



SCREENING PARA DETERMINAÇÃO DA TEMPERATURA E pH DA MÁXIMA ATIVIDADE DA PEROXIDASE EXTRAÍDA DAS FOLHAS DO CEDRO (*Cedrela fissilis*)

Elian Gabriel Salla¹, Wikeff Fritzke², Liziane Schittler Moroni³, Everton Skoronski⁴, Aniela Pinto Kempka⁵

¹ Acadêmico(a) do Curso de Engenharia Química – CEO – bolsista PROBIC/UDESC.

² Mestrando do Curso de Ciências Ambientais – CAV.

³ Pesquisadora participante – DEAQ- CEO

⁴ Pesquisador participante – CAV.

⁵ Orientadora, Departamento de Engenharia de Alimentos e Engenharia Química –DEAQ-aniela.kempka@udesc.br.

Palavras-chaves: oxidação, guaiacol, tetraguaiacol.

As indústrias têxteis são consideradas uma das maiores consumidoras de água no mundo e é estimado que 10 a 15% dos corantes utilizados nos processos de tingimento segue nos efluentes. Alguns desses corantes, como as antraquinonas, são compostos aromáticos. Os compostos aromáticos, incluindo fenóis e aminas aromáticas, constituem uma das principais classes de poluentes. Os efluentes contendo corantes apresentam pigmentos que afetam a transparência da água. O tratamento enzimático em indústrias foi proposto por diversos pesquisadores, visto que a maioria de compostos aromáticos gerados são tóxicos e precisam ser removidos antes de serem descartados no meio ambiente. Peroxidases são heme proteínas que utilizam o peróxido de hidrogênio ou hidroperóxidos orgânicos como co-substratos para oxidar uma variedade de substratos orgânicos e inorgânicos. Atualmente, a peroxidase comercial apresenta alto valor econômico. Como é um catalizador para reações oxidativas, estudos vêm sendo realizados para buscar fontes alternativas de peroxidase, como uso de cascas de soja, raízes de nabo, látex de árvores e folhas. Para que se possa aplicar uma peroxidase extraída de uma nova fonte, é necessário primeiramente caracterizá-la bioquimicamente. Dentre as determinações realizadas, a temperatura e pH de máxima atividade são umas das principais, visto que, a partir desta determinação, pode-se definir em quais efluentes esta enzima poderá ser aplicada. Como não há relato na literatura sobre a peroxidase das folhas do cedro (*Cedrela fissilis*), o objetivo deste estudo foi realizar um screening de temperatura e pH visando obter os respectivos valores para a atividade máxima da enzima. Para tanto, variou-se a temperatura de 5°C a 65°C, com incrementos de 5°C, e o pH de 4 a 11, com incrementos de 1. A atividade enzimática foi determinada utilizando-se o guaiacol como substrato na presença de peróxido de hidrogênio. Foram misturados 475 µL de tampão fosfato de sódio 0,1 mM no pH de estudo, 500 µL de guaiacol 15 mM, 500 µL de peróxido de hidrogênio 3 mM. A solução foi incubada por 5 min na temperatura de estudo e, na sequência, foi adicionado 25 µL do extrato enzimático. A mudança na absorbância, gerada pela transformação do guaiacol em tetraguaiacol foi monitorada em espectrofotômetro a 470 nm em intervalos de 10 s por 3 min. A atividade enzimática foi expressa em unidades por mL (U.mL⁻¹), em função do aumento de absorbância por minuto relativo à porção linear da curva (min⁻¹), do volume da amostra (mL), do fator de diluição, do volume de extrato (mL), da absorvidade molar do tetraguaiacol a 470 nm (26.600 L.mol⁻¹.cm⁻¹), da largura da cubeta (cm) e do tempo de reação (min). Após a realização dos experimentos, gerou-se a distribuição

das atividades enzimáticas da peroxidase para os pHs, variando as temperaturas; e das temperaturas, variando o pH, representadas nas Figuras 1 e 2, respectivamente. Em pH 8, a atividade enzimática já está inferior a metade da atividade máxima obtida, sendo praticamente inibida em pH 9 e desnaturada nos pHs 10 e 11. Nas faixas de pH 4 a 6 a atividade enzimática foi elevada, apresentando picos entre os pHs 5 e 6 e um declínio inicial na atividade a partir do pH 7. Na distribuição percebe-se que há predomínio das atividades enzimáticas máximas nos pHs de 4 a 6, para todas as temperaturas, ou seja, indiferente da temperatura, nestes valores de pH encontram-se as atividades máximas. Nos pHs onde não houve atividade, possivelmente ocorreu a desnaturação da enzima, com a perda de estrutura tridimensional, pela alteração da carga líquida da proteína que causa a repulsão eletrostática e o rompimento de algumas ligações de hidrogênio. Quanto à temperatura, a peroxidase das folhas do cedro apresentou maior atividade enzimática em temperaturas mais elevadas. Este comportamento é esperado, visto que a velocidade de uma reação enzimática aumenta com o aumento da temperatura e para peroxidases, a literatura traz temperaturas acima de 35°C (até 65°C) como sendo as de maior atividade para estas enzimas. Na distribuição verifica-se que para as temperaturas de 35°C a 65°C houve as maiores atividades enzimáticas, mas verifica-se também que nestas temperaturas, para alguns pHs não houve atividade. A partir destes resultados, pode-se realizar a etapa de otimização destas variáveis.

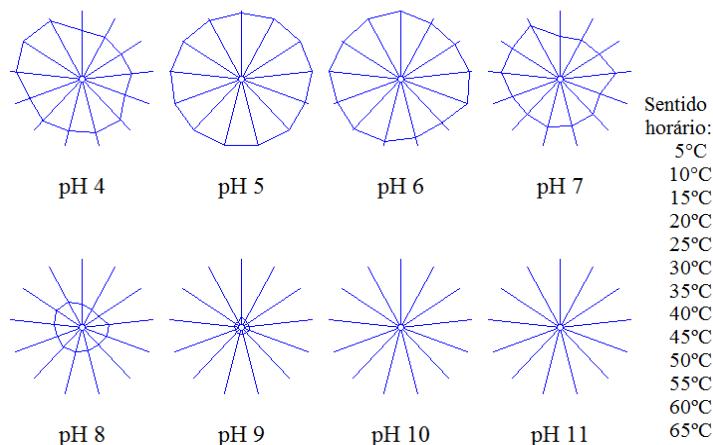


Fig.1 Distribuição das atividades enzimáticas da peroxidase para os pHs, variando as temperaturas.

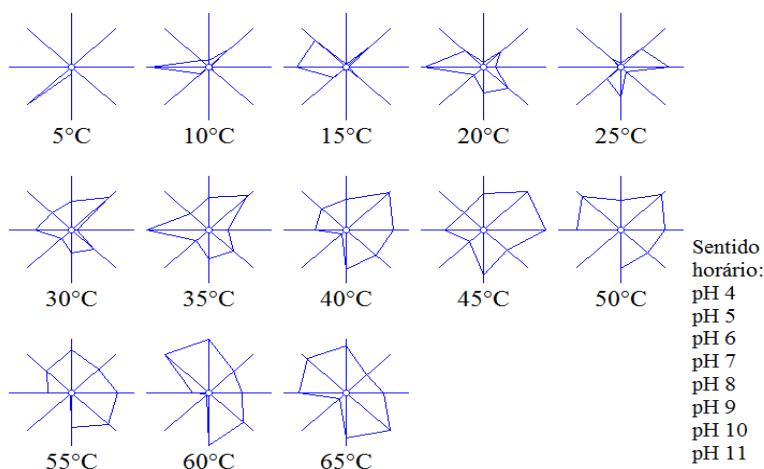


Fig.2 Distribuição das atividades enzimáticas da peroxidase para temperaturas, variando o pH.