

## PLANO DE TRABALHO DO BOLSISTA 2

BOLSISTA 2	
<b>Título do plano de trabalho:</b>	Utilização de enzimas imobilizadas de espécies vegetais em biotransformações de compostos carbonílicos.
<b>Modalidade de bolsa solicitada:</b>	PIBITI
<b>Objetivos geral e específicos:</b>	
Treinar os alunos de graduação da Universidade Federal do Cariri visando à formação de pesquisadores capacitados a desenvolver trabalhos científicos/tecnológicos em centros de pesquisa na área de química de produtos naturais, na realização de biotransformações em compostos carbonilados utilizando enzimas imobilizadas de espécies vegetais, a citar, as da família Fabaceae.	
<b>Metodologia:</b>	
<ol style="list-style-type: none"><li>1. Levantamento bibliográfico em sites de busca científicos;</li><li>2. Coleta e identificação do material botânico a ser investigado como fonte de novos biocatalisadores;</li><li>3. Obtenção e determinação dos padrões: os padrões dos álcoois racêmicos serão obtidos através de síntese química a partir das cetonas e dos aldeídos padrões com boroidreto de sódio. A purificação dos produtos será efetuada através de coluna cromatográfica de sílica gel. Todos os padrões serão elucidados por RMN e a separação dos enantiômeros será realizada por coluna quiral de CG-DIC ou por CLAE;</li><li>4. Realização de imobilização de enzimas de espécies vegetais: no processo de imobilização enzimática será adotado o procedimento adaptado da metodologia de Kalogeris (MACHADO et al., 2008). O extrato aquoso vegetal ou microbiano será misturado a uma solução de alginato de sódio 1% (m/m), na proporção de 10:1 (extrato/alginato). A mistura será agitada à temperatura ambiente por 2 horas até total miscibilidade. A solução resultante será adicionada sobre uma de solução de <math>\text{CaCl}_2</math> 5 % utilizando uma seringa, onde pequenas esferas serão formadas. As esferas serão então deixadas em repouso à temperatura ambiente por 20 horas. Ao fim deste período, a solução contendo as esferas será filtrada. Após sucessivas lavagens com água destilada as esferas serão deixadas por dois dias à temperatura ambiente para que possam secar e então as enzimas imobilizadas estarão prontas para uso;</li><li>5. Realização das biotransformações, especificamente biorreduções, em substratos carbonílicos como cetonas e aldeídos aromáticos e alifáticos utilizando enzimas imobilizadas de espécies vegetais: nos experimentos serão utilizadas as esferas com as enzimas imobilizadas, em solução aquosa, juntamente com os substratos a serem testados e agitados em Shake (150 rpm). A biorredução de cetonas e aldeídos aromáticos e alifáticos será realizada usando a proporção de 145 mL de água, 200 mg de substrato (esferas com enzimas imobilizadas), acondicionada em Erlenmeyer (250 mL), e submetidas a agitação em Shaker (150 rpm) por um período de 72 h. As amostras então serão filtradas e o filtrado será extraído com AcOEt (3x100mL). As fases orgânicas serão secas com <math>\text{Na}_2\text{SO}_4</math> anidro e concentradas sob pressão</li></ol>	

6. Análises espectroscópicas dos bioprodutos: Infravermelho: os espectros de absorção na região do infravermelho serão registrados em espectrômetro Perkin-Elmer modelo 720. Para as substâncias sólidas serão utilizadas pastilhas de KBr e para as demais serão preparados filmes (análise realizada pelo bolsista na UFCA); Cromatógrafo Gasoso acoplado a espectrometria de massas: o cromatógrafo a gás a ser utilizado será da marca Shimadzu modelo GC 17A, acoplado a um espectrômetro de massas MS QP5050A equipado com coluna capilar de sílica fundida J&W Scientific DB-5 (50m de comprimento e 0,25µm de diâmetro interno e 0,25µm de espessura do filme). Determinação das estruturas dos produtos das biotransformações, dos excessos enantioméricos e da enantiosseletividade (análise realizada em parceria com a URCA); Ressonância Magnética Nuclear de Hidrogênio-1 (RMN <sup>1</sup>H) e de Carbono-13 (RMN <sup>13</sup>C): os espectros de RMN uni- e bidimensionais serão obtidos em espectrômetro Bruker AC-500, operando em 500 MHz para hidrogênio (RMN <sup>1</sup>H) e 125 MHz para carbono-13 (RMN <sup>13</sup>C), respectivamente. Os espectros unidimensionais de RMN <sup>13</sup>C serão obtidos totalmente desacoplados e, também, utilizando-se a técnica DEPT-135 (ângulo de nutação 135°). Utilizar-se-ão algumas técnicas de RMN bidimensionais: espectroscopia de correlação homonuclear (<sup>1</sup>H-<sup>1</sup>H-COSY), espectroscopia de Efeito Nuclear Overhauser bidimensional (NOESY). Os métodos de detecção inversa que serão utilizados são coerências quânticas múltiplas heteronucleares (HMQC) e correlação de ligações múltiplas heteronucleares (HMBC). Os solventes deuterados: clorofórmio (CDCl<sub>3</sub>), metanol (MeOD), piridina (C<sub>5</sub>D<sub>5</sub>N) e dimetilsulfóxido (DMSO) serão utilizados na dissolução das substâncias submetidas às análises (análise realizada em parceria com a UFC – caso seja necessária);
7. Determinação das estruturas dos produtos das biotransformações, dos excessos enantioméricos e da enantiosseletividade: os excessos enantioméricos (% ee) dos produtos quirais serão determinados através de Cromatógrafo Gasoso (CG-DIC) e CLAE utilizando coluna quiral. A enantiosseletividade e o teor de conversão serão determinados por meio de programa específico obtido por meio de uma curva de calibração usando 20 padrões (análise realizada em parceria com a UFC);
8. Elaboração de artigos a serem apresentados em eventos científicos e/ou publicados em periódicos científicos;
9. Elaboração e envio do Relatório Final individual.

[illegible]

[illegible]