

DESCOLORAÇÃO DE EFLUENTES TÊXTEIS SINTÉTICOS POR CATÁLISE ENZIMÁTICA

Maria C. SILVA (1); Angelita D. CORRÊA (2); Maria Teresa P. AMORIM (3); Sara. L. C. OLIVEIRA (4); Antònio A. L. S. DUARTE (5); Juliana A. TORRES (6)

Palavras chave: *Brassica campestre ssp. rapifera* descoloração, efluentes têxteis, peroxidase.

RESUMO

Peroxidases podem ser utilizadas em processos de descoloração no tratamento de efluentes têxteis. Há um interesse crescente por novas fontes desta enzima, e por processos de obtenção viáveis economicamente. Neste trabalho o potencial de descoloração de efluentes têxteis sintéticos por peroxidase extraída de nabo (*Brassica campestre ssp. rapifera*) é avaliado. Para a obtenção da enzima de baixa pureza utiliza-se um processo de baixo custo, Os efluentes utilizados nos ensaios são efluentes sintéticos que simula as etapas de pré-tratamento e tingimento. Os corantes utilizados na preparação dos efluentes foram os corantes reativos Turqueza Remazol G 133% (CTR) e Remazol Brilliant Blue (RBBR) na concentração de 50mg/L. A remoção da cor de uma tricomia de corantes reativos contendo Remazol Brilliant Blue R, Remazol Vermelho Ultra (RVU) e Remazol Brilliant Orange 3R na concentração total de 50 mg/L, catalisada pela peroxidase do nabo também foi investigada. A descoloração obtida para os efluentes sintéticos contendo os corantes CTR e RBBR foi de 37 e 58%, respectivamente. Quanto à tricomia, a remoção da cor total foi de 40%, e a maior remoção observada foi de 69% para o corante RBBR na mistura, enquanto o corante RVU apresentou a menor remoção com apenas 18,7%.

¹ Dotoranda em Química, Departamento de Química, Universidade Federal de Lavras, Lavras, Brasil – crisiria@yahoo.com.br.

² Doutora em Engenharia de Alimentos, Professora Associada do Departamento de Química da Universidade Federal de Lavras, Universidade Federal de Lavras, Brasil

³ Doutora em Engenharia Química, Professora Associada com Agregação do Departamento de Engenharia Têxtil, Universidade do Minho, Braga- mtamorim@det.uminho.pt.

⁴ Mestranda em Engenharia Civil – Universidade do Minho – oliveira.saralc@gmail.com.

⁵ Doutor em Engenharia Têxtil, Professor Auxiliar do Departamento de Engenharia Civil, Universidade do Minho, Braga.

⁶ Graduanda em Química pela Universidade Federal de Lavras – Brasil.

1. INTRODUÇÃO

A contaminação de águas naturais tem sido um dos grandes problemas da sociedade moderna. Dentro deste contexto, os processos têxteis são grandes consumidores de água e de corantes sintéticos, geradores de efluentes volumosos e complexos com elevada carga orgânica, aliada ao teor de sais inorgânicos (Cegarra, 2000).

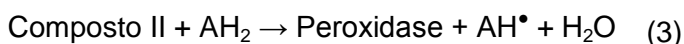
Os corantes têxteis, responsáveis pela coloração de águas residuárias, são mistura de compostos com estrutura molecular complexa, o que faz dos mesmos produtos estáveis e de difícil biodegradação (Rosalen et al., 2004).

De modo geral, a indústria têxtil utiliza sistemas de tratamento baseados em sistemas físico-químicos e biológicos, em muitos casos incompatíveis com as características do efluente gerado. Deste ponto de vista, o estudo de novas alternativas de tratamento se mostra essencial.

A crescente utilização de enzimas, nos tratamentos de poluentes específicos, e recentes avanços biotecnológicos têm possibilitado a produção de enzimas mais baratas e facilmente disponíveis através de melhores procedimentos de isolamento e purificação. As potenciais vantagens do tratamento enzimático quando comparadas a tratamentos convencionais incluem: aplicação em materiais recalcitrantes, atuação em concentrações altas e baixas dos contaminantes, atuação num amplo espectro de pH, temperatura e salinidade, necessidade de aclimatização de biomassa e o fácil processo de controle, entre outros (Durán & Esposito, 2000).

O tratamento enzimático com a peroxidase resulta na remoção de grupamentos fenólicos tóxicos dos efluentes industriais. Muitos dos corantes empregados na indústria têxtil possuem grupamentos fenólicos em sua estrutura química (Durán, 2003), e a aplicação de enzimas oxidativas representa uma alternativa promissora para a remoção de cor dos efluentes têxteis.

As peroxidases (E.C. 1.11.1.7, doador H_2O_2 oxidorreductase) são enzimas que catalisam a redução do peróxido de hidrogênio ou outro peróxido orgânico, enquanto um doador de elétrons é oxidado. A reação ocorre em múltiplas etapas como mostrado a seguir:



No primeiro estágio do processo catalítico ocorre a reação do sítio ativo com o peróxido de hidrogênio. O peróxido de hidrogênio é reduzido produzindo água e formando o composto I, uma forma intermediária reativa que apresenta um estado de oxidação mais alto em comparação com a enzima nativa. No segundo estágio da reação, o composto I oxida uma molécula de substrato (AH_2), gerando um substrato radicalar e o composto II. Finalmente o composto II é reduzido por uma segunda molécula de substrato, fazendo com que a enzima retorne a sua forma inicial (Hiner et al., 2001).

A fonte comercial mais utilizada de peroxidase é a raiz forte (horsehadish peroxidase), geralmente cultivada e colhida em países de clima frio (Maciel, Gouvêa & Pastore, 2006). Diversos relatos na literatura apontam o uso da horsehadish peroxidase na degradação de diversos corantes: (1) Mohan et al. (2005) obtiveram 79% de degradação do corante acid black com a peroxidase de raiz forte (HRP) imobilizada em gel de acrilamida, e 67% com a enzima livre; (2) Ferreira-Leitao et al. (2003) estudaram a degradação do corante metileno blue pela HRP. Neste trabalho apenas 4,7% do corante permaneceu em solução, para uma proporção de corante/H₂O₂ de 1:10 e (3) Bhunia et al. (2001) mostraram que a HRP pode ser efetiva degradando e precipitando importantes azo corantes industriais, tais como Remazol.

Devido à ampla utilização das peroxidases, principalmente como biocatalisador na descoloração de corantes têxteis, há um interesse crescente por novas fontes desta enzima, e por processos de obtenção de baixo custo.

Dentro deste contexto, o objetivo neste trabalho foi a avaliação do potencial de descoloração de uma mistura de corantes (tricomia) e efluentes têxteis sintéticos por peroxidase de nabo (*Brassica campestris ssp. rapifera*).

2. MATERIAL E MÉTODOS

Foram utilizados os corantes reativos: Turqueza Remazol G 133% (CTR), Remazol Brilliant Blue R (RBBR), Remazol Brilliant Orange 3R (RBO3R) e Remazol Vermelho Ultra RGB (RVU), gentilmente cedidos pela Dy Star.

2.1 Obtenção do extrato enzimático

A fonte enzimática utilizada foi o nabo (*Brassica campestris ssp. rapifera*), lavado em água corrente e picado em pequenos pedaços (raiz + casca). Uma massa de 25 g do tecido vegetal foi homogeneizado em um liquidificador com 100 mL de tampão fosfato 0,05 mol L⁻¹, pH 6,5 por 30 segundos. O homogenato foi filtrado em tecido organza e centrifugado a 10.000 x g durante 15 min, a 4 °C. A solução sobrenadante foi armazenada a -4 °C e usada como fonte enzimática da peroxidase (Fatibello-Filho & Vieira, 2002).

Ao extrato bruto enzimático (proveniente de 12 extrações) foi adicionado acetona gelada até atingir 65% (v/v). Após repouso de 12 a 14 h, à -18° C, o homogenato foi centrifugado a 11.000 x g por 15 minutos, à 4 °C. O sobrenadante foi descartado. O precipitado contendo a peroxidase foi submetido à remoção da acetona em banho de gelo, por 3 h. O precipitado foi ressuspenso em tampão fosfato de sódio pH 6,5 e a suspensão obtida foi utilizada para a descoloração dos corantes e efluentes têxteis.

2.2 Determinação da atividade enzimática

A atividade foi determinada segundo Khan e Robinson (1994), utilizando-se como meio de reação: 1,5 mL de guaiacol (Sigma Aldrich P.A) 1% (v/v); 0,4 mL de H₂O₂ (Riedel-de Haën 35%) 0,3% (v/v); 0,1 mL de enzima (mantida em banho de gelo) e 1,2 mL de tampão fosfato

0,05 mol L⁻¹ pH 6,5. A reação foi acompanhada durante 5 minutos a 30 °C em espectrofotômetro UV_VIIS (UNICAM UV2) equipado com banho termostático e software VISION PRO.

Uma unidade da atividade da peroxidase representa a oxidação de 1 µmol de guaiacol em 1 minuto nas condições de ensaio e foi calculada usando-se dados relativos à porção linear da curva.

2.3 Efluentes sintéticos

A preparação do efluente simulado com os corantes reativos Turqueza Remazol G 133% (50 mg L⁻¹) e Remazol Brilliant Blue R (50 mg L⁻¹) foi feito de acordo com Santos (2009) com algumas modificações: (1) aquecimento, em agitação, de 125 mL de água da torneira contendo 6,25 g de NaCl; (2) adição de 125 µL de agente molhante e 107 µL de agente sequestrante; (3) adição do corante reativo, mantendo-se a solução a 55-60 °C por 10 minutos para a completa dissolução; (4) adição de 0,25 g de NaOH e 1,25 g de Na₂CO₃ e conservação da temperatura constante por mais 1 h; (5) arrefecimento, neutralização e diluição para 1 litro de solução. Durante o período de 1 h de hidrólise, foram feitas algumas adições de água de modo a evitar uma redução significativa de volume que pudesse provocar a precipitação do corante em função do aquecimento.

As hipóteses assumidas necessárias à estimativa das concentrações finais no efluente simulado encontram-se na Tabela 1, enquanto que na Tabela 2 apresenta-se a descrição sucinta dos produtos auxiliares de tingimento utilizados.

Tabela 1 – Composição estimada para o efluente final.

Corante (mg L ⁻¹)	35-200
NaCl (g L ⁻¹)	6,25
Agente molhante (g L ⁻¹)	0,125
Agente sequestrante (g L ⁻¹)	0,125
NaOH (g L ⁻¹)	0,25
Na ₂ CO ₃ (g L ⁻¹)	1,25

Tabela 2 - Produtos auxiliares de tingimento utilizados na simulação de efluentes.

Nome comercial e funções	Aparência	Natureza iônica
Periwet WLV (agente molhante)		
Melhora a penetração do corante na fibra; Não causa a formação de espuma.	líquido incolor, turvo	aniônico
Periquet T BSD (agente sequestrante)	líquido amarelo claro	aniônico
Sequestrante de cálcio, magnésio e metais pesados		

O efluente simulado foi usado nos ensaios de descoloração para avaliar o efeito da presença de sais e auxiliares químicos de tingimento no potencial de degradação destes corantes pela PEN.

As reações de oxidação enzimática dos efluentes têxteis foram conduzidas a 30 °C em tampão fosfato 0,05 mol L⁻¹, pH 7,0 (1,2 mL), contendo: (1) H₂O₂ 100 µmol L⁻¹ (0,4 mL), (2) os efluentes isoladamente e (3) 0,1 mL de solução enzimática.

A mistura reacional foi incubada em espectrofotômetro acoplado ao um banho termostaticado e a absorbância dos corantes foi medida em diferentes tempos durante os experimentos. O acompanhamento da oxidação foi feito ao comprimento de onda máximo de cada corante: Turquesa Remazol G 133% (624 nm); Remazol Brilliant Blue R (596 nm),

O cálculo para determinar a porcentagem de remoção de cor para os corantes foi feito de acordo com a equação:

$$\frac{A_{\text{antes}} - A_{\text{depois}}}{A_{\text{antes}}} \times 100 \quad (1)$$

2.4 Mistura de corantes

Os efluentes reais normalmente incluem mais de um componente. Sendo assim, a descoloração da mistura de três corantes reativos pela PEN também foi avaliada.

Os corantes foram misturados em igual proporção resultando em uma solução com concentração final de 50 mg L⁻¹. Os corantes utilizados na tricomia foram: Remazol Brilliant Blue R (RBBR); Remazol Vermelho Ultra (RVU); Remazol Brilliant Orange 3R (RBO3R).

A mistura de corantes foi utilizada nos ensaios de descoloração conforme descrito anteriormente.

A descoloração da mistura de corantes pela PEN foi determinada monitorando o decréscimo da absorbância no comprimento de onda máximo de cada corante.

A quantificação da cor total foi avaliada a partir do valor da área abaixo da curva, obtida mediante uma varredura espectral na faixa de 450 nm à 650 nm. A avaliação da descoloração total foi feita através da diferença entre a área inicial e a área final.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Ensaio de descoloração

3.1.1 Efluentes sintéticos

O efeito da presença de sais e auxiliares químicos de tingimento no potencial de descoloração dos corantes reativos CTR e RBBR pela PEN foi avaliado, submetendo-se o efluente sintético ao tratamento enzimático.

A utilização do efluente têxtil simulado é de extrema importância para avaliar a aplicabilidade do processo de descoloração para uma situação real. Além disso, um banho de tingimento artificial possui uma composição constante e, portanto, o efeito do tratamento enzimático pode ser melhor entendido (Cristóvão et al., 2009).

A descoloração obtida para o efluente sintético contendo o CTR foi de 37% em 95 minutos de contato com a enzima, enquanto que para o efluente contendo o RBBR foi de 58% em 90 minutos (Figura 1). A enzima utilizada em ambos os ensaios apresentava uma atividade enzimática de $17,5 \text{ U mL}^{-1}$.

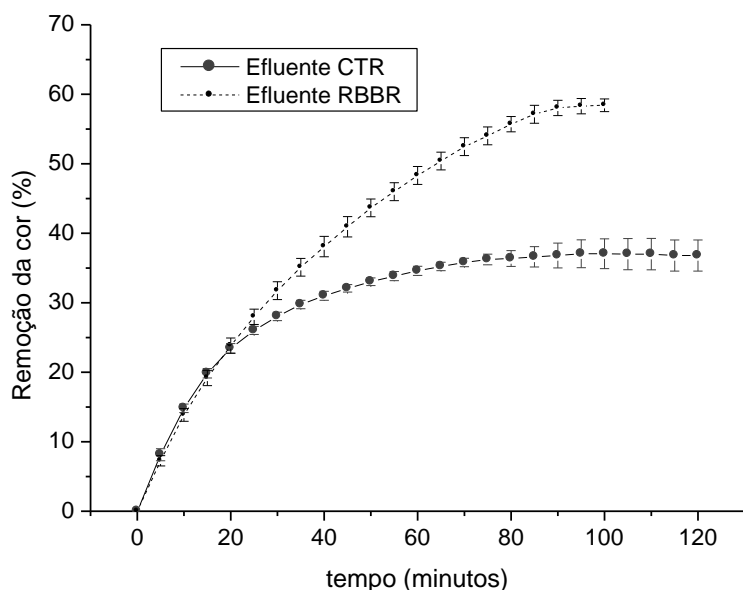


Figura 1 – Descoloração dos efluentes contendo CTR e RBBR (50 mg L^{-1}) por peroxidase de *Brassica campestris ssp. rapifera* ($17,5 \text{ U mL}^{-1}$)

A taxa de descoloração dos efluentes sintéticos apresenta um decréscimo, quando comparado a descoloração dos corantes hidrolisados. Este decréscimo é atribuído à presença de auxiliares químicos de tingimento (agente dispersante e sequestrante) e de sais que são adicionados no processo de tingimento à base de corantes reativos.

A eficiência do tratamento enzimático é menor neste caso, porque pode ocorrer a formação de ligações químicas fortes com as espécies envolvidas no processo de degradação, a formação de produtos ou a desativação da enzima (Cristóvão et al., 2009).

3.1.2 Mistura de corantes

O potencial de descoloração de uma mistura de três corantes pela *PEN* ($83,8 \text{ U mL}^{-1}$) foi avaliada.

A remoção máxima foi observada após 30, 40 e 90 minutos para os corantes RBBR, RVU e RBO3R, respectivamente.

Os espectros de absorção da mistura de corante antes e após tratamento enzimático está representado na Figura 2. Ocorre a diminuição dos picos de absorção dos corantes após o tratamento enzimático, no entanto na região entre 350 e 450 nm aproximadamente, observa-se um aumento da intensidade da absorbância. Isto significa que os produtos que estão sendo formados durante a reação enzimática absorvem nesta região do espectro.

Tabela 3 Descoloração de uma mistura de corantes baseada no pico de absorção máximo de cada corante presente e da mistura por integração da área obtida mediante varredura espectral (450 – 650 nm).

Remoção da cor (%)*	
RBBR	69± 3,26
RVU	18,7± 0,76
RBO3R	26 ± 0,98
Cor total	40 ± 0,71

* Valores são a média de três repetições ± desvio padrão e da mistura por integração da área.

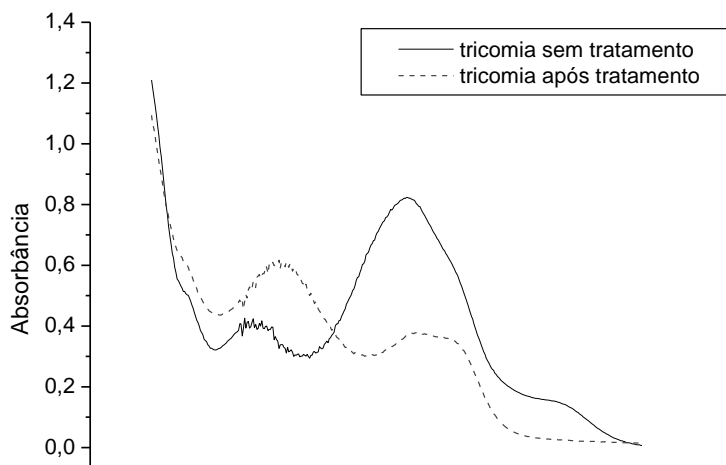


Figura 2 – Espectros de absorção da mistura de corantes (50mg L⁻¹) antes e após tratamento enzimático.

4. CONCLUSÕES

A peroxidase obtida do nabo mostrou-se eficiente na degradação de efluentes têxteis contendo sais e auxiliares químicos, e apresenta potencial como uma alternativa eficiente e de baixo custo para o tratamento de efluentes têxteis ou efluentes contendo corantes, visto que os tratamentos convencionais são pouco ou nada eficientes na remoção da cor de corantes solúveis, como os corantes reativos.

AGRADECIMENTOS

À CAPES pela bolsa de estudos concedida no exterior e ao CNPq pela bolsa de iniciação científica..

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Bhunia, A.; Durani, S.; Wangikar, P. Horseradish peroxidase catalyzed degradation of industrially important dyes. (2001). *Biotechnology. and Bioengineering*, 72, 562 – 567.
- Cegarra, J. Biotecnologia aplicada aos processos de química têxtil. (2000). *Química Têxtil*, 58, 5-14.
- Cristóvão, R. O. , Tavares A. P. M. T, Loureiro, R. A. R. B., Macedo, E. (2009). A, Treatment and kinetic modelling of a simulated dye house effluent by enzymatic catalysis. *Bioresource Technology*, 100, 6236-6242.
- Durán, N. Applications of Oxidative Enzymes in Waste Treatment. (2003). *Wastewater Treatment Using Enzymes*. 2, 41 -51.
- Durán, N.; Esposito, E. Potential applications of oxidative enzymes and phenoloxidase – like compounds in wastewater and soil treatment: a review. (2000). *Applied Catalysis B: Environmental*, 714, 1-17.
- Fatibello-Filho, O., Vieira, I. C. Uso analítico de tecidos de extratos brutos vegetais como fonte enzimática. (2002). *Química Nova*, 25, 455-464.
- Ferreira-Leitão, V. S.; Silva, J. G.; Bon, E. P. S. Methylene Blue and Azure B oxidation by horseradish peroxidase: a comparative evaluation of class II and class III peroxidases. (2003). *Applied Catalysis B: Environmental*, 42, 213-221.
- Hiner, A. N. P., Hernandez-Ruiz, J., Willians, G.A., Arnao, M.B., Garcia-Canovas, F., Acosta, M. (2001). Catalase-like oxygen production by horseradish peroxidase must predominantly be an enzyme-catalyzed reaction. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 392, 295-302.
- Khan, A. A.; Robinson, D. S. (1994). Hydrogen donor specificity of mango isoperoxidases. *Food Chemistry*, 49 (4), 407-410.
- Maciel, H. P. F.; Gouvêa, C. M. C. P.; Pastore, G. M. Obtenção de nova fonte de peroxidase de folha de *Copaifera langsdorffii* Desf com alta atividade. (2006). *Ciência e Tecnologia de Alimentos*. 26, (4), 735-739.
- Mohan, S.V.; Prasad, K.K.; Rao, N.C.; Sarma P.N. (2005). Acid azo dye degradation by free and immobilized Horseradish peroxidase (HRP) catalyzed process. *Chemosphere*, 58, 1097 – 1105.

Rosalen, I. A., Monteiro, R.T.R., Dellamatrice, P. M., Kamida, H.M. (2004). Biodegradação de Efluente Têxtil e Nove Corantes Técnicos Utilizando Fungos Basidiomicetos. *Revista Química Têxtil*, (76), 44-52.

Santos, S. C. R. (2009). Adsorção de corantes têxteis em materiais naturais e residuais de matriz inorgânica. Dissertação de Mestrado em Engenharia Química e Biológica – Universidade do Porto, Porto.