

APLICAÇÃO DA PEROXIDASE DO RESÍDUO DE MANDIOCA PARA TRATAMENTO DE EFLUENTE

KAMILA VEDANA¹ e BETHANIA BROCHIER²

¹Graduanda em Engenharia Química, UNISINOS, São Leopoldo-RS, kamilaavedana@gmail.com;

²Dra em Engenharia Química, Prof^a Titular UNISINOS, São Leopoldo-RS, bethaniab@unisinis.br

Apresentado no
Congresso Técnico Científico da Engenharia e da Agronomia – CONTECC
15 a 17 de setembro de 2021

RESUMO: A mandioca (*Manihot esculenta* Crantz) destaca-se por seu amplo uso na alimentação humana e animal. Suas raízes possuem deterioração fisiológica rápida através da ação das enzimas oxidativas, como a peroxidase, que podem ser utilizadas no processo de descoloração do tratamento de efluentes têxteis. Neste sentido, o objetivo desse trabalho foi avaliar o pH ótimo e a atividade enzimática da enzima peroxidase a partir da casca e da entrecasca da mandioca para aplicação posterior em efluente têxtil sintético contendo a tinta 13 Pink. O uso da peroxidase da casca e da entrecasca da mandioca para tratamento de efluente foi realizada em shaker orbital, utilizando diferentes concentrações de H₂O₂ que foram de 20 e 40 mg.L⁻¹. Como resultados, obteve-se a atividade enzimática específica de 2017 ± 347 e 2809 ± 355 UAE.(mg.L)⁻¹ para a casca e a entrecasca, respectivamente, que não diferiram significativamente entre si (p > 0,05). Sugere-se o potencial uso da enzima peroxidase obtida de fonte não comercial para tratamento de efluente têxtil, visto que é um processo de simples obtenção e que removeu até 78% da cor do efluente nas condições testadas, o que torna esta fonte enzimática uma alternativa promissora aos tratamentos convencionais de efluentes.

PALAVRAS-CHAVE: peroxidase; *Manihot esculenta* Crantz; cor; tratamento de efluente.

APPLICATION OF CASSAVA RESIDUE PEROXIDASE FOR EFFLUENT TREATMENT

ABSTRACT: Cassava (*Manihot esculenta* Crantz) stands out for its wide use in food and feed. Its roots have rapid physiological deterioration through the action of oxidative enzymes, such as peroxidase, which can be used in the discoloration process in the treatment of textile effluents. In this sense, the objective of this work was to evaluate the optimum pH and enzymatic activity of the enzyme peroxidase from cassava husk and inner husk for subsequent application in synthetic textile effluent containing 13 Pink ink. The use of cassava husk and inner husk peroxidase for effluent treatment was carried out in an orbital shaker, using different concentrations of H₂O₂ that were 20 and 40 mg.L⁻¹. As a result, the specific enzymatic activity of 2017 ± 347 and 2809 ± 355 UAE.(mg.L)⁻¹ was obtained for the husk and the inner husk, respectively, which did not differ significantly from each other (p > 0.05). The potential use of the peroxidase enzyme obtained from a non-commercial source for the treatment of textile effluent is suggested, since it is a simple process to obtain and that removed up to 78% of the effluent color under the conditions tested, which makes this enzymatic source a promising alternative to conventional effluent treatments.

KEYWORDS: peroxidase; *Manihot esculenta* Crantz; color; effluent treatment.

INTRODUÇÃO

As indústrias têxteis são grandes consumidoras de água em seus processos industriais, variando de 80 a 100 m³.t⁻¹ de tecido acabado, gerando grande quantidade de efluentes industriais, compostos por uma variedade de produtos químicos e corantes, tornando um desafio o tratamento, que visa obter um efluente tratado de boa qualidade para a reutilização desta água (MARCELINO et al. 2013).

Um tratamento não convencional que vem sendo proposto é o tratamento utilizando enzimas, uma vez que estas possuem alto grau de especificidade, atuando diretamente nos compostos que possuem estruturas químicas complexas, como os efluentes da indústria têxtil, que possuem altos níveis de compostos orgânicos (TREICHEL et al., 2016).

As enzimas são biocatalisadoras e possuem aplicações em materiais recalcitrantes e atuações em diversas faixas de pH e temperatura, podendo ser encontradas em diversas fontes, como em vegetais. Dentre elas, a enzima peroxidase (E.C.1.11.1.7), presente nas plantas é pertencente ao grupo das oxirredutases, estas utilizam o peróxido de hidrogênio como co-substrato para oxidar os substratos orgânicos e inorgânicos. Possuem potencial para o tratamento de efluentes atuando no principal objetivo na descoloração do efluente (TREICHEL et al., 2016). Em vista de busca alternativas de fontes enzimáticas mais baratas, o estudo visa remover a peroxidase (POD) do resíduo de mandioca, uma vez que a POD é uma das enzimas responsáveis pela rápida deterioração da raiz (RAMOS, 2011).

A mandioca (*Manihot esculenta* Crantz) é da família Euphorbiaceae, seu cultivo, geralmente, é feito em solos áridos e de baixa fertilidade e seu crescimento não depende de muita água (VIEIRA et al., 2010). A mandioca contém diversos subprodutos, sendo os principais obtidos na sua industrialização, onde se obtém a farinha, fécula e bagaço da mandioca, além de resíduos sólidos, como a casca e a entrecasca da mandioca.

MATERIAL E MÉTODOS

Plantação da mandioca: as manivas da mandioca foram plantadas na cidade de Sapucaia do Sul – RS. Para tanto, foi realizado um plantio experimento, o melhor clima para o plantio da mandioca é no tropical, ou seja, meados de setembro e a melhor época de colheita é março, assim as manivas foram plantadas em setembro de 2020 e sua colheita foi realizada em março de 2021. Determinou-se o pH da amostra de casca e entrecasca da mandioca conforme o método de determinação do pH descrito no método 017/IV do Instituto Adolfo Lutz (1985) para amostras sólidas.

Obtenção do extrato bruto enzimático: realizou-se a metodologia descrita por Fatibello-Filho & Viera (2002), após a higienização da casca, utilizaram-se 25 gramas de casca e entrecasca para a sua homogeneização, em um liquidificador contendo 100 mL de tampão fosfato 0,1 mol.L⁻¹ (pH 6,5), contendo 2,5 gramas de agente protetor (polivinilpirrolidonas) que garante a inibição de compostos fenólicos, pois ele forma pontes de hidrogênio em contato com os substratos naturais. Após este processo, o líquido foi centrifugado a 15000 r.p.m. durante 20 minutos a 4°C, no equipamento Combi-514R da marca Hanil. Após a solução sobrenadante foi dividida em diversas alíquotas.

Avaliação da atividade da enzima peroxidase: foi avaliada conforme o método descrito por Brochier (2018), avaliou-se a absorvância do tetraguaiacol formado durante 1 minuto em 460 nm, a atividade enzimática da POD foi obtida através da seção linear da curva de absorvância versus tempo, dividida por 0,001 e pelo volume de amostra da cubeta utilizando o software Microsoft Excel.

Avaliação do pH ótimo: determinou-se conforme o método descrito por Brochier (2018), onde a atividade foi determinada através do uso de tampões fosfato-citrato 0,4 M, na faixa de pH de 2 a 8, com intervalos de 0,5 unidade, sendo realizadas a 25°C. Através da determinação do pH ótimo da peroxidase da casca e entrecasca da mandioca, pode-se realizar o tratamento de efluentes utilizando o pH 7 de ambas as fontes, para isso foi feito um efluente sintético com o intuito de ser submetido ao tratamento enzimático com a enzima peroxidase da casca e entrecasca da mandioca.

Efluente sintético: a partir da concentração de 100 mg.L⁻¹ do corante 13 Pink da Indústria e Comércio de Corantes Tupy Ltda, de composição: corante direto tensoativo e cloreto de sódio, diluiu-se em água deionizada.

Tratamento de efluente sintético: a temperatura utilizada no experimento foi de 25 °C, a composição de cada frasco Erlenmeyer está descrita na Tabela 1. O tempo de reação foi de 22 h, realizado com agitação em shaker orbital a 160 r.p.m. Antes e após o tratamento foi realizada a medição do pH, determinação do peróxido de hidrogênio de acordo com Baccan et al. (2001) e a remoção de cor foi realizada no espectrofotômetro, Spectroquant Multy, conforme descrito no Standard Methods (1995).

Composição dos Erlenmeyers: cada um deles continha 10 mL do extrato enzimático e 10 mL da solução tampão fosfato-citrato pH 7, variando a composição do peróxido de hidrogênio de 20 e 40 mg.L⁻¹.

Após as caracterizações das amostras foram realizados testes estatísticos utilizando o teste-t de Student e análise de variância (ANOVA) e teste de Tukey com nível de confiança de 95%.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

O pH da amostra da entrecasca da mandioca foi de $7,75 \pm 0,1$ e o pH da casca da mandioca foi de $7,70 \pm 0,05$, as amostras não diferiram significativamente entre si ($p < 0,05$), assim pode-se considerar que ambas obtiveram o mesmo pH. Tal valor ficou abaixo do determinado por Mata et al. (2018), que encontraram pH entre 6,32 e 6,65, avaliando 3 variedades de mandioca de mesa, diferença essa atribuída ao tipo de solo no qual a mandioca é plantada, quanto mais suprido de nutrientes, mais satisfatórias serão as condições de cultivo da mandioca.

A influência do pH foi avaliada conforme descrito anteriormente, para a análise do pH ótimo da enzima foi realizada uma ANOVA com Tukey com 95% de confiança. Conforme a Figura 1, mostra a atividade enzimática da POD da casca da mandioca e a Figura 2, mostra a atividade enzimática da POD da entrecasca da mandioca.

Figura 1. Atividade enzimática da peroxidase da casca da mandioca em diferentes valores de pH

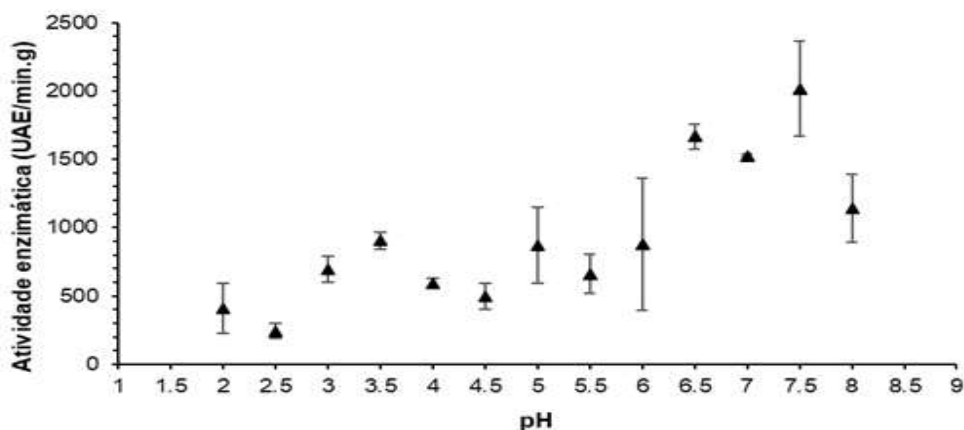
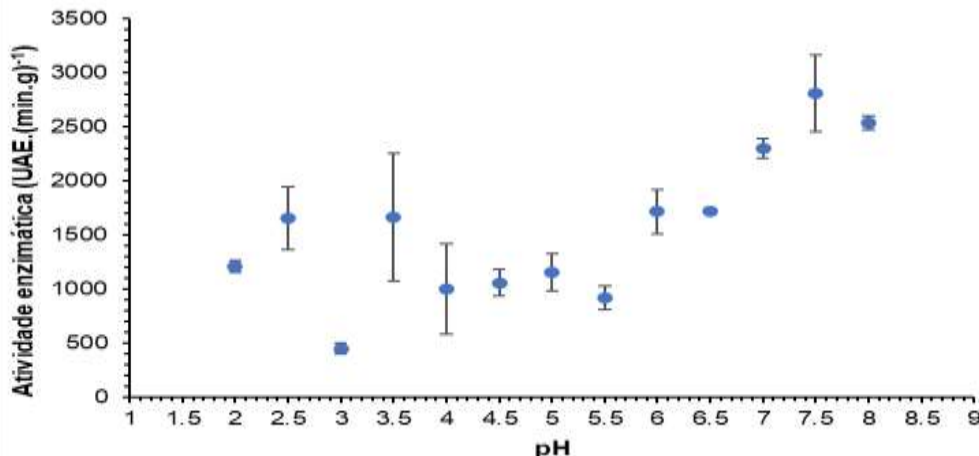


Figura 2. Atividade enzimática da peroxidase da entrecasca da mandioca em diferentes valores de pH



Conforme a Figura 1, a faixa de pH ideal para a POD da casca da mandioca é entre 6,0 e 8,0, o pH de 3,5 e 5,0 também entraram na faixa de ideal, devido aos seus desvios padrões, sendo que o pH 7,5 apresentou valores superiores de atividade enzimática, valor de 2017 ± 347 UAE. (min.g)⁻¹, ($p < 0,05$). De acordo com a Figura 2, a faixa de pH ideal para a POD da entrecasca da mandioca, que consiste em parte da casca e da polpa da mandioca, é entre de 6,5 a 8,0, sendo que o pH de 7,5 também apresentou valores superiores de atividade enzimática de 2809 ± 355 UAE.(min.g)⁻¹.

Em estudo realizado por Fatibello-Filho & Vieira (2001), os autores encontraram atividade residual de 1738 UAE.mL⁻¹ da peroxidase da polpa da mandioca, utilizando o mesmo método utilizado neste trabalho. Jongmevasna et al. (2013), utilizando a peroxidase da polpa da mandioca isolada, encontraram a atividade específica igual a 550 UAE.mL⁻¹, utilizando o comprimento de onda de 450 nm durante 3 minutos para determinação da atividade da peroxidase, os autores encontram o pH ótimo da peroxidase da mandioca igual a 6.

Em ambos resultados da avaliação da peroxidase a partir do resíduo da mandioca, notou-se que o pH ácido há uma elevação da atividade, porém ela não se mantém, decaindo e melhorando sua atividade em pH neutro ($p < 0,05$). Sugere-se que isto ocorre por conta da reação que está ocorrendo com o substrato, neste caso o guaicol, em um primeiro momento ele pouco reage com a enzima, mas após conforme passa o tempo aumenta os valores de concentração do substrato, aumentando a velocidade da reação que consiste no aumento da atividade enzimática (INGREDIENTES, 2016). Destaca-se que o pH ótimo da enzima POD de ambas as fontes avaliadas é similar ao valor do pH destas fontes, favorecendo a manutenção da atividade da POD quando na matriz alimentícia.

Devido à praticidade de produção do tampão fosfato e por estar na faixa de ótima, escolheu-se o pH 7,0 para a realização do tratamento de efluente sintético visando a remoção de cor. A Tabela 1 apresenta os resultados encontrados após os ensaios de 22 horas e a Figura 3 mostra o antes e depois do ensaio realizado com casca de mandioca, onde se observa a nítida degradação do corante ao final dos ensaios.

Tabela 1. Remoção da cor e pH após 22 horas de ensaio

Fonte enzimática	H ₂ O ₂ (mg.L ⁻¹)	Remoção de cor (%)	pH
Casca da mandioca	20	70 ± 5 ^a	7,10 ± 0,06
	40	78 ± 2 ^a	
Entrecasca da mandioca	20	74 ± 6 ^A	
	40	66 ± 5 ^A	

^a Letras iguais (minúsculas para a casca e maiúsculas para a entrecasca) em uma mesma coluna indicam que não houve diferença significativa com o teor de peróxido de hidrogênio usado nos ensaios ($p > 0,05$).

Figura 3. Antes e depois do ensaio realizado com a peroxidase da casca de mandioca com diferentes concentrações de peróxido de hidrogênio



Verificou-se que não houve a presença do peróxido de hidrogênio residual, em que os resultados foram similares ($p > 0,05$), o que significa que a concentração de H₂O₂ age apenas para ativar os sítios ativos da POD (MARQUES, 2016), mas as demais características atuam em razão da função da enzima sobre o corante.

Quando se compara a atividade enzimática da POD da casca e da entrecasca, a entrecasca teve maior atividade enzimática, mas quando aplicada ao efluente foi possível obter em ambas replicatas, melhores resultados utilizando a POD da casca da mandioca. Através deste resultado, constata-se que a afinidade da peroxidase da casca da mandioca pode estar relacionada com a maior remoção de cor do efluente. Uma possível explicação para a maior remoção de cor com o uso do extrato enzimático da casca também pode estar atrelada às isoenzimas presentes em cada fonte utilizada e suas temperaturas ótimas, que não puderam ser determinadas no presente trabalho.

Diversos autores, como Silva et al. (2012), Corrêa et al. (2012) e Corrêa et al. (2009) utilizaram efluentes sintéticos utilizando corantes da cor azul, obtendo percentuais de remoção de cor e fonte enzimática, de 58%, utilizando peroxidase do nabo, 57,7%, com peroxidase extraída do nabo e 79%

utilizando a peroxidase da casca de soja, respectivamente, indicando resultados próximos aos que foram encontrados no presente trabalho.

Sabe-se que a remoção de cor do efluente sem a presença do peróxido de hidrogênio é ineficaz, portanto, a utilização de tratamento enzimático em efluentes deve ser considerada em conjunto com os demais processos convencionais já utilizados, quando combinado aos demais tratamentos, é capaz de melhorar a qualidade dos efluentes industriais e assim estes possam ser despejados com segurança nos corpos receptores.

CONCLUSÃO

A partir dos resultados obtidos, é possível confirmar que a peroxidase extraída de diferentes partes da mandioca, como a casca e a entrecasca da mandioca, possuem o potencial de ser utilizada no tratamento enzimático de efluentes para remoção de corante têxtil 13 Pink, reduzindo também possíveis impactos ambientais causados por estes resíduos.

REFERÊNCIAS

- AWWA. Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater. 19th edition. Publication Office American Public Health Association, Washington. APHA, AWWA, WEF. 1995.
- Baccan, N., Andrade, J.C., Godinho, O.E.S., Barone, J.S. (1979). Química Analítica Quantitativa Elementar. São Paulo: Edgard Blücher, p. 245.
- Brochier, Bethania. Efeito do campo elétrico na inativação de enzimas do caldo de cana durante aquecimento ôhmico. 2018. 177 f. Tese (Doutorado) - Curso de Engenharia Química, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2018.
- Corrêa, A. D.; Silva, M. C.; Torres, J. A. Descoloração de efluente têxtil sintético por peroxidase de soja como proposta de tratamento combinado ao processo anaeróbico. Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG, Brasil. 2009.
- Correa, A.D.; Silva, M.C.; Amorim, T.S.P.; Parpot, P.; Torres, J.A.; Chagas, P.M.B. Decolorization of the phthalocyanine reactive blue 21 by turnip peroxidase and assessment of its oxidation products. Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic, v.77, 2012.
- Fatibello-Filho, Orlando; Vieira, Iolanda da Cruz. uso Uso analítico de tecidos e de extratos brutos vegetais como fonte enzimática. Química Nova, São Carlos - Sp, v. 25, n. 3, p.455-464, 2002.
- Ingredientes, Aditivos. Os tipos de enzimas e sua aplicação nos alimentos. Aditivos Ingredientes, São Paulo, v. 128, n. 1, p. 28-40, maio 2016.
- Jongmevasna, Wischada; Yaiyen, Surachai; Prousoontorn, Manchumas Hengsakul. Cassava (Manihot esculenta Crantz of cv. KU50) peroxidase and its potential for the detection of some thiol compounds based on the inhibitory effect of 3,3',5,5'-tetramethylbenzidine oxidation. Process Biochemistry, [S.L.], v. 48, n. 10, p. 1516-1523, out. 2013. Elsevier BV.
- Marcelino, Rafaela Brito Portela; Frade, Paulo Ricardo; Amorim, Camila Costa de; Leão, Mônica Maria Diniz. Tendências e desafios na aplicação de tecnologias avançadas para o tratamento de efluentes industriais não biodegradáveis: atuação do grupo de pesquisas POA Control da UFMG. Revista UFMG, Belo Horizonte, v. 20, n. 2, p. 358-383, dez. 2013.
- Marques, Camila Torbes. Aplicação de peroxidases não comerciais extraídas dos farelos de arroz e soja na descoloração de efluentes. 2016. 61 f. Tese (Doutorado) - Curso de Ciência e Tecnologia Ambiental, Universidade Federal da Fronteira Sul, Erechim, 2016.
- Mata, Ramon Soares da et al. Características físico-químicas de raízes de mandioca de mesa. Ciência, Tecnologia e Desenvolvimento Rural: compartilhando conhecimentos inovadores e experiências, [S.L.], v. 3, n. 1, p. 1-5, dez. 2018.
- Ramos, Paula Acácia Silva. Papel das enzimas oxidativas na deterioração fisiológica de mandioca. 2011. 100 f. Tese (Doutorado) - Curso de Fitotecnia, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2011.
- Silva, M. C. C.; Torres, A. D.; Amorim, J. A.; Pessoa, M. T. S. Descoloração de corantes industriais e efluentes têxteis simulados por peroxidase de nabo (*Brassica campestris*). Química Nova, v. 35, 2012.
- Treichel, Helen et al. Descoloração de efluentes pela ação da enzima peroxidase extraída de farelo de arroz. In: XXV Congresso Brasileiro de Ciência e Tecnologia dos Alimentos, 25., 2016, Gramado – RS. Anais [...], Gramado – RS: Faurgs, 2016. p. 1 – 5.