

Ensino e Pesquisa em Bioquímica



Érica de Melo Azevedo
(Organizadora)

Atena
Editora
Ano 2021

Ensino e Pesquisa em Bioquímica



Érica de Melo Azevedo
(Organizadora)

Atena
Editora
Ano 2021

Editora Chefe

Profª Drª Antonella Carvalho de Oliveira

Assistentes Editoriais

Natalia Oliveira

Bruno Oliveira

Flávia Roberta Barão

Bibliotecária

Janaina Ramos

Projeto Gráfico e Diagramação

Natália Sandrini de Azevedo

Camila Alves de Cremo

Luiza Alves Batista

Maria Alice Pinheiro

Imagens da Capa

Shutterstock

Edição de Arte

Luiza Alves Batista

Revisão

Os Autores

2021 by Atena Editora

Copyright © Atena Editora

Copyright do Texto © 2021 Os autores

Copyright da Edição © 2021 Atena Editora

Direitos para esta edição cedidos à Atena Editora pelos autores.



Todo o conteúdo deste livro está licenciado sob uma Licença de Atribuição *Creative Commons*. Atribuição-Não-Comercial-NãoDerivativos 4.0 Internacional (CC BY-NC-ND 4.0).

O conteúdo dos artigos e seus dados em sua forma, correção e confiabilidade são de responsabilidade exclusiva dos autores, inclusive não representam necessariamente a posição oficial da Atena Editora. Permitido o *download* da obra e o compartilhamento desde que sejam atribuídos créditos aos autores, mas sem a possibilidade de alterá-la de nenhuma forma ou utilizá-la para fins comerciais.

Todos os manuscritos foram previamente submetidos à avaliação cega pelos pares, membros do Conselho Editorial desta Editora, tendo sido aprovados para a publicação com base em critérios de neutralidade e imparcialidade acadêmica.

A Atena Editora é comprometida em garantir a integridade editorial em todas as etapas do processo de publicação, evitando plágio, dados ou resultados fraudulentos e impedindo que interesses financeiros comprometam os padrões éticos da publicação. Situações suspeitas de má conduta científica serão investigadas sob o mais alto padrão de rigor acadêmico e ético.

Conselho Editorial

Ciências Humanas e Sociais Aplicadas

Prof. Dr. Alexandre Jose Schumacher – Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Paraná

Prof. Dr. Américo Junior Nunes da Silva – Universidade do Estado da Bahia

Prof. Dr. Antonio Carlos Frasson – Universidade Tecnológica Federal do Paraná

Prof. Dr. Antonio Gasparetto Júnior – Instituto Federal do Sudeste de Minas Gerais
Prof. Dr. Antonio Isidro-Filho – Universidade de Brasília
Prof. Dr. Carlos Antonio de Souza Moraes – Universidade Federal Fluminense
Prof. Dr. Crisóstomo Lima do Nascimento – Universidade Federal Fluminense
Prof^ª Dr^ª Cristina Gaio – Universidade de Lisboa
Prof. Dr. Daniel Richard Sant’Ana – Universidade de Brasília
Prof. Dr. Deyvison de Lima Oliveira – Universidade Federal de Rondônia
Prof^ª Dr^ª Dilma Antunes Silva – Universidade Federal de São Paulo
Prof. Dr. Edvaldo Antunes de Farias – Universidade Estácio de Sá
Prof. Dr. Elson Ferreira Costa – Universidade do Estado do Pará
Prof. Dr. Eloi Martins Senhora – Universidade Federal de Roraima
Prof. Dr. Gustavo Henrique Cepolini Ferreira – Universidade Estadual de Montes Claros
Prof^ª Dr^ª Ivone Goulart Lopes – Instituto Internazionele delle Figlie de Maria Ausiliatrice
Prof. Dr. Jadson Correia de Oliveira – Universidade Católica do Salvador
Prof. Dr. Julio Candido de Meirelles Junior – Universidade Federal Fluminense
Prof^ª Dr^ª Lina Maria Gonçalves – Universidade Federal do Tocantins
Prof. Dr. Luis Ricardo Fernandes da Costa – Universidade Estadual de Montes Claros
Prof^ª Dr^ª Natiéli Piovesan – Instituto Federal do Rio Grande do Norte
Prof. Dr. Marcelo Pereira da Silva – Pontifícia Universidade Católica de Campinas
Prof^ª Dr^ª Maria Luzia da Silva Santana – Universidade Federal de Mato Grosso do Sul
Prof^ª Dr^ª Paola Andressa Scortegagna – Universidade Estadual de Ponta Grossa
Prof^ª Dr^ª Rita de Cássia da Silva Oliveira – Universidade Estadual de Ponta Grossa
Prof. Dr. Rui Maia Diamantino – Universidade Salvador
Prof. Dr. Urandi João Rodrigues Junior – Universidade Federal do Oeste do Pará
Prof^ª Dr^ª Vanessa Bordin Viera – Universidade Federal de Campina Grande
Prof. Dr. William Cleber Domingues Silva – Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro
Prof. Dr. Willian Douglas Guilherme – Universidade Federal do Tocantins

Ciências Agrárias e Multidisciplinar

Prof. Dr. Alexandre Igor Azevedo Pereira – Instituto Federal Goiano
Prof^ª Dr^ª Carla Cristina Bauermann Brasil – Universidade Federal de Santa Maria
Prof. Dr. Antonio Pasqualetto – Pontifícia Universidade Católica de Goiás
Prof. Dr. Cleberton Correia Santos – Universidade Federal da Grande Dourados
Prof^ª Dr^ª Daiane Garabeli Trojan – Universidade Norte do Paraná
Prof^ª Dr^ª Diocléa Almeida Seabra Silva – Universidade Federal Rural da Amazônia
Prof. Dr. Écio Souza Diniz – Universidade Federal de Viçosa
Prof. Dr. Fábio Steiner – Universidade Estadual de Mato Grosso do Sul
Prof. Dr. Fágner Cavalcante Patrocínio dos Santos – Universidade Federal do Ceará
Prof^ª Dr^ª Girlene Santos de Souza – Universidade Federal do Recôncavo da Bahia
Prof. Dr. Jael Soares Batista – Universidade Federal Rural do Semi-Árido
Prof. Dr. Júlio César Ribeiro – Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro
Prof^ª Dr^ª Lina Raquel Santos Araújo – Universidade Estadual do Ceará
Prof. Dr. Pedro Manuel Villa – Universidade Federal de Viçosa
Prof^ª Dr^ª Raissa Rachel Salustriano da Silva Matos – Universidade Federal do Maranhão
Prof. Dr. Ronilson Freitas de Souza – Universidade do Estado do Pará
Prof^ª Dr^ª Talita de Santos Matos – Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro
Prof. Dr. Tiago da Silva Teófilo – Universidade Federal Rural do Semi-Árido

Prof. Dr. Valdemar Antonio Paffaro Junior – Universidade Federal de Alfenas

Ciências Biológicas e da Saúde

Prof. Dr. André Ribeiro da Silva – Universidade de Brasília

Prof^ª Dr^ª Anelise Levay Murari – Universidade Federal de Pelotas

Prof. Dr. Benedito Rodrigues da Silva Neto – Universidade Federal de Goiás

Prof^ª Dr^ª Débora Luana Ribeiro Pessoa – Universidade Federal do Maranhão

Prof. Dr. Douglas Siqueira de Almeida Chaves – Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro

Prof. Dr. Edson da Silva – Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri

Prof^ª Dr^ª Elizabeth Cordeiro Fernandes – Faculdade Integrada Medicina

Prof^ª Dr^ª Eleuza Rodrigues Machado – Faculdade Anhanguera de Brasília

Prof^ª Dr^ª Elane Schwinden Prudêncio – Universidade Federal de Santa Catarina

Prof^ª Dr^ª Eysler Gonçalves Maia Brasil – Universidade da Integração Internacional da Lusofonia Afro-Brasileira

Prof. Dr. Ferlando Lima Santos – Universidade Federal do Recôncavo da Bahia

Prof. Dr. Fernando Mendes – Instituto Politécnico de Coimbra – Escola Superior de Saúde de Coimbra

Prof^ª Dr^ª Gabriela Vieira do Amaral – Universidade de Vassouras

Prof. Dr. Gianfábio Pimentel Franco – Universidade Federal de Santa Maria

Prof. Dr. Helio Franklin Rodrigues de Almeida – Universidade Federal de Rondônia

Prof^ª Dr^ª Iara Lúcia Tescarollo – Universidade São Francisco

Prof. Dr. Igor Luiz Vieira de Lima Santos – Universidade Federal de Campina Grande

Prof. Dr. Jefferson Thiago Souza – Universidade Estadual do Ceará

Prof. Dr. Jesus Rodrigues Lemos – Universidade Federal do Piauí

Prof. Dr. Jônatas de França Barros – Universidade Federal do Rio Grande do Norte

Prof. Dr. José Max Barbosa de Oliveira Junior – Universidade Federal do Oeste do Pará

Prof. Dr. Luís Paulo Souza e Souza – Universidade Federal do Amazonas

Prof^ª Dr^ª Magnólia de Araújo Campos – Universidade Federal de Campina Grande

Prof. Dr. Marcus Fernando da Silva Praxedes – Universidade Federal do Recôncavo da Bahia

Prof^ª Dr^ª Maria Tatiane Gonçalves Sá – Universidade do Estado do Pará

Prof^ª Dr^ª Mylena Andréa Oliveira Torres – Universidade Ceuma

Prof^ª Dr^ª Natiéli Piovesan – Instituto Federaci do Rio Grande do Norte

Prof. Dr. Paulo Inada – Universidade Estadual de Maringá

Prof. Dr. Rafael Henrique Silva – Hospital Universitário da Universidade Federal da Grande Dourados

Prof^ª Dr^ª Regiane Luz Carvalho – Centro Universitário das Faculdades Associadas de Ensino

Prof^ª Dr^ª Renata Mendes de Freitas – Universidade Federal de Juiz de Fora

Prof^ª Dr^ª Vanessa Lima Gonçalves – Universidade Estadual de Ponta Grossa

Prof^ª Dr^ª Vanessa Bordin Viera – Universidade Federal de Campina Grande

Ciências Exatas e da Terra e Engenharias

Prof. Dr. Adélio Alcino Sampaio Castro Machado – Universidade do Porto

Prof. Dr. Carlos Eduardo Sanches de Andrade – Universidade Federal de Goiás

Prof^ª Dr^ª Carmen Lúcia Voigt – Universidade Norte do Paraná

Prof. Dr. Cleiseano Emanuel da Silva Paniagua – Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de Goiás

Prof. Dr. Douglas Gonçalves da Silva – Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia

Prof. Dr. Eloi Rufato Junior – Universidade Tecnológica Federal do Paraná
Prof^ª Dr^ª Érica de Melo Azevedo – Instituto Federal do Rio de Janeiro
Prof. Dr. Fabrício Menezes Ramos – Instituto Federal do Pará
Prof^ª Dra. Jéssica Verger Nardeli – Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho
Prof. Dr. Juliano Carlo Rufino de Freitas – Universidade Federal de Campina Grande
Prof^ª Dr^ª Luciana do Nascimento Mendes – Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Rio Grande do Norte
Prof. Dr. Marcelo Marques – Universidade Estadual de Maringá
Prof. Dr. Marco Aurélio Kistemann Junior – Universidade Federal de Juiz de Fora
Prof^ª Dr^ª Neiva Maria de Almeida – Universidade Federal da Paraíba
Prof^ª Dr^ª Natiéli Piovesan – Instituto Federal do Rio Grande do Norte
Prof^ª Dr^ª Priscila Tessmer Scaglioni – Universidade Federal de Pelotas
Prof. Dr. Takeshy Tachizawa – Faculdade de Campo Limpo Paulista

Linguística, Letras e Artes

Prof^ª Dr^ª Adriana Demite Stephani – Universidade Federal do Tocantins
Prof^ª Dr^ª Angeli Rose do Nascimento – Universidade Federal do Estado do Rio de Janeiro
Prof^ª Dr^ª Carolina Fernandes da Silva Mandaji – Universidade Tecnológica Federal do Paraná
Prof^ª Dr^ª Denise Rocha – Universidade Federal do Ceará
Prof. Dr. Fabiano Tadeu Grazioli – Universidade Regional Integrada do Alto Uruguai e das Missões
Prof. Dr. Gilmei Fleck – Universidade Estadual do Oeste do Paraná
Prof^ª Dr^ª Keyla Christina Almeida Portela – Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Paraná
Prof^ª Dr^ª Miranilde Oliveira Neves – Instituto de Educação, Ciência e Tecnologia do Pará
Prof^ª Dr^ª Sandra Regina Gardacho Pietrobon – Universidade Estadual do Centro-Oeste
Prof^ª Dr^ª Sheila Marta Carregosa Rocha – Universidade do Estado da Bahia

Conselho Técnico Científico

Prof. Me. Abrãao Carvalho Nogueira – Universidade Federal do Espírito Santo
Prof. Me. Adalberto Zorzo – Centro Estadual de Educação Tecnológica Paula Souza
Prof. Dr. Adaylson Wagner Sousa de Vasconcelos – Ordem dos Advogados do Brasil/Seccional Paraíba
Prof. Dr. Adilson Tadeu Basquerote Silva – Universidade para o Desenvolvimento do Alto Vale do Itajaí
Prof. Dr. Alex Luis dos Santos – Universidade Federal de Minas Gerais
Prof. Me. Aleksandro Teixeira Ribeiro – Centro Universitário Internacional
Prof^ª Ma. Aline Ferreira Antunes – Universidade Federal de Goiás
Prof. Me. André Flávio Gonçalves Silva – Universidade Federal do Maranhão
Prof^ª Ma. Andréa Cristina Marques de Araújo – Universidade Fernando Pessoa
Prof^ª Dr^ª Andreza Lopes – Instituto de Pesquisa e Desenvolvimento Acadêmico
Prof^ª Dr^ª Andrezza Miguel da Silva – Faculdade da Amazônia
Prof^ª Ma. Anelisa Mota Gregoleti – Universidade Estadual de Maringá
Prof^ª Ma. Anne Karynne da Silva Barbosa – Universidade Federal do Maranhão
Prof. Dr. Antonio Hot Pereira de Faria – Polícia Militar de Minas Gerais
Prof. Me. Armando Dias Duarte – Universidade Federal de Pernambuco
Prof^ª Ma. Bianca Camargo Martins – UniCesumar

Profª Ma. Carolina Shimomura Nanya – Universidade Federal de São Carlos
Prof. Me. Carlos Antônio dos Santos – Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro
Prof. Me. Christopher Smith Bignardi Neves – Universidade Federal do Paraná
Prof. Ma. Cláudia de Araújo Marques – Faculdade de Música do Espírito Santo
Profª Drª Cláudia Taís Siqueira Cagliari – Centro Universitário Dinâmica das Cataratas
Prof. Me. Clécio Danilo Dias da Silva – Universidade Federal do Rio Grande do Norte
Prof. Me. Daniel da Silva Miranda – Universidade Federal do Pará
Profª Ma. Daniela da Silva Rodrigues – Universidade de Brasília
Profª Ma. Daniela Remião de Macedo – Universidade de Lisboa
Profª Ma. Dayane de Melo Barros – Universidade Federal de Pernambuco
Prof. Me. Douglas Santos Mezacas – Universidade Estadual de Goiás
Prof. Me. Edevaldo de Castro Monteiro – Embrapa Agrobiologia
Prof. Me. Eduardo Gomes de Oliveira – Faculdades Unificadas Doctum de Cataguases
Prof. Me. Eduardo Henrique Ferreira – Faculdade Pitágoras de Londrina
Prof. Dr. Edwaldo Costa – Marinha do Brasil
Prof. Me. Eliel Constantino da Silva – Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita
Prof. Me. Ernane Rosa Martins – Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de Goiás
Prof. Me. Euvaldo de Sousa Costa Junior – Prefeitura Municipal de São João do Piauí
Prof. Dr. Everaldo dos Santos Mendes – Instituto Edith Theresa Hedwing Stein
Prof. Me. Ezequiel Martins Ferreira – Universidade Federal de Goiás
Profª Ma. Fabiana Coelho Couto Rocha Corrêa – Centro Universitário Estácio Juiz de Fora
Prof. Me. Fabiano Eloy Atilio Batista – Universidade Federal de Viçosa
Prof. Me. Felipe da Costa Negrão – Universidade Federal do Amazonas
Prof. Me. Francisco Odécio Sales – Instituto Federal do Ceará
Profª Drª Germana Ponce de Leon Ramírez – Centro Universitário Adventista de São Paulo
Prof. Me. Gevair Campos – Instituto Mineiro de Agropecuária
Prof. Me. Givanildo de Oliveira Santos – Secretaria da Educação de Goiás
Prof. Dr. Guilherme Renato Gomes – Universidade Norte do Paraná
Prof. Me. Gustavo Krahl – Universidade do Oeste de Santa Catarina
Prof. Me. Helton Rangel Coutinho Junior – Tribunal de Justiça do Estado do Rio de Janeiro
Profª Ma. Isabelle Cerqueira Sousa – Universidade de Fortaleza
Profª Ma. Jaqueline Oliveira Rezende – Universidade Federal de Uberlândia
Prof. Me. Javier Antonio Albornoz – University of Miami and Miami Dade College
Prof. Me. Jhonatan da Silva Lima – Universidade Federal do Pará
Prof. Dr. José Carlos da Silva Mendes – Instituto de Psicologia Cognitiva, Desenvolvimento Humano e Social
Prof. Me. Jose Elyton Batista dos Santos – Universidade Federal de Sergipe
Prof. Me. José Luiz Leonardo de Araujo Pimenta – Instituto Nacional de Investigación Agropecuaria Uruguay
Prof. Me. José Messias Ribeiro Júnior – Instituto Federal de Educação Tecnológica de Pernambuco
Profª Drª Juliana Santana de Curcio – Universidade Federal de Goiás
Profª Ma. Juliana Thaisa Rodrigues Pacheco – Universidade Estadual de Ponta Grossa
Profª Drª Kamilly Souza do Vale – Núcleo de Pesquisas Fenomenológicas/UFPA
Prof. Dr. Kárpio Márcio de Siqueira – Universidade do Estado da Bahia
Profª Drª Karina de Araújo Dias – Prefeitura Municipal de Florianópolis
Prof. Dr. Lázaro Castro Silva Nascimento – Laboratório de Fenomenologia & Subjetividade/UFPR

Prof. Me. Leonardo Tullio – Universidade Estadual de Ponta Grossa
Prof^ª Ma. Lillian Coelho de Freitas – Instituto Federal do Pará
Prof^ª Ma. Lilians Aparecida Sereno Fontes de Medeiros – Consórcio CEDERJ
Prof^ª Dr^ª Lívia do Carmo Silva – Universidade Federal de Goiás
Prof. Dr. Lucio Marques Vieira Souza – Secretaria de Estado da Educação, do Esporte e da Cultura de Sergipe
Prof. Dr. Luan Vinicius Bernardelli – Universidade Estadual do Paraná
Prof^ª Ma. Luana Ferreira dos Santos – Universidade Estadual de Santa Cruz
Prof^ª Ma. Luana Vieira Toledo – Universidade Federal de Viçosa
Prof. Me. Luis Henrique Almeida Castro – Universidade Federal da Grande Dourados
Prof^ª Ma. Luma Sarai de Oliveira – Universidade Estadual de Campinas
Prof. Dr. Michel da Costa – Universidade Metropolitana de Santos
Prof. Me. Marcelo da Fonseca Ferreira da Silva – Governo do Estado do Espírito Santo
Prof. Dr. Marcelo Máximo Purificação – Fundação Integrada Municipal de Ensino Superior
Prof. Me. Marcos Aurelio Alves e Silva – Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de São Paulo
Prof^ª Ma. Maria Elanny Damasceno Silva – Universidade Federal do Ceará
Prof^ª Ma. Marileila Marques Toledo – Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri
Prof. Me. Pedro Panhoca da Silva – Universidade Presbiteriana Mackenzie
Prof^ª Dr^ª Poliana Arruda Fajardo – Universidade Federal de São Carlos
Prof. Me. Ricardo Sérgio da Silva – Universidade Federal de Pernambuco
Prof. Me. Renato Faria da Gama – Instituto Gama – Medicina Personalizada e Integrativa
Prof^ª Ma. Renata Luciane Polsaque Young Blood – UniSecal
Prof. Me. Robson Lucas Soares da Silva – Universidade Federal da Paraíba
Prof. Me. Sebastião André Barbosa Junior – Universidade Federal Rural de Pernambuco
Prof^ª Ma. Silene Ribeiro Miranda Barbosa – Consultoria Brasileira de Ensino, Pesquisa e Extensão
Prof^ª Ma. Solange Aparecida de Souza Monteiro – Instituto Federal de São Paulo
Prof^ª Ma. Taiane Aparecida Ribeiro Nepomoceno – Universidade Estadual do Oeste do Paraná
Prof. Me. Tallys Newton Fernandes de Matos – Faculdade Regional Jaguaribana
Prof^ª Ma. Thatianny Jasmine Castro Martins de Carvalho – Universidade Federal do Piauí
Prof. Me. Tiago Silvio Dedoné – Colégio ECEL Positivo
Prof. Dr. Welleson Feitosa Gazel – Universidade Paulista

Editora Chefe: Profª Drª Antonella Carvalho de Oliveira
Bibliotecária: Janaina Ramos
Diagramação: Maria Alice Pinheiro
Correção: Mariane Aparecida Freitas
Edição de Arte: Luiza Alves Batista
Revisão: Os Autores
Organizadora: Érica de Melo Azevedo

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

E59 Ensino e pesquisa em bioquímica / Organizadora Érica de Melo Azevedo. – Ponta Grossa - PR: Atena, 2021.

Formato: PDF

Requisitos de sistema: Adobe Acrobat Reader

Modo de acesso: World Wide Web

Inclui bibliografia

ISBN 978-65-5706-803-8

DOI 10.22533/at.ed.038211202

1. Bioquímica. I. Azevedo, Érica de Melo (Organizadora). II. Título.

CDD 572

Elaborado por Bibliotecária Janaina Ramos – CRB-8/9166

Atena Editora

Ponta Grossa – Paraná – Brasil

Telefone: +55 (42) 3323-5493

www.atenaeditora.com.br

contato@atenaeditora.com.br

DECLARAÇÃO DOS AUTORES

Os autores desta obra: 1. Atestam não possuir qualquer interesse comercial que constitua um conflito de interesses em relação ao artigo científico publicado; 2. Declaram que participaram ativamente da construção dos respectivos manuscritos, preferencialmente na: a) Concepção do estudo, e/ou aquisição de dados, e/ou análise e interpretação de dados; b) Elaboração do artigo ou revisão com vistas a tornar o material intelectualmente relevante; c) Aprovação final do manuscrito para submissão.; 3. Certificam que os artigos científicos publicados estão completamente isentos de dados e/ou resultados fraudulentos; 4. Confirmam a citação e a referência correta de todos os dados e de interpretações de dados de outras pesquisas; 5. Reconhecem terem informado todas as fontes de financiamento recebidas para a consecução da pesquisa.

APRESENTAÇÃO

O livro “Ensino e pesquisa em bioquímica” apresenta artigos de pesquisa na área de microbiologia, bioquímica, processos bioquímicos e análises clínicas. O e-book contém 8 capítulos, que abordam temas sobre processos fermentativos, atividade antibiótica de extratos naturais, bioacumulação de compostos químicos na fauna, estudos de enzimas associadas a patologias, caracterização química de extratos naturais, aproveitamento de produtos naturais na síntese de compostos químicos de interesse industrial e utilização de softwares para gerenciamento de laboratórios científicos.

Os objetivos principais do presente livro são apresentar aos leitores diferentes aspectos das aplicações e pesquisas em processos bioquímicos, microbiologia e análises clínicas de forma prática, objetiva, atualizada e contextualizada.

Os artigos constituintes da coleção podem ser utilizados para o desenvolvimento de projetos de pesquisa, para o ensino dos temas abordados e até mesmo para a atualização do estado da arte nas áreas descritas.

Após esta apresentação, convido os leitores a apreciarem e consultarem, sempre que necessário, a obra “Ensino e pesquisa em bioquímica”. Desejo uma excelente leitura!

Érica de Melo Azevedo

SUMÁRIO

CAPÍTULO 1..... 1

CARACTERIZAÇÃO DE COMPOSTO DOS AMINOÁCIDOS PRESENTES EM FARELO DE ARROZ FERMENTADO COM A LEVEDURA *SACCHAROMYCES CEREVISIAE*

Rander Lima de Souza

Antônio Zenon Antunes Teixeira

DOI 10.22533/AT.ED.0382112021

CAPÍTULO 2..... 9

ANTIBACTERIAL AND ANTIFUNGAL ACTIVITIES HERBÁCIA *ZINGIBER OFFICINALE* IN DENTISTRY: A LITERATURE REVIEW

Natália Franco Brum

Mariana Sobreira Bezerra

Aline Sobreira Bezerra

Gabriela Scortegagna de Souza

Patrícia Kolling Marquezan

DOI 10.22533/AT.ED.0382112022

CAPÍTULO 3..... 20

ATIVIDADE ANTIOXIDANTE DE EXTRATOS DAS FOLHAS DE *GARCINIA GARDNERIANA* (BACUPARI) COLETADAS EM MINAS GERAIS

Ueveton Pimentel da Silva

Bianca Lana de Sousa

Eduardo Vinícius Vieira Varejão

Gabriela Milane Furlani

Marcelo Henrique dos Santos

DOI 10.22533/AT.ED.0382112023

CAPÍTULO 4..... 29

CARACTERÍSTICAS ESPECTROFLUORIMÉTRICAS DO SORO DE DUAS ESPÉCIES DE PEIXES NEOTROPICAIS E A INTERAÇÃO COM METILPARATION

Dilson Silva

Frederico Freire Bastos

Madelayne Cortez Moreira

Celia Martins Cortez

DOI 10.22533/AT.ED.0382112024

CAPÍTULO 5..... 42

ENZIMAS DIGESTIVAS E DISTÚRBIOS FISIOPATOLÓGICOS ASSOCIADOS

Julianna Oliveira de Lucas Xavier

Ana Lúcia Santos de Matos Araújo

Orlando Vieira de Sousa

DOI 10.22533/AT.ED.0382112025

CAPÍTULO 6	59
ESTUDO DE CARBOIDRATOS NA RESINA DE <i>CROTON URUCURANA</i> BAILL Sabriny Sousa Araujo Antônio Zenon Antunes Teixeira DOI 10.22533/AT.ED.0382112026	
CAPÍTULO 7	68
IMOBILIZAÇÃO DA TANASE DE <i>Aspergillus ochraceus</i> E APLICAÇÃO NA SÍNTESE DE PROPIL GALATO ANALISADA POR ESPECTROMETRIA DE INFRAVERMELHO COM TRANSFORMADA DE FOURIER (FTIR) Rayza Morganna Farias Cavalcanti Chadia Chahud Maestrello Luís Henrique Souza Guimarães DOI 10.22533/AT.ED.0382112027	
CAPÍTULO 8	81
SOFTWARES PARA GERENCIAMENTO LABORATORIAL: O USO DA TECNOLOGIA A FAVOR DA CIÊNCIA E DA COMUNIDADE Kely Cristina Mendonça Couto Tayara Nataly Lopes Silva DOI 10.22533/AT.ED.0382112028	
SOBRE A ORGANIZADORA	91
ÍNDICE REMISSIVO	92

CAPÍTULO 7

IMOBILIZAÇÃO DA TANASE DE *ASPERGILLUS OCHRACEUS* E APLICAÇÃO NA SÍNTESE DE PROPIL GALATO ANALISADA POR ESPECTROMETRIA DE INFRAVERMELHO COM TRANSFORMADA DE FOURIER (FTIR)

Data de aceite: 04/02/2021

Data de submissão: 07/12/2020

Rayza Morganna Farias Cavalcanti

Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Instituto de Química - Campus de Araraquara – UNESP
Araraquara – SP

CV: <http://lattes.cnpq.br/6718131576693229>

Chadia Chahud Maestrello

Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Instituto de Química - Campus de Araraquara – UNESP
Araraquara – SP

CV: <http://lattes.cnpq.br/0544094782013333>

Luís Henrique Souza Guimarães

Universidade de São Paulo, Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão Preto – USP/FFCLRP
Ribeirão Preto – SP

CV: <http://lattes.cnpq.br/1197732179850477>

RESUMO: A tanino acil hidrolase (TAH; EC 3.1.1.20), conhecida popularmente como tanase, catalisa a hidrólise de ligações éster e depsídicas de taninos complexos e hidrolisáveis, liberando ácido gálico e glicose (galotaninos), ou ácido elágico e glicose (elagitaninos). A aplicação mais importante desta enzima é na produção de ácido gálico, utilizado como agente intermediário na síntese de propil galato (PG). O PG é usualmente empregado nas indústrias de alimentos, cosméticos e farmacêutica devido sua atividade

antioxidante. Portanto, o presente estudo objetivou a imobilização da tanase de *Aspergillus ochraceus*, caracterização do derivado obtido e aplicação na síntese de PG. A imobilização em alginato reticulado com $MnCl_2$ apresentou maior rendimento (100%), eficiência (100%) e atividade enzimática recuperada (74%). A tanase imobilizada em Mn-alginato exibiu maior atividade a 50 °C e pH 5,0 e, após 10 ciclos de reutilização do derivado, 57% da atividade enzimática foi preservada. Adicionalmente, apresentou maior estabilidade térmica a 40 - 60 °C e aos pH 4,0 - 7,0 após 6 h de incubação quando comparada a forma livre. As análises em TLC mostraram a efetividade do derivado contendo tanase para sintetizar PG, sendo confirmada pelos espectros de FTIR, com picos nas regiões 2960 e 2850 cm^{-1} e próximo a 1650 cm^{-1} , característicos da molécula de PG. Deste modo, o derivado contendo a tanase de *A. ochraceus* apresenta potencial para aplicação industrial na síntese de propil galato, oferecendo vantagens pela possibilidade de sua reutilização em diferentes ciclos catalíticos.

PALAVRAS - CHAVE: Alginato, Imobilização, Propil Galato, Tanino acil hidrolase.

IMMOBILIZATION OF THE TANNASE OF *ASPERGILLUS OCHRACEUS* AND APPLICATION IN THE SYNTHESIS OF PROPIL GALATO ANALYZED BY INFRARED SPECTROMETRY WITH FOURIER TRANSFORMED (FT-IR)

ABSTRACT: Tannin acyl hydrolase (TAH; EC 3.1.1.20), popularly known as tannase, catalyzes the hydrolysis of ester and depsidic bonds of complex and hydrolyzable tannins, releasing

gallic acid and glucose (gallotannins), or ellagic acid and glucose (ellagitannins). The most important application of this enzyme is in the production of gallic acid, used as an intermediate agent in the synthesis of propyl gallate (PG). PG is usually used in the food, cosmetics and pharmaceutical industries due to its antioxidant activity. Therefore, the present study aimed to immobilize *Aspergillus ochraceus* tannase, characterization the derivative and its application in the PG synthesis. Immobilization in MnCl₂ crosslinked alginate showed higher yield (100%), efficiency (100%) and recovered enzymatic activity (74%). The immobilized tannase on Mn-alginate showed best activity at 50 °C and pH 5.0 and, after 10 cycles of reuse of the derivative, 57% enzymatic activity was preserved. Additionally, it was stable at 40 - 60 °C and at pH 4.0-7.0 after 6 hours of incubation when compared to free enzyme. The TLC analyzes showed the effectiveness of the derivative containing tannase to synthesize PG, confirmed by the FT-IR spectra, with peaks at 2960 and 2850 cm⁻¹ and close to 1650 cm⁻¹ characteristic of the PG molecule. Thus, the derivative containing tannase from *A. ochraceus* has potential for industrial application for the synthesis of propyl gallate, offering advantages due to the possibility of its reuse in different catalytic cycles.

KEYWORDS: Alginate, Immobilization, Propyl Gallate, Tannyn acyl hydrolase.

1 | INTRODUÇÃO

A enzima tanino acil hidrolase (TAH; EC 3.1.1.20), comumente denominada de tanase, catalisa a hidrólise de ésteres e ligações depsídicas de taninos complexos e hidrolisáveis, como o ácido tânico, liberando glicose e ácido gálico no caso dos galotaninos, e ácido elágico na hidrólise de elagitaninos (GONZÁLEZ et al., 2016; DHIMAN et al., 2017). Estas enzimas podem ser obtidas de fonte vegetal, animal e microbiana (bactérias, leveduras e fungos filamentosos). Contudo, a maioria das tanases disponíveis comercialmente são produzidas por espécies de *Aspergillus* cultivadas em Fermentação Submersa (FSbm) (KHUMAR et al., 2018). Potencialmente aplicadas em diversos setores industriais, as tanases podem ser empregadas na indústria de bebidas como, por exemplo, no processamento de chás instantâneos, como agente clarificador de sucos de frutas e em bebidas geladas a base de café, sendo responsável pela remoção de compostos fenólicos (DHIMAN et al., 2017). A aplicação mais importante das tanases é na produção de ácido gálico, o qual apresenta atividade antioxidante, antimicrobiana, anti-inflamatória, antitumoral e antidiabética (CHOUBEY et al., 2018).

O ácido gálico (AG) é o agente intermediário na síntese de propil galato (3,4,5-trihidroxibenzoato de n-propila) (PG), um antioxidante utilizado como aditivo na indústria de alimentos, em cosméticos, produtos farmacêuticos, embalagens de alimentos e lubrificantes (ZHANG et al., 2014). O PG é produzido em escala industrial pela reação de condensação do AG com ácido sulfúrico em altas temperaturas e condições fortemente ácidas, o que acarreta a geração de poluentes (ZHANG et al., 2014). Por via enzimática, pode ser sintetizado a partir do AG e n-propanol por reação de esterificação ou transesterificação entre o ácido tânico e n-propanol (SHARMA et al., 2017).

O emprego das tanases em processos industriais pode ser realizado com a enzima solúvel ou imobilizada. A imobilização enzimática proporciona vantagens como reutilização do derivado (enzima imobilizada no suporte) por repetidos ciclos de reação, facilidade no manuseio e da separação do produto, e melhoria da estabilidade enzimática (ONG; ANNUAR, 2018). Há vários métodos para imobilização empregando diferentes suportes e fatores como custo, toxicidade dos reagentes e as propriedades desejadas do derivado devem ser considerados (JANA et al., 2015).

Portanto, devido ao potencial de aplicação das tanases na síntese de propil galato e as vantagens de utilizar enzimas imobilizadas em processos industriais, este trabalho teve como objetivo a imobilização da tanase de *Aspergillus ochraceus*, caracterização do derivado e aplicação na síntese de propil galato.

2 | METODOLOGIA

2.1 Produção de tanase por *A. ochraceus*

O fungo filamentososo *A. ochraceus*, previamente caracterizado como produtor de tanase (GONÇALVES et al., 2012), está depositado na micoteca do Laboratório de Microbiologia e Biologia Celular da Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo. Novas culturas de *A. ochraceus* foram obtidas em meio BDA (batata, dextrose e ágar) inclinado após incubação por 168 h a 30 °C, e posteriormente, conservadas a 4 °C.

Para produção de tanase, 1 mL de uma suspensão de esporos de *A. ochraceus* na concentração de 10^5 (esporos/mL) foi inoculada em 25 mL de meio de cultura Khanna (KHANNA; SUNDARIL; KUMAR, 1995), acrescido de 2% (m/v) de ácido tânico como fonte de carbono. O meio de cultura foi previamente autoclavado a 120 °C por 20 min e o ácido tânico esterilizado separadamente por microfiltração (0,22 μ m). Os cultivos foram conduzidos sob agitação orbital (100 rpm) por 72 h, a 30 °C (GONÇALVES et al., 2012).

2.2 Obtenção do filtrado extracelular e purificação da tanase

Para obtenção da tanase extracelular, após o período de incubação, os cultivos foram filtrados a vácuo em funil Büchner, com papel de filtro Whatman nº 1, obtendo-se o caldo de cultura livre de células, denominado de filtrado extracelular. O filtrado foi dialisado contra 4 L de água destilada por 24 h a 4 °C e, em seguida, aplicado em membrana Millipore com *cutoff* de 50 kDa, submetido a centrifugação a 2800 x *g* a 4 °C por 15 min. A enzima retida no permeado foi empregada para imobilização enzimática.

2.3 Imobilização enzimática em alginato de sódio reticulado com CaCl_2 e MnCl_2

A solução de alginato de sódio 4% (m/v) foi preparada em água destilada e agitada por 4 h a 28 °C. Em seguida, a solução foi misturada com a amostra enzimática, obtendo-se uma concentração final de 3% de alginato, e suavemente agitada por 15 min a 4 °C. A suspensão foi gotejada, com auxílio de uma seringa, na solução CaCl_2 (0,1 mol L⁻¹), e as esferas formadas foram mantidas em agitação suave na solução CaCl_2 por 20 min a 4 °C. Em seguida, foram separadas por peneiramento e lavadas com tampão acetato de sódio (100 mmol L⁻¹ pH 5,0). O mesmo procedimento foi realizado substituindo CaCl_2 (Ca-alginato) por MnCl_2 (0,1 mol L⁻¹) (Mn-alginato). As esferas foram armazenadas em tampão acetato de sódio (100 mmol L⁻¹ pH 5,0) a 4 °C. O processo de imobilização foi monitorado por meio da atividade enzimática e quantificação de proteínas no sobrenadante.

2.4 Determinação da atividade enzimática

A atividade tanásica foi determinada pelo método da rodanina metanólica (SHARMA; BHAT; DAWRA, 2000), utilizando metil galato (0,2% m/v) como substrato em tampão acetato de sódio 100 mmol L⁻¹ (pH 5,0). O método foi previamente padronizado por uma curva analítica de ácido gálico (0 a 0,1 mg mL⁻¹). Para tanase imobilizada, a reação foi composta por 2 mL de substrato adicionados de 1 g do derivado. Após 5 min de reação, alíquotas de 500 µL foram transferidas para tubos reacionais e 300 µL de rodanina metanólica 0,667% (m/v) foram adicionados. Após 5 min, pipetou-se 200 µL de hidróxido de potássio (0,5 mol L⁻¹) para formação de um cromatógeno de coloração violeta. O volume obtido foi adicionado de 4 mL de água destilada. Após 10 min foi realizada a leitura em espectrofotômetro com comprimento de onda ajustado para 520 nm. A unidade de atividade tanásica (U) foi definida como sendo a quantidade de enzima necessária para produzir 1 µmol de ácido gálico por minuto nas condições de ensaio.

2.5 Quantificação de proteínas

As proteínas foram quantificadas pelo método de Bradford (1976), utilizando albumina de soro bovino (BSA) como padrão (0-01 mg mL⁻¹).

2.6 Determinação do rendimento, eficiência e atividade recuperada

O rendimento da imobilização (R%) foi calculado pela relação entre a atividade inicialmente oferecida e a atividade enzimática do sobrenadante após imobilização, de acordo com a Equação 1:

$$\text{Rendimento (\%)} = \frac{\text{Atividade tanase livre} - \text{Atividade do sobrenadante}}{\text{Atividade tanase livre}} \times 100 \quad \text{Equação 1}$$

A eficiência do processo de imobilização foi calculada por meio da quantificação de proteínas do sobrenadante após o processo de imobilização e da concentração de proteínas oferecida (Equação 2).

$$PI (\%) = \frac{\text{Proteína}_{\text{inicial}} - \text{Proteína}_{\text{sobrenadante}}}{\text{Proteína}_{\text{inicial}}} \times 100 \quad \text{Equação 2}$$

A atividade recuperada foi calculada considerando a atividade enzimática dos derivados (CARAVANTE, 2014) de acordo a Equação 3:

$$\text{Atividade recuperada} = \frac{\text{Atividade do derivado}}{U_{\text{esperado}}} \times 100 \quad \text{Equação 3}$$

Em que: U_{esperado} foi determinado conforme Equação 4, considerando o rendimento (R) na escala de 0-1.

$$U_{\text{esperado}} = \frac{\text{Atividade da enzima livre} \times \text{Volume da enzima usado na imobilização}}{\text{Massa do derivado}} \times R \quad \text{Equação 4}$$

2.7 Efeito da temperatura na atividade enzimática e estabilidade térmica

O efeito da temperatura na atividade enzimática da tanase livre e imobilizada foi determinado conduzindo as reações enzimáticas nas temperaturas de 30 °C a 80 °C. A maior atividade foi considerada como 100% e usada como referência. A estabilidade térmica foi verificada incubando a tanase livre e imobilizada a 30 °C, 40 °C, 50 °C e 60 °C por um período de 6 h. A cada intervalo de tempo alíquotas foram retiradas, mantidas em banho de gelo e, em seguida, ensaiadas para atividade tanásica. A atividade enzimática no tempo 0 foi considerada como 100%.

2.8 Efeito do pH na atividade tanásica e estabilidade ao pH

O efeito do pH na atividade enzimática da tanase livre e imobilizada foi determinado utilizando tampão ácido cítrico 100 mmol L⁻¹ (pH 3,0 e 4,0), tampão acetato de sódio 100 mmol L⁻¹ (pH 5,0 e 6,0), tampão Tris-HCl 100 mmol L⁻¹ (pH 7,0) e glicina 100 mmol L⁻¹ (pH 8,0). A maior atividade foi considerada 100% e usada como referência. A estabilidade ao pH foi realizada incubando a tanase livre e imobilizada nas soluções tampão citadas acima, no pH 4,0 a 7,0, e mantidas em banho de gelo. Alíquotas foram retiradas em diferentes intervalos de tempo e a atividade enzimática foi determinada. A atividade enzimática no tempo 0 foi considerada como 100%.

2.9 Reutilização do derivado

A reação enzimática foi conduzida utilizando o derivado Mn-alginato e 0,2% (m/v) de metil galato como substrato por 5 min nas condições ótimas de temperatura e pH por diferentes ciclos consecutivos. Após cada ciclo, o derivado foi recuperado por peneiramento, lavado com tampão acetato de sódio (10 mmol L⁻¹ pH 5,0) e utilizado no ciclo seguinte. A atividade enzimática do 1º ciclo foi definida como 100%.

2.10 Síntese de propil galato (PG)

O derivado foi aplicado na síntese de PG a partir da transesterificação do ácido tânico na presença de 1-propanol. A reação foi composta por 500 μL de ácido tânico (5 mmol L^{-1} preparado em tampão MES 100 mmol L^{-1} pH 6,0), 500 μL de 1-propanol e 15 esferas de tanase imobilizada. A mistura de reação foi mantida a 30 $^{\circ}\text{C}$ por 48 - 96 h. Em seguida, as esferas foram recuperadas por peneiramento e o sobrenadante utilizado para detectar a presença de PG por cromatografia de camada delgada (TLC) e Espectrometria de Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR).

2.10.1 Análise por TLC

Para analisar qualitativamente a hidrólise do ácido tânico em ácido gálico e a síntese de propil galato, as amostras foram aplicadas em TLC, seguindo metodologia descrita por Mahendran e colaboradores (2006). Como fase móvel foi utilizada solução de benzeno: acetato de etila: ácido fórmico (18:15:1, v/v/v). Após a corrida, o ácido tânico residual, o propil galato e o ácido gálico formados foram revelados com FeCl_3 1% (m/v). Como padrões foram utilizados ácido tânico (AT) (1 mmol L^{-1}), ácido gálico (AG) (10 mmol L^{-1}) e propil galato (10 mmol L^{-1}) preparados em tampão MES (100 mmol L^{-1} pH 6,0).

2.10.2 Análise por FTIR

Amostras das reações de transesterificação foram analisadas por FTIR, usando espectrômetro infravermelho Bruker Vertex 70 com reflexo total atenuado (ATR), para determinar as estruturas presentes. O software utilizado foi o OPUS 7.5, resolução de 4 cm^{-1} , tempo de varredura de 64 varreduras e comprimento de onda de 4000 cm^{-1} a 400 cm^{-1} . O propil galato (Sigma[®]) foi utilizado como padrão. As análises foram realizadas no Laboratório Multiusuário de Análises Químicas do Instituto de Química de Araraquara (UNESP).

2.10.3 Análise dos experimentos

Os ensaios foram realizados em triplicata e analisados com base na média e no erro padrão. Para análise dos dados e representações gráficas foram utilizados os programas Microsoft Office Excel 2007 (Microsoft[®]) e OriginPro 8 (OriginLab[®] Corporation - *Trial version*).

3 | RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Imobilização da tanase produzida por *Aspergillus ochraceus*

Os resultados da imobilização da tanase produzida por *A. ochraceus* estão apresentados na Tabela 1. Os maiores índices de rendimento (100%), eficiência (100%) e atividade recuperada (73,84%) foram obtidos no suporte Mn-alginato. A atividade reduzida no derivado Ca-alginato pode ser explicada pela influência negativa que o CaCl_2 exerce na atividade da tanase de *A. ochraceus*, levando a uma redução de 27% da atividade catalítica, enquanto que na presença de MnCl_2 foi observado aumento de 33%, como descrito por Gonçalves et al. (2012). A imobilização em alginato reticulado com CaCl_2 foi relatada para tanase de *Paecilomyces variotii* (ROBERTO et al., 2016), *A. ficcum* (LIMA et al., 2018) e *Penicillium rolsii* CCMB 714 (ANDRADE et al., 2020). O uso de MnCl_2 como agente reticulante na imobilização foi relatado para enzima D-hidantoinase (JIN et al., 2016). Contudo, até o presente momento, não há relatos de uso para imobilização de tanase.

Métodos	Rendimento (%)	Eficiência (%)	Atividade recuperada (%)
Ca-Alginato	100 ± 0	92,97 ± 2,75	32,26 ± 3,76
Mn-Alginato	100 ± 0	100 ± 0	73,84 ± 11,15

Tabela 1. Imobilização da tanase de *A. ochraceus* em alginato de sódio.

O derivado Mn-alginato foi caracterizado quanto ao perfil de atividade enzimática em diferentes temperaturas e valores de pH, e ciclos de reutilização. Na Figura 1, observa-se que o derivado contendo tanase exibiu maior atividade a 50 °C, enquanto que a enzima livre a 60 °C. Com relação ao pH, o derivado Mn-alginato exibiu máxima atividade em pH 5,0 e a enzima livre no pH 6,0. Em valores de pH inferiores e superiores aos observados como melhores, a atividade enzimática foi reduzida. O tipo de suporte e o método de imobilização podem exercer influência nas propriedades bioquímicas das enzimas imobilizadas. Kumar et al. (2015) observaram que a tanase de *A. awamori* imobilizada em Amberlite apresentou temperatura (55 °C) e pH (4,0) diferentes da sua forma livre (30 °C e pH 5,5). Li et al. (2018) descreveram que a imobilização da tanase em nanopartículas magnéticas não afetou a temperatura de reação, no entanto o pH foi deslocado para faixa mais ácida (4,5).

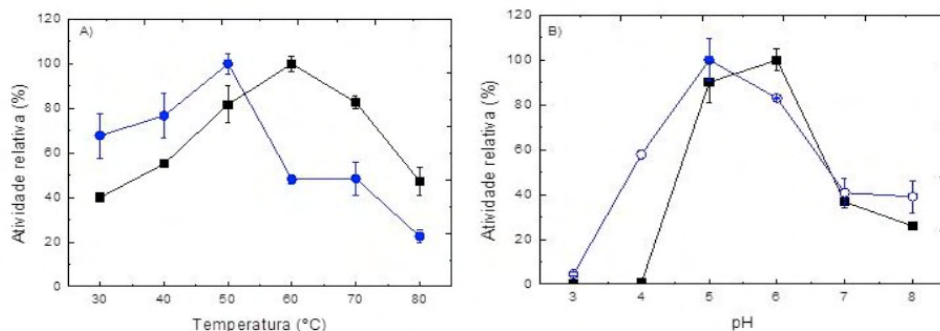


Figura 1. Efeito da temperatura (A) e pH (B) na atividade enzimática da tanase de *A. ochraceus* livre (■) e imobilizada em Mn-alginato (●).

A Figura 2 apresenta a atividade tanásica do derivado Mn-alginato por 10 ciclos consecutivos. Após o 6º ciclo catalítico, o derivado preservou 95% de sua atividade inicial, e ao longo do 10º ciclo manteve cerca de 57% de atividade. Destaca-se também que não foram observadas mudanças visuais no suporte ao longo dos 10 ciclos de reutilização. Os resultados descritos foram superiores aos encontrados para tanase de *A. ficcum* imobilizada em alginato, que reteve apenas 35% da atividade no 9º ciclo (LIMA et al., 2018), e de *P. rolfii* CCMB 714 (ANDRADE et al., 2020), com retenção de 50% ao longo de 6 ciclos.

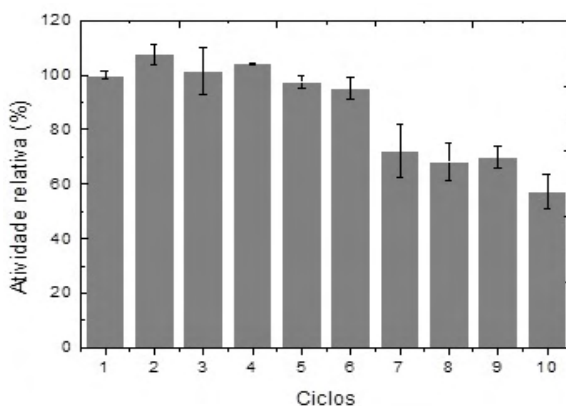


Figura 2. Ciclos de reutilização da tanase de *A. ochraceus* imobilizada em Mn-alginato.

Os perfis de estabilidade térmica da tanase livre e do derivado Mn-alginato após incubação em diferentes temperaturas são apresentados na Figura 3. Verifica-se que a enzima livre se manteve estável a 30 °C após 6 h de incubação e nas temperaturas de 40 °C e 50 °C permaneceu com cerca de 65% da atividade inicial. Destaca-se que a 60 °C a tanase livre teve 50% de sua atividade reduzida quando incubada por 30 min.

Diferentemente do observado para a forma livre, o derivado Mn-alginato permaneceu estável de 30 - 50 °C por 6 h. Quando incubado a 60 °C, 75% da atividade tanásica foi preservada por até 4 h de incubação. Os perfis de estabilidade sugerem que a imobilização em Mn-alginato possibilitou o aumento da resistência térmica da tanase de *A. ochraceus*. Resultados semelhantes foram observados por Lima et al. (2018) para a tanase de *A. ficuum* imobilizada em Ca-alginato. Os autores destacaram que a enzima imobilizada apresentou estabilidade a 60 °C, superior a enzima livre, após 120 min de incubação. Andrade et al. (2020) relataram que a enzima de *P. rolfsii* CCMB 714 imobilizada em esferas de alginato manteve 80% de atividade após incubação por 16 h a 40 °C e 50 °C, exibindo maior estabilidade do que a tanase livre.

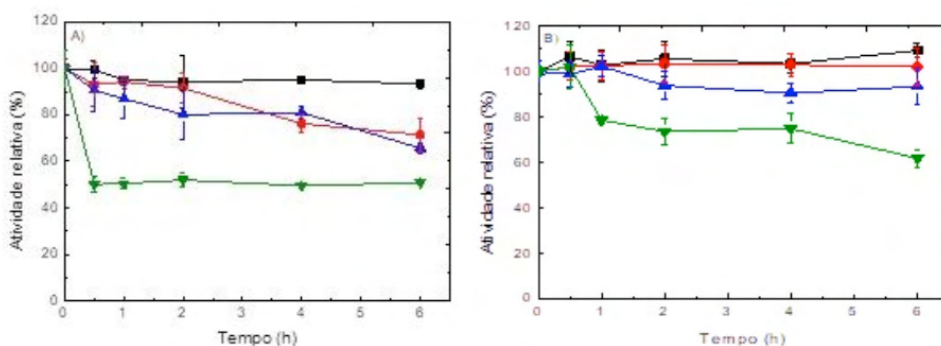


Figura 3. Estabilidade térmica a 30 °C (■), 40 °C (●), 50 °C (▲) e 60 °C (▼) da tanase de *A. ochraceus* livre (A) e imobilizada em Mn-alginato (B).

Na estabilidade ao pH (Figura 4), cerca de 80% da atividade da tanase livre foi mantida quando incubada no pH 5,0 e 6,0 por 6 h. No pH 4,0 e 7,0 a atividade foi reduzida cerca de 50% após 2 h de incubação. Assim como observado para estabilidade térmica, a imobilização conferiu maior resistência às mudanças de pH. O derivado Mn-alginato exibiu estabilidade superior em diferentes valores de pH por longos períodos de incubação, preservando totalmente a atividade tanásica quando mantido em pH 4,0 - 7,0 por 6 h de incubação. Na forma imobilizada, a mobilidade conformacional da enzima é limitada o que reduz a inativação por fatores externos, como temperatura e pH (ONG; ANNUAR, 2018). Wu et al. (2016) verificaram maior estabilidade térmica e ao pH da tanase de *A. tubingensis* imobilizada em nanopartículas magnetizadas. Kumar et al. (2015) descreveram melhora na estabilidade térmica e ao pH (3,5-6,0) da tanase de *A. awamori* imobilizada em Amberlite quando comparada a enzima livre.

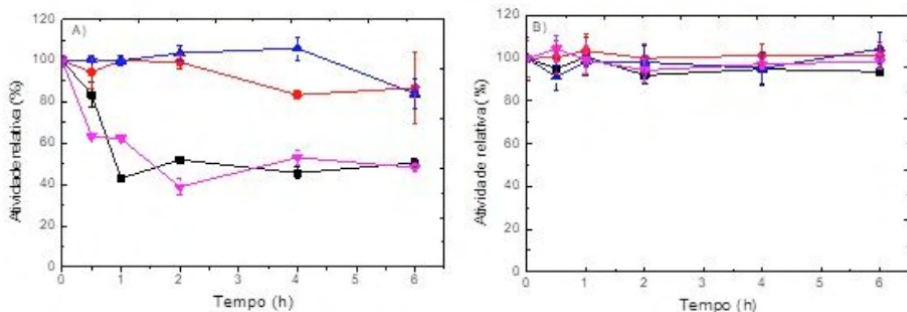


Figura 4. Estabilidade ao pH 4,0 (■), 5,0 (●), 6,0 (▲) e 7,0 (▼) da tanase de *A. ochraceus* livre (A) e imobilizada em Mn-alginato (B).

3.2 Aplicação do derivado Mn-alginato na síntese de propil galato

A Figura 5 apresenta o perfil cromatográfico em TLC para os produtos da reação de transesterificação do ácido tânico pela ação da tanase na presença de 1-propanol. O derivado Mn-alginato catalizou a síntese de propil galato em meio orgânico a partir da hidrólise do ácido tânico e, posteriormente, esterificação do ácido gálico. A medida que a reação foi conduzida por períodos mais longos, houve intensificação da banda correspondente ao propil galato (tempo de 96 h).



Figura 5. Perfil cromatográfico em TLC dos produtos obtidos a partir da reação de transesterificação do ácido tânico (raia 1) na presença de 1-propanol pelo derivado Mn-alginato contendo tanase de *A. ochraceus*. Raias: (2) AG; (3) PG; (4) reação de 48 h; (5) 72 h; (6) 96 h.

Os espectros em FTIR das amostras das reações enzimáticas comprovam a

produção de propil galato pelo derivado Mn-alginato, uma vez que o perfil dos picos obtidos foi semelhante ao obtido para o propil galato comercial utilizado como padrão (Figura 6). Os picos entre 2960 cm^{-1} e 2850 cm^{-1} indicam a presença do grupo CO_2 , enquanto picos próximos a 1650 cm^{-1} correspondem aos grupos éster carbonílicos, ambos característicos da molécula de propil galato. Trechos próximo a 1100 cm^{-1} foram observados e correspondem à vibração (C–O–C), também característico do PG. Os espectros obtidos para o propil galato (controle) e para as amostras das reações conduzidas por 48 h, 72 h e 96 h apresentaram picos semelhantes entre si e similares aos relatados para o PG produzido pela tanase livre de *A. awamori* BTMFW032 (BEENA et al., 2011), de *A. ochraceus* (ARACRI; CAVALCANTI; GUIMARÃES, 2019) e pela ação da tanase de *A. fumigatus* CAS21 seca em *spray dryer* (CAVALCANTI et al., 2020).

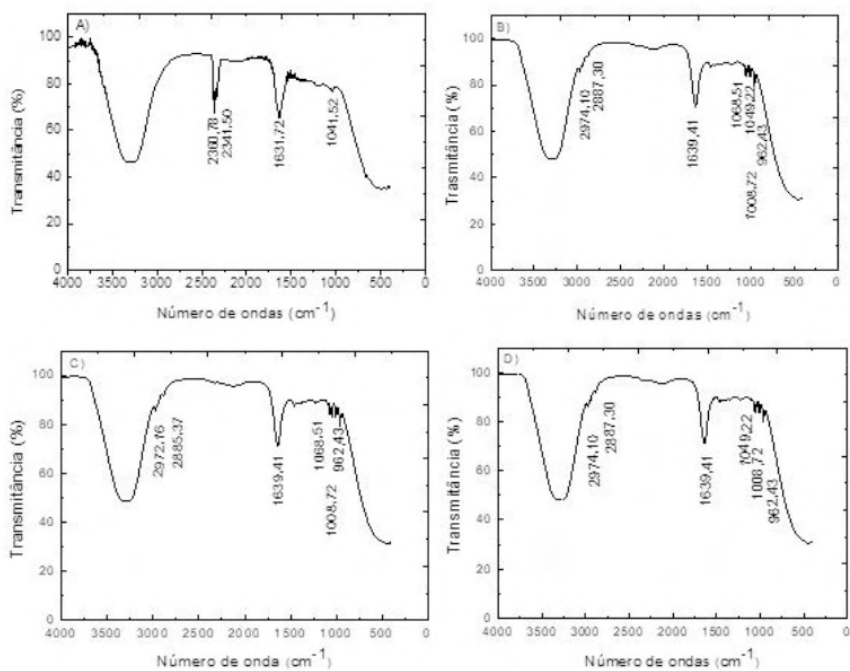


Figura 6. Espectros de FTIR do propil galato comercial (A) e sintetizado pela ação do derivado Mn-alginato contendo a tanase de *A. ochraceus* para as reações conduzidas por 48 h (B), 72 h (C) e 96 h (D).

4 | CONCLUSÃO

A imobilização da tanase de *A. ochraceus* no suporte Mn-alginato permitiu maximizar a resistência da enzima a diferentes temperaturas e valores de pH, além de possibilitar a reutilização do derivado por ciclos consecutivos. O derivado foi capaz de sintetizar propil

galato em meio orgânico a partir da transesterificação do ácido tânico. Portanto, o derivado Mn-alginato contendo tanase de *A. ochraceus* apresenta potencial para aplicação nas indústrias alimentícias, de cosméticos e farmacêuticas.

REFERÊNCIAS

ANDRADE, P. M. L. et al. Immobilization and characterization of tannase from *Penicillium rolsii* CCMB 714 and its efficiency in apple juice clarification. **Journal of Food Measurement and Characterization**. 2020. <https://doi.org/10.1007/s11694-020-00705-9>

ARACRI, F. M.; CAVALCANTI, R. M. F.; GUIMARÃES, L. H. S. *Aspergillus ochraceus* biofilm fermentation as alternative for the production of an extracellular tannase with biotechnological potential. **Journal of Microbiology and Biotechnology**. v. 28;29 (11), p. 1749-1759, 2019. <https://doi.org/10.4014/jmb.1903.03060>

BEENA, P. S. et al. Propyl gallate synthesis using acidophilic tannase and simultaneous production of tannase and gallic acid by marine *Aspergillus awamori* BTMFW032. **Applied Biochemistry Biotechnology**, v. 164, 612-628, 2011.

BRADFORD, M. M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. **Analytical Biochemistry**, v. 72, p. 248-254, 1976.

CARAVANTE, A. L. C. **Uso de invertase imobilizada em pó de sabugo de milho para produção de açúcar invertido**. 2014. Dissertação (Mestrado em Alimentos e Nutrição). UNESP, Araraquara, 88 f.

CAVALCANTI, R. M. F.; MARTINEZ, M. L. L.; OLIVEIRA, W. P.; GUIMARÃES, L. H. S. Stabilization and application of spray-dried tannase from *Aspergillus fumigatus* CAS21 in the presence of different carriers. **3 Biotech**, v. 10, 2020. <https://doi.org/10.1007/s13205-020-2164-z>

CHOUBEY, S. et al. Probing gallic acid for its broad spectrum applications. **Mini-Reviews in Medicinal Chemistry**, v. 18, p. 1283-1293, 2018.

DHIMAN, S. et al. Fungal tannase: Recent advances and Industrial applications. *In: Developments in fungal biology and applied mycology*. Satyanarayana, T et al. (eds.) 2017. Springer Nature Singapore, Cap. 16, p. 295-313.

GONÇALVES, H. B. et al. Characterization of a thermostable extracellular tannase produced under submerged fermentation by *Aspergillus ochraceus*. **Electronic Journal of Biotechnology**, v. 15, n. 5, p. 4, 2012.

GONZÁLEZ, M. L. C. et al. Tannases. *In: Current Developments in Biotechnology and Bioengineering*. PANDEY, A.; NEGI, S. SOCCOL, C. R. (eds.) 2016. Elsevier, Cap. 20, p. 471- 489.

JANA, A. et al. Tannase immobilization by chitin-alginate based adsorption-entrapment technique and its exploitation in fruit juice clarification. **Food Bioprocess Technology**, v. 8, p. 2319–2329, 2015.

JIN, Y. Y. et al. The whole-cell immobilization of D-hydantoinase-engineered *Escherichia coli* for D-CpHPG biosynthesis. **Electronic Journal of Biotechnology**, v. 9, n. 3, p. 43-48, 2016

KHANNA, P.; SUNDARIL, S. S.; KUMAR, N. J. Production, isolation and partial purification of xylanases

from *Aspergillus* sp. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, v. 11, p. 242-243, 1995.

KUMAR, S. S.; SREEKUMAR, R.; SABU, A. Tannase and its applications in food processing. In: PARAMESWARAN, B.; VARJANI, S.; RAVEENDRAN, S. (eds) **Green Bio-processes. Energy, Environment, and Sustainability**. Springer, Singapore, 2018. Cap. 19, p. 357-381.

KUMAR, S. et al. Biochemical characterization of immobilized tannase from *Aspergillus awamori*. **Biocatalysis and Agricultural Biotechnology**, v. 4, n. 3, p 398-403, 2015.

LI, R. et al. Tannase immobilisation by amino-functionalised magnetic Fe₃O₄- chitosan nanoparticles and its application in tea infusion. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 114, p. 1134–1143, 2018.

LIMA, J. S. et al. Immobilization of *Aspergillus ficuum* tannase in calcium alginate beads and its application in the treatment of boldo (*Peumus boldus*) tea. **International Journal of Biological Macromolecules**, 2018.

MAHENDRAN, B.; RAMAN, N.; KIM, D. Purification and characterization of tannase from *Paecilomyces variotii*: hydrolysis of tannic acid using immobilized tannase. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 70, p. 445-451, 2006.

ONG, C. B.; ANNUAR, M. S. M. Immobilization of cross-linked tannase enzyme on multiwalled carbon nanotubes and its catalytic behavior. **Preparative Biochemistry and Biotechnology**, v. 48, n. 2, p. 181-187, 2018.

ROBERTO, B. S. et al. Immobilized tannase treatment alters polyphenolic composition in teas and their potential anti-obesity and hypoglycemic activities *in vitro*. **Food & Function**, v. 14, n. 7 (9), 2016.

SHARMA, A. et al. Fabrication and functionalization of magnesium nanoparticle for lipase immobilization in n-propyl gallate synthesis. **Journal of King Saud University – Science**, v. 29, p. 536-546, 2017.

SHARMA, S.; BHAT, T. K.; DAWRA, R. K. A spectrophotometric method for assay of tannase using rhodanine. **Analytical Biochemistry**, v. 279, p. 85-89, 2000.

WU, C. et al. Preparation and characterization of tannase immobilized onto carboxyl functionalized superparamagnetic ferroferric oxide nanoparticles. **Bioresource Technology**, v. 205, p. 67-74, 2016.

ZHANG, S. et al. Novel trends for use of microbial tannases. **Preparative Biochemistry and Biotechnology**, v. 45, n. 3, p. 221-232, 2014. <https://doi.org/10.1080/10826068.2014.907182>

ÍNDICE REMISSIVO

SÍMBOLOS

1,1-difenil-2-picril-hidrazila 20, 23

A

Alginato 68, 71, 72, 74, 75, 76, 77, 78, 79

Aminoácidos 6, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 33, 45, 60

Análises Clínicas 5, 81, 83, 84, 89, 90

Atividade Antioxidante 6, 20, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 68, 69

B

Biofilme dentário 10

C

Carboidrato 45, 59

Compostos fenólicos 20, 22, 26, 69

Croton urucurana Baill 7, 59, 60, 61, 62, 67

D

Diabetes 22, 42, 43, 44, 48, 50, 53, 55, 56, 57

E

Enzimas digestivas 6, 42, 44, 54

Espectrofluorescência 29

F

Farelo de arroz 6, 1, 2, 3, 6, 7

Fermentado 6, 1, 3, 5, 6

Folin–Ciocalteu 20, 21, 23, 26

G

Gerenciamento laboratorial 7, 81, 83, 89

I

Imobilização 7, 68, 70, 71, 74, 76, 78

M

Metilparation 6, 29, 31, 32

O

Obesidade 42, 43, 44, 48, 49, 50, 51, 54

P

Propil Galato 7, 68, 69, 70, 73, 77, 78

S

Saccharomyces cerevisiae 6, 1, 2, 3, 5, 7

Síndrome Metabólica 42, 43, 44, 48, 54

Softwares 5, 7, 81, 82, 83, 85, 86, 87, 88, 89, 90

Soro de peixe 29, 35

T

Tanino acil hidrolase 68

Z

Zingiber officinale 6, 9, 10, 11, 13, 16, 17, 18, 19

Ensino e Pesquisa em Bioquímica



🌐 www.atenaeditora.com.br
✉ contato@atenaeditora.com.br
📷 @atenaeditora
📘 www.facebook.com/atenaeditora.com.br

Atena
Editora
Ano 2021

Ensino e Pesquisa em Bioquímica



🌐 www.arenaeditora.com.br

✉ contato@arenaeditora.com.br

📷 @arenaeditora

📘 www.facebook.com/arenaeditora.com.br

Atena
Editora
Ano 2021