-TF)	37
4.6 CROMATOGRAFIA GASOSA ACOPLADA A ESPECTRÔMETRO DE MASSAS (CG/EM)	37
4.7 ESPECTROMETRIA DE ABSORÇÃO MOLECULAR (UV-VIS)	38
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO	33
5.1 VIA RESUMIDA PARA OBTENÇÃO DA DIBENZALACETONA	39
5.2 CARACTERIZAÇÃO DA CROMATOGRAFIA GASOSA ACOPLADA A ESPECTRÔMETRO DE MASSAS	39
5.3 CROMATOGRAFIA DE CAMADA FINA (CCF)	54
5.4 ESPECTROSCOPIA DE ABSORÇÃO MOLECULAR NA REGIÃO DO INFRAVERMELHO COM TRANSFORMADA DE FOURIER (IV-TF)	56

5.5 ANÁLISE DA CAPACIDADE FOTOPROTETORA DA DIBENZALACETONA	57
CONCLUSÕES	61
REFERÊNCIAS.....	62

1 INTRODUÇÃO

1,5-difenilpenta-1,4-dien-3-ona, ou dibenzalacetona como é conhecida mais comumente, são cetonas α , β -insaturadas que sofrem redução enzimática utilizando plantas como catalisadores. Este composto sofre reação de biotransformação mediada pela cenoura, como meio de cultivo.

O uso da cenoura é extremamente vantajoso, tendo em vista que não necessita da adição de nenhum cofator para sua regeneração. Os biocatalisadores vêm ganhando espaço nas indústrias, pois apresentam algumas características que os diferenciam de catalisadores químicos clássicos, sendo que estas características estão principalmente ligadas à química verde e podemos citar as condições brandas de reação, que utiliza pH 7,0, temperaturas próximas a 40 °C e a água como solvente. Outra vantagem dos biocatalisadores é a presença das seletividades quimio, régio e estéreo, que muitas vezes os distinguem dos demais catalisadores.

A cenoura tem apresentado bons resultados na biorredução de cetonas quirais, em alguns casos ocorrem conversões acima de 90% e excesso enantiomérico próximo a 99%, sendo assim alguns autores a consideram o biocatalisador mais eficiente. As enzimas presentes neste meio de cultivo que realizam a redução são as desidrogenases, que são responsáveis por reações de oxirredução, assim pertencendo à subclasse das oxirredutoras.

Com o passar do tempo, a utilização de substâncias enantioméricas vêm ganhando espaço nas indústrias, levando em consideração a relação tênue entre a estrutura espacial das substâncias e os diferentes odores, processos farmacocinéticos, toxicidade que desempenham nos organismos entre outros.

O trabalho foi desenvolvido em duas etapas. A primeira etapa buscou determinar quais ligações seriam afetadas pela biorredução das enzimas presentes na cenoura, já a segunda etapa buscou encontrar uma rota de maior eficiência para os produtos da reação, ou seja, uma rota que apresente maior rendimento. Então algumas variáveis sofreram alterações na segunda etapa, sendo elas: a agitação, o tempo de reação e a temperatura. Assim foi possível observar em qual condição a reação apresentou maior rendimento.

O trabalho também buscou avaliar como a biorredução afeta o potencial fotoprotetor da dibenzalacetona, que pode ser utilizada em protetores solares. Tendo em vista que, a perda desta característica fotoprotetora após 48 ou 72 horas seria

ideal, pois não impediria a penetração dos raios solares ao meio aquático, assim não diminuindo a oxigenação deste meio.

Após as análises, foi possível identificar se ocorreu alteração na seletividade da reação, ou seja, se ocorreu modificação na preferência da reação pela ligação química afetada, em decorrência da mudança nas variáveis citadas acima.

Para a caracterização dos resultados foram empregados a Cromatografia de Camada Fina (CCF), a Espectroscopia de Absorção Molecular na região do Infravermelho com Transformada de Fourier (IV-TF), Espectroscopia de Absorção Molecular na região do ultravioleta e visível (UV-Vis) e Cromatografia Gasosa acoplada ao Espectrômetro de Massas (CG/EM).

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVOS GERAL

Avaliar e caracterizar a 1,5-difenilpenta-1,4-dien-3-ona, utilizando CG/EM, UV-Vis, IV/TF e CCF, identificando quais ligações presentes neste composto sofreram a biorredução com as enzimas presentes na cenoura, em que condição a biotransformação apresentou melhor rendimento e se a reação possui seletividade.

2.2 OBJETIVO ESPECÍFICOS

- Biorredução de sistemas α , β -insaturados (dibenzalacetona), empregando a cenoura como fonte de enzimas vegetais;
- Caracterizar o produto final por meio de CG/EM, IV/FT, Uv-Vis e CCF;
- Identificar a seletividade na reação de biorredução (químico, região ou estereoquímica);
- Apontar o potencial fotoprotetor da dibenzalacetona.

3 REFERENCIAL TEÓRICO

3.1 BIORREDUÇÃO

Na biorredução são utilizados catalisadores naturais, como as enzimas, para promover a redução de compostos orgânicos. Tal ferramenta é versátil e no decorrer dos anos vem ganhando espaço nas indústrias. Os vegetais, como o brócolis, a couve-flor, o espinafre, a beterraba, a cenoura entre outros, de forma geral são fontes de biocatalisadores, devido principalmente as enzimas presentes nos frutos e raízes, sendo assim as enzimas podem ser utilizadas nas mais diversas reações orgânicas. Além da utilização dos vegetais, os fungos e bactérias também podem ser empregados como biocatalisadores. A figura 1 mostra a biotransformação da enona (+)-carvona mediada por cultura de células em suspensão de *C. Roseus*, Silva (2015)

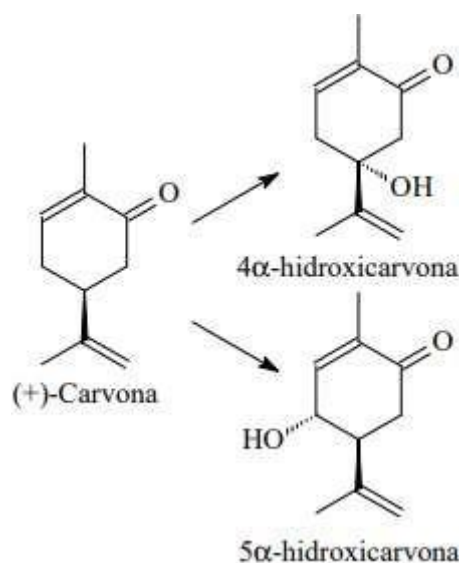


Figura 1: Biotransformação da (+)-carvona mediada por cultura de células em suspensão de *C. roseus*.

Fonte: Rogério Z. Peterson, Tese de Doutorado

A biotransformação apresenta várias características, dentre elas estão a alta seletividade quimio, regio e estéreo. Reações quimiosseletivas permitem que um grupo funcional da molécula reaja, enquanto outra funcionalidade potencialmente reativa não sofre alteração. Já reações estereosseletivas são aquelas que formam ou afetam preferencialmente um estereoisômero. Outro fator importante é a não toxicidade, o que tem tornado a biorredução uma ferramenta ideal para síntese assimétrica e verde. Os estudos realizados apontam que em algumas reações, com

o passar do tempo, a atividade intracelular das células da cenoura diminui, até se inativar, isto acontece devido à toxicidade de alguns substratos para as células, Liu et al. (2012) e Hollmann et al. (2010).

O estudo da redução assimétrica de cetonas hidroxiaromáticas, citado acima, também aponta que, com o aumento da temperatura de reação ocorre o aumento no rendimento, sendo que a temperatura ideal para o procedimento ocorre entre 32,8 ° C e 30,8 °C. Contudo, temperaturas muito altas podem causar a inativação das enzimas, consequentemente diminuindo o rendimento da reação e o excesso enantiomérico. O melhor rendimento da reação ocorre nas primeiras 28 horas, Liu et al. (2012) e Rodrigues; Moran (2001).

Ocorrem duas formas de catálise enzimática, a isolada e a de células inteiras. O tipo de biorredução escolhida depende da reação que será realizada, tendo em vista que cada uma das classes apresenta vantagens e desvantagens, Aldabalde et al. (2007).

Obtêm-se os biocatalisadores do método de catálise isolada, por meio de organismos vivos como os animais, plantas e microrganismos, incluindo bactérias e fungos. Já a biotransformação realizada por células inteiras, utiliza principalmente, os microrganismos, Aldabalde et al. (2007) e Woodley (2008).

A utilização de culturas de células vegetais se destaca por não necessitar da adição de cofatores para sua regeneração ou separação de proteínas, tendo em vista que estes cofatores normalmente são caros. Alguns estudos mostram que a biocatálise realizada por meio de cultura de células vegetais apresenta um grande rendimento, juntamente com uma grande enantiosseletividade, Liu et al. (2012) e Yadav et al. (2002).

Atualmente, as principais formas de se realizar a biorredução ocorrem por meio de plantas, contudo no século XX, o fato das plantas serem um excelente biocatalisador passou despercebido. Somente após os anos 2000, surgiram relatos do extrato de plantas como fontes de enzimas para a redução, Aldabalde et al. (2007) Hudlicky; Reed (2009 e Rodrigues; Moran (2001).

A redução de compostos orgânicos utilizando agentes biológicos vem se destacando por reduzir os impactos que seriam causados utilizando os métodos químicos clássicos, Maguerroski (2009) e Oliveira; Mantovani (2009).

De forma geral, a biorredução é um procedimento simples e de baixo custo, que está presente em diversas áreas da química como: Bioquímica, Química

Orgânica e Química Verde, Omori et al. (2012); Kawai et al. (1998 e Yadav et al. (2002).

3.2 BIOCATALISADORES

Os biocatalisadores apresentam algumas diferenças quando comparados aos catalisadores químicos, cujas diferenças estão intimamente ligadas à química verde. Dentre as características que os distinguem, estão as condições brandas de reação (levando em conta que são utilizados solventes atóxicos com a água), a utilização de reagentes degradáveis (no caso deste estudo o reagente degradável é a cenoura) que podem ser devolvidos ao meio ambiente para degradação após o uso, Omori et al. (2012).

Além destas características, os biocatalisadores apresentam grande seletividade estereoquímica e de forma geral são eficientes em produzir quiralidade, Aldabalde et al. (2007) e Omori et al. (2012).

Neste trabalho o biocatalisador utilizado foi a cenoura, cujo nome científico é *Daucus carota*. Estudos realizados comparando vários biocatalisadores apontam que a cenoura é um dos melhores agentes redutores, uma vez que é capaz de transformar cetonas em álcoois quirais correspondentes, em duas horas. Outro fato é que o aumento da quantidade de *D. carota*, sempre provoca um aumento na taxa de reação para todos os substratos, Aldabalde et al. (2007).

3.3 ENZIMAS

A grande maioria das enzimas são proteínas responsáveis por catalisar reações químicas com alta especificidade. São formadas por resíduos de aminoácidos unidos por meio de ligações peptídicas e, em alguns casos, ligações dissulfeto, assim formando uma cadeia polipeptídica, Silva (2015).

A superfície externa das enzimas possui grupos hidrofílicos, como $-\text{COO}^-$, $-\text{OH}$, $-\text{NH}_3^+$, $-\text{SH}$ e $-\text{CONH}_2$, que são responsáveis por mantê-las hidratadas. Já a parte interna é composta por cadeias alquílicas e arilas, formando um resíduo hidrofóbico. De forma geral as enzimas permanecem solvatadas devido a sua superfície recoberta por água, pela presença dos grupos hidrofílicos, Silva (2015).

Devido às inovações tecnológicas, as enzimas vêm ganhando um aumento no seu campo de aplicação, principalmente em processos industriais. Como exemplo

deste crescimento, podemos citar as indústrias farmacêuticas, que vêm utilizando rotas enzimáticas na produção de compostos quirais, Gonçalves; Fonseca (2018a).

As enzimas, de maneira geral, são proteínas responsáveis por promover a alteração na velocidade de reação, por meio da diminuição da energia livre de ativação. Uma enzima é capaz de promover o aumento na velocidade de uma reação na ordem de 10^{10} a 10^{23} vezes, quando comparado a uma reação na ausência da mesma. Já os catalisadores sintéticos promovem um aumento na ordem de 10^2 a 10^4 . Além desta desvantagem, os catalisadores sintéticos necessitam de quantidades em concentração de 0,1 a 1 mol%, enquanto em reações enzimáticas as quantidades requeridas ficam na faixa entre 10^{-3} a 10^{-4} mol%, Maguerroski (2009) e Jayawardhane et al. (2018).

As reações executadas pelas enzimas ocorrem no local denominado como sítio ativo, juntamente com seu substrato. Entre a enzima e o substrato ocorrem ligações de hidrogênio, forças de Van der Waals, interações hidrofóbicas, entre outras, que os mantêm unidos, lembrando que o sítio ativo é responsável por garantir esta ligação. Estas características fazem com que as enzimas sejam fortemente específicas, também as diferenciando de outros catalisadores, Maguerroski (2009).

A figura 2 mostra a ligação formada entre substrato e enzima para gerar os produtos:

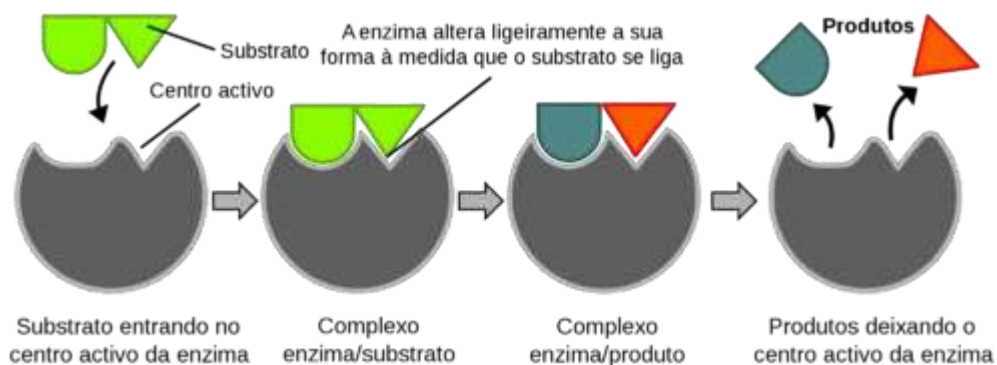


Figura 2: Ligação substrato enzima. Fonte: Catarina Moreira, Wikiciencias.

As principais vantagens da biocatálise mediada por enzima são as condições brandas de reação: geralmente pH neutro e temperaturas brandas, além da seletividade. Muitas enzimas são capazes de participar da biorredução de vários substratos, muitas vezes formando produtos que dificilmente são obtidos por rotas químicas, ou que são até inviáveis. Além do fato de que a utilização de enzimas

como catalisadores evita a utilização de compostos que podem prejudicar o meio ambiente, tendo em vista que alguns processos empregam quantidades estequiométricas de solventes inflamáveis, como o etanol e o acetato de metila, e compostos metálicos tóxicos, como o chumbo, o arsênio e o alumínio, Gonçalves; Fonseca (2018a).

Outras vantagens são as características quimiosseletiva, estereosseletiva e regioseletiva. Sua quimiosseletividade está no fato de atuarem em um grupamento funcional, preservando outros grupos quimicamente sensíveis, que normalmente reagiriam com catalisadores tradicionais. São altamente regioseletivas por possuírem a capacidade de reconhecer e discriminar grupamentos que apresentam funcionalidades semelhantes e reatividades similares, que estão presentes no mesmo composto, porém em regiões diferentes, Turrini et al. (2015).

Por fim, são estereosseletivas por serem capazes de agir, com alta seletividade, sobre um enantiômero. Este conjunto de seletividades apresentadas pelas enzimas são as principais características, do ponto de vista da exploração da síntese assimétrica, tornando-as importantes catalisadores, Silva (2015).

Contudo, a principal desvantagem das enzimas é a indisponibilidade na natureza para seu par enantiomérico. Ou seja, não é possível inverter a indução de um centro estereogênico em uma catálise enzimática, assim, ocorre a seleção do enantiômero da enzima com a estereoquímica oposta, Tetsuya; Tanabe (1990).

A estrutura tridimensional e a sequência de aminoácidos das enzimas são determinadas por meio da cristalografia de raios-X e RMN ^1H e ^{13}C . A partir destas ferramentas foi gerado um banco de dados de proteínas (PDB), neste banco de dados são encontrados vários tipos de macromoléculas (entre proteínas, peptídeos, vírus, carboidratos, ácidos nucleicos e complexos proteína/ácido nucleico), Maguerroski (2009).

As enzimas são classificadas em seis classes e subclasses, de acordo com a União Internacional de Bioquímica e Biologia Molecular (UIBBM), levando em conta o tipo de reação que catalisa, Maguerroski (2009).

A figura 3 apresenta as seis classes de enzimas de acordo com a UIBBM:

Número	Classe	Tipo de reação catalisada	Subclasse
1	Oxirredutases	Transferência de elétrons ou remoção de hidrogênio	Desidrogenases, oxidases, peroxidases
2	<i>Transferases</i>	Reações de transferência de grupos	Transaldolases, transcetolases
3	<i>Hidrolases</i>	Reações de hidrólise	Esterases, lipases, peptidases, fosfatases
4	<i>Liasas</i>	Reações de adição de grupos a dupla ligação ou formação de duplas ligações por remoção de grupos	Descarboxilases, cetoácido liasas, hidrolase
5	<i>Isomerases</i>	Transferência de grupos dentro da molécula para produzir isômeros	Racemases, epimerases, oxirredutases, mutase
6	<i>Ligases</i>	Formação e clivagem de ligações C-C, C-S, C-O e C-N e ésteres de fosfato	

Figura 3: Classificação das enzimas pela UIBBM. Fonte: União Internacional de Bioquímica e Biologia Molecular (UIBBM).

As enzimas responsáveis por realizar a biorredução da dibenzalacetona são as desidrogenases, pertencentes à classe das oxirredutases, que é a segunda mais utilizada no processo de reações orgânicas. Dentro desta classe se enquadram, além das desidrogenases, as oxidases e as peroxidases. Estas enzimas formam um grande grupo responsável pela redução de carbonilas de aldeídos e cetonas ($C=O$), da ligação dupla carbono-carbono ($C=C$) e da redução assimétrica de aril iminas ($C=N$), Gonçalves; Fonseca (2018a).

Pode-se classificar as oxirredutases de diferentes formas, contudo quando classificadas de acordo com seu mecanismo de ação se dividem em quatro grandes grupos: oxigenases, peroxidases, oxidases e desidrogenases, como apresenta a figura 4:

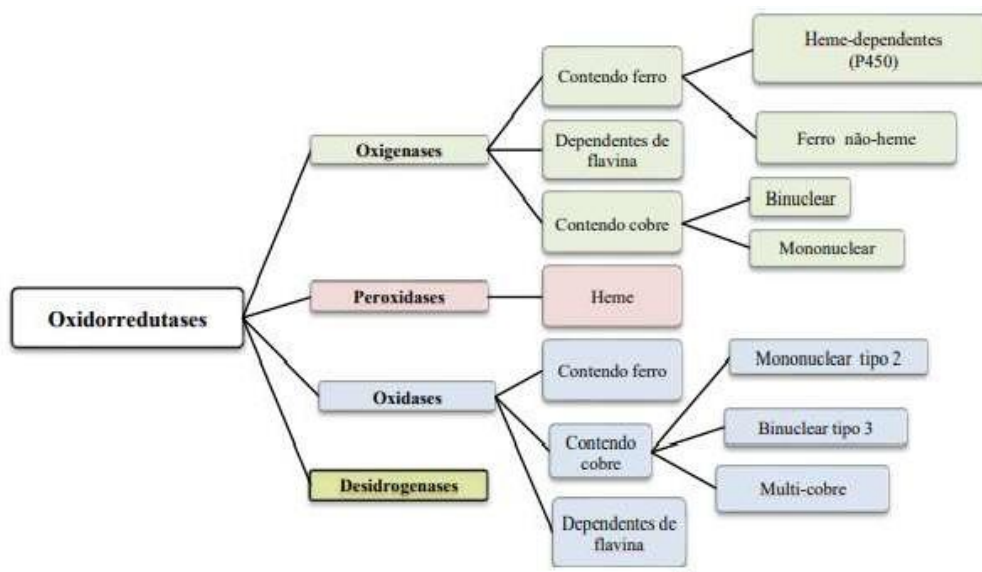


Figura 4: Classificação da oxidoreduções. Fonte: Gonçalves, Rev. Virtual Quim. 2018, 2 de agosto de 2018.

O grupo das oxigenases, peroxidases e oxidases são responsáveis por catalisar reações irreversíveis, devido à reação de redução do O_2 e H_2O_2 que acompanha a reação, ser muito exotérmica. Já as desidrogenases, que estão presentes na cenoura, catalisam reações reversíveis e podem ser empregadas em biocatálise oxidativa e redutiva, Gonçalves; Fonseca (2018b).

Este grupo de enzimas vem ganhando um grande espaço em diferentes campos de aplicações, uma vez que apresentam diferentes sítios de ligação responsáveis pela catálise de transferência de hidrogênio. Como um grande exemplo deste grupo, temos as enzimas álcoois desidrogenases (ADHS), que catalisam a conversão reversível de álcoois em aldeídos e cetonas, Barreiros; Barreiros (2010).

Dentre as principais vantagens das enzimas desidrogenases, está o fato de serem ótimas para transformar substratos pró-quirais em produtos quirais opticamente puros. Gonçalves; Fonseca (2018a)

3.4 CATALISE ENZIMÁTICA

A primeira proposta que explicava o poder catalítico das enzimas foi à hipótese da “chave e fechadura” desenvolvida por Emil Fischer em 1894, que abordava as interações existentes entre o substrato e enzima que são vistos como complementares, Arantes (2008).

As enzimas [E] são catalisadores de extraordinária eficiência, promovem a diminuição da barreira de energia de ativação (E_a) entre substrato [S] e o produto

[P], como consequência aumentando a velocidade da reação. Inicialmente em uma catálise enzimática ocorre a formação da ligação enzima-substrato [ES] no sítio ativo, uma cavidade presente na superfície desta proteína, nestas cavidades estão aminoácidos que ligam-se aos substratos. Tal ligação [ES] é o que diferencia as enzimas de catalisadores convencionais, Arantes (2008).

Reações que acontecem na ausência de catalisadores apresentam uma maior barreira de ativação, quando comparado à reação na presença de catalisadores, ou seja, os catalisadores promovem a diminuição na barreira energética, logo aceleram a velocidade de reação, como apresenta a figura 5, abaixo. As interações existentes entre as enzimas e os substratos são: ligações de hidrogênio, interações hidrofóbicas, interações iônicas e de Van de Waals. Cada interação entre a enzima e o substrato promove uma liberação pequena de energia livre, ocorrendo desta forma a estabilização, Arantes (2008).

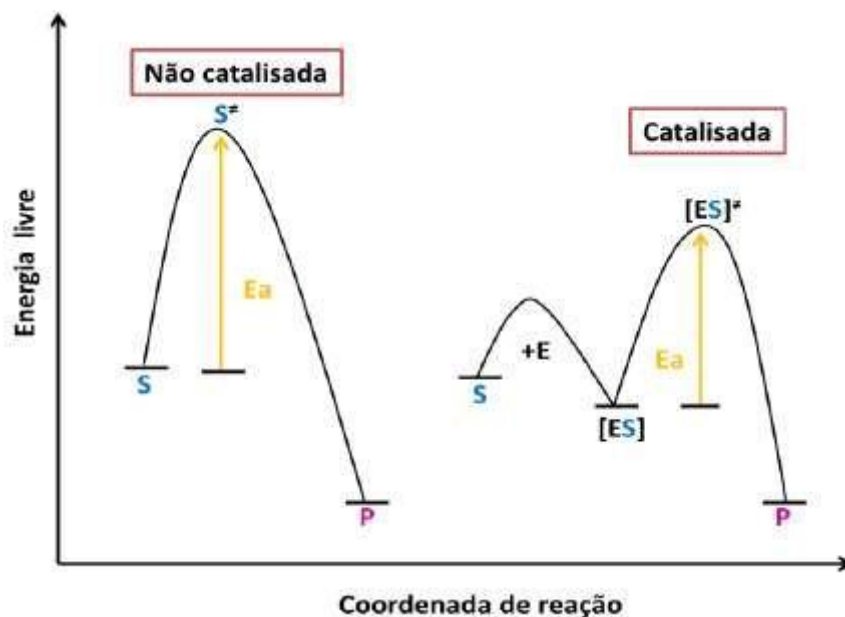


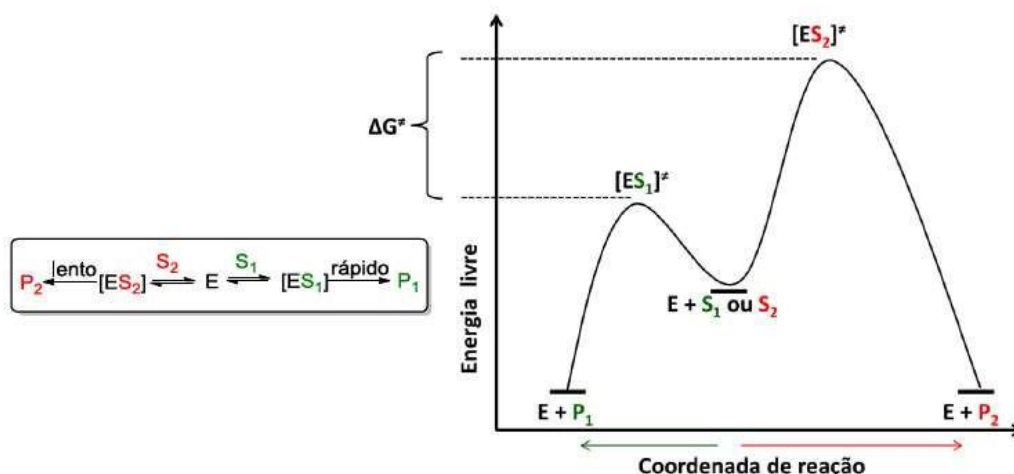
Figura 5: Comparação entre uma reação na presença e ausência de catalisadores, em relação a barreira de energia de ativação. Fonte: Adaptada de FABER, 2011.

Agora levando em consideração as seletividades apresentadas pelas enzimas pode-se dizer que a estereosseletividade está relacionada a diferentes energias do complexo enzima-substrato no estado de transição [ES][‡] e a especificidade, Tetsuya; Tanabe (1990).

A enantioseletividade está ligada à competição existente entre os enantiômeros S1 e S2 pelo sítio ativo. As moléculas empregadas fornecem um

ambiente quiral, logo a estereoquímica da reação será determinada pela enzima, tendo em vista que os enantiômeros S1 e S2 possuem valores diferentes de energias livres em seus estados de transição $[ES_1]^\ddagger \neq [ES_2]^\ddagger$, respectivamente, como mostra a figura 6. Como os valores são diferentes ocorrerá a maior velocidade de reação para um enantiômero, no caso da figura o S1, ou seja, as diferenças existentes nas energias livres irão promover o excesso enantiomérico (e_e), Turrini et al. (2015).

Figura 6: Diagrama representando uma reação enantiosseletiva catalisada por enzimas, em comparação



com a energia livre dos estados de transição. Fonte: Adaptada de FABER, 2011.

3.5 1,5-DIFENILPENTA-1,4-DIEN-3-ONA (DIBENZILACETONA)

1,5-difenilpenta-1,4-dien-3-ona, que também é conhecida como dibenzilacetona, é uma molécula orgânica de fórmula química $C_{17}H_{14}O$, como apresenta a figura 7, sendo um sólido amarelo solúvel em etanol, porém pouco solúvel em água. Ela é bastante aplicada principalmente na indústria de protetores solares e anti-inflamatórios, Melo (2017).

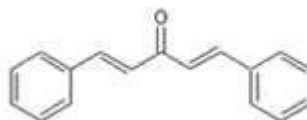


Figura 7: Dibenzilacetona. (Autoria própria)

A reação de redução desta molécula, que se caracteriza por ser um composto α, β -insaturado derivado de cetonas e aldeídos, deve apresentar certa competitividade na catálise da ligação $C=C$ e/ou $C=O$, sendo que na presença de alguns catalisadores específicos a redução apresenta certa regiosseletividade, Maguerroski (2009).

3.6 RADIAÇÃO ELETROMAGNÉTICA

A radiação eletromagnética pode ser considerada como um conjunto de ondas eletro e magnéticas. Sendo que, a luz emitida pelo sol classifica-se pelo seu comprimento de onda. A figura 8 apresenta a classificação citada anteriormente:

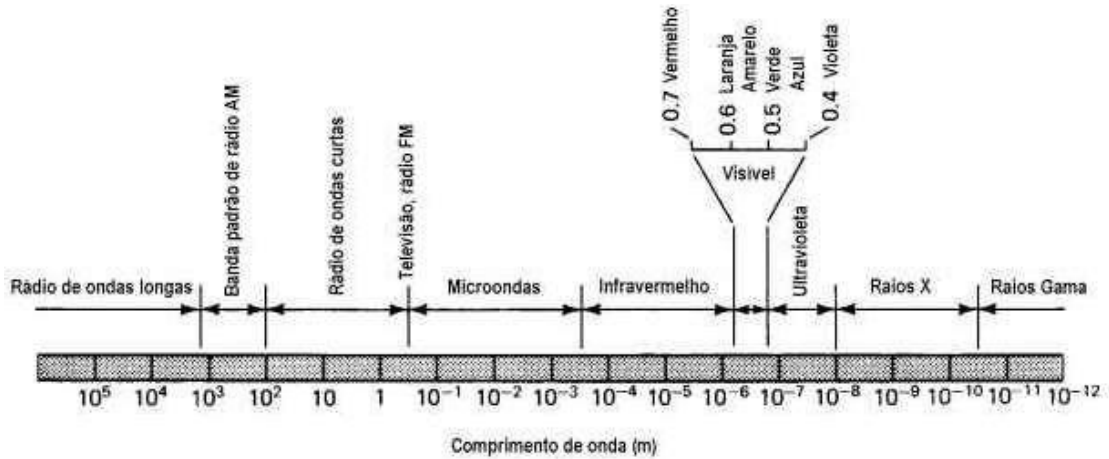


Figura 8: Classificação da emissão solar, de acordo com o comprimento de onda. Fonte: física UFPR.

A radiação eletromagnética tem grande influência sobre a pele humana, sendo que em excesso e sem a devida proteção pode causar problemas à saúde. Os raios ultravioleta, visível e infravermelho possuem diferentes potenciais de penetração na pele humana, como apresenta a figura 9:

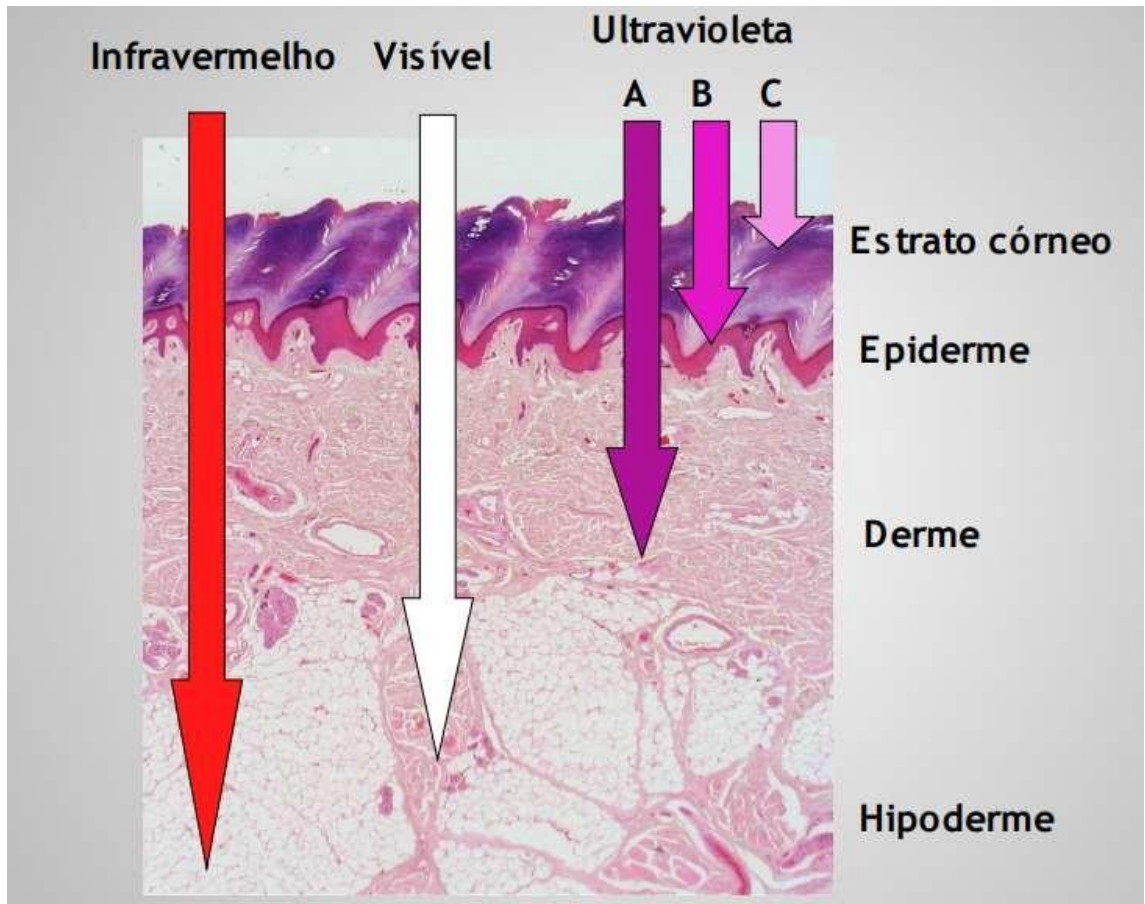


Figura 9: Diferentes formas de penetração da luz solar na pele humana. Fonte: Daniela Brotto Lopes Terci, SIMPEQ, outubro 2008.

Pela figura é possível constatar que a radiação infravermelha possui maior poder de penetração em relação às demais, podendo atingir a hipoderme, seguida da luz visível que é capaz de atingir a derme e hipoderme. Já a radiação ultravioleta é capaz de penetrar em diferentes intensidades, sendo que os raios UV-A são capazes de percorrer mais afundo a pele humana chegando a derme, seguidos dos raios UV-B que atingem a epiderme, Buchan (1994).

Os raios infravermelhos são capazes de promover bioestimulações, acelerando a circulação sanguínea, linfática e acelerando o metabolismo celular. Já os raios visíveis causam poucos efeitos na pele, contudo seu principal efeito é a secreção de melatonina, Sanz-Forcada et al. (2014).

Os raios ultravioletas podem trazer benefícios e malefícios à saúde humana, dependendo do tempo de exposição e a proteção utilizada. Em relação aos benefícios está a síntese de vitamina D e de melanina. Já os malefícios são queimaduras, fotoalergias e até mesmo, em casos mais graves, câncer de pele, Sanz-Forcada et al. (2014).

Contudo os raios UV-A e UV-B são capazes de causar diferentes formas de ataque à pele humana. Os raios UV-A, como já foi analisado, possui um poder de penetração maior em relação ao UV-B e podem causar a destruição do colágeno e da elastina, ocasionando o envelhecimento da pele, outro fator preocupante é o ataque ao DNA podendo gerar mutações genéticas, ou seja, o câncer de pele. Os raios UV-B promovem a destruição de células e queimaduras de pele, Buchan (1994).

Os raios UV-A, UV-B e UV-C apresentam diferentes comprimentos de onda e diferentes porcentagens de incidência terrestre, tais valores serão apresentados na tabela 1:

Tabela 1: Incidência e comprimento de onda dos raios UV-A, UV-B e UV-C. Fonte: Daniela Brotto Lopes Terzi, SIMPEQ, outubro 2008.

UV	Comprimento de ondas	Incidência terrestre
UVA	320 – 400 nm	90 – 95 %
UVB	290 – 320 nm	05 – 10 %
UVC	200 – 290 nm	–

3.7 PROTETORES SOLAR

As tentativas de se produzir um protetor contra a ação solar na pele data-se desde 7800 a.C. onde os egípcios utilizavam extratos de mamonas e magnólia para proteção. Também há relatos de que em 400 a.C. os gregos faziam uso de misturas de óleo de oliva e areia para reduzir os efeitos da radiação na pele. Contudo, o primeiro filtro com eficiência comprovada ocorreu em 1946, sendo produzido por Franz Greiter. Tal cientista foi responsável por estabelecer o conceito de Fator de proteção solar (FPS). O FPS é um valor numérico que permite avaliar o tempo que o indivíduo pode ficar em contato com o sol sem sofrer queimaduras, Lakhdar et al. (2007).

Existem quatro etapas para o desenvolvimento de um protetor solar, sendo elas: a avaliação técnica e comercial, a definição de fórmula e processo fabril, avaliação de estabilidade físico-química e microbiológica, e por fim a avaliação de segurança e eficácia, Lakhdar et al. (2007).

Um protetor solar é composto por filtros físicos e químicos, emolientes, emulsificantes, agentes doadores de consistência, umectantes, água, entre outros compostos que variam dependendo do fabricante, Sohn et al. (2014).

Os emolientes têm a função de solubilizar os filtros químicos, por possuir um poder lipofílico. Além de ajustar as características sensoriais como agradabilidade à pele, espalhabilidade, facilidade de absorção entre outros. Comumente são ésteres, éteres, triglicerídeos graxos, Sohn et al. (2014).

Os agentes doadores de viscosidade são responsáveis por garantir a formação de cristais líquidos que promovem a viscosidade adequada ao produto. Normalmente são ácidos graxos, ésteres de glicerina, entre outros, Zhong et al. (2020).

Já os emulsificantes permitem a formação de micelas das partículas lipofílicas presentes na água e reduzem a tensão superficial. Normalmente são ácidos graxos etoxilados, ésteres graxos de glicerina, Sohn et al. (2014).

Os filtros físicos têm a função de formar uma barreira física para reflexão da radiação UV, comumente é utilizado o dióxido de titânio. Um filtro físico de boa qualidade é aquele que forma partículas pequenas e bem distribuídas, assim impedindo a passagem dos raios, como apresenta a figura 10:

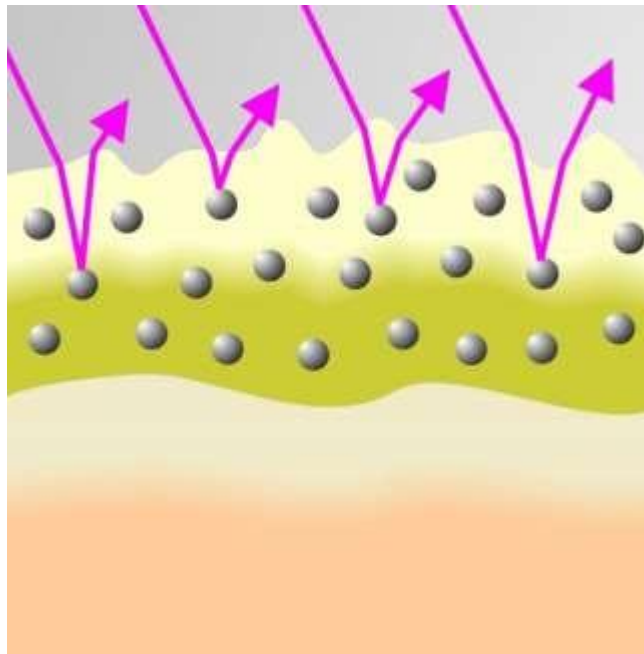


Figura 10: Boa distribuição das partículas do filtro físico. Fonte: Daniela Brotto Lopes Tercei, SIMPEQ, outubro 2008.

Nos filtros orgânicos diversas substâncias podem ser utilizadas, no caso deste trabalho a molécula que atuaria contra os raios UV seria a dibenzalacetona,

por apresentar um poder fotoprotetor, que foi apontado a partir da técnica UV-VIS avaliando a faixa de melhor absorção da molécula e levando em consideração que os raios UV atuam na faixa de 290 a 400 nm (raios UV-A e UVB, que são mais prejudiciais a saúde humana). Sendo assim, os filtros químicos são responsáveis por absorver a radiação ultravioleta por meio de transições eletrônicas, Lakhdar et al. (2007)

Os protetores solares, de maneira geral, após seu uso acabam se perdendo nas águas, podem ser prejudiciais à vida marinha. Devido a sua característica fotoprotetora acabam dificultando a penetração da luz solar nos oceanos e lagos, o que impede a fotossíntese das algas, acarretando na diminuição do oxigênio presente na água, o que pode causar a morte das espécies marinhas. Então a perda da característica fotoprotetora após o uso é ideal, assim não prejudicando a passagem dos raios solares para o meio aquático, Zhong et al. (2020).

3.8 CROMATOGRAFIA GASOSA E ESPECTROMETRIA DE MASSAS

A cromatografia é um método bastante empregado na grande maioria dos ramos científicos, que possibilita a separação, identificação e determinação de componentes semelhantes presentes em uma mistura. Tal método foi empregado pela primeira vez no século XX, por Mikhail Tswett, HOLLER et al. (2009).

Nas diferentes formas de cromatografia estão presentes duas fases, a fase móvel e a fase estacionária. A fase móvel é responsável por transportar a amostra através da fase estacionária, RADLER et al. (2008).

A escolha da composição destas duas fases varia de acordo com a amostra a ser analisada. Sendo que, as melhores fases são aquelas que distribuem melhor os componentes presentes nas amostras, durante o tempo de eluição no equipamento. Os componentes que apresentarem maior afinidade com a fase móvel eluem mais rapidamente pela coluna, sendo assim, os componentes com maior afinidade com a fase estacionária, ficam retidos por maior tempo, RADLER et al. (2008).

No trabalho, as cromatografias utilizadas foram a gasosa (CG) e a cromatografia de camada fina (CCF). Em relação a cromatografia gasosa a fase móvel sempre é um gás inerte, variando de acordo com o detector utilizado, normalmente os gases mais empregados são o nitrogênio, argônio, hélio e hidrogênio. Uma boa fase móvel é aquela que não interage com a amostra, apenas arrasta pela coluna, HOLLER et al., (2009).

A fase estacionária no CG, pode ser líquida ou sólida. Sendo assim, o componente no processo de separação fica fixo na superfície de outro material líquido ou sólido. A fase líquida deve ser termicamente estável e pouco volátil, já a fase sólida geralmente é um adsorvente, que apresenta grande área superficial, HOLLER et al., (2009).

Os métodos de injeção “*split*” e “*splitless*” são os mais utilizados nesta técnica, sendo responsáveis por vaporizar a amostra pela elevação da temperatura. A partir disto, os vapores da amostra são transportados pelo gás de arraste. O método “*split*” é utilizado em amostras que apresentam elevadas concentrações, enquanto o “*splitless*” é empregado para baixas concentrações, RADLER et al, (2008).

A temperatura da coluna pode se comportar de duas formas durante a corrida, isoterma ou temperatura programada. A isoterma ocorre quando a coluna apresenta uma temperatura fixa, e, quando a temperatura sofre variações ao longo da eluição, denomina-se temperatura programada. Tal fator muda de acordo com o método escolhido.

Após o término da eluição pela coluna do cromatógrafo a análise necessita de um detector que atua na identificação das moléculas. No caso, o detector utilizado na análise será o espectrômetro de massa (EM), uma técnica analítica que qualifica e quantifica os compostos, HOLLER et al., (2009).

O espectrômetro de massas é capaz de identificar a massa molecular dos componentes presentes na mistura, assim juntamente com a biblioteca *NIST* é possível propor a identidade dos compostos, HOLLER et al., (2009).

Para que seja possível identificar a massa molecular dos componentes é necessária a formação de cargas, tal fato possibilita calcular a trajetória dos íons, que estão submetidos ao vácuo e a combinação de campos magnéticos e elétricos. A formação de cargas ocorre por intermédio de uma fonte de íons, no caso o equipamento utiliza-se do modo ionização por elétrons, HOLLER et al. (2009).

No espectrômetro de massas também é necessário a presença de um analisador, que separa os fragmentos gerados, em função m/z . O analisador que será utilizado é um “*ion trap*”, que apresenta baixa resolução, HOLLER et al. (2009)..

3.9 ESPECTROFOTÔMETRO DE INFRAVERMELHO COM TRANSFORMADA DE FOURIER

Utiliza-se o termo espectroscopia para designar a ciência que trata as interações dos diversos tipos de radiação com a matéria, existindo uma ligação direta com as características da radiação eletromagnética. Estas características podem ser representadas por métodos senoidais clássicos de comprimento de onda, frequência, velocidade e amplitude, HOLLER et al. (2009).

Porém, para se compreender a relação entre a técnica e a radiação é necessário ver a radiação como um fluxo de partículas de energia, denominados fótons. Também é necessária uma visão dualística, sendo que a radiação se comporta como onda e como partícula, HOLLER et al. (2009).

No equipamento em si, a radiação incide sobre a amostra sendo capaz de gerar transições de um estado de energia rotacional ou vibracional para outro. Então estes movimentos são racionalizados e interpretados, assim cada ligação corresponde a um número de onda e representa um sinal específico, PAVIA et al. (2010).

Uma variação no momento dipolo é necessário para que ocorra a absorção da radiação infravermelha, assim o campo elétrico alternado interage com a molécula sendo capaz de causar variação na amplitude do movimento, SILVERSTEIN et al. (2006).

Os movimentos executados pelas moléculas podem ser quantificados, sendo que existem duas fórmulas para expressar este valor, sendo elas:

- 1- Moléculas lineares: número de movimentos = $3N - 5$;
- 2- Moléculas não lineares: número de movimentos = $3N - 6$.

Na fórmula "N" representa o número de átomos presente em cada molécula. HOLLER et al. (2009).

Classificam-se as vibrações em classes de estiramento e deformação, sendo elas: estiramento simétrico e assimétrico, deformação simétrica e assimétrica no plano, deformação simétrica e assimétrica fora do plano, HOLLER et al. (2009)

4. MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 MATERIAIS

Para as análises foram utilizados o acetato de etila, vapores de iodo, o hélio como gás de arraste e o sulfato de magnésio. O agente redutor empregado foi a cenoura (*Daucus carota*). De forma geral, as vidrarias utilizadas nos métodos foram Erlenmeyers de 125 mL, tubos tipo Falcon de 15 mL e béquers de 50 mL. Os equipamentos aplicados para as análises foram o vortex, centrífuga, cromatógrafo a gás, espectrofotômetro de infravermelho (IV) por transformada de *Fourier*, cromatografia em camada fina, balança semi-analítica, termômetro e agitador rotativo.

4.2 INFRAESTRUTURA DISPONÍVEL

Conduziu-se o presente trabalho junto aos laboratórios de química da UTFPR (N002, N004 e N005), Laboratório de Solos (DAGRO), Laboratório de Análise Instrumental do POLITEC/LACTEC com apoio da estrutura da Central de Análises da UTFPR. O laboratório da Central de Análises conta com um Cromatógrafo Gasoso *Varian 431/CP-3800* acoplado a um detector de massas *Varian 210 ion trap MS*, faixa de aquisição: 50-250 u; energia de ionização: 70 eV; modo de aquisição normal (impacto de elétrons; *transferline* coluna/MS a 200 °C; ion trap à 170 °C; Espectrofotômetro de Infravermelho (IV) por Transformada de *Fourier*, modelo *FRONTIER Mid Infrared*.

4.3 COLETA DO BIOCATALISADOR (CENOURA) E A BIORREDUÇÃO DA 1,5-DIFENILPENTA-1,4-DIEN-3-ONA (DIBENZALACETONA)

A cenoura foi adquirida fresca em um mercado local, lavada com água corrente e, em seguida, cortada em fatias de aproximadamente 0,5 cm (não é necessário descascar). Após, os pedaços foram pesados em um erlenmeyer de 250 mL utilizando-se uma balança semi analítica, até a obtenção de aproximadamente 20 g do biocatalisador. Em seguida, adicionou-se 80 mL de água destilada e 0,1 gda 1,5-difenilpenta-1,4-dien-3-ona (dibenzalacetona).

A partir deste ponto ocorreram algumas mudanças de um teste para o outro. Na etapa um, que buscou determinar quais ligações foram afetadas pela biorredução,

as condições foram: temperatura ambiente, agitação a (200 rpm) em um agitador magnético e tempo de reação de 48 h. Já na segunda etapa ocorreram variações nas sínteses para determinar o melhor rendimento. O primeiro teste da etapa dois, contou apenas com a presença de agitação, com agitador magnético (200 rpm). O segundo teste contou apenas com a presença de aquecimento a (40°C), sendo que a amostra foi levada a uma estufa com circulação de ar. Já no terceiro teste o erlenmeyer foi levado ao agitador magnético (200 rpm), com presença de aquecimento a 40°C. Estas são as diferenças reacionais, que determinaram os diferentes rendimentos das reações. Todos os procedimentos da etapa dois permaneceram nestas condições por um tempo de 48 e 72 h.

Após o tempo de síntese, foram retiradas alíquotas de 2 mL de cada reação e transferidas para tubos tipo Falcon de 15 mL. A estes tubos foram adicionados 1 mL de acetato de etila (AcOEt).

Após, os tubos foram agitados em um vortex e levados para centrifuga por 5 min, a aproximadamente 2500 rpm, formando a fase orgânica de interesse. Esta extração também pode ser feita manualmente, sem necessidade de vortex e/ou centrifuga. Com isso, descartando-se a fase indesejada.

Por fim, foi utilizado o sulfato de magnésio como agente desidratante, adicionando-se aos tubos falcon, quantidade equivalente a uma ponta de espátula. Após, ocorreu a retirada do material líquido restante nos tubos, por meio de uma pipeta de pasteur, assim transferindo para novos tubos falcon de 15 mL. Estes tubos contendo a fase orgânica (líquida) foram diretamente utilizados para as análises de CCF, CG/EM e UV- Vis.

A fim de conhecer a melhor condição em que ocorreu a biorredução (na etapa dois), algumas variáveis sofreram mudanças entre os testes. Estas variáveis foram a temperatura, o tempo de reação e a presença ou não de agitação.

A tabela 2 mostra a variação dos fatores:

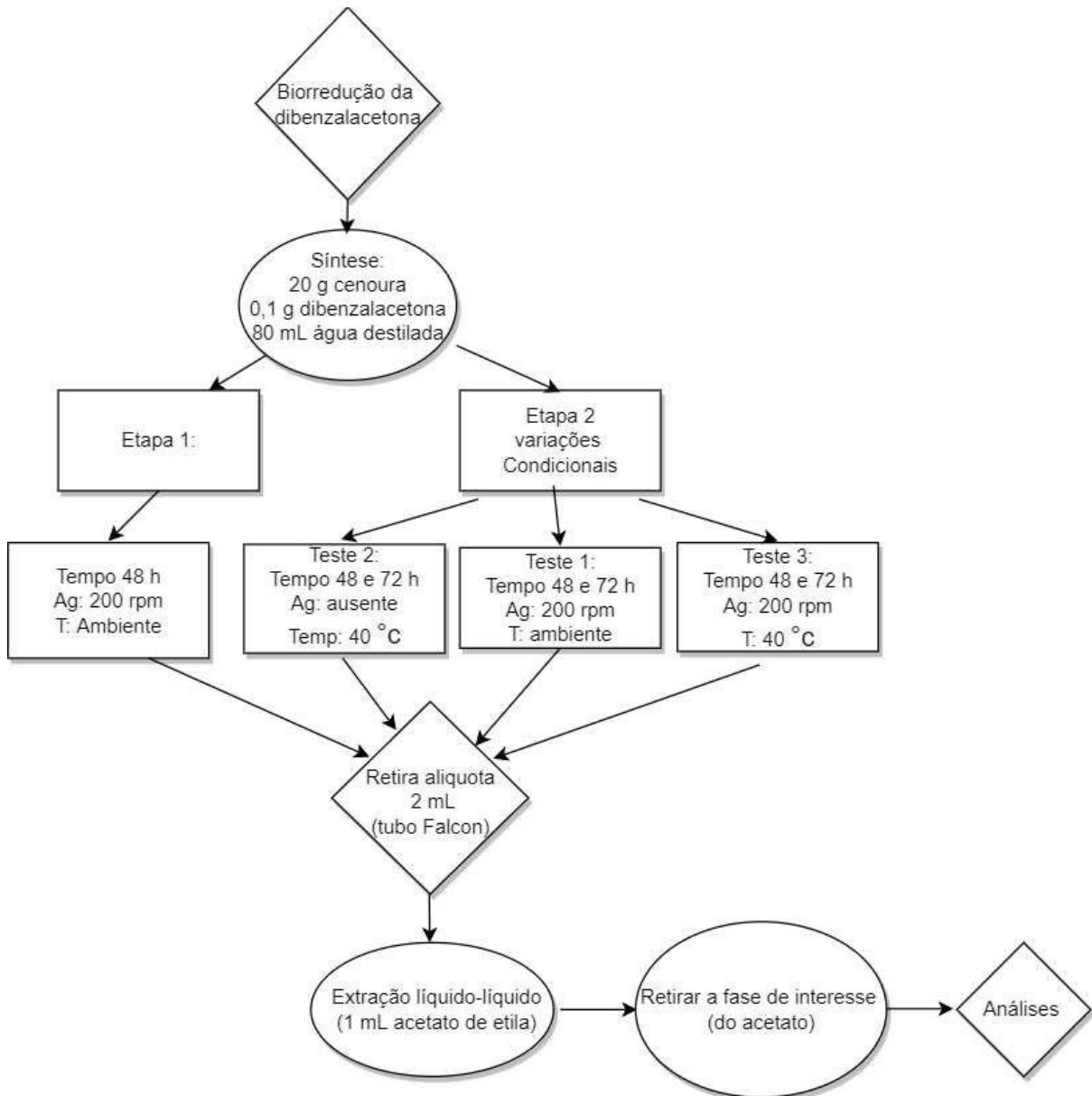
Tabela 2: Variações dos fatores que serão submetidas as amostras na biorredução. (Autoria Própria)

Teste	T °C	Agitação (rpm)	Tempo de reação (horas)
1	Ambiente	200	48 e 72
2	40 (estufa)	Ausente	48 e 72
3	40	200	48 e 72

Na tabela estão apresentadas as variáveis temperatura, agitação e tempo de reação. Sendo que, é importante ressaltar que foram retiradas alíquotas de cada teste com o tempo de 48 e 72 horas.

Foi realizada a agitação por meio de um agitador magnético, já o aquecimento foi empregado com a utilização do agitador magnético no teste 3 e com uma estufa com circulação de ar no teste 2.

O fluxograma 1 a seguir representa o processo descrito de maneira geral:



Fluxograma 1: Representação das etapas da biorredução. (autoria própria)

4.4 CROMATOGRAFIAS DE CAMADA FINA

A evolução das reações foi seguida pela cromatografia em camada fina (CCF) em placas cromatográficas de alumínio com sílica gel 60 F254 da *Merck*. Sempre que necessário esta metodologia também foi utilizada para comparar misturas e identificar componentes fazendo uso de padrões. Não sendo a identificação por este método inequívoca, quando necessário foram realizadas análises posteriores mais detalhadas por outros métodos, como o CG/EM. Utilizou-se misturas eluentes, baseadas, sobretudo nos solventes: acetato de etila e hexano.

A proporção utilizada para a eluição foi 3:7 acetatos de etila e hexano, respectivamente, em comparação a literatura. Inicialmente as placas de sílica gel

foram organizadas, determinando marcações para o início e o fim da eluição. Com isso, preparou-se a solução de eluição em um bequer de 50 mL, onde acrescentou-se 10 mL da mistura de eluição. Após, em uma placa de sílica, com o auxílio de um capilar, foram adicionadas as amostras. As placas de CCF foram “reveladas” por observação sob vapores de iodo. Foi realizado um teste com o composto de partida, a fim de comparação com os produtos.

4.5 ESPECTROSCOPIA DE ABSORÇÃO MOLECULAR NA REGIÃO DO INFRAVERMELHO COM TRANSFORMADA DE *FOURIER* (IV-TF)

Foi obtido um espectro de infravermelho, IV, para a caracterização da 1,5-difenilpenta-1,4-dien-3-ona (dibenzalacetona) em pastilhas de brometo de potássio, KBr, em espectrofotômetro *Frontier, Perkin Elmer*® (USA) na faixa espectral compreendida entre 400 e 4000 cm^{-1} , com resolução de 4 cm^{-1} , número de acumulações de 32 varreduras. Tais condições foram aplicadas para a dibenzalacetona com a finalidade de monitorar as bandas presentes no espectro.

4.6 CROMATOGRAFIA GASOSA ACOPLADA A ESPECTRÔMETRO DE MASSAS (CG/EM)

Para a caracterização adequada de todos os produtos de interesse, foram traçados espectros de massa, *MS*, por injeção direta no equipamento de cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massas, modelo *Varian 210 MS*, com uma coluna VF-5ms (30 m x 0,25 mm D.I x 0,25 m de filme). Na metodologia empregada o volume de injeção foi de 10 μL e a temperatura do injetor foi de 270 °C. Inicialmente a temperatura da coluna foi de 150°C, permanecendo por 3,0 minutos e chegando em 280°C em uma taxa de aquecimento de 10°C.min⁻¹, permanecendo por 20 minutos. Utilizou-se o hélio como gás de arraste com um fluxo de 1,2 mL.min⁻¹. A injeção da amostra foi feita no modo *split* na proporção 1:100.

A identificação dos compostos voláteis foi realizada pelo detector de massas operando com uma fonte de íons a 170°C, com energia de ionização de 70 eV, em uma faixa de razão massa carga de 50-250 m/z. Para a interpretação do espectro de massas utilizou-se o banco de dados do Instituto Nacional de Padrão e Tecnologia (*NIST*).

4.7 ESPECTROMETRIA DE ABSORÇÃO MOLECULAR (UV-VIS)

Realizou-se a análise no equipamento modelo UV-VIS DUPLO FEIXE IL-0082-Y, Kasuaki. A cubeta utilizada foi de quartzo e a faixa de varredura foi de 190 a 500nm.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 VIA RESUMIDA PARA OBTENÇÃO DA DIBENZALACETONA

A dibenzalacetona pode ser sintetizada a partir de benzaldeídos e acetonas por meio de uma condensação aldólica, que também é chamada de reação de *Claisen-Schmidt*, que se estabelece entre dois compostos carbonílicos. O processo de síntese utiliza o etanol como solvente, hidróxido de sódio (NaOH) como catalisador e temperatura ambiente, como apresenta a figura 11, a seguir:

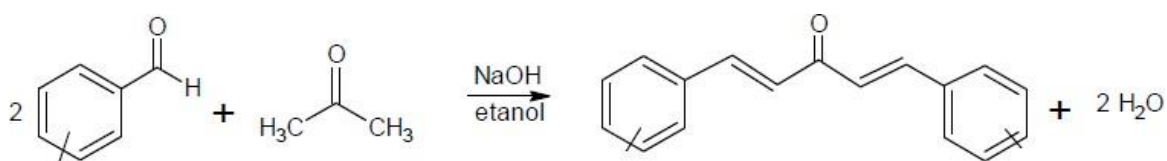


Figura 11: Síntese da dibenzalacetona a partir de benzaldeídos e acetonas. Fonte: Kamila dos Santos Magueroski, estágio supervisionado.

Esta reação é caracterizada pela formação de mais de um produto, um exemplo é que em meio básico, inicialmente ocorre a formação da benzalacetona, que é apresentada na figura 12.

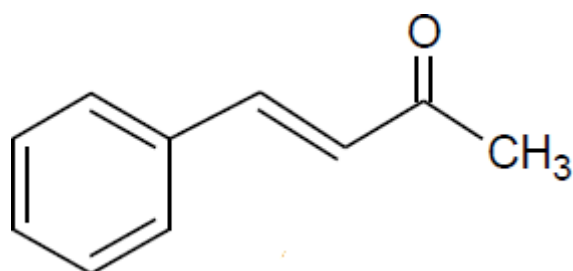


Figura 12: Benzalacetona. (Autoria Própria)

Contudo, após a desprotonação de um hidrogênio que está presente no grupo metila da benzalacetona, ocorre a formação de um carbânion, que posteriormente reage com outra molécula de benzaldeído formando a dibenzalacetona.

5.2 CARACTERIZAÇÃO DA CROMATOGRÁFIA GASOSA ACOPLADA A ESPECTRÔMETRO DE MASSAS

Para melhor entendimento dos cromatogramas e espectros apresentados serão aplicadas letras para os compostos de partida e os produtos das biorreduções. O composto (A) sofreu a biorredução nas duas ligações duplas entre carbonos (C=C), enquanto o composto (C) sofreu a biorredução em apenas uma destas ligações. Os compostos (B) e (D) são a dibenzalacetona em sua isomeria *trans* e *cis*, respectivamente. como apresenta a figura 13, a seguir:

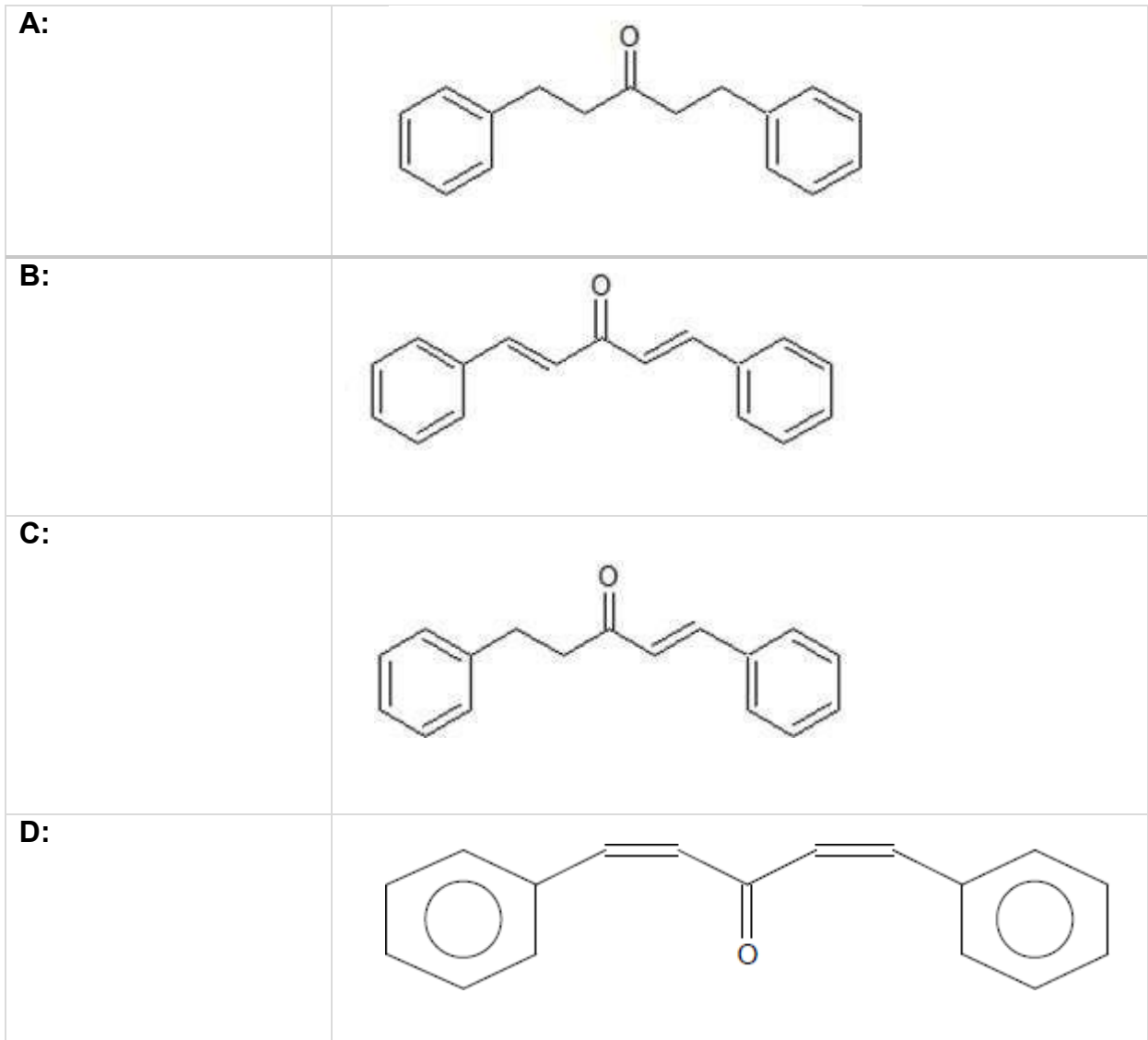


Figura 13: Compostos dispostos nos cromatogramas. (Autoria Própria)

Antes das amostras serem levadas para as análises foi realizada uma extração líquido-líquido com acetato de etila para remover os produtos de interesse da água. A fase orgânica é a superior (amarela) e a fase aquosa é a inferior (incolor), a figura 14 mostra a formação das fases:



Figura 14: separação líquido-líquido, fase superior de interesse e fase inferior água. (Autoria Própria)

Para iniciar a análise, primeiramente foi apresentado o cromatograma do composto de partida antes de sofrer a biorredução, como mostra a figura 15:

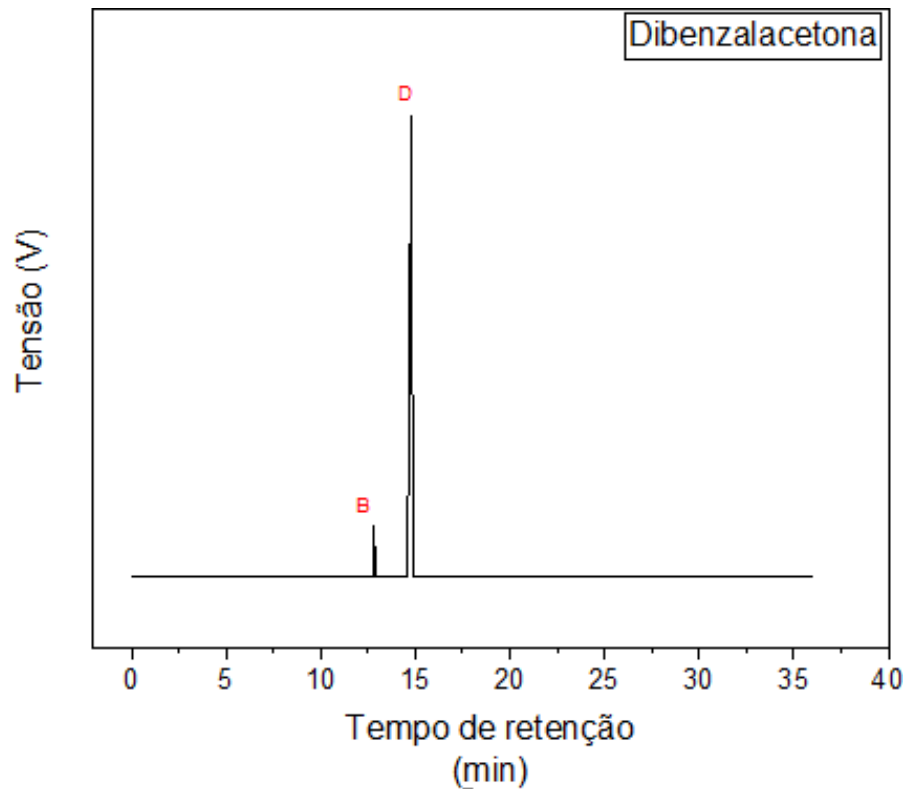


Figura 15: Cromatograma da Dibenzalacetona antes de sofrer a biorredução. (Autoria Própria)

Como podemos notar a figura a cima não possui os compostos (A) e (C) que são derivados da biorredução. O pico (B) é característico da *trans*-dibenzalacetona e está presente em menor quantidade quando comparado a *cis*-dibenzalacetona, no pico (D). A partir deste cromatograma será possível analisar qual isômero sofrerá a biorredução.

Na primeira etapa do projeto foram realizados testes com o intuito de determinar quais produtos seriam formados e se a reação apresentaria seletividade. Dito isso, as condições estabelecidas para as amostras a seguir foram: temperatura ambiente, tempo de reação de 48 horas e agitação de 200 rpm. A figura 16 apresenta o cromatograma da amostra 1, que foi realizado em uma temperatura próxima a 30°C.

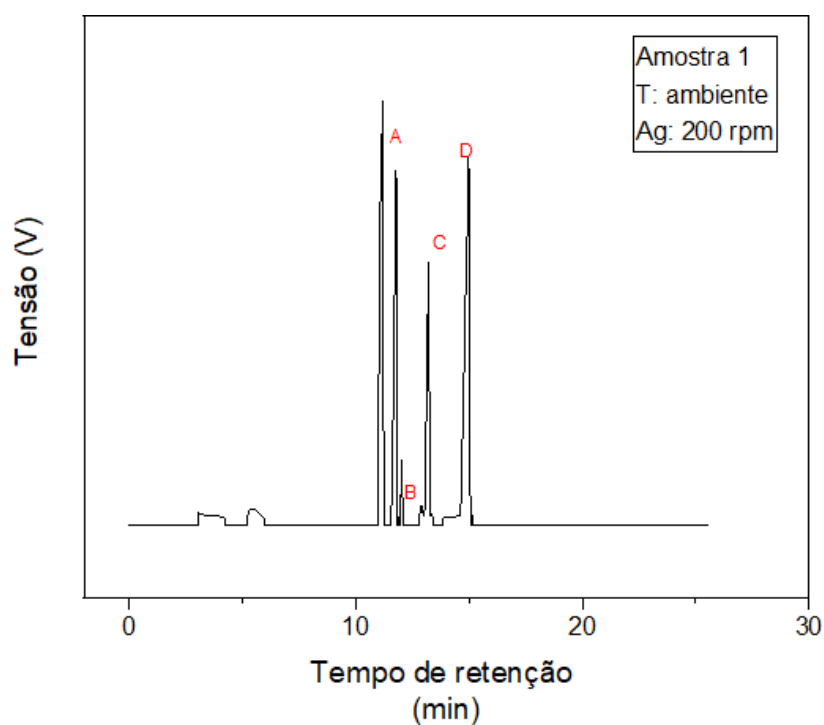


Figura 16: Cromatograma da biorredução da amostra 1. (Autoria Própria)

Podemos notar que a amostra 1 apresentou bons resultados em relação à redução, tendo em vista que ocorreu uma boa diminuição do pico (B), enquanto ocorreu a formação dos picos (A) e (C), em relação ao cromatograma de partida da dibenzalacetona. Esta diminuição era esperada, levando em consideração que a reação se apresentou estereosseletivas para o isômero *trans* em decorrência da característica do biocatalisador. Ocorreu uma diminuição de 47,38% do pico (B) da amostra 1 quando comparado ao mesmo pico no cromatograma da figura 15, tal comparação foi realizada utilizando a integração presente no CG/EM do pico do composto de partida (B), por meio da área de cada pico.

O pico (A) é característico do composto que sofreu a redução das duas ligações duplas entre carbonos (C=C), já o pico (C) é característico do composto que sofreu redução em apenas uma dupla ligação entre carbonos (C=C), a presença dos produtos pode ser avaliada através da utilização da biblioteca *NIST* presente no EM. Nota-se que a dupla entre o carbono e o oxigênio (C=O) não sofreu redução, então a reação foi seletiva para ligação (C=C), sendo assim as enzimas demonstraram sua eficiência como catalisadores quimio e estereosseletivos. São quimiosseletivas por atuarem em um único grupamento funcional, preservando outros grupamentos, como a dupla entre (C=O) que são quimicamente sensíveis.

Por fim, são estereosseletivos por serem capazes de agir, com alta seletividade, sobre apenas um isômero o *trans*. Tendo em vista que o cromatograma apresentou uma acentuada diminuição do pico (B), enquanto no pico (D) ocorreu uma leve diminuição, que pode ser explicada pela possível conversão de algumas partículas de *cis*-dibenzalacetona em *trans*-dibenzalacetona, pela ação da temperatura e principalmente pela ação da agitação. Logo o isômero *trans* possivelmente necessita de uma menor energia livre para sua conversão aos produtos, em comparação ao isômero *cis*.

A partir de cálculos feitos levando em consideração a área dos quatro picos (A), (B), (C) e (D), com o auxílio da integração presente no equipamento (CG/EM) e considerando a soma das áreas dos quatro picos como 100% obtivemos porcentagem de cada molécula presente na amostra, ou seja, os compostos de partida e os produtos, como apresenta a tabela 3, a seguir:

Tabela 3: Rendimento da reação. (Autoria Própria)

MOLÉCULAS	ÁREA	PORCENTAGEM
A	$9,5 \times 10^3$	25,13%
B	$1,46 \times 10^3$	3,86%
C	$7,34 \times 10^3$	19,41%
D	$1,95 \times 10^4$	51,58%
Total		100%

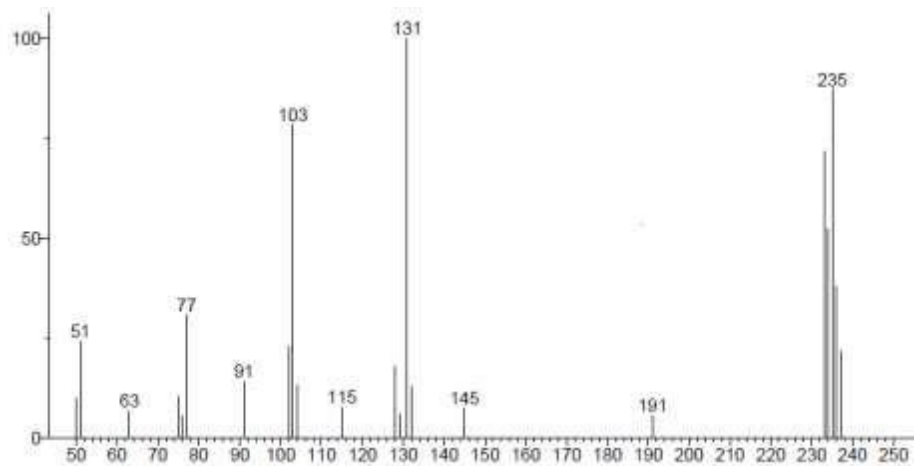
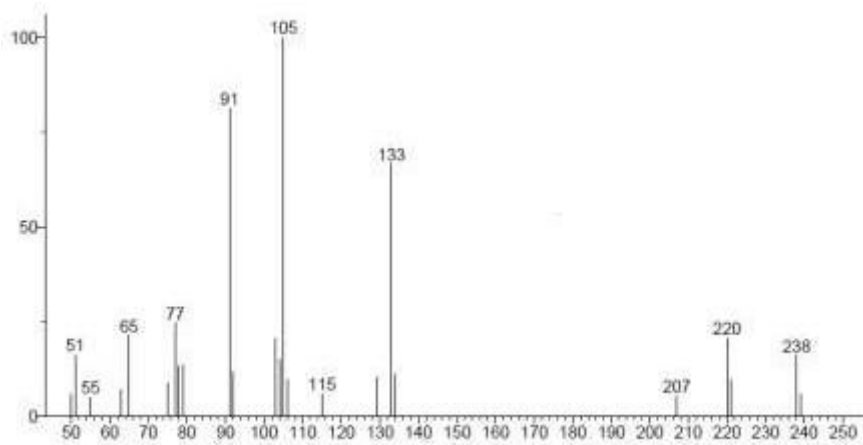
A partir da tabela notamos que o pico (B) que corresponde a *trans*-dibenzalacetona, foi quase todo consumido, já o pico (D) que corresponde a *cis*-dibenzalacetona, apresentou uma grande porcentagem na composição da amostra, devido ao fato das enzimas redutoras serem estereosseletivas para o isômero *trans*. Com o aumento no tempo de reação possivelmente toda a *trans*-dibenzalacetona será consumida e após ocorrerá à transformação da dibenzalacetona *cis* em *trans*, (por meio da agitação e temperatura, que estão fornecendo energia ao sistema), sendo assim possivelmente a *cis* será consumida. A conversão do isômero (isomerização), formando o isômero (*E*) mais estável, é um processo endotérmico. Essa reação de isomerização é lenta devido à alta energia de ativação necessária

para romper uma das ligações da dupla entre os carbonos, permitindo que ocorra a rotação da ligação. O biocatalisador deve diminuir a entalpia do isômero *trans*, tornando a transformação mais favorável.

Em relação aos produtos temos 25,13% para o pico (A), onde ocorre a biorredução das duas duplas entre carbonos e 19,41% para o pico (C), onde ocorre a biorredução de apenas uma dupla, a soma totaliza 44,54%.

Para complementação do cromatograma serão apresentados os espectros dos picos (A), (B), (C) e (D) respectivamente:

:



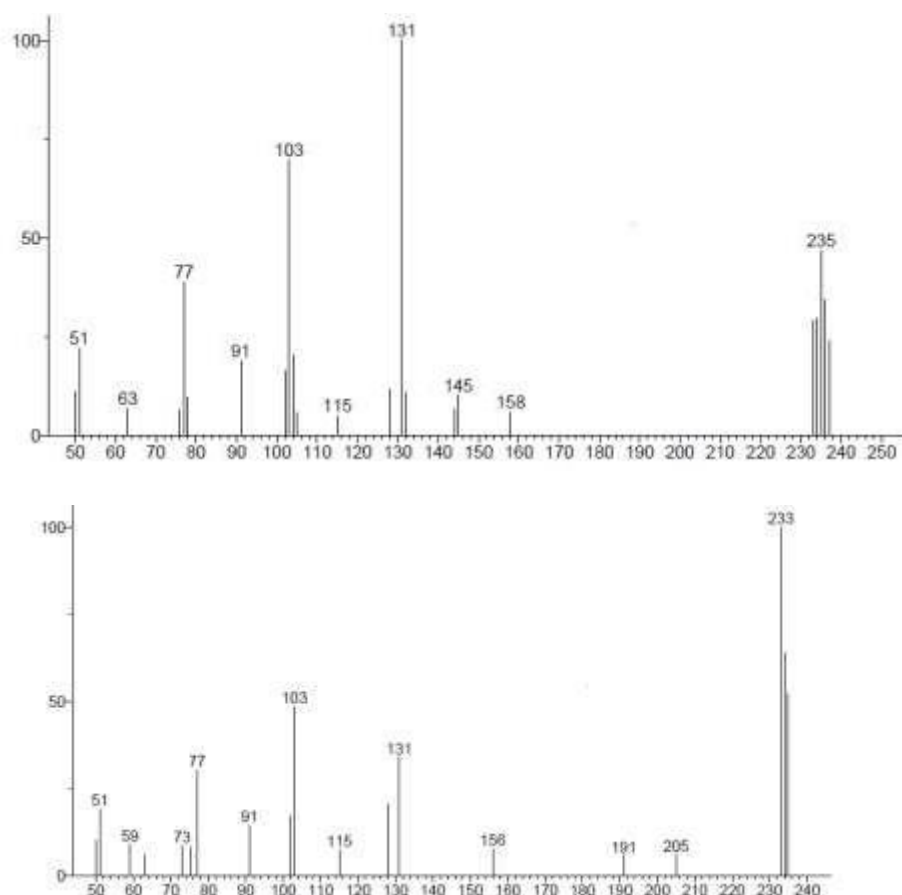


Figura 17: Os espectros a cima representam respectivamente os picos (A), (B), (C) e (D). (Autoria Própria)

Podemos notar nos espectros dos picos (B) e (D) que o íon molecular está no fragmento de m/z 234, que representa a molécula da dibenzalacetona. No primeiro espectro, que representa o pico (A), temos o íon molecular em m/z 238, por ter ocorrido a biorredução com a quebra das duas ligações duplas entre os carbonos, seguida da adição de quatro hidrogênios na molécula. Já no último espectro, do pico (D), o íon molecular está no fragmento de m/z 236, por ter ocorrido à quebra de apenas uma dupla ligação entre os carbonos, seguida da adição de dois hidrogênios na molécula.

Notamos que no pico (A), o íon molecular apresentou uma grande diminuição, quando comparado aos íons moleculares dos picos (B) e (D). Os íons moleculares dos picos (B) e (D) são muito estáveis tendo em vista que a molécula possui dois anéis aromáticos com ressonância e ligações duplas alternadas entre carbonos na cadeia entre os anéis. Já o íon molecular do pico (A) sofre uma grande diminuição devido à ausência (ressonância e estabilização) das duas ligações duplas entre os carbonos na cadeia. Tal diminuição também pode ser observada no íon molecular

do pico (C), porém em menor proporção, levando em conta que neste caso a molécula perde apenas uma dupla entre os carbonos.

A perda destas duplas ligações entre os carbonos diminui a estabilidade da molécula e faz com que possa ocorrer a perda da sua característica de cromóforo, ou seja, a perda da sua capacidade de absorver na região do ultravioleta ou visível (o que foi analisado a partir do UV-Vis).

Os picos base de cada espectro são respectivamente: m/z 105, 131, 131 e 233. Existem fragmentos em comum em todos os espectros, que são característicos da fragmentação da dibenzalacetona, são eles: m/z 51, 77, 91, 103 e 131. Levando em conta que os números acima dos sinais representam a massa do íon formado. Alguns fragmentos serão representados na figura 18, junto com o possível mecanismo de fragmentação:

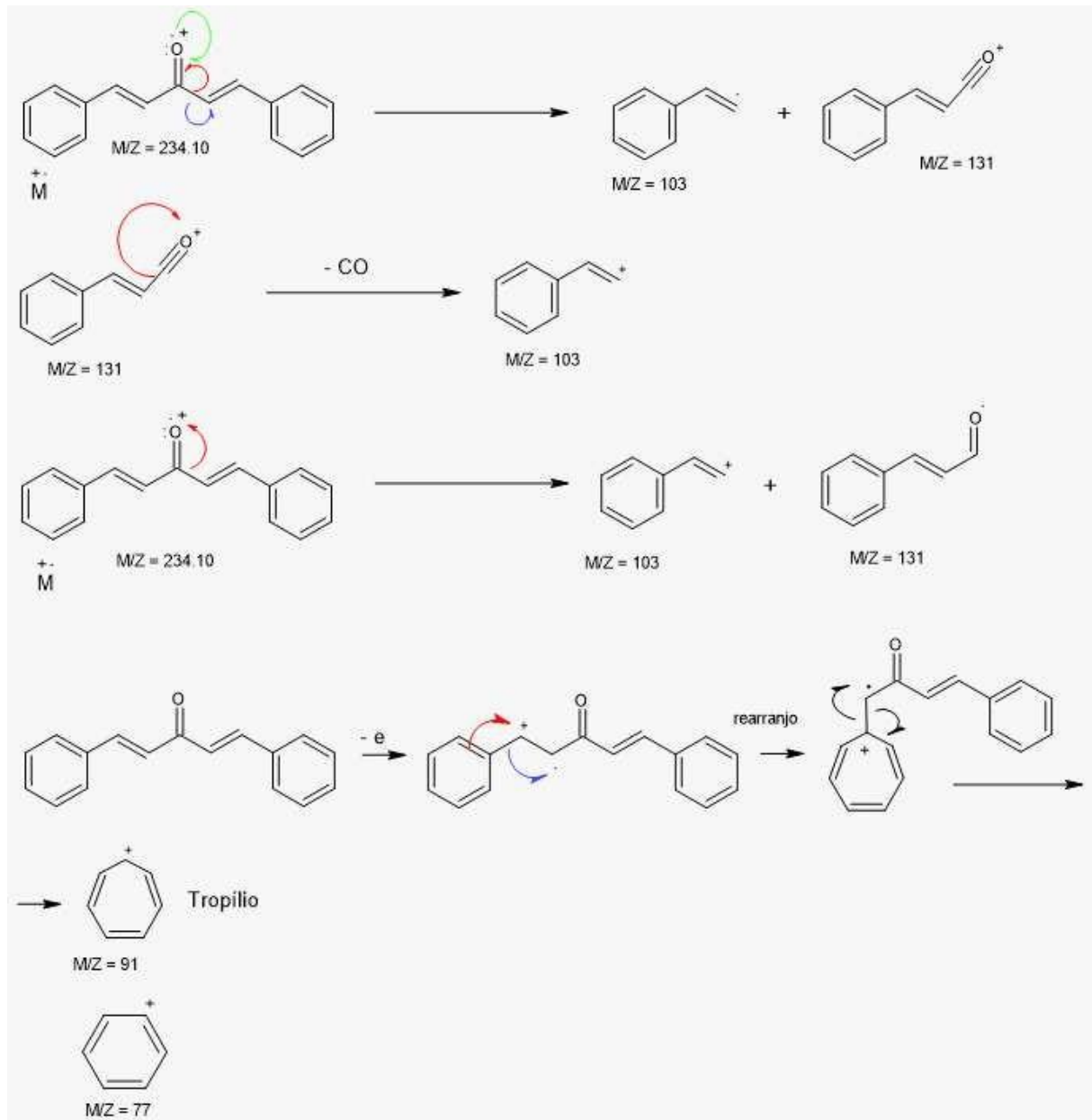


Figura 18: Fragmentos da dibenzalacetona e derivados. (Autoria própria)

Avaliando a figura que representa a fragmentação podemos observar que os principais pontos que sofrem as fragmentações e os rearranjos estão próximos a dupla (C=O) e no caso do tropílio próximo e no anel aromático. Vamos analisar a primeira fragmentação na figura 19:



Figura 19: formação do fragmento de 131 e 103 m/z. (Autoria própria)

Nota-se que os fragmentos de m/z 131 e 103 originam-se da molécula de dibenzalacetona, que sofre uma ionização ficando com carga positiva, a partir disto ocorre uma cisão homolítica onde cada carbono fica com um elétron livre, após a formação de uma nova ligação entre o carbono e oxigênio, que ocorre devido a presença de um elétron livre resultante da quebra homolítica e outro elétron livre presente na camada de valência do oxigênio. A figura 20 apresenta a segunda fragmentação:

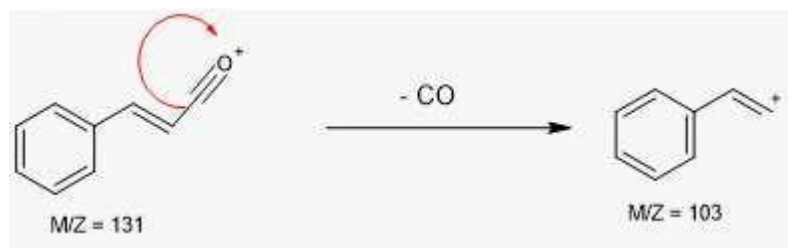


Figura 20: Formação do fragmento de 103 m/z . (Autoria própria)

O fragmento de m/z 103 originou-se do fragmento formado anteriormente de m/z 131. Nesta fragmentação ocorre uma cisão heterolítica entre os carbonos, onde o fragmento de interesse perde um elétron resultando em uma carga positiva, ocorre o desprendimento de uma molécula de (CO). A figura 21, a seguir, apresenta a terceira fragmentação:



Figura 21: Formação dos fragmentos de 103 e 131 m/z . (Autoria própria)

A partir desta figura notamos que os fragmentos de m/z 103 e 131, podem ser formados em mais de uma forma a partir da dibenzalacetona, que foi novamente ionizada, apresentando carga positiva. Neste caso ocorre uma cisão heterolítica entre os carbonos, desta maneira temos a formação de um fragmento de m/z 103 com carga positiva devido à deficiência em elétrons, enquanto o outro fragmento apresenta um elétron livre no oxigênio, por possuir um elétron a mais na camada de valência, elétron que foi roubado do outro fragmento. A figura 22 apresenta a última fragmentação:

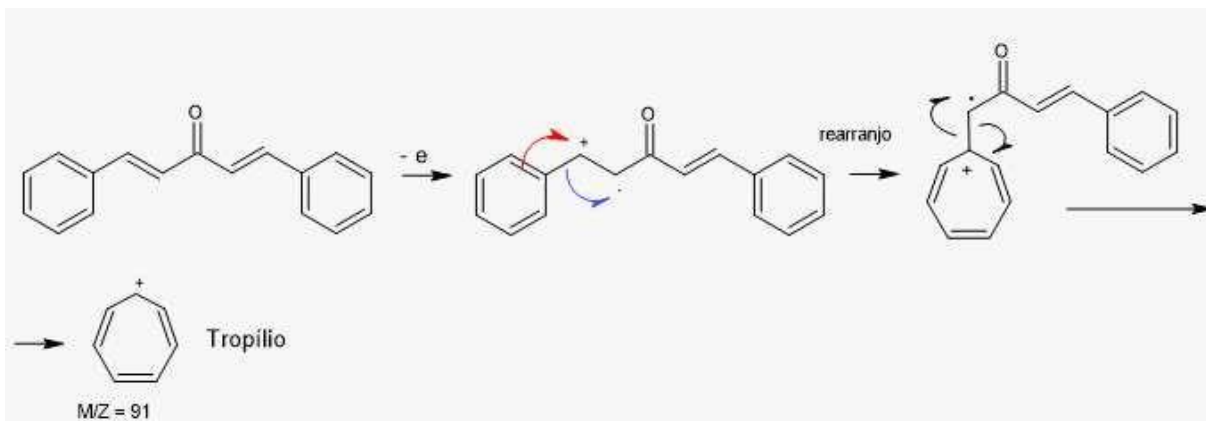


Figura 22: Formação do fragmento de 91 m/z. (Autoria própria)

Notamos que o fragmento de m/z 91 origina-se da molécula de dibenzalacetona. Inicialmente ocorre uma perda induzida de um elétron, que promove a formação de uma carga positiva em um carbono e um elétron livre no outro. Devido a esta instabilidade ocorre um rearranjo que forma um anel com sete carbonos e uma carga positiva, com o carbono que inicialmente estava fora do anel. Por fim ocorre uma quebra homolítica, onde cada carbono fica com seu elétron, assim ocorrendo a formação do fragmento tropílio.

Para efeito comparativo será apresentado na figura 23 o cromatograma da amostra 2 que foi realizada nas mesmas condições da amostra 1:

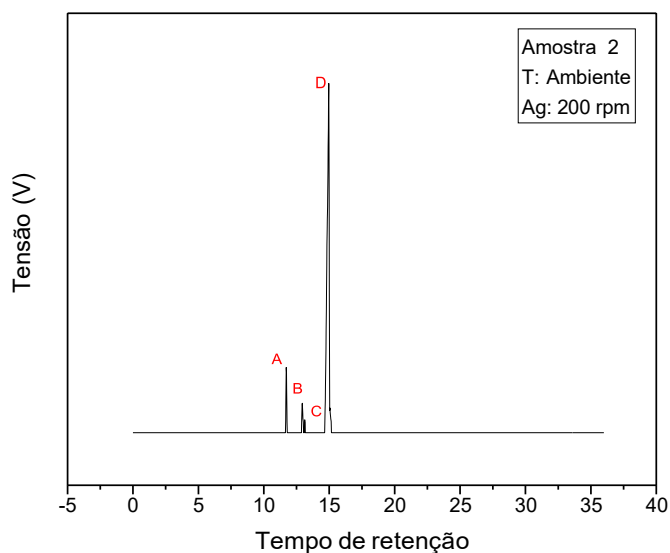
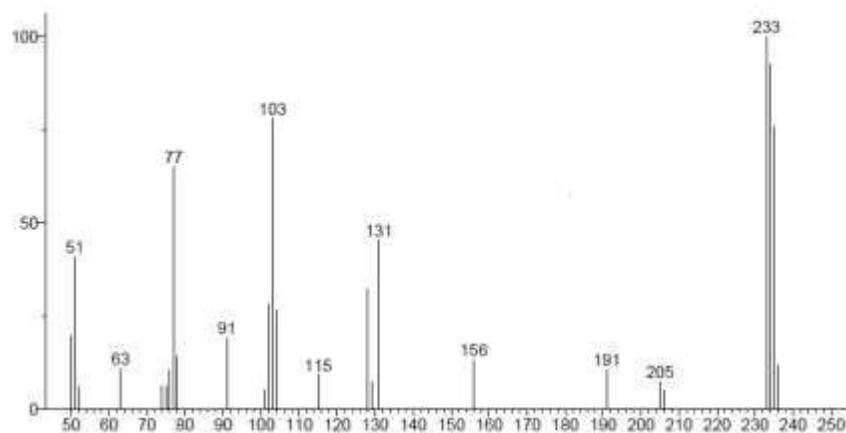
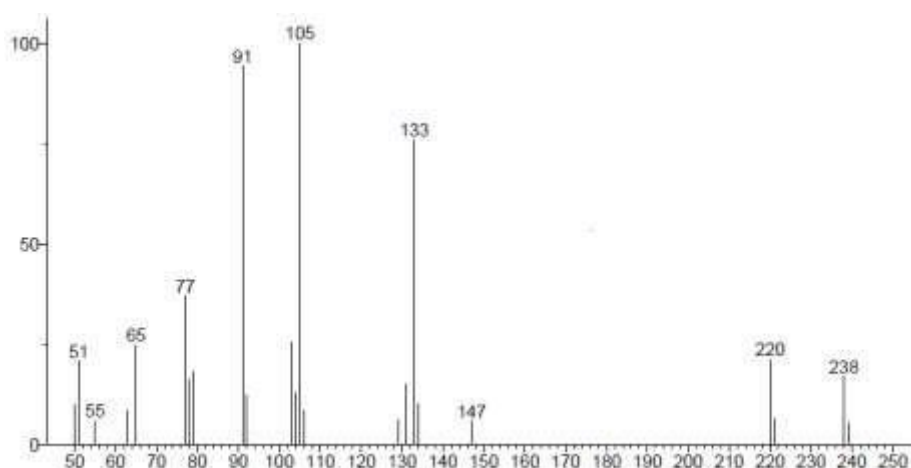


Figura 23: Cromatograma da amostra 2. (Autoria Própria)

Em relação ao cromatograma da amostra 1, notamos que ocorreu uma menor formação dos produtos (A) e (C), tal fato aconteceu devido a reação ter ocorrido com

temperatura mais baixa, próxima a 20°C. Notamos que o produto (A) foi formado em maior quantidade que o produto (C) e que novamente a redução se mostrou seletiva tanto para as ligações (C=C) quanto para o isômero *trans*. Devido a menor temperatura temos uma diminuição menos acentuada do isômero *cis*, pela menor formação dos produtos e a menor conversão do isômero *cis* em *trans*.

A figura 24, a seguir, apresenta os espectros dos picos (A), (B), (C) e (D) da amostra 2:



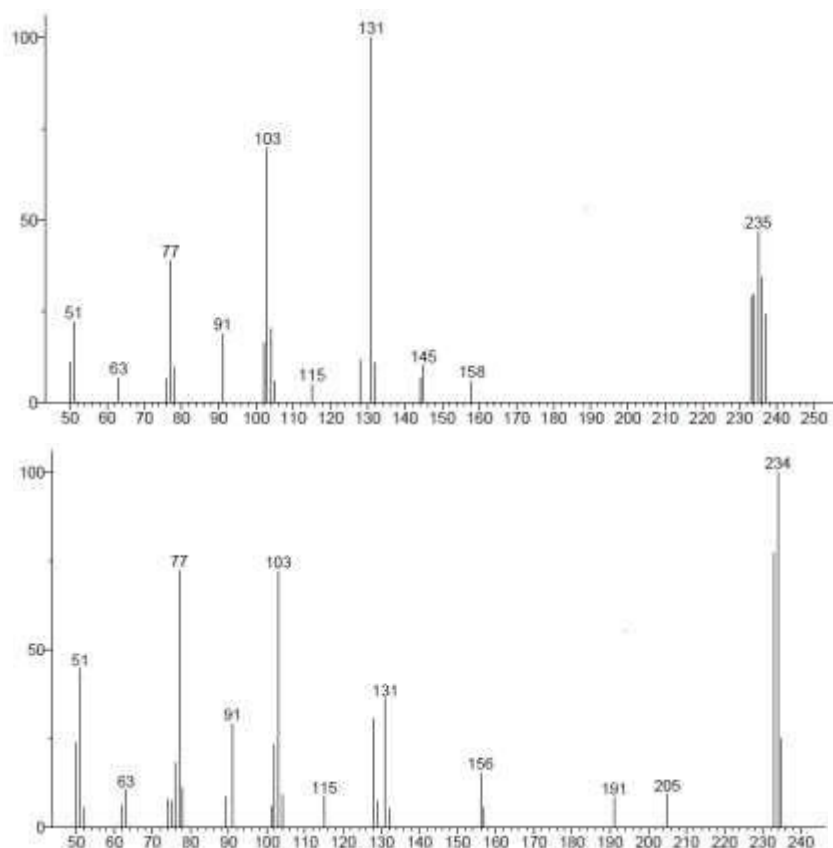


Figura 24: Espectros dos compostos em (A), (B), (C) e (D) da amostra 2. (Autoria Própria)

Notamos que os espectros possuem novamente fragmentos semelhantes característicos da dibenzalacetona, sendo eles: m/z 51, 77, 91, 103 e 131. Em relação ao íon molecular, para os picos (B) e (D) o sinal está em m/z 234 (Dibenzalacetona). Já para o pico (A) o sinal está em m/z 238, pela quebra das duas duplas ligações entre carbonos e adição de quatro hidrogênios. Por fim, o pico (C) apresentou o sinal do íon molecular em m/z 236, pela quebra de uma dupla entre carbonos e adição de dois hidrogênios.

Ainda em relação aos íons moleculares notamos novamente uma diminuição nos sinais dos espectros (A) e (C), pela perda das duplas ligações (C=C) entre os anéis que garantem junto com o anel aromático uma grande estabilidade à molécula. A diminuição é mais acentuada em (A), pois ocorre a quebra das duas duplas entre os carbonos, enquanto em (C) apenas a quebra de uma ligação dupla (C=C). Os picos base dos espectros são respectivamente: m/z 105, 233, 131 e 234.

A segunda parte do projeto busca entender como as variações nas condições das reações afetam a formação dos produtos. Para isto, a figura 25 apresenta os cromatogramas das amostras:

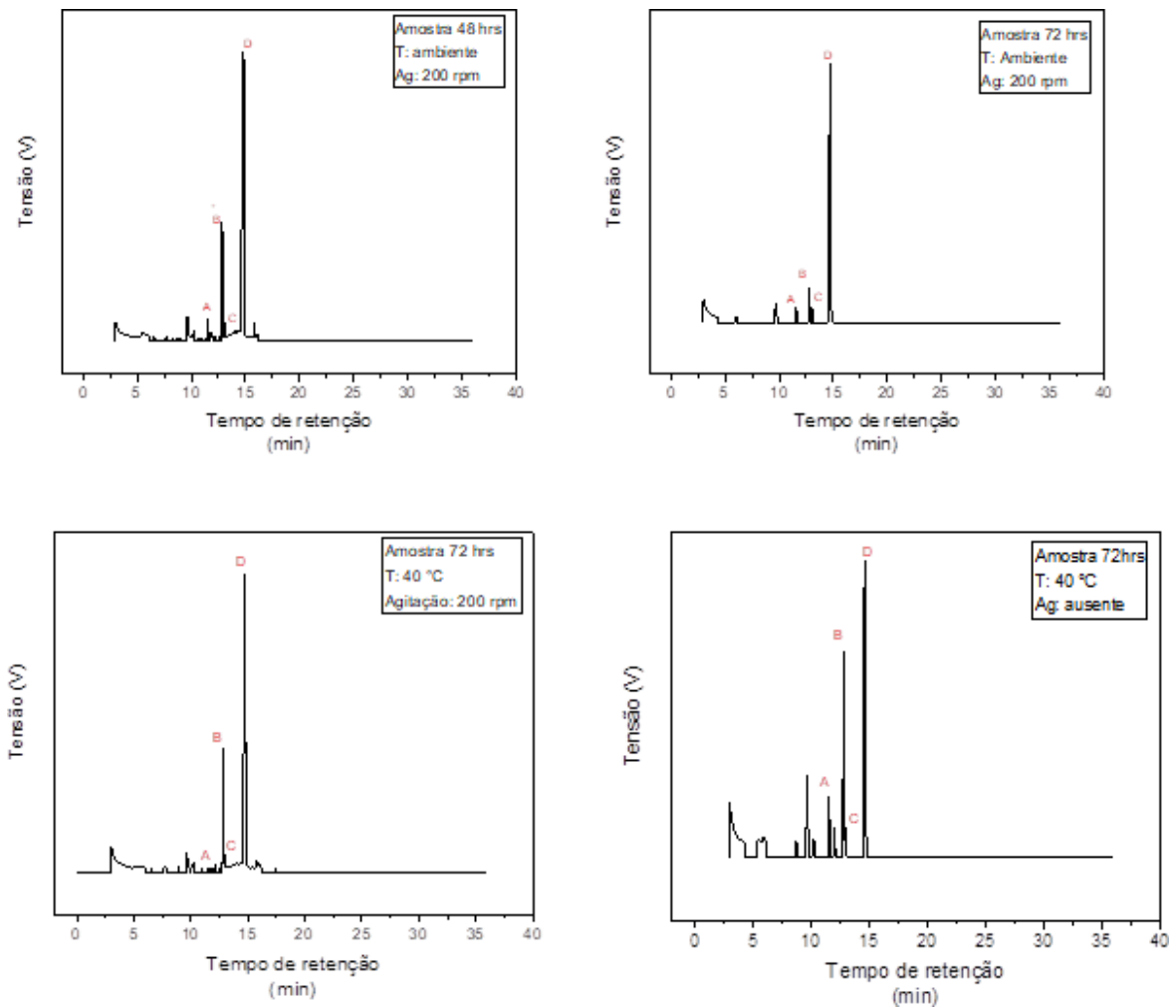


Figura 25: Cromatogramas de variações em tempo de reação, temperatura e agitação. (Autoria Própria)

O primeiro cromatograma apresenta a reação de 48 horas, com temperatura ambiente e agitação de 200 rpm (3). Já o segundo cromatograma apresenta a reação de 72 horas, com temperatura ambiente e agitação de 200 rpm (4). O terceiro cromatograma expõe a reação de 72 horas, com temperatura de 40°C e agitação de 200 rpm (5). Por fim, o último cromatograma expõe a reação de 72 horas, com temperatura de 40°C e agitação ausente (6).

Podemos notar que estes cromatogramas, em relação aos cromatogramas apresentados anteriormente, nas figuras 16 e 23, possuem picos bem menores dos produtos derivados da biorredução (A) e (C). Tal fato ocorreu possivelmente pelas temperaturas dos dias de sínteses estarem baixas, próximas a 10°C (no inverno) e pelo fato de estarmos em pandemia de *Sars Cov 2*, não foi possível manter sempre a temperatura controlada, tendo em vista que o acesso aos laboratórios ficou mais difícil, sendo assim nem sempre a temperatura esteve em 40°C, tais fatores possivelmente prejudicaram a síntese. Era esperado que com o aumento do tempo

de reação e mantendo a temperatura sempre próxima a 40°C ocorre-se a maior formação dos produtos, que levaria a ausência do pico (B), da *trans*- dibenzalacetona. Podendo ocorrer também à diminuição do pico (D), da *cis*- dibenzalacetona, pela possível conversão de *cis* em *trans*.

Devido a problemas com o equipamento, não foi possível efetuar as análises por CG/EM para todas as amostras e por isso não foram apresentadas nesse trabalho.

A partir de uma comparação dos quatro últimos cromatogramas apresentados é possível concluir que o cromatograma 6 (com agitação ausente) apresentou sinais mais intensos dos picos dos produtos (A) e (C), por ser a única reação que teve a presença de temperatura constante, controlada por uma estufa. Caso as condições tivessem ideais para as reações possivelmente o cromatograma que apresentaria maior presença de produtos seria o de maior tempo de reação, com temperatura e agitação controlada.

Os espectros das amostras se apresentaram semelhantes aos espectros apresentados anteriormente, para os picos (A), (B), (C) e (D). Os íons moleculares novamente são m/z 238, 234, 236 e 234 respectivamente. Os fragmentos característicos são: m/z 51, 77, 91, 103, 131, como dos espectros anteriores. Com a perda das duplas ligações entre os carbonos os sinais dos íons moleculares diminuiriam, indicando uma menor estabilidade e possível perda da característica cromófora da molécula, o que foi analisado a partir do UV-Vis.

5.3 CROMATOGRAFIA DE CAMADA FINA (CCF)

Ao fim da extração líquido-líquido realizou-se uma CCF com a fase de interesse. Eram esperados valores de fator de retenção (RF) entre 0,4-0,5 em comparação a literatura. Contudo os valores obtidos ficaram entre 0,8-0,9. Tal fato ocorreu possivelmente devido a alguma impureza nos solventes.

O fator de retenção encontrado para a dibenzalacetona foi de 0,87, a figura 26, a seguir, representa a cromatografia:

:



Figura 26: CCF da dibenzalacetona. (Autoria Própria)

A CCF foi realizada para os produtos da biorredução, apresentados na figura 27, amostras onde ocorreram variações de temperatura, tempo de reação e agitação (3), (4), (5) e (6).



Figura 27: CCF dos produtos da biorredução. (Autoria Própria)

Na figura estão apresentados, respectivamente, a alíquota de 48 horas com agitação de 200 rpm e temperatura ambiente (3), a alíquota de 72 horas com agitação de 200 rpm e temperatura ambiente (4), a alíquota de 72 hora com agitação de 200 rpm e temperatura de 40°C (5), e a alíquota de 72 horas sem agitação e com temperatura de 40°C (6).

Observamos pelas figuras que a eluição não foi capaz de separar os compostos reduzidos com a perda de uma ou duas duplas entre carbonos (C=C) e a dibenzalacetona remanescente após a biotransformação, ocorrendo a formação de apenas uma fração. O fator de retenção encontrado para cada alíquota está apresentado na tabela 4:

Tabela 4: Fatores de retenção (Autoria Própria)

ALÍQUOTA	RF
3	0,81
4	0,81
5	0,86
6	0,80

Com auxílio do CG-EM é possível notar que quanto maior foi à presença do produto menor se apresentou os valores de RF, sendo que a alíquota (6), que apresentou maiores sinais dos produtos possui menor fator de retenção, enquanto a alíquota (5) que possui traços bem baixos dos produtos apresentou valor próximo ao da dibenzalacetona e maior fator de retenção. Ou seja, em comparação com a dibenzalacetona os produtos possuem maior afinidade com a fase estacionária(polar), como consequência eluindo menos pela placa de sílica.

5.4 ESPECTROSCOPIA DE ABSORÇÃO MOLECULAR NA REGIÃO DO INFRAVERMELHO COM TRANSFORMA-DA DE FOURIER (IV-TF)

Inicialmente buscava-se desenvolver a técnica IV-TF para os produtos da biorredução, contudo devido a imprevistos como a pandemia e o mau funcionamento do equipamento não foi possível. Porém será apresentado um espectro de infravermelho da dibenzalacetona, para determinar bandas características.

A figura 28, a seguir, apresenta um espectro de infravermelho da dibenzalacetona:

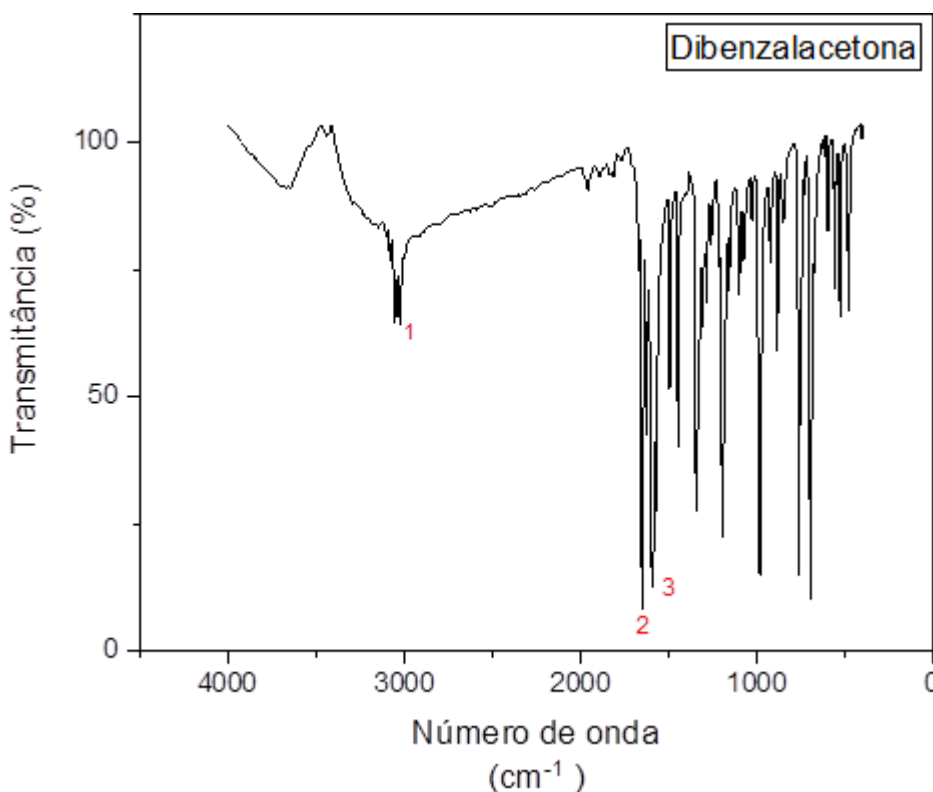


Figura 28: Espectroscopia de absorção molecular na região do infravermelho com transformada de Fourier da dibenzalacetona. (Autoria Própria)

O espectro de IV apresenta uma banda em 3025 cm^{-1} (1) referente ao estiramento da ligação C-H dos anéis aromáticos. Já as bandas em 1655 (2) e 1650 (3) cm^{-1} são referentes ao estiramento das ligações C=O e C=C de compostos carbonílicos α , β -insaturados, respectivamente.

A partir da técnica do CG-EM foi possível analisar que a biorredução foi seletiva para as ligações C=C. Logo se espera que nos espectros dos produtos da redução ocorra a diminuição da banda (3) referente a ligação. De forma hipotética, caso ocorra a biorredução da ligação C=O, o espectro não apresentaria a banda (2) e possivelmente ocorreria a formação da ligação O-H que apresentaria uma banda entre $3640\text{-}3200\text{ cm}^{-1}$ referente a esta ligação.

5.5 ANÁLISE DA CAPACIDADE FOTOPROTETORA DA DIBENZALACETONA

Os isômeros da dibenzalacetona apresentam valores diferentes de máxima absorção, contudo os valores são próximos e são apresentados na figura 29:

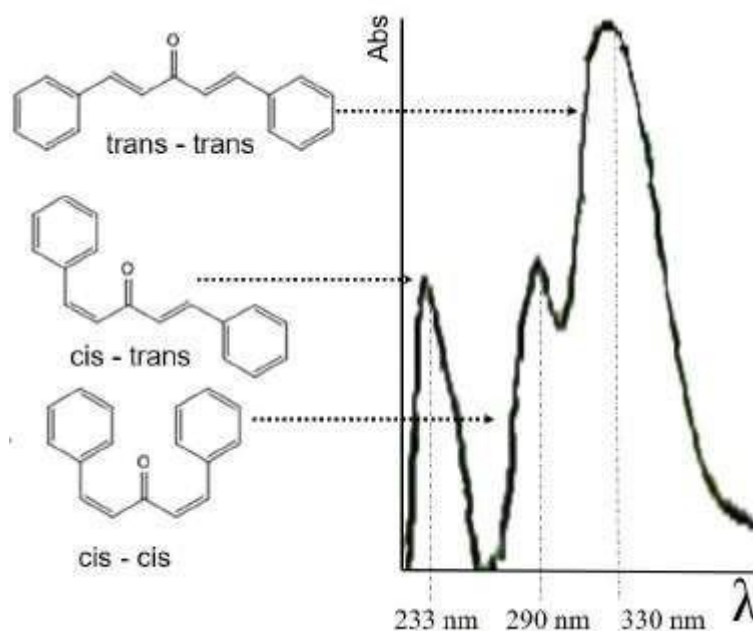


Figura 29: Valores de máxima absorção dos isômeros da dibenzalacetona. Fonte: Orwa Houshia, Journal of Pharmaceutical Research International.

O comprimento de onda onde a absorção é máxima para a dibenzalacetona *trans-trans* é 330 nm, o da *cis-cis* é 290 nm e o da *cis-trans* é 233 nm. Os resultados da *cis-cis*-dibenzalacetona e *trans-trans*-dibenzalacetona são satisfatórios para a utilização como fotoprotetores, tendo em vista que atuam contra os raios UVA e UVB, que apresentam incidência sobre o planeta, como apresenta a tabela 5:

Tabela 5: Comprimento de ondas e incidência terrestre dos raios UV. Daniela Brotto Lopes Terzi, SIMPEQ, outubro 2008.

UV	Comprimento de ondas	Incidência terrestre
UVA	320 – 400 nm	90 – 95 %
UVB	290 – 320 nm	05 – 10 %
UVC	200 – 290 nm	–

Como notamos o comprimento dos raios UVA, é observado no intervalo de absorção de 320 a 400 nm, enquanto os dos raios UVB, é observado no intervalo de absorção de 290 a 320 nm. Sendo assim é possível constatar a eficiência da dibenzalacetona, podendo ser aplicada em protetores solares contra ação dos raios nocivos.

Foi realizada uma análise com um produto da biorredução, figura 30:

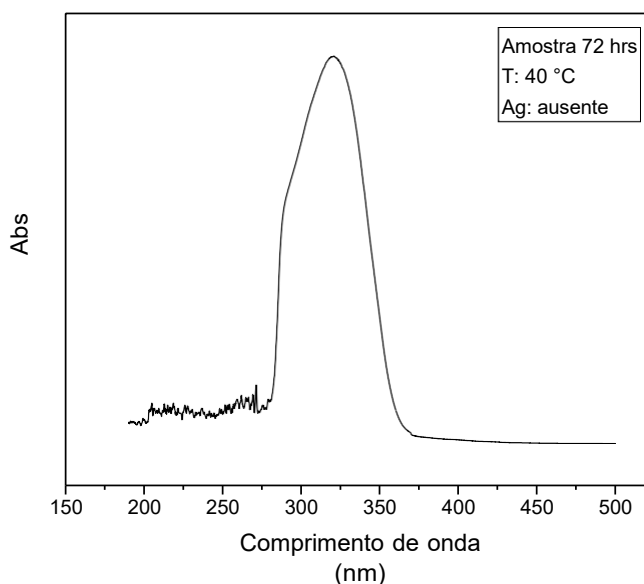


Figura 30: Espectro de UV-vis com o produto da biorredução. (Autoria Própria)

A alíquota apresentada é a (6). Com o auxílio da figura observamos a existência de uma grande banda de absorção que vai de 285 a 360 nm, que possivelmente é resultado da absorção da dibenzalacetona nas configurações *cis-cis* e *trans-trans*, sendo que a região de maior absorção está em 320 nm. Como foi citada anteriormente a máxima absorção da *cis*-dibenzalacetona ocorre em 290 nm, enquanto o da *trans*-dibenzalacetona em 330 nm, logo este pico engloba a área de absorção destes isômeros. Pela análise do CG-EM foi possível observar que a amostra (6) apresentou baixa formação de produtos devido a problemas enfrentados nas sínteses, logo não foi possível analisar com total certeza se ocorrerá um deslocamento na máxima absorção dos produtos, para isto seria necessário analisar o produto, em maior quantidade, após uma purificação.

Logo é possível concluir que nestas condições apresentadas a amostra não perde sua característica de cromóforo, ou seja, a capacidade de absorver na região do ultravioleta ou visível, sendo que a molécula pode manter esta característica possivelmente devido a presença da ressonância nos anéis aromáticos.

A perda da sua característica fotoprotetora, após a biorredução, seria adequada, tendo em vista que quando descartada no mar, por exemplo, está após 48 ou 72 horas de reação, com o auxílio de enzimas naturais presentes no meio sofreria a redução e não impediria a penetração dos raios solares no meio aquático. A diminuição da incidência solar no meio aquático pode prejudicar a oxigenação,

que se dá principalmente pela fotossíntese. A menor oxigenação do meio pode prejudicar ou até mesmo levar à mortandade da vida marinha.

O espectro de UV apresentou ruídos entre 190 a 250 nm, que possivelmente ocorreram devido à presença de impurezas.

CONCLUSÕES

Por meio dos resultados sobre a biorredução da dibenzalacetona por enzimas vegetais serão apresentadas as principais conclusões:

- A biorredução é seletiva para as ligações duplas entre os carbonos (C=C), sendo estéreo e quimiosseletivas pela característica do biocatalisador;
- As enzimas desidrogenases presentes nas cenouras se mostram estereoseletivas para o isômero *trans* da dibenzalacetona;
- A presença constante de uma temperatura próxima a 30°C e agitação, são necessárias para uma maior formação dos produtos, sendo que a falta destas condições constantes, se mostraram um problema para a reação;
- A amostra 1, que foi realizada com temperaturas próximas a 30°C, agitação constante e tempo de 48 horas, apresentou o melhor rendimento para biorredução com a formação de 44,54% dos produtos, na relação produto e composto de partida;
- A utilização de células vegetais inteiras se mostrou eficaz, apresentandocomo vantagem não necessidade de adição de nenhum cofator;
- A dibenzalacetona mesmo após a biorredução, onde ocorreu a baixa formação de produtos, apresentou uma boa característica fotoprotetora, absorvendo na região da radiação ultravioleta.

Enfim, pode-se concluir que a cenoura é um bom catalisador para hidrogenação de cetonas α , β -insaturadas, mas especificamente a dibenzalacetona. Onde uma temperatura e agitação ideal são necessárias. Um fato importante é que a reação ocorreu em condições brandas, menos prejudiciais ao meio ambiente

REFERÊNCIAS

- ALDABALDE, V.; ARCIA, P.; GONZALEZ, A.; GONZALEZ, D. Enzymatic synthesis of chiral heteroaryl alcohols using plant fragments as the only biocatalyst and reducing agent. **Green Chemistry Letters and Reviews**, v. 1, n. 1, p. 25–30, 2007.
- ARANTES, G. M. A computational perspective on enzymatic catalysis. **Química Nova**, v. 31, n. 2, p. 377–383, 2008.
- BARREIROS, A.; BARREIROS, M. Catálise enzimática. , 2010.
- BUCHAN, G. D. Viewpoint: Ode to planet earth. **Journal of Environmental Education**, v. 26, n. 1, p. 5–8, 1994.
- GONÇALVES, C. C. S.; FONSECA, F. S. A. Enzyme-catalyzed redox reactions. **Revista Virtual de Química**, v. 10, n. 4, p. 778–797, 2018a. Disponível em: <https://www.researchgate.net/profile/Francine_Fonseca/publication/327482800_Enzyme-Catalyzed_Redox_Reactions/links/5d35ab404585153e5916c5c6/Enzyme-Catalyzed-Redox-Reactions.pdf>. .
- GONÇALVES, C. C. S.; FONSECA, F. S. A. Enzyme-catalyzed redox reactions. **Revista Virtual de Química**, v. 10, n. 4, p. 778–797, 2018b.
- HOLLMANN, F.; ARENDS, I. W. C. E.; BUEHLER, K. Biocatalytic Redox Reactions for Organic Synthesis: Nonconventional Regeneration Methods. **ChemCatChem**, v. 2, n. 7, p. 762–782, 2010.
- HUDLICKY, T.; REED, J. W. Applications of biotransformations and biocatalysis to complexity generation in organic synthesis. **Chemical Society Reviews**, v. 38, n. 11, p. 3117–3132, 2009.
- JAYAWARDHANE, K. N.; SINGER, S. D.; WESELAKE, R. J.; CHEN, G. Plant sn-Glycerol-3-Phosphate Acyltransferases: Biocatalysts Involved in the Biosynthesis of Intracellular and Extracellular Lipids. **Lipids**, v. 53, n. 5, p. 469–480, 2018.
- KAWAI, Y.; HAYASHI, M.; INABA, Y.; SAITOU, K.; OHNO, A. Asymmetric reduction of α,β -unsaturated ketones with a carbon-carbon double-bond reductase from baker's yeast. **Tetrahedron Letters**, v. 39, n. 29, p. 5225–5228, 1998.
- LAKHDAR, H.; ZOUHAIR, K.; KHADIR, K.; et al. Evaluation of the effectiveness of a broad-spectrum sunscreen in the prevention of chloasma in pregnant women.

Journal of the European Academy of Dermatology and Venereology, v. 21, n. 6, p. 738–742, 2007.

LIU, X.; WANG, Y.; GAO, H. Y.; XU, J. H. Asymmetric reduction of α -hydroxy aromatic ketones to chiral aryl vicinal diols using carrot enzymes system. **Chinese Chemical Letters**, v. 23, n. 6, p. 635–638, 2012. Chinese Chemical Society. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.ccllet.2012.04.001>>. .

MAGUERROSKI, K. DOS S. Preparação de Dibenzalacetonas e Estudos de Reações de Bio-hidrogenação Mediada por *Saccharomyces cerevisiae*. , , n. Qmc 5512, 2009.

MELO, R. S. Aplicação da Técnica de Planejamento Fatorial na. **Revista de Engenharias da Faculdade Salesiana**, v. 4, n. January, p. 17–21, 2017. Disponível em:

<https://www.researchgate.net/publication/312086196_Aplicacao_da_Tecnica_de_Planejamento_Fatorial_na_Sintese_da_15-difenil-EE-14-pentadien-3-ona_dibenzalcetona>. .

OLIVEIRA, L. G. DE; MANTOVANI, S. M. Transformações biológicas: Contribuições e perspectivas. **Química Nova**, v. 32, n. 3, p. 742–756, 2009.

OMORI, Á. T.; PORTAS, V. B.; DE SOUZA DE OLIVEIRA, C. Redução enzimática do 4-(dimetilamino) benzaldeído com pedaços de cenoura (*daucus carota*): Um experimento simples na compreensão da biocatálise. **Química Nova**, v. 35, n. 2, p. 435–437, 2012.

RODRIGUES, J. A. R.; MORAN, P. J. S. Reduções enantiosseletivas de cetonas utilizando-se fermento de pão. **Química Nova**, v. 24, n. 6, p. 893–897, 2001.

SANZ-FORCADA, J.; DESIDERA, S.; MICELA, G. Effects of X-ray and extreme UV radiation on circumbinary planets. **Astronomy and Astrophysics**, v. 570, p. 1–7, 2014.

SILVA, R. M. Biorredução de compostos carbonílicos α , β -insaturados visando à síntese de substâncias opticamente ativas Biorredução de compostos carbonílicos α , β -insaturados visando à síntese de substâncias opticamente ativas. , p. 46, 2015.

SOHN, M.; HÊCHE, A.; HERZOG, B.; IMANIDIS, G. Film thickness frequency distribution of different vehicles determines sunscreen efficacy. **Journal of Biomedical Optics**, v. 19, n. 11, p. 115005, 2014.

TETSUYA, T.; TANABE, S. Enzymatic Catalysis in Organic Solvents P a u l A . B u r k e a n d A l e x a n d e r M . K l i b a n o v , Department of Chemistry , Massachusetts Institute of. **Biochem Sci**, v. 112, p. 8290, 1990.

TURRINI, N. G.; HALL, M.; FABER, K. Enzymatic synthesis of optically active lactones via asymmetric bioreduction using ene-reductases from the old yellow enzyme family. **Advanced Synthesis and Catalysis**, v. 357, n. 8, p. 1861–1871, 2015.

WOODLEY, J. M. New opportunities for biocatalysis: making pharmaceutical processes greener. **Trends in Biotechnology**, v. 26, n. 6, p. 321–327, 2008.

YADAV, J. S.; NANDA, S.; REDDY, P. T.; RAO, A B. Efficient Enantioselective Reduction of Ketones with Daucus carota Root In recent years , a great amount of attention has been paid to asymmetric synthesis of chiral synthons , the demand for which is increasing as precursors in the development of modern. **J. Org. Chem.**, v. 67, n. c, p. 3900–3903, 2002.

ZHONG, Y.; SHI, Z.; WEN, T.; et al. Cataluminescence strategy for rapid identification of sunscreen cosmetics based on its characteristic composition served as catalyst. **Sensors and Actuators, B: Chemical**, v. 323, n. August, p. 128697, 2020. Elsevier B.V. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.snb.2020.128697>>. .

HOLLER, F. J.; SKOOG, D. A.; CROUCH, S. R. Princípios de Análise Instrumental. 6a ed. Porto Alegre: Bookman, 2009.

PAVIA, D. L.; LAMPMAN, G. M.; KRIZ, G. S.; VYVYAN, J. R. et al. Introdução à Espectroscopia. 4a ed. Porto Alegre: Cengage, 2010.

SILVERSTEIN, R. M.; WEBSTER, F. X.; KIEMLE, D. J. Identificação Espectrométrica de Compostos Orgânicos. 7a ed. Rio de Janeiro: LTC Editora, 2006.

RADLER, F. A. N.; NUNES, D. S. S.; Cromatografia: Princípios Básicos e Técnicas Afins. 1ª ed. Rio de Janeiro: Interciência, 2008.

AJELLAL, N.; CARPENTIER, J. F.; GUILLAUME, C.; et al. Metal-catalyzed immortal ring-opening polymerization of lactones, lactides and cyclic carbonates. **Dalton Transactions**, v. 39, n. 36, p. 8363–8376, 2010. Disponível em: <<https://pubs.rsc.org/en/content/articlehtml/2010/dt/c0dt90044c>>. .

DRATHS, K. M.; KNOP, D. R.; FROST, J. W. Shikimic acid and quinic acid: Replacing isolation from plant sources with recombinant microbial biocatalysis [4]. **Journal of the American Chemical Society**, v. 121, n. 7, p. 1603–1604, 1999.

HANDAYANI, S. Synthesis and Activity Test of Two Asymmetric Dibenzalacetones As Potential Sunscreen Material. **Chemical Education Department**, , n. 55281, p. 119–122, 2009.

HE, Y.; DING, Y.; MA, C.; et al. One-pot conversion of biomass-derived xylose to furfuralcohol by a chemo-enzymatic sequential acid-catalyzed dehydration and bioreduction. **Green Chemistry**, v. 19, n. 16, p. 3844–3850, 2017. Disponível em: <<https://pubs.rsc.org/en/content/articlelanding/2017/gc/c7gc01256j/unauth>>. .

KNOWLES, J. ©19 9 1 Nature Publishing Group 그라첼꺼. **Nature**, v. 354, p. 737–740, 1991.

LAMB, S. B.; LAMB, D. C.; KELLY, S. L.; STUCKEY, D. C. Cytochrome P450 immobilisation as a route to biomediation/biocatalysis. **FEBS Letters**, v. 431, n. 3, p. 343–346, 1998.

SCHWARZER, A.; WEBER, E. Penta- and decafluorinated dibenzalacetones: Synthesis, crystal structure, and cocrystallization experiments. **Crystal Growth and Design**, v. 14, n. 5, p. 8, 2014.