

EXTRAÇÃO DE OXIDORREDUTASES PROVENIENTES DE COUVE-FLORES E APLICAÇÃO NO TRATAMENTO DE EFLUENTES DE CORANTES AZO

Alunos: Ana Beatriz Pimentel, André Luiz Souza Pontes, João Pedro Vieira Moya, Juliana Manhas Silva, Letícia Lemos Cardoso, Marina Loureiro de Oliveira

Orientador: Andreia de Araújo Morandim-Giannetti



Introdução

Dos corantes sintéticos conhecidos como compostos orgânicos utilizados nos mais diversos ramos dos setores industriais, conhece-se os chamados corantes azo, desenvolvidos em 1858 por Peter Griess, destacando seu uso em aplicações têxteis e alimentícias, por conta de sua expressiva variação, sendo mais de 3 mil corantes azo que se diferem entre si. Tais colorantes sintéticos se destacam por seu custo baixo, em contrapartida são grandes poluentes e tóxicos, para os meios fluviais, fauna e flora, de acordo com os dados apresentados pelo Programa Nacional de Toxicologia. (ZANONI; YAMANAKA, 2016).

A fim de um método para tratar tais efluentes sintéticos contendo os corantes azo, as conhecidas peroxidases, grupo de enzimas oxidativas oriundas de recursos naturais, como raízes fortes e hortaliças, se demonstram como uma opção eficaz para a degradação de compostos aromáticos, como o grupo azo em questão, devido as suas significativas propriedades catalíticas em condições mais amplas que as demais enzimas. (CHAGAS, 2014).

Assim sendo avaliada a eficiência da oxidorredutase peroxidase extraída da hortaliça couve-flor, para fins de tratamento de efluentes sintéticos contendo corante azo, mais em específico o alaranjado de metila.

Objetivo

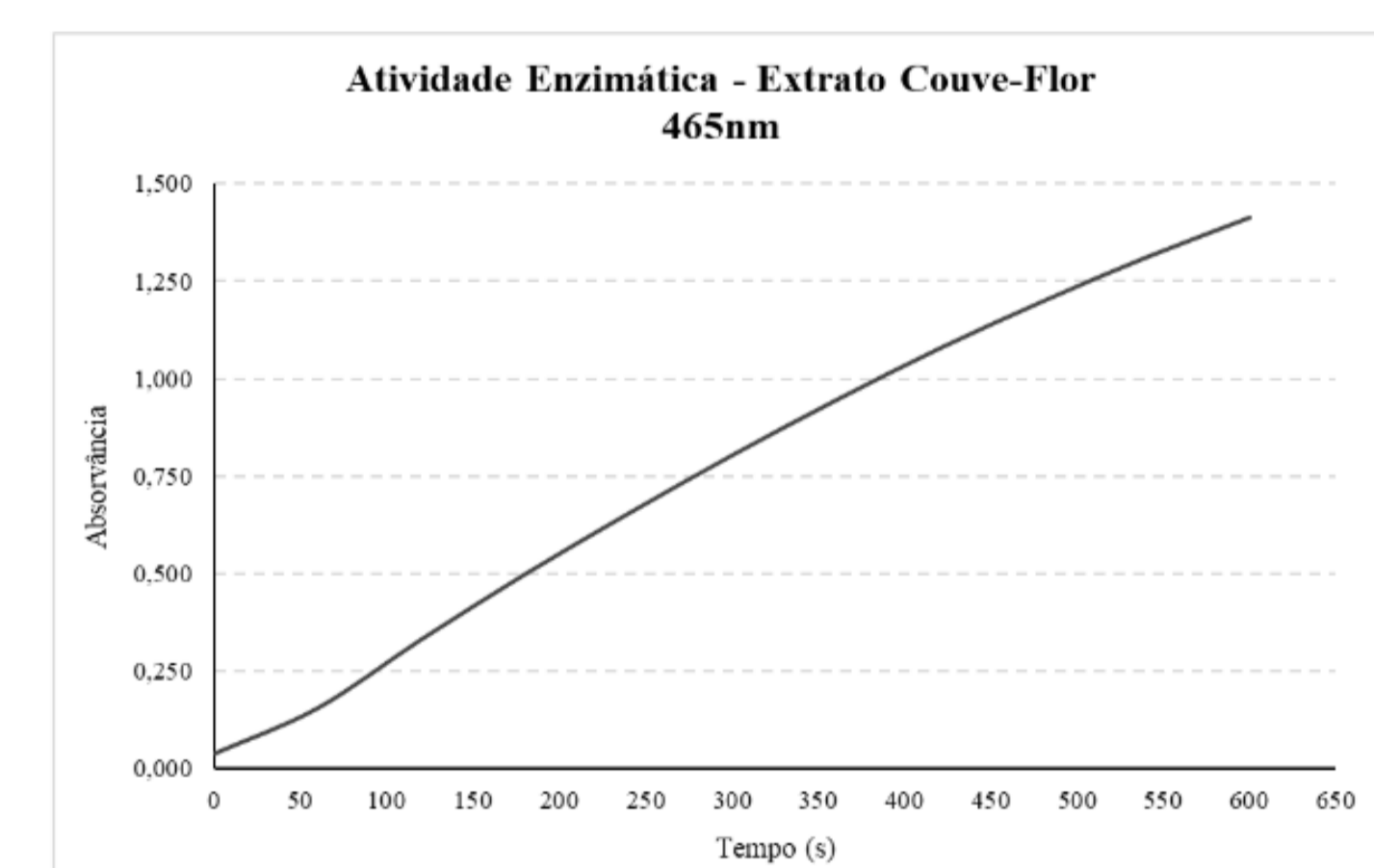
Avaliar a eficiência da aplicação de oxidorredutase peroxidase proveniente da couve-flor para o tratamento de efluentes sintéticos contendo o corante azo alaranjado de metila, e compreender as melhores condições para a realização do tratamento em termos de Temperatura, pH, Tempo de Reação e Volume da Enzima.

Resultados

1- Atividade enzimática do extrato de couve-flor

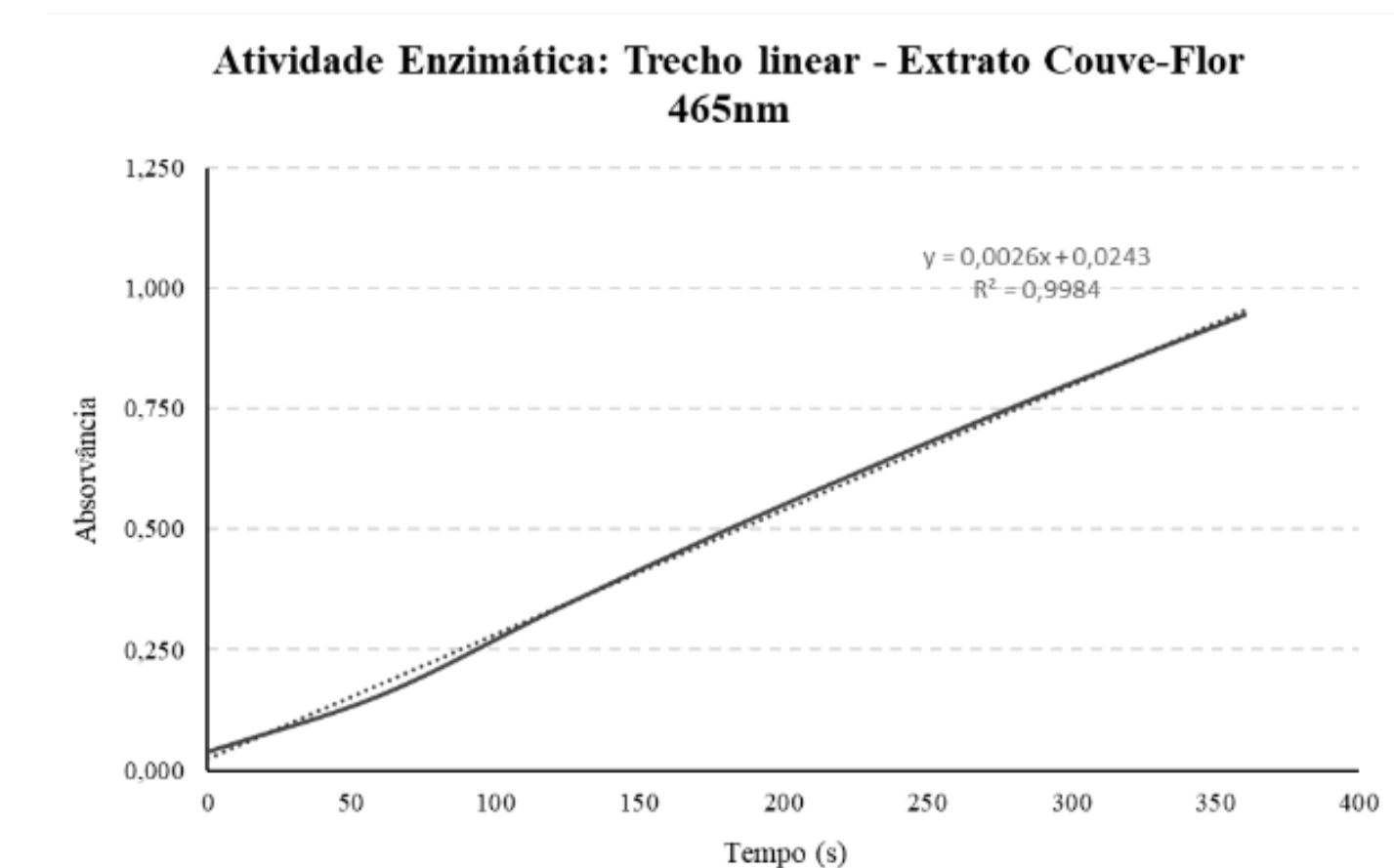
Utilizando o extrato enzimático, foi realizada a determinação da atividade enzimática. Para isso, foi utilizada a metodologia do guaiacol. A partir do gráfico obtido e, sabendo que para a utilização da equação deveria ser utilizado somente o trecho linear da curva, além do gráfico contendo a reação entre o substrato guaiacol e a peroxidase presente no extrato durante 10 minutos (figura 1), há também um foco da curva com apenas o trecho linear (figura 2) utilizada para os cálculos. Dessa forma, utilizando o gráfico contido na figura 2, obteve-se a atividade enzimática de 0,341 U/mL.

Figura 1 - Curva da atividade enzimática do extrato de couve-flor



Fonte: Autores

Figura 2 - Trecho linear da curva para o cálculo da atividade enzimática



Fonte: Autores

2 - Avaliação da Interação da enzima com efluente sintético

A fim de avaliar a interação das enzimas peroxidases provenientes do extrato de couve-flor com o corante alaranjado de metila. Obteve-se os seguintes resultados explícitos na tabela 1. A partir deste dados, foi possível constatar que a enzima proveniente da hortaliça realmente tem interação com o corante azo alaranjado de metila, visto que auxiliou a descoloração do efluente sintético.

Tabela 1 - Ação da enzima peroxidase na degradação do corante alaranjado de metila.

Análise	Abs - inicial	Abs - final	Degradação
Couve-flor 1	0,592	0,272	54%
Couve-flor 2	0,560	0,377	33%

Fonte: Autores

Verificada a eficiência na degradação do corante, foram realizados novos experimentos através de um planejamento estatístico visando a determinação das variáveis que mais influenciam no tratamento.

3 - Otimização da condição de tratamento de efluentes

Após a definição das condições que seriam fixadas, pH 6,0 e tempo de reação em 24h, obteve-se o planejamento a seguir:

Tabela 2 - Planejamento de otimização das condições de reação

Condição	Temperatura (°C)	Atividade enzimática (U/mL)	Tempo (h)	pH
1	30	0,045	24	6
2	30	0,118	24	6
3	60	0,045	24	6
4	60	0,118	24	6
5	45	0,086	24	6
6	45	0,086	24	6
7	45	0,086	24	6

Metodologia

1 EXTRAÇÃO DE OXIDORREDUTASES

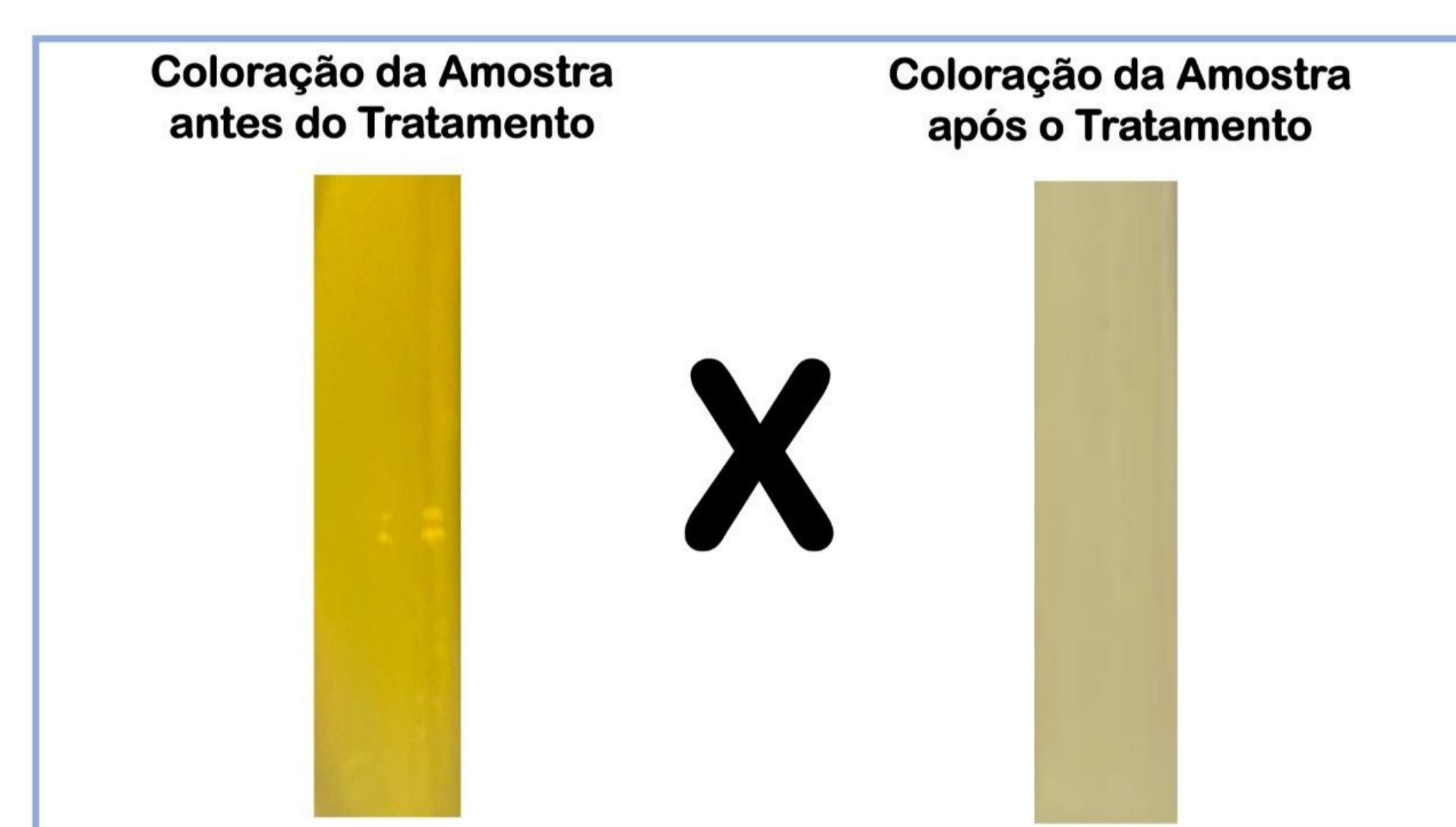
Para a primeira etapa das análises é necessário obter os extratos da peroxidase proveniente do couve-flor. Inicialmente, cortando a hortaliça em pequenos pedaços, e em seguida os fragmentos foram congelados. Em seguida, aproximadamente 50g deste material foram amassados no almofariz na presença de uma espátula de PVPP e 70mL de tampão fosfato de potássio (pH 6,0). Em seguida, foram triturados em liquidificador até que as partículas do couve-flor não fossem mais visíveis, durante aproximadamente 3 minutos. A mistura formada foi mantida sob agitação durante 30 minutos em banho de gelo e, posteriormente, filtrada com uma gaze. O filtrado foi centrifugado a 4000 rpm, a 4°C, durante 40 minutos e em seguida o material resultante passou por uma filtração à vácuo. Após essa etapa, o extrato enzimático obtido foi avaliado com relação a atividade enzimática (T. CHIONG et al, 2016).

2 AÇÃO DA PEROXIDASE EM EFLUENTE SINTÉTICO DE CORANTE AZO

Para avaliar a interação da enzima com o efluente sintético do corante alaranjado de metila, baseado no artigo de T. Chiong et al. (2016), os testes foram realizados nas seguintes condições: adicionou-se em um erlenmeyer 7,5 mL do efluente preparado com água (10mg/L), 4 mL de tampão fosfato de potássio (pH 6,0), 1,75 mL de peróxido de hidrogênio (2 mmol/L) e um volume de extrato enzimático com atividade de 0,118 U/mL.

A mistura teve sua absorbância medida a 465nm e, em seguida, levada a um shaker orbital, a 160rpm, durante 24 horas, a 30°C. Após esse período, as amostras foram centrifugadas, a 4000rpm, temperatura ambiente, por 45 minutos, e então, após obter uma mistura límpida, foi medida a absorbância a 465nm, a fim de se obter a absorbância final.

Após realizadas as análises laboratoriais, se utilizando a tabela 2, tem-se que a condição mais eficiente para o processo, no qual se obteve o maior grau de degradação (71%). A condição que se diz respeito é: Temperatura (30 °C), pH (6,0), atividade enzimática (0,118 U/mL) e Tempo (24h)



Conclusão

Os corantes azo são amplamente empregados industrialmente devido a sintetização do mesmo ser menos complexa e mais rentável em relação ao processo produtivo de outras classes de corantes. A estrutura dos azocorantes os permitem uma grande faixa espectral de cores, conferindo tonalidades intensas e variadas, possibilitando a utilização do colorante em diversos setores. Por outro lado, o tratamento inadequado dos compostos resulta em produtos não efetivamente degradados, que serão descartados no meio ambiente durante a síntese, processamento e aplicação, contaminando recursos aquíferos com poluentes orgânicos tóxicos para a fauna e flora.

Dada a importância do assunto, torna-se necessário o desenvolvimento de métodos efetivos para o tratamento de efluentes dos corantes azo. O estudo investigou o tratamento de efluentes do corante alaranjado de metila utilizando a enzima peroxidase extraída da hortaliça couve-flor e apresentou resultados significativos para o tratamento realizado pelo método de oxidação na condição temperatura 30°C, tempo de ensaio 24h, pH 6,0 e atividade enzimática 0,11788 U/mL, considerando as faixas ótimas destas variáveis, níveis de descartes permitidos por resoluções e normativas, e viabilidade econômica. Os resultados supracitados foram determinados através da realização do planejamento de tipo composto central rotacional, com auxílio do software Statistica, que obteve ajuste linear de 0,9867, demonstrando confiabilidade e assertividade nos resultados.

