

# OTIMIZAÇÃO DO TRATAMENTO ENZIMÁTICO DE EFLUENTES SINTÉTICOS CONTENDO CORANTES

Gabriel Orfano de Martini<sup>1</sup>, Andreia de Araújo Morandim Giannetti<sup>3</sup>

<sup>1,2</sup> Departamento de Engenharia Química, Centro Universitário FEI  
orfano1803@gmail.com e preamorandim@fei.edu.br

**Resumo:** Neste trabalho será realizada a obtenção de lacase a partir de *Xylaria* sp. Após essa etapa, o extrato enzimático será pré-purificado e imobilizado para posterior aplicação no tratamento de efluentes contendo corantes. Na última etapa, será realizado o tratamento dos efluentes sintéticos contendo os corantes, sendo avaliado o pH, a temperatura e o tempo de tratamento. As melhores condições experimentais serão utilizadas para avaliação final da eficiência do processo de tratamento biológico utilizando a enzima lacase.

## 1. Introdução

Devido ao aumento da preocupação com os impactos causados por efluentes provenientes dos mais diversos processos industriais, principalmente da indústria têxtil, estudos vêm sendo realizados para o desenvolvimento de tratamentos que levem a uma boa eficiência na remoção de compostos fenólicos, azocompostos, estabilizantes, pesticidas, resíduos da indústria de papel e celulose e da indústria de petróleo, hormônios, plastificantes, entre outros compostos de efluentes industriais [1-2].

Neste contexto, destaca-se a combinação de processos biológicos como, por exemplo, a utilização de lacases e peroxidases, combinado com processos físico-químicos como eletrocoagulação e adsorção que, segundo estudos, tem levado a reduções de concentrações acima de 90 % [3]. Porém, para se tornar um método economicamente viável, existe a necessidade de realização de estudos envolvendo a avaliação de novas fontes enzimáticas, uma vez que o custo da enzima se mostra um problema para aplicação industrial desses tratamentos.

Assim, durante o desenvolvimento do presente trabalho, será avaliada a eficiência do tratamento enzimático de efluentes sintéticos contendo corantes (alaranjado de metila ou Remazol azul brilhante R) com extrato enzimático enriquecido em lacase, obtido a partir do *Xylaria* sp.

## 2. Metodologia

Durante a primeira etapa do trabalho, o fungo *Xylaria* sp. isolado a partir de folhas de mandioca será repicado em meio sólido batata dextrose agar (BDA) e submetido ao crescimento durante 7 dias em uma câmara climatizada a 23°C para ativação do sistema enzimático. Posteriormente, o fungo será cultivado em um meio líquido composto por extrato de malte, Tween, CuSO<sub>4</sub>, KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>, MgSO<sub>4</sub>.7H<sub>2</sub>O, peptona e glicose, meio ideal para aumentar a produção de lacase proporcionando o enriquecimento do extrato enzimático. O processo de fermentação será realizado em uma incubadora, sendo a temperatura de

crescimento de 29°C, o tempo de 11 dias, o pH do meio 6,7 e a rotação de 170 rpm. Após o crescimento, o sistema será centrifugado a 60000 rpm durante 40 min, sendo o sobrenadante (enriquecido em lacase) utilizado durante a realização do tratamento do efluente sintético contendo corantes.

Visando o enriquecimento do extrato enzimático em lacase, será realizada a pré-purificação, utilizando-se precipitação com solvente orgânico. Para isso, diferentes concentrações de acetona a -20°C serão adicionadas ao extrato enzimático e, cada mistura será deixada em repouso a -20°C por 4 h. Após essa etapa, o sistema será centrifugado a 7000 rpm por 60 min e os precipitados serão deixados sob evaporação por 1 h a temperatura ambiente e então solubilizados em tampão fosfato pH 6. A fração enriquecida em lacase será submetida a etapa de imobilização.

Durante essa etapa, será realizado o processo de imobilização da enzima utilizando-se dois processos diferentes para avaliação da eficiência (adsorção e encapsulamento). Dessa forma, no processo de imobilização por adsorção, será utilizada a caulita, sendo que, durante a etapa de imobilização, 5 g de caulinita serão adicionados em 30 mL de tampão citrato 0,1 mol/L (pH 5) contendo lacase em uma concentração de 0,8 mg/mL. O sistema será mantido sob agitação em uma incubadora a 30°C durante 3 h a 200 rpm. Finalizada essa etapa, o material (caulita com lacase imobilizada) será filtrado e lavado com tampão seco a 40°C por 24 h [4]. Já durante o processo de imobilização por encapsulamento, a lacase será misturada com uma solução de alginato 3% sob agitação à temperatura ambiente. Após essa etapa, essa mistura será gotejada em uma solução contendo cloreto de cálcio e sulfato de cobre pentahidratado (ambos 500 mmol/L), e então, o sistema ficará em repouso a 4°C “overnight”. Posteriormente, as esferas serão lavadas com água deionizada e armazenadas a 4°C em um recipiente fechado [5].

Após a imobilização, durante a etapa de avaliação da eficiência do tratamento do efluente sintético contendo alaranjado de metila ou Remazol azul brilhante R, será avaliada a influência da temperatura, do pH e do tempo de tratamento. Nessa fase será utilizada a solução 100 ppm e todos os tratamentos serão realizados em shaker. A % de redução de concentração dos corantes será determinada por espectrofotometria UV/VIS e o melhor comprimento de onda para quantificação de cada um dos corantes será determinado através da realização de uma varredura em comprimentos de onda de 400 a 800 nm, utilizando-se um espectrofotômetro.

Após a determinação da condição ideal de tratamento, a mesma será utilizada para determinação da

concentração máxima de contaminantes possível de ser tratada com as quantidades definidas. Dessa forma, serão utilizadas soluções com concentrações de 1 a 200 ppm. A figura 1 ilustra um resumo dos procedimentos aplicados para o desenvolvimento do trabalho.

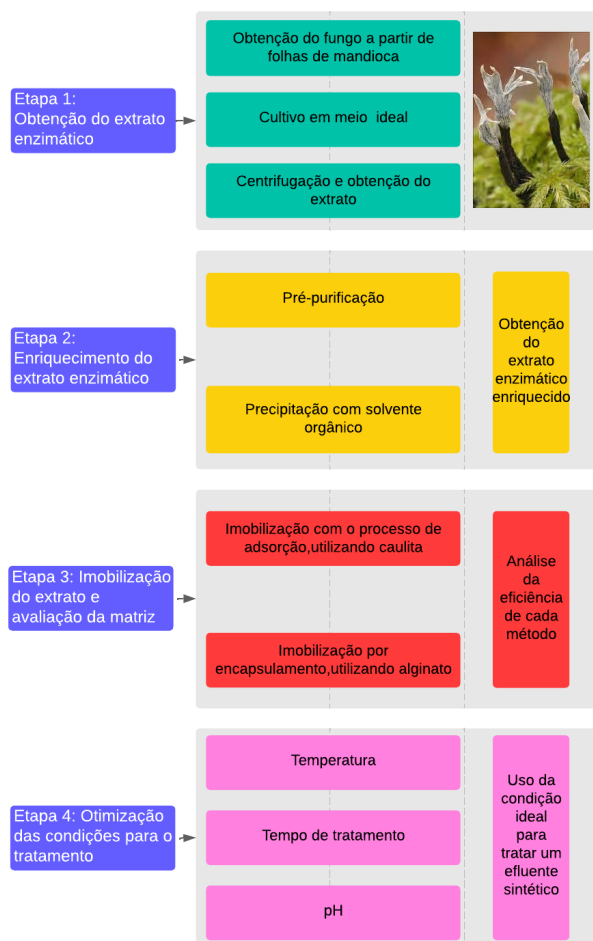


Figura 1 - Resumo dos procedimentos

### 3. Resultados e Discussões

Durante o desenvolvimento do presente projeto, inicialmente realizou-se a obtenção do extrato enzimático a partir do fungo *Xylaria* sp (Figura 2). O mesmo foi caracterizado sendo determinada a atividade enzimática (0,255 U/mL.min), concentração de proteínas (15,96 mg/mL) bem como a atividade específica (0,016 U/mg.min). Após essa etapa, serão iniciados os experimentos para a otimização do tratamento de efluentes sintéticos contendo os corantes alaranjado de metila ou Remazol azul brilhante R (Figura 3). Esses corantes, em contato com a lacase, passam por uma reação de oxidação e, obtêm-se um produto insolúvel que pode ser separado por filtração (Figura 3). Espera-se que no final do projeto seja possível desenvolver uma metodologia que possibilite a eliminação de mais de 90% dos corantes através de um processo biológico.



Figura 2 – Foto ilustrativa do fungo *Xylaria* sp

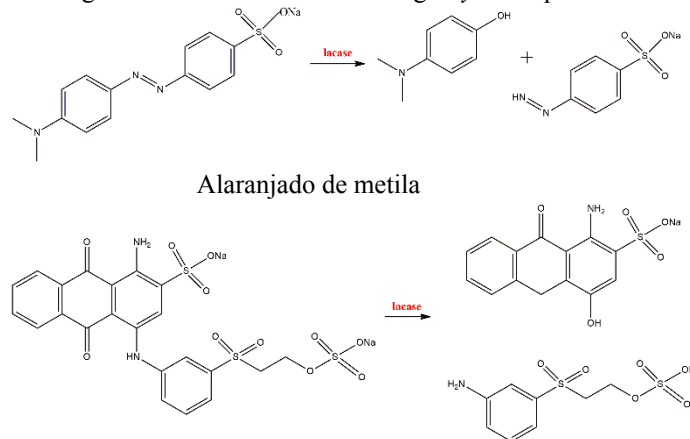


Figura 3 – Propostas de degradação dos corantes utilizados

### 4. Conclusões

Durante o desenvolvimento do presente trabalho foi obtido, até o momento, a enzima lacase. Posteriormente, será realizada a imobilização bem como a realização do tratamento do efluente contendo os corantes destacados.

### 5. Referências

- [1] A. F. S. Rodrigues, et al., *Process Biochemistry*, 2023.
- [2] J. George et al., *Environmental Research*, **209** (2022) 112882, 2022.
- [3] S. Kalia et al., *Environmental Research*, **228** (2023) 115868.
- [4] X. Wen et al., *Chemosphere*, **217** (2019) 843-850.
- [5] S. Sondhi et al., *International Journal of Biological Macromolecules*, **117** (2018) 1093-1100.

### Agradecimentos

À instituição Centro Universitário FEI pela pelo suporte que será disponibilizado para desenvolvimento do projeto.

<sup>1</sup> Aluno de IC do Centro Universitário FEI (CNPq). Projeto com vigência de 09/2023 a 08/2024.