



PURIFICAÇÃO DE PEROXIDASES OBTIDAS A PARTIR DE SUBPRODUTOS AGROINDUSTRIAIS VIA SISTEMA AQUOSO BIFÁSICO VISANDO APLICAÇÃO NO TRATAMENTO DE EFLUENTES

NATALIA KLANOVICZ^{1,2*}, ALINE FRUMI CAMARGO^{2,3}, ANDRESSA WARKEN^{2,4},
LETÍCIA PALIGA^{2,4}, HELEN TREICHEL^{2,5}

1 Introdução

Ao contrário das enzimas comerciais, as não comerciais apresentam um grau de impureza devido sua fonte de extração conter diversas biomoléculas agregadas. A escolha do método adequado para concentrar a enzima e aumentar sua atividade específica é uma etapa importante e deve considerar a aplicação desejada, os custos envolvidos, a escalabilidade, o rendimento e a reprodutibilidade (MARQUES, 2016).

Para minimizar os custos, a otimização de metodologias rápidas, com poucas operações unitárias e eficazes para o processo de concentração enzimática são desejáveis. Neste sentido, algumas técnicas como Sistema Aquoso Bifásico (SAB) vêm ganhando espaço e se tornando arranjos adequados para purificação e recuperação de biomoléculas (ANDREWS; SCHMIDT; ASENJO, 2005).

As propriedades oxirredutoras das peroxidases confere a essas enzimas a possibilidade de inserção em processos oxidativos avançados (POAs) para tratar efluente têxtil. O mecanismo de ação dos POAs em corantes baseia-se na oxidação e destruição desses componentes e a presença de peroxidases em sua forma concentrada pode potencializar a oxidação dos corantes e acelerar o processo de tratamento desses efluentes (GHALY et al., 2014).

¹ Graduanda em Engenharia Ambiental e Sanitária, Universidade Federal da Fronteira Sul, *campus* Erechim/RS, **Bolsista CNPq**, *contato: nataliak96@gmail.com;

² Grupo de Pesquisa em Agroenergia e Linha de Pesquisa em Bioprocessos e Aplicação em Bioenergias da Universidade Federal da Fronteira Sul;

³ Mestranda em Ciência e Tecnologia Ambiental – PPGCTA, Universidade Federal da Fronteira Sul, *campus* Erechim/RS;

⁴ Graduanda em Engenharia Ambiental e Sanitária, Universidade Federal da Fronteira Sul, *campus* Erechim/RS;

⁵ Doutora, Universidade Federal da Fronteira Sul, *campus* Erechim/RS, **Orientadora**.



2 Objetivos

Avaliar a purificação de peroxidases não comerciais por técnicas de purificação em sistema aquoso bifásico, para posterior aplicação na remoção de cor de efluentes.

3 Material e Métodos

A enzima peroxidase, utilizada neste trabalho, foi extraída de farelo de arroz e disponibilizada pela Escola de Química e Alimentos da Universidade Federal do Rio Grande *Campus Carreiros*.

O extrato enzimático foi concentrado através da técnica Sistema Aquoso Bifásico, preparado com uma solução 50% (p/v) de polietilenoglicol (PEG) de massa molar 1500 e uma solução salina 40% (p/v) de fosfato de sódio. Através de um Delineamento Composto Central (DCC), estudou-se a resposta fator de purificação (FP) para diferentes composições do sistema. As variáveis investigadas no delineamento foram concentração de PEG, variando de 15 a 25% (p/p), concentração de sal, variando de 14 a 22% (p/p), e pH do sal, variando de 4 a 8.

Testes preliminares de remoção de cor de efluente sintético foram realizados, aplicando 3 mL da enzima purificada em meio reacional com 40 mg/L de peróxido de hidrogênio, formando um volume final de 100 mL. O efluente foi preparado com corante vermelho em uma concentração de 100 mg/L e o percentual de remoção de cor após tratamento com peroxidase foi determinado em espectrofotômetro (MARQUES, 2016). O meio reacional permaneceu em repouso à temperatura ambiente (25°C) durante os testes de degradação de corante.

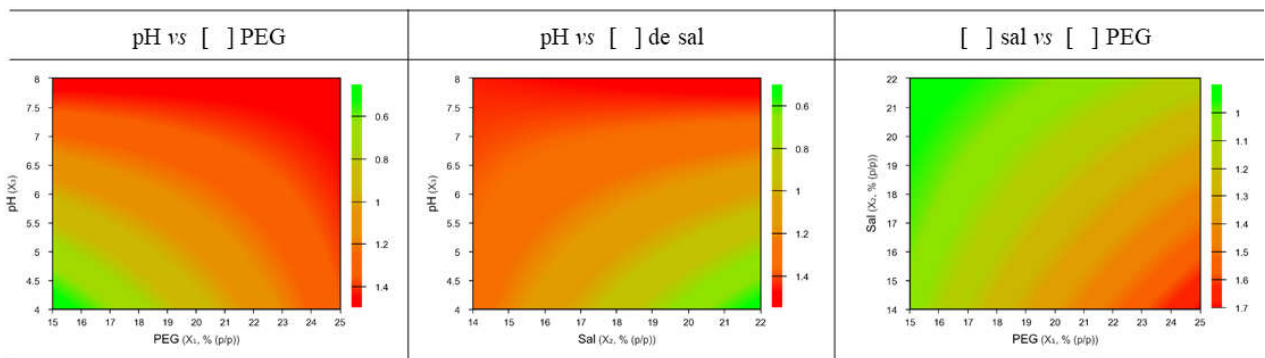
4 Resultados e Discussão

Através da técnica SAB foi possível formar duas fases imiscíveis, fases topo e fundo, nos ensaios do DCC. Através das medidas de atividade específica, verificou-se que a enzima se concentrou na fase de topo, a qual é menos polar e majoritariamente composta por PEG.

A afinidade entre enzima e polímero fez com que estes se agregassem e fosse possível recuperar a peroxidase com um FP até 2 vezes maior que o extrato bruto, restando na fase de fundo apenas as impurezas contidas no extrato enzimático e o sal. Os resultados do DCC receberam tratamento estatístico e, com isso, foi possível obter as curvas de contorno,

conforme Figura 1, onde é possível observar o comportamento do FP quando ocorrem variações no processo do SAB.

Figura 1. Curvas de contorno com a influência das variáveis do processo do SAB no resultado de fator de purificação.



vs = versus; [] = concentração

Fonte: Elaborada pelas autoras.

No processo de purificação de peroxidase de farelo de arroz através de SAB foi possível obter acréscimo de atividade enzimática (FP acima de 1) com maiores concentrações de PEG e menores concentrações de sal (região vermelha das curvas de contorno). Em relação ao pH, a enzima demonstrou afinidade com uma ampla faixa. Essas características de processo indicam que as indústrias que forem aplicar a enzima após concentração por SAB podem ter liberdade em escolher o pH mais adequado para o processo, mas ficam restritas em relação à quantidade de reagentes, precisando estabelecer valores entre 14 a 17% (p/p) de sal e 21 a 25% (p/p) de PEG, conforme indica a Figura 1.

Nos testes preliminares de aplicação da enzima concentrada em processos oxidativos para tratamento de efluente têxtil sintético, o pH se manteve próximo à 4 durante o monitoramento de remoção de cor, sendo favorável desenvolver o SAB em pH baixo. Em relação à degradação de corante vermelho, foi possível obter até 42,62% de remoção de cor em 24 horas. Em 96 horas a remoção de cor obtida foi 52,78%. O mantimento do processo por tempos maiores do que 24 horas não demonstrou oferecer um ganho significativo no resultado do tratamento. Isso pode ser explicado pela desnaturação da enzima, que em estudos prévios de caracterização do extrato bruto teve uma queda de mais da metade de sua atividade



enzimática dentro de 24 horas (MARQUES, 2016).

5 Conclusão

A aplicação da peroxidase concentrada em processos oxidativos avançados demonstrou-se promissora para degradação de corantes de efluente têxtil, indicando que houve uma potencialização da ação da enzima com o aumento de sua atividade específica após passar pelo SAB. Cabe salientar que esses processos devem ser aplicados conjuntamente com tratamentos convencionais, como físicos e biológicos, visando assim a melhoria da eficiência de remoção de contaminantes presentes no efluente.

Referências

ANDREWS, B.A.; SCHMIDT, A.S.; ASENJO, J.A. Correlation for the partition behavior of proteins in aqueous two-phase systems: effect of surface hydrophobicity and charge. **Biotechnology and Bioengineering**, v. 90, p. 380-390, 2005.

GHALY, A.E.; ANANTHASHANKAR, R.; ALHATTAB, M.; RAMAKRISHNAN, V.V. Production, Characterization and Treatment of Textile Effluents: A Critical Review. **Journal of Chemical Ecology**, v. 5, 1000182, 2014.

MARQUES, C.T. **Aplicação de peroxidases não comerciais extraídas dos farelos de arroz e soja na descoloração de efluentes**. Dissertação (Mestrado) - Curso de Ciência e Tecnologia Ambiental, Universidade Federal da Fronteira Sul, Erechim, 2016.

Palavras-chave: enzimas não comerciais; farelo de arroz; concentração enzimática; efluente têxtil.

Financiamento

CNPq.