

# ESTUDIO PARA LA IDENTIFICACIÓN DE REDUCTASAS DE VEGETAL

Aida Solís Oba\*, Rosa María Martínez, Fadia Domínguez, Herminia I. Pérez, Norberto Manjarrez.  
Universidad Autónoma Metropolitana, Unidad Xochimilco Universidad Autónoma Metropolitana, Unidad Xochimilco, Calzada del Hueso 1100, Col. Villa Quietud, Delegación Coyoacán, C.P. 04960, CDMX.  
email:asolis@correo.xoc.uam.mx

## RESUMEN

Se evaluó la actividad reductasa de diferentes materiales vegetales para llevar a cabo la reducción de benzaldehído a alcohol bencílico, el material vegetal más activo fue la semilla de avena con un 51% de reducción, con las semillas de calabaza, trigo, pimienta, chile y ejote la reducción fue del 17 al 41%, mientras que con apio, nopal, pepino, papa, aguacate y brócoli fue del 14 al 33%. Estas fuentes crudas de reductasa pueden ser empleadas como agentes reductores de otros aldehídos o cetonas para la preparación de alcoholes, con la ventaja de no requerir de procesos costosos de aislamiento para tener la enzima pura, ni la generación de residuos contaminantes al utilizar agentes reductores químicos .

Palabras clave: reductasa, alcohol bencílico, aldehído, alcohol

## ABSTRACT

The reductase activity of different vegetal materials was evaluated to carry out the reduction of benzaldehyde to benzyl alcohol, the most active vegetal material was the oat seed with a 51% reduction, with the seeds of pumpkin, wheat, pepper, chili and ejote the reduction was from 17 to 41%, while celery, nopal, cucumber, potato, avocado and broccoli was from 14 to 33%. These crude reductase sources can be used to reduce other aldehydes and ketones for the preparation of alcohols, with the advantage of not requiring expensive isolation processes to have the pure enzyme, nor the generation of polluting residues when using chemical compounds as reducing agents.

Key words: reductase, benzyl alcohol, aldehyde, alcohol.

## INTRODUCCIÓN

El uso de biocatalizadores para la preparación de compuestos orgánicos presenta importantes ventajas que los hacen ambientalmente amigables y atractivos para su uso en síntesis orgánica, como son el empleo de soluciones acuosas en lugar de disolventes orgánicos, reacciones a temperatura ambiente y pH neutro, pero lo más relevante es su alta especificidad (Panke *et al.*, 2004; Pollard and Woodley, 2006).

La obtención de compuestos orgánicos usando biocatalizadores cumplen varios de los puntos que se consideran dentro de la química verde, como son: es mejor prevenir la generación de desechos que tratarlos o limpiarlos después de que se han generado, durante la biocatálisis se minimiza la formación de productos secundarios; cuando sea aplicable, los métodos sintéticos deben usar y generar sustancias que sean poco o no tóxicos al humano y al ambiente, los procesos biocatalíticos se llevan a cabo en medio acuoso y los biocatalizadores son sustancias biológicas que se degradan sin generar productos tóxicos; los requerimientos energéticos son mínimos puestos que se llevan a cabo a temperatura ambiente; así mismo debido a que los biocatalizadores son selectivos se obtienen mejores resultados que cuando se tienen reacciones equimolares (Anastas and Warner, 1998).

Los alcoholes aromáticos son materias primas de gran importancia para la industria química, farmacéutica, agrícola, de alimentos y de fragancias. Los alcoholes aromáticos se pueden obtener químicamente por reducción de compuestos carbonílicos, usando catalizadores químicos, el principal problema es la generación de residuos que pueden ser tóxicos y difíciles de disponer. Una alternativa que ha ganado relevancia tanto en la academia como en la industria es el uso de deshidrogenasas dependientes de nicotinamida, enzimas capaces de llevar a cabo la reducción de grupos carbonilo como aldehídos y cetonas a los correspondientes alcoholes. En la industria de los sabores y las fragancias, los biocatalizadores juegan un papel importante en la síntesis de intermediarios (Hollmann *et al.*, 2011). Por ejemplo, el alcohol bencílico es un alcohol aromático que se usa como conservador, disolvente y anestésico local, se ha usado para la preparación de una gran variedad de productos, como reveladores fotográficos, en textiles, bacteriostáticos, cosméticos, preparación de fragancias, etc. (BeScience; FDA; Scognamiglio *et al.*, 2012)

Las deshidrogenasas o reductasas son biocatalizadores se pueden obtener principalmente de microorganismos, pero las plantas son una alternativa accesible y económica como fuente de dichas enzimas (Cordell *et al.*, 2007). En

un contexto verde, se puede tener en cuenta la posibilidad de utilizar partes de plantas como fuentes biocatalizadores para reducir aldehídos y cetonas como una alternativa para la síntesis de alcoholes (Rowan *et al.*, 2013).

Este trabajo se ha centrado en el estudio de nuevas fuentes de biocatalizadores en materiales de origen vegetal como verduras, semillas y hojas, entre otros, para la reducción de benzaldehído a alcohol bencílico. Una de las principales ventajas del uso de materiales vegetales como fuentes de biocatalizadores son sus bajos costos, fácil accesibilidad, obtención de cantidades grandes de biomasa, así mismo este material vegetal es biodegradable por lo que no se generan contaminantes del ambiente.

## METODOLOGÍA

### Preparación de la fuente de biocatalizador

Los materiales vegetales se adquirieron en mercados locales. El material vegetal se lava con agua y detergente, luego se sumerge durante 10 min en una solución de hipoclorito de sodio al 5 %, se enjuaga con agua destilada y se deja secar. Posteriormente se muele en una licuadora con agua destilada (1 g con 1 mL). La mezcla se centrifuga a 5000 rpm por 20 min, el sobrenadante se usa como fuente de enzima.

Las semillas se desinfectan como se señaló antes, posteriormente se muelen en un molino de café para tener un polvo fino, 1 g de polvo se suspende en 4 mL de agua y se agita 1 hora, la mezcla se centrifuga y se utiliza el sobrenadante como fuente de enzima.

### Método general para la reducción biocatalizada

Al extracto acuoso correspondiente (1 mL) se le agregan  $1.484 \times 10^{-5}$  moles de benzaldehído, la mezcla se agita a 1300 rpm, 25 °C, durante 24 h. Posteriormente la mezcla de reacción se extrae con éter etílico, se separa la fase orgánica, se seca con sulfato de sodio anhidro y se analiza por cromatografía de gases (CG), para determinar el % de conversión, utilizando el área bajo la curva del benzaldehído y del alcohol bencílico, los experimentos se realizaron por triplicado.

## RESULTADOS

Se estudiaron 12 materiales biológicos de origen vegetal con el propósito de detectar actividad reductasa en ellos, con la finalidad de usarlos como posibles catalizadores para la reducción de aldehídos a los correspondientes alcoholes.

Tabla I. Reducción de benzaldehído a alcohol bencílico usando reductasas de origen vegetal

Material vegetal	Nombre científico	% conv**
Semilla de avena	<i>Avena sativa</i>	51
Vaina de ejote	<i>Phaseolus vulgaris</i>	41
Semilla de calabaza	<i>Cucurbita maxima</i>	29
Semilla de trigo	<i>Triticum aestivum</i>	28
Semilla de pimienta	<i>Capsicum annuum</i>	23
Semilla de chile	<i>Capsicum frutescens</i>	17
Tallo de apio	<i>Apium graveolens</i>	33
Penca de nopal	<i>Opuntia ssp.</i>	19
Fruto de pepino	<i>Cucumis sativus</i>	18
Tuberculo de papa	<i>Solanum tuberosum</i>	15
Fruto de aguacate	<i>Persea Americana</i>	14
Inflorescencia de brócoli	<i>Brassica oleracea var. italica</i>	19

% conv\*\*: % de conversión determinado por CG

En la Tabla I se muestran los resultados obtenidos de la reducción de benzaldehído a alcohol bencílico, donde se puede observar que todos los materiales presentan actividad reductasa. La mayor conversión se obtuvo con la semilla de avena, la cual transforma benzaldehído en un 51%, seguida de ejote con 41%, en 24 h; con el resto de los materiales la conversión se encuentra entre 14 y 33%. Cabe resaltar que en este trabajo preliminar las reacciones se llevaron a cabo en condiciones no optimizadas y en medio acuoso, el estudio es para detectar material vegetal con actividad reductasa, el siguiente estudio sería determinar la influencia del pH del medio de reacción, temperatura, tiempo, relación de cantidad de material vegetal con respecto al sustrato, así como la influencia de codisolvente.

Entre otros materiales vegetales que se han estudiado para reducir benzaldehído a alcohol bencílico se encuentran hojas de *Musa sapientum* (0%) y *Zea mays* (90%) (Luna et al., 2014), *M. esculenta* (91%), *M. dulcis* (83%) (Machado et al., 2006), *Euphorbia portulacoides* L. var. *portulacoides* (0%), *Talinum polygaloides* Gillies ex Arn. (98% en 6 días), *Puya spathacea* (98% en 5 días) y *Daucus carota* L. (99% en 3 días) (Salvano et al., 2011)

## CONCLUSIONES

Se detectaron doce materiales vegetales con actividad reductasa, que llevaron a cabo la reducción de benzaldehído a alcohol bencílico, estos materiales se pueden utilizar como potenciales agentes reductores de otros compuestos con grupos carbonilo para la preparación de alcoholes.

## REFERENCIAS

Anastas, P. T. and Warner, J. C. 1998. Green Chemistry: Theory and Practice. Oxford University Press: New York.

BeScience. Alcohol Bencílico, NF. <https://www.bescience.com/products/alcohol-bencilico-nf>. Revisado 10/04/2018.

Cordell, G.A., Lemos, T.L.G., Monte, F.J.Q. and de Mattos, M.C. 2007. Vegetables as Chemical Reagents. *J. Nat. Prod.* 70: 478-492

FDA. Draft Guidance on Benzyl Alcohol. <https://www.fda.gov/downloads/Drugs/GuidanceComplianceRegulatoryInformation/Guidances/UCM428198.pdf>. Revisado 10/04/2018.

Hollmann, F., Arends, I.W. and Holtmann, D. 2011. Enzymatic reductions for the chemist. *Green Chem.* 13: 2285-2314.

Luna, H., Hernández-Vázquez, L., Reyó, A., Arias, L. y Manjarrez, N. 2014. Banana and maize leaf wastes as a green alternative for the preparation of benzyl alcohols used as starting materials for fragrances. *Ind. Crops Prod.* 59: 105-108.

Machado, L.L., Souza, J., Mattos, M.C, Sakata, S., Cordell, G.A., Lemos, T. 2006. Bioreduction of aldehydes and ketones using Manihot species. *Phytochem.* 67: 1637-1643

Panke, S., Held, M. and Wubbolts, M. 2004. Trends and innovations in industrial biocatalysis for the production of fine chemicals. *Cur. Opin. Biotechnol.* 15:272-279. Pollard, David and Woodley, J.M. 2006. Biocatalysis for pharmaceutical

intermediates: the future is now. *TRENDS Biotechnol.* 25(2): 66-73.

Rowan, A.S., Moody, T.S., Howard, R.M., Underwood, T.J., Miskelly, I.R., He, Y. and Wang, B. 2013. Preparative access to medicinal chemistry related chiral alcohols

using carbonyl reductase technology. *Tetrahedron: Asymm.* 24: 1369-1381.

Salvano, M.S., Cantero, J.J, Vázquez, A.M., Formica, S.M. and Aimar, M.L. 2011. Searching for local biocatalysts: Bioreduction of aldehydes using plant roots of the Province of Córdoba (Argentina). *J. Mol. Catal. B: Enzym.* 71: 16-21.

Scognamiglio, J., Jones, L., Vitale, D., Letizia, C.S. and Api A.M. 2012. Review. Fragrance material review on benzyl alcohol. *Food Chem. Toxicol.* 50:S140-S160

