

## Artigo

**Aplicação de Peroxidases no Tratamento de Efluentes**

Ely, C.;\* Kempka, A. P.; Skoronski, E.

*Rev. Virtual Quim.*, 2016, XX (XX), no prelo. Data de publicação na Web: 27 de julho de 2016<http://rvq.sbq.org.br>**Peroxidases Application in the Wastewater Treatment**

**Abstract:** This revision exposes the use of oxidative enzymes in the treatment of specific contaminants of wastewater, like phenolic compounds, aromatic amines, textile dyes and polyaromatic hydrocarbons. Peroxidases belong to a group of oxidative enzymes distributed among several natural resources, which can degrade a wide variety of aromatic compounds. However, high costs of production difficult the widespread use of these enzymes for the wastewater remediation in industrial scale. Stand and pilot studies are showing that the enzymatic treatment of effluents can be a viable option for biodegradation of contaminants. In this article many studies using oxidative enzymes to carry out effluent treatment are covered.

**Keywords:** Wastewater treatment; contaminants; peroxidases enzymes.

**Resumo**

Esta revisão expõe o uso de enzimas peroxidases no tratamento de contaminantes específicos presentes em efluentes líquidos, tais como compostos fenólicos, aminas aromáticas, corantes têxteis e hidrocarbonetos policíclicos aromáticos. As peroxidases pertencem a um grupo de enzimas oxidativas distribuídas entre diversos recursos naturais, que podem degradar uma ampla variedade de compostos aromáticos. No entanto, os elevados custos de produção dificultam o uso generalizado destas enzimas para a remediação de efluentes em escala industrial. Estudos de bancada e piloto tem mostrado que o tratamento de efluentes por via enzimática pode ser uma opção viável para a biodegradação de contaminantes. Neste artigo diversos estudos que utilizaram enzimas peroxidases para realizar o tratamento de efluentes são abordados.

**Palavras-chave:** Tratamento de efluentes; contaminantes; enzimas peroxidases.

\* Universidade do Estado de Santa Catarina, Centro de Ciências Agroveterinárias, Departamento de Engenharia Ambiental, Lages-SC, Brasil.

✉ [cyntiaely\\_10@hotmail.com](mailto:cyntiaely_10@hotmail.com)

DOI:

## Aplicação de Peroxidases no Tratamento de Efluentes

Cyntia Ely,<sup>a,\*</sup> Anieli P. Kempka,<sup>b</sup> Everton Skoronski<sup>a</sup>

<sup>a</sup> Universidade do Estado de Santa Catarina, Centro de Ciências Agroveterinárias, Departamento de Engenharia Ambiental, Lages-SC, Brasil.

<sup>b</sup> Universidade do Estado de Santa Catarina, Centro de Educação Superior do Oeste, Departamento de Engenharia de Alimentos e Engenharia Química, Pinhalzinho-SC, Brasil.

\* [cyntiaely\\_10@hotmail.com](mailto:cyntiaely_10@hotmail.com)

*Recebido em 2 de fevereiro de 2016. Aceito para publicação em 22 de julho de 2016*

1. Introdução
2. 2. Aplicação de peroxidases no tratamento de efluentes
3. Combinação do tratamento enzimático com outros tratamentos
4. Visão geral do uso de enzimas no tratamento de efluentes
5. Conclusão

### 1. Introdução

O crescimento populacional desordenado e a expansão das atividades industriais, que surgiram para suprir as necessidades humanas, geram diversos problemas ambientais, como a produção de resíduos e produtos nocivos ao meio ambiente. Porém, a crescente conscientização ambiental e o estabelecimento de regulamentos ambientais obrigam o setor industrial a realizar o tratamento de seus efluentes de acordo com padrões de conformidade exigidos pelos órgãos fiscalizadores antes de descartá-los no ambiente. Com isso, alternativas que eliminam e/ou reaproveitam os resíduos de forma satisfatória são indispensáveis.

Desta forma, a utilização de enzimas oxidativas se mostra como um processo alternativo para realizar o tratamento de efluentes. As enzimas apresentam

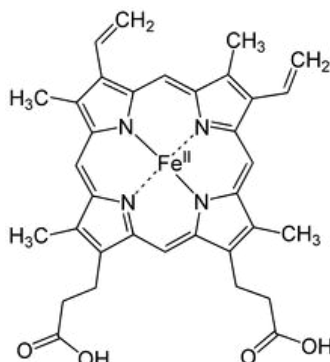
propriedades interessantes como requisitos de baixa energia, processo de fácil controle e operação numa ampla faixa de pH (2,0 a 8,0) e concentração de contaminantes, sendo dependentes do tipo de substrato, além de possuírem um baixo impacto sobre os ecossistemas.<sup>1</sup>

O processo catalítico que utiliza peroxidase, enzima oxidativa encontrada em uma série de recursos naturais, tais como tomate,<sup>2-4</sup> batata,<sup>5</sup> fungo,<sup>6, 7</sup> dentre outros, tem sido proposto por inúmeros pesquisadores, mostrando ser aplicável ao tratamento de diversos efluentes industriais, como os gerados em indústrias petroquímicas, farmacêuticas, de papel e celulose, têxteis e de tingimento.

Peroxidases (E.C.1.11.1.x – hidrogênio-peróxido oxidoreduases) são predominantemente proteínas heme, que utilizam peróxido de hidrogênio (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) ou hidroperóxidos orgânicos como co-substrato

para oxidar uma variedade de substratos orgânicos e inorgânicos.<sup>8</sup> O grupo prostético ferritoporfirina IX é uma característica comum de todas as peroxidases heme. A

ferritoporfirina IX (Figura 1) consiste de quatro anéis pirrol ligados por pontes de metileno com ferro (III) como átomo central.<sup>9</sup>



**Figura 1.** Estrutura química de ferritoporfirina IX

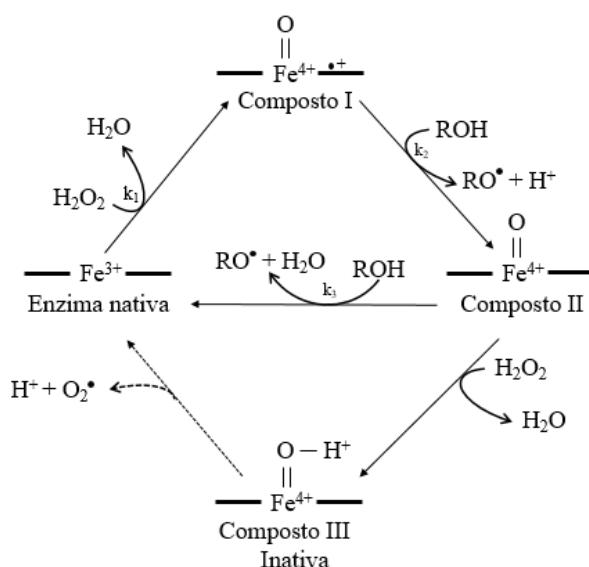
O ciclo catalítico da peroxidase pode ser expresso pelas equações (1) a (4), onde ROH e RO<sup>•</sup> representam um substrato reduzido e o produto radical, respectivamente. Os

substratos reduzidos incluem fenóis aromáticos, ácidos fenólicos e aminas, entre outros compostos aromáticos.<sup>10</sup>



A enzima férrica nativa (E) é oxidada pelo peróxido de hidrogênio a uma forma intermediária chamada composto I (E<sub>i</sub>), deficiente em dois elétrons, sendo um elétron abstraído do íon Fe<sup>3+</sup> e outro do anel porfirínico, gerando, respectivamente, Fe<sup>4+</sup> e radical cátion porfirínico (Figura 2). Em seguida, E<sub>i</sub> aceita um composto aromático (ROH) no seu sítio ativo e realiza a sua oxidação, formando o composto II (E<sub>ii</sub>), um intermediário deficiente em um elétron. Um radical livre (RO<sup>•</sup>) é produzido e lançado em

solução. E<sub>ii</sub> oxida, então, uma segunda molécula aromática, liberando um segundo radical livre, que conduz à formação de um produto polimérico, retornando a peroxidase ao seu estado nativo (estado reduzido Fe<sup>3+</sup>), completando assim o ciclo. Na presença de excesso de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, a reação da Eq. (4) se torna importante, porque o composto III (E<sub>iii</sub>) é uma forma reversivelmente inativa da enzima. Isto implica na inibição da enzima por H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> em excesso. Por outro lado, a ausência de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> durante a reação limita a sua velocidade.<sup>10-13</sup>



**Figura 2.** Ciclo catalítico das enzimas peroxidases mostrando as mudanças no grupo prostético heme e a possível forma de inativação da Horseradish peroxidase (HRP). As constantes  $k_1$ ,  $k_2$  e  $k_3$  representam a taxa de formação do composto I, taxa de redução do composto I e taxa de redução do composto II, respectivamente

O processo catalítico que utiliza peroxidases, tem sido proposto por inúmeros pesquisadores, mostrando ser aplicável ao tratamento de diversos efluentes industriais. Desta forma, o objetivo desta revisão é destacar o uso da Horseradish peroxidase (HRP) e de outras fontes de peroxidases no tratamento de efluentes. Como o tratamento enzimático aplicado de forma separada pode ser insuficiente para se obter um efluente de acordo com os padrões exigidos pelas legislações ambientais, o artigo também objetiva apresentar as combinações entre tratamentos enzimáticos e tratamentos convencionais.

## 2. Aplicação de peroxidases no tratamento de efluentes

Embora muitos estudos com compostos aromáticos selecionados em soluções sintéticas têm se mostrado promissores na oxidação catalisada pela HRP, poucas matrizes de águas residuais reais têm sido

investigadas. Muitas vezes os efluentes apresentam parâmetros flutuantes, como pH, temperatura e concentrações de poluentes, que podem interferir ou prejudicar a reação. A Tabela 1 apresenta os principais tipos de efluentes e compostos estudados na aplicação da HRP. Todos os estudos se limitaram a escala laboratorial, carecendo de aplicações industriais.

Cooper e Nicell<sup>14</sup> reportaram que efluentes originados da indústria de fundição contêm compostos fenólicos, gerados por alguns ligantes de areia e pela combustão de coque. Adicionalmente esses autores também verificaram que a HRP, purificada (dissolução da enzima sólida obtida comercialmente, numa solução aquosa em pH 7,4) ou extrato bruto (enzima obtida através da maceração de raízes da planta), com atividade específica de  $83,0 \pm 4,5 \text{ U mg}^{-1}$  e  $21,0 \pm 2,0 \text{ U g}^{-1}$ , respectivamente, foi capaz de catalisar 97 a 99% da remoção de fenóis totais destas águas residuais, com uma concentração inicial de 3,5 mM de fenóis totais ( $330 \text{ mg L}^{-1}$ ).<sup>14</sup> A presença de contaminantes, como resíduos de ferro,

matéria orgânica e sólidos em suspensão, não interferiu no processo enzimático, sendo semelhante a uma solução aquosa de fenol puro.

**Tabela 1.** Aplicação da enzima HRP em diferentes efluentes

Efluente	Amostra	Referência
Fundição	Real	14
Papel e celulose	Real	31
Refinaria de petróleo	Real	22
Hidrocarbonetos policíclicos aromáticos	Sintético	20
Hidrocarbonetos policíclicos aromáticos	Sintético	19
Corante	Real	27
Têxtil/corante	Sintético e real	25
Têxtil/corante	Sintético e real	23
Corante	Sintético	26
Estrogênio	Sintético e real	34

Em processos de refino de petróleo, uma fonte importante de poluentes fenólicos é o craqueamento catalítico de uma porção pesada do petróleo bruto para produzir produtos de petróleo mais leves.<sup>15</sup> Adicionalmente aos compostos fenólicos, este tipo de efluente geralmente contém uma variedade de outros poluentes orgânicos e inorgânicos, tais como os Hidrocarbonetos Policíclicos Aromáticos (HPA), benzeno e seus derivados, cianetos e sulfuretos.<sup>16</sup> Águas contaminadas com HPA têm atraído crescente preocupação por causa de sua resistência à biodegradação, potencial de bioacumulação, e atividade carcinogênica.<sup>17</sup> Muitas enzimas podem participar no processo de biodegradação de HPA, sendo capazes de clivar os anéis aromáticos.<sup>18</sup> No entanto, estudos sobre a oxidação de HPA utilizando HRP ainda são bastante limitados, embora a enzima possa oxidar partes do composto. Na oxidação de *o*-xileno- $d_{10}$  e naftaleno- $d_8$ , até 54% de *o*-xileno- $d_{10}$  e 51% de naftaleno- $d_8$  foram oxidados, a uma atividade enzimática de 8.000 U mL<sup>-1</sup> e 4.000 U mL<sup>-1</sup> de HRP, respectivamente.<sup>19</sup> Já na oxidação catalisada pela HRP em HPA

(antraceno, fenantreno, pireno e fluoranteno), houve oxidação preferencial de antraceno sobre outros HPA, independente do tempo de reação, enquanto que a dosagem de enzima e a concentração de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> se mostrou fundamental. Este composto, foi oxidado preferencialmente em pH 8,0 e temperatura de 40 °C, sendo que o principal produto detectado a partir de sua oxidação foi a 9,10-antraquinona.<sup>20</sup> Em geral, as quinonas são menos mutagênicas e cancerígenas do que o composto parental.<sup>21</sup> Portanto, a oxidação enzimática do antraceno por HRP pode ser uma estratégia útil na desintoxicação e em processos de biorremediação.

Para a redução dos compostos fenólicos presentes em efluentes de uma refinaria de petróleo, o tratamento com HRP gerou um efluente abaixo do limite de descarga (< 0,013 mM, ou seja 1,27 mg L<sup>-1</sup> de fenol), além de remover cerca de 58% de DQO, 78% de DBO<sub>5</sub> e 95% de toxicidade, sugerindo que outros compostos também foram removidos após o tratamento enzimático. Wagner e Nicell<sup>22</sup> utilizaram 0,6 mM de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> e 1,6 a 2,2 U/mL de HRP para o tratamento de amostras

com concentração inicial de 0,353 a 0,474 mM.

A indústria têxtil, durante seu processo produtivo, principalmente após o tingimento nos procedimentos de lavagem, libera até 40% de corantes nos efluentes líquidos.<sup>23</sup> Há corantes recalcitrantes e tóxicos, que são resistentes à degradação biológica, não sendo facilmente degradados em estações de tratamento de águas residuais.<sup>24</sup> Para um efluente têxtil, a enzima mostrou uma boa remoção da cor, sendo obtida em torno de 52% de descoloração.<sup>25</sup> Para alguns corantes, obteve-se uma eficiência de 77% a 99% na remoção da cor, com a atividade de HRP mantida em 3,5 U mL<sup>-1</sup>.<sup>23</sup> Para remoção de alguns corantes azo, a HRP se mostrou eficiente no tratamento, sendo otimizada na faixa de pH em torno de 2,0,<sup>26, 27</sup> com uma atividade ótima de 2,2 U mL<sup>-1</sup> e uma eficiência de remoção de 84%.<sup>26</sup> Além disso, foi observada redução na toxicidade dos produtos formados.<sup>23, 25, 26</sup> No entanto, no trabalho realizado por Bhunia et al.,<sup>27</sup> a degradação dos corantes azo ocorreu de forma mais lenta em comparação com a utilização de fenol como substrato, sendo o corante azul de remazol degradado mais rapidamente, a uma taxa de reação de 0,017 mmol L<sup>-1</sup> min<sup>-1</sup>, cerca de 17 vezes mais lenta que a degradação de fenol como substrato.

Além disso, a HRP se mostrou como uma enzima promissora na descolorização de corantes antraquinonas, sendo capaz de degradar cerca de 95% de ácido violeta 109 e 89% de ácido azul 225, com concentração de enzima de 0,15 U mL<sup>-1</sup>, tempo de reação de 15 e 32 min. e pH 4,0 e 5,0, respectivamente.<sup>28</sup> Do mesmo modo, a peroxidase bruta, extraída da planta de *Azadirachta indica*, que é fonte comercial da HRP, degradou 73% de alaranjado de metila (MO) e 79% de castanho de bismarck (BB), nos pH ótimos de 4,0 e 3,0, respectivamente.<sup>29</sup>

Na indústria de papel e celulose, os compostos fenólicos são originários da polpa, principalmente a partir do processo de decomposição de lignina durante o

cozimento de aparas de madeira no digestor (Processo *Kraft*).<sup>30</sup> A remoção dos compostos fenólicos provenientes dos condensados pode ser vantajosa para reutilização da água em outras operações da planta ou mais propícias à degradação biológica. O tratamento de um condensado residual com HRP e H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> alcançou uma concentração total de fenóis inferior a 1 mg L<sup>-1</sup>, no pH ótimo de 7,0, bem como uma queda de toxicidade substancial, indicando assim, que o tratamento removeu uma fração considerável de componentes tóxicos das águas residuais. Além disso, experiências com águas sintéticas demonstraram que o condensado continha espécies que protegem a enzima de inativação por produtos de reação.<sup>31</sup>

Um problema recorrente nos efluentes municipais é a presença de compostos de desregulação endócrina (CDE), que tem sido atribuída principalmente à sua incompleta remoção no tratamento de esgotos domésticos.<sup>32</sup> Estes compostos afetam negativamente a saúde animal e humana.<sup>33</sup> A oxidação enzimática de estrogênios, usando HRP e H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> em efluentes municipais, mostrou que estrogênios sintéticos requerem menos atividade de HRP do que estrogênios naturais. Além disso, os efluentes municipais demandaram uma maior atividade da enzima do que o efluente sintético, 8,0-10,0 U mL<sup>-1</sup> comparado a 0,032 U mL<sup>-1</sup>, evidenciando assim, um impacto significativo das matrizes constituintes do efluente doméstico sobre a remoção de estrogênios catalisada pela HRP.<sup>34</sup>

A maioria dos estudos sobre a remoção de compostos fenólicos presentes nos efluentes industriais tem usado a HRP. No entanto, a produção da enzima a partir de raízes de rábano é dificultada, uma vez que as raízes são cultivadas principalmente para a indústria alimentar, crescem lentamente, requerem grandes áreas e no processo de extração, requerem muita energia.<sup>6</sup> Assim, peroxidases de outras fontes, tais como soja<sup>35-38</sup> e nabo<sup>39</sup> têm sido sugeridos como alternativas. Estas podem melhorar a

viabilidade econômica dos processos enzimáticos e tornar factível a sua aplicação em escala industrial.

A peroxidase de soja (SBP) é mais barata e exhibe algumas características favoráveis, tais como uma maior termotolerância e maior estabilidade conformacional ao longo de uma ampla faixa de pH, porém ainda é bastante susceptível a inativação durante a oxidação e polimerização do fenol.<sup>40</sup> No entanto, para Bódalo et al.,<sup>41</sup> a ação da SBP é mais lenta, mas é bastante resistente à desativação.

A aplicabilidade da SBP para o tratamento de águas residuais que contêm compostos fenólicos foi demonstrada por Caza et al.<sup>35</sup> Para efluentes sintéticos e de refinaria, o pH ótimo da atividade enzimática apresentou-se em uma faixa de 6,0 a 8,0. Nas amostras sintéticas, para uma concentração de 1,0 mmol L<sup>-1</sup> de fenol houve uma remoção maior que 95% em um tempo de reação de 3 h, requerendo uma atividade de 1,5 U mL<sup>-1</sup>. Em efluentes de refinaria, para se obter remoções comparáveis às amostras sintéticas, foram necessárias quantidades de enzima de 1,2 a 1,8 vezes maiores.<sup>38</sup> Para o tratamento de 2,4-diclorofenol (2,4-DCP) usando SBP, o pH ótimo para a remoção deste contaminante foi 8,2, obtendo-se remoções próximas de 83%, 75% e 71% para 100, 200 e 300 mg L<sup>-1</sup>, respectivamente.<sup>37</sup>

A SBP também se mostrou adequada para a polimerização de 95% de fenilenodiaminas e benzenodióis (catecol, resorcinol, hidroquinona), exceto hidroquinona. Assim, a conversão catalisada por SBP e subsequente remoção dos produtos poliméricos gerados, podem proporcionar um meio alternativo aos métodos convencionais para o tratamento de cinco dos seis compostos testados de efluentes industriais.<sup>42</sup>

Para a peroxidase presente em polpa de batata, que é um produto residual da indústria de amido, a eficiência de remoção de fenol foi mais de 95% para as concentrações de fenol otimizadas. A enzima da polpa de batata manteve a sua atividade em uma faixa de pH de 4,0 a 8,0 e se mostrou estável ao longo de um amplo intervalo de

temperaturas (10 a 60 °C). Soluções fenólicas tratadas com polpa de batata mostraram redução significativa na toxicidade em comparação com a não tratada.<sup>5</sup>

A peroxidase bruta do fungo *Coprinus cinereus* (CIP) foi utilizada para investigar a eficiência do tratamento enzimático em efluentes da indústria de refinaria de petróleo. Os compostos fenólicos foram enzimaticamente convertidos em produtos poliméricos coloridos, que foram subsequentemente removidos por coagulação com alumínio. O pH ótimo foi próximo do neutro, porém mais H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> foi requerido para converter uma determinada quantidade de fenol na água residuária real quando comparado ao sintético. Como um resultado do tratamento enzimático (2 U mL<sup>-1</sup>), os parâmetros de DQO e DBO<sub>5</sub> foram reduzidos em 52% e 58%, respectivamente. Embora estas demandas de oxigênio tenham sido reduzidas no efluente, os materiais orgânicos dissolvidos aparentemente não foram afetados por qualquer processo e tenderam a permanecer no efluente tratado.<sup>6</sup> Também foi avaliada a remoção de fenol catalisada por CIP na presença de surfactantes. Verificou-se que os surfactantes podem fazer a CIP aparentemente inativa reincorporar no ciclo catalítico da enzima.<sup>7</sup> Além disso, foi mostrado que o surfactante Triton X-100 reduz a quantidade de SBP necessária para a remoção de 95% ou mais de fenol por 10 a 13 vezes.<sup>43</sup>

Além disso, foi avaliada a ação enzimática da peroxidase parcialmente purificada de melão amargo (*Momordica charantia*) para a degradação/descoloração de estruturas aromáticas complexas. 21 corantes, com um amplo espectro de grupos químicos, atualmente usados pela indústria têxtil foram selecionados. A peroxidase da *M. charantia* foi capaz de descolorir a maior parte dos corantes têxteis através da formação de precipitado insolúvel, sendo eficaz para o tratamento de efluentes contendo corantes recalcitrantes de indústrias têxteis, tingimento e estampagem.<sup>44</sup>

Ademais, algumas outras fontes de peroxidase foram consideradas para



utilização em descontaminação de águas residuais. O uso de peroxidases de *Allium sativum*, *Ipomoea batata*, *Raphanus sativus* e *Sorghum bicolor* para catalisar a degradação de compostos fenólicos livres, bem como compostos fenólicos contidos nas águas residuais da indústria de couro também já foi reportado.<sup>45</sup> As máximas degradações obtidas foram de 93, 76, 77 e 72 % para *Raphanus sativus*, *Sorghum bicolor*, *Ipomoea batatas* e *Allium sativum*, respectivamente.<sup>45</sup> A peroxidase extraída do alho (*Allium sativum*) também foi eficiente na descoloração de diferentes tipos de corantes à cuba, sendo mais efetiva na concentração de enzima 0,2 U mL<sup>-1</sup>, em pH 4,5 a 5,0 e temperatura de 50 °C.<sup>46</sup>

Além destas opções, o uso de culturas de raízes cabeludas ou os extratos obtidos a partir delas, tem sido exploradas como uma nova alternativa para o tratamento de compostos fenólicos. Estas raízes oferecem um sistema atraente para esse fim devido à sua capacidade para produzir grandes quantidades de peroxidases. Raízes de tomates - *Lycopersicon esculentum*,<sup>2-4</sup> de canola - *Brassica napus*,<sup>47, 48</sup> de mostarda-castanha ou mostarda-marrom - *Brassica juncea*<sup>49</sup> e de girassol - *Helianthus annuus*<sup>50</sup> têm sido utilizadas.

A maioria dos estudos sobre remediação de fenol por raízes cabeludas têm sido realizados em escala laboratorial. No entanto, foi realizado um estudo com a utilização de raízes de *Brassica napus* em reator de tanque agitado (escala piloto), para remoção de 2,4-diclorofenol, que apresentou uma alta eficiência de remoção (98%) em um curto período (30 min), abrindo assim, perspectivas futuras para o emprego de raízes cabeludas em escala industrial.<sup>51</sup>

Outra abordagem interessante para o uso de peroxidases é na desodorização de adubos. Em escala piloto, foi provado que raízes de rábano na presença de CaO<sub>2</sub>, reduziram a concentração de fenol em 70% e 45% para ácidos graxos voláteis.<sup>52</sup> Uma redução de 100% na concentração de odorantes fenólicos sem recorrência dentro

de 72 h foi conseguido com a HRP.<sup>53</sup> Assim, estes estudos provaram que o uso de materiais de plantas como portadores de enzimas e peróxidos como receptores de elétrons emerge como uma abordagem eficaz para controle de odor fenólico no estrume animal.

### 3. Combinação do tratamento enzimático com outros tratamentos

---

Apenas a aplicação de tratamentos enzimáticos pode ser insuficiente para realizar o enquadramento dos efluentes líquidos nos corpos receptores conforme as legislações ambientais. Porém utilizar a oxidação catalisada por enzimas como pré-tratamento, pode ser importante para melhorar a biodegradabilidade e produzir um efluente que possa ser tratado biologicamente. Há evidências de que o tratamento enzimático é viável como uma etapa de pré-tratamento para remoção de fenol de águas residuárias de refinaria antes de entrar em contato com um biorreator.<sup>38</sup> No entanto, há poucos estudos que avaliam a combinação do tratamento enzimático com algum outro tratamento.

O estudo de Murcia et al.<sup>54</sup> avaliou o tratamento enzimático, com SBP e H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> num reator de tanque contínuo seguido por um módulo de membrana de ultrafiltração em série para a remoção de 4-clorofenol. Porcentagens de remoção de 90% ou mais foram obtidas para algumas condições ensaiadas. Em alguns casos, a conversão permaneceu praticamente constante durante todo o período de exploração na corrente de permeado, onde a membrana de alguma forma atuou como um suporte de imobilização bem-sucedida para a enzima. Esta pode ser uma alternativa possível para evitar a perda da solução enzimática e manter a enzima no reator.<sup>55</sup>



Para a remoção de 2-clorofenol a partir de solução aquosa diluída foram estudados três métodos. O primeiro utilizou HRP em presença de  $H_2O_2$  para oxidar este poluente orgânico. O segundo, envolveu ondas ultrassônicas por meio de radical hidroxila geradas pelo processo de cavitação (sono-degradação). No terceiro, uma combinação de ondas ultrassônicas e de enzima foi usada (degradação Sono-enzima). Os resultados indicaram que o método da adição de solução de enzima é importante neste processo. A combinação do tratamento enzimático com ultrassons pode ser mais útil na remoção de 2-clorofenol por uma redução do tempo em comparação com os métodos individuais. A taxa mais elevada induzida através da utilização de ultrassons leva à redução de requisitos de dose de HRP, o que é de importância para a viabilidade econômica deste método combinado.<sup>56</sup>

Outro estudo investigou a eficiência dos Processos de Oxidação Avançada (POA), no caso o processo foto-fenton, o tratamento enzimático e a combinação tratamento enzimático/POA sobre remediação da cor de efluentes da indústria de papel e celulose. Para o tratamento enzimático, duas enzimas foram aplicadas, lacase e peroxidase, e ambas descoloriram o efluente marrom-escuro a uma cor amarelada. Verificou-se que, tratamento químico após a fase enzimática (foto-fenton, como uma unidade de tratamento posterior) apresentou um melhor desempenho para o efluente, quando comparado a aplicação dos tratamentos separadamente.<sup>57</sup>

Wu et al.<sup>58</sup> estudaram a possibilidade da integração de tratamento com ozônio e tratamento com HRP para águas residuais contendo fenol. O uso sequencial de ozônio e HRP foi avaliado utilizando duas abordagens: ozonização antes do tratamento com HRP, que reduz a taxa de remoção enzimática subsequente; e ozonização depois do tratamento enzimático, com a HRP não afetando no subsequente processo de ozonização do fenol. Nos dois casos, o uso sequencial de ozônio e HRP não apresentou

vantagens no tratamento de efluentes desta natureza.

Para a remoção de estrogénios e compostos fenólicos da água foi utilizada coagulação induzida por surfactante aniônico (dodecilsulfato de sódio - SDS) de poli (cloridrato de alilamina), com o uso combinado de HRP ( $100 U L^{-1}$ ) e  $H_2O_2$  ( $10 mg L^{-1}$ ). Esta combinação aumentou significativamente a remoção de quatro estrogénios (>98%) em 10 min a  $30 ^\circ C$  na faixa de pH 6,0 a 7,5. O método também foi útil para a rápida remoção de diferentes compostos fenólicos e produtos farmacêuticos.<sup>59</sup>

Além disso, foi avaliada a capacidade de tratamento de efluentes têxteis usando um tratamento biológico (Fungo *Phanerochaete chrysosporium*, por meio da atividade enzimática de peroxidase e lacase) seguido do método químico de ozônio. Uma boa descoloração, redução de fenóis totais e a redução de massa molecular foram obtidas durante o processo.<sup>60</sup>

#### 4. Visão geral do uso de enzimas no tratamento de efluentes

Atualmente, já foram identificadas cerca de 3000 enzimas com aplicação industrial. Porém, somente apenas cerca de 60 dessas enzimas são utilizadas em quantidades significativas, sendo que 75% correspondem a hidrolases. No Brasil, o mercado está distribuído principalmente em enzimas utilizadas em detergentes (37%), têxteis (12%), amido (11%), panificação (8%) e ração animal (6%), que usam em torno de 75% das enzimas produzidas industrialmente.<sup>61</sup> Para o setor de tratamento de efluentes este percentual ainda é insignificante, pois não é contabilizado nas estatísticas.

Como apontado no decorrer da revisão, processos enzimáticos são eficientes para a remoção de contaminantes específicos em diversos tipos de efluentes. No entanto, seu uso não se faz presente no tratamento de

efluentes das indústrias brasileiras, devido principalmente, ao alto custo de importação. Além disso, outro desafio é diminuir o abismo que existe entre as indústrias e as universidades para o desenvolvimento de pesquisas que aprimorem ainda mais a tecnologia. No Brasil, essa situação tende a mudar uma vez que o Governo Federal, por meio da Política de Desenvolvimento da Biotecnologia (Decreto n.º 6.041/2007),<sup>62</sup> instituiu a produção e desenvolvimento de enzimas como área estratégica de desenvolvimento, em segmentos industriais como alimentício, detergentes, farmacêutico, têxtil, papel e celulose e também no tratamento de efluentes e resíduos.

## 5. Conclusão

Por meio desta revisão, pode-se observar que, as peroxidases de forma geral, são eficientes para o tratamento de efluentes que contêm corantes, fenóis, hormônios e alguns outros compostos tóxicos.

Resultados promissores e padrões de lançamento de efluentes em corpos receptores, conforme requisitos legais, podem ser obtidos quando tecnologias clássicas são combinadas com tecnologias enzimáticas. No entanto, o número limitado de aplicações em campo indica uma lacuna entre a academia e a indústria. Uma abordagem integrada é necessária para transferir, de forma eficiente, os conhecimentos científicos para o mercado e torná-los aplicáveis.

## Referências Bibliográficas

<sup>1</sup> Duran, N.; Esposito, E. Potential Applications of Oxidative Enzymes and Phenoloxidase-like Compounds in Wastewater and Soil Treatment: A Review. *Applied Catalysis B: Environmental* **2000**, *28*, 83. [CrossRef]

<sup>2</sup> Gonzalez, P. S.; Capozucca, C. E.; Tigier, H. A.; Milrad, S. R.; Agostini, E. Phytoremediation of phenol from wastewater, by peroxidases of tomato hairy root cultures. *Enzyme and Microbial Technology* **2006**, *39*, 647. [CrossRef]

<sup>3</sup> González, P. S.; Agostini, E.; Milrad, S. R. Comparison of the removal of 2,4-dichlorophenol and phenol from polluted water, by peroxidases from tomato hairy roots, and protective effect of polyethylene glycol. *Chemosphere* **2008**, *70*, 982. [CrossRef] [PubMed]

<sup>4</sup> Paisio, C. E.; González, P. S.; Gerbaudo, A.; Bertuzzi, M. L.; Agostini, E. Toxicity of phenol solutions treated with rapeseed and tomato hairy roots. *Desalination* **2010**, *263*, 23. [CrossRef]

<sup>5</sup> Kurnik, K.; Treder, K.; Skorupa-Kłaput, M.; Tretyn, A.; Tyburski, J. Removal of Phenol from Synthetic and Industrial Wastewater by Potato Pulp Peroxidases. *Water, Air, & Soil Pollution* **2015**, *226*, 254. [CrossRef]

<sup>6</sup> Ikejata, K.; Buchanan, I. D.; Smith, D. W. Treatment of oil refinery wastewater using crude *Coprinus cinereus* peroxidase and hydrogen peroxide. *Journal of Environmental Engineering and Science* **2003**, *2*, 463. [CrossRef]

<sup>7</sup> Sakurai, A.; Masuda, M.; Sakakibara, M. Effect of surfactants on phenol removal by the method of polymerization and precipitation catalysed by *Coprinus cinereus* peroxidase. *Journal of Chemical Technology and Biotechnology* **2003**, *78*, 952. [CrossRef]

<sup>8</sup> Demarche, P.; Junghanns, C.; Nair, R. R.; Agathos, S. N. Harnessing the power of enzymes for environmental stewardship. *Biotechnology Advances* **2012**, *30*, 933. [CrossRef] [PubMed]

<sup>9</sup> Dunford, H. B.; *Heme peroxidases*, New York: Wiley-VCH; 1999.

<sup>10</sup> Veitch, N. C. Horseradish peroxidase: a modern view of a classic enzyme. *Phytochemistry* **2004**, *65*, 249. [CrossRef] [PubMed]

<sup>11</sup> Banci, L. Structural properties of peroxidases. *Journal of Biotechnology* **1997**, *53*, 253. [CrossRef] [PubMed]

- <sup>12</sup> Conesa, A.; Punt, P. J.; van den Hondel, C. A. M. J. J. Fungal peroxidases: molecular aspects and applications. *Journal of Biotechnology* **2002**, *93*, 143. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- <sup>13</sup> Hofrichter, M.; Ullrich, R.; Pecyna, M. J.; Liers, C.; Lundell, T. New and classic families of secreted fungal heme peroxidases. *Applied Microbiology and Biotechnology* **2010**, *87*, 871. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- <sup>14</sup> Cooper, V. A.; Nicell, J. A. Removal of phenols from a foundry wastewater using horseradish peroxidase. *Water Research* **1996**, *30*, 954. [[CrossRef](#)]
- <sup>15</sup> US EPA – U.S. Environmental Protection Agency. Profile of the Petroleum Refining Industry. EPA Office of Compliance Sector Notebook Project: EPA/310-R-95-013, Washington, D.C., 1995.
- <sup>16</sup> Dyer, J. C.; Mignone, N. A.; *Handbook of Industrial Residues*, Vol. 1, Environmental Engineering Series, Noyes Publications, Park Ridge NJ, USA, 1983.
- <sup>17</sup> Chen, B.; Xuan, X.; Zhu, L.; Wang, J.; Gao, Y.; Yang, K.; Shen, X.; Lou, B. Distributions of polycyclic aromatic hydrocarbons in surface waters, sediments and soils of Hangzhou City, China. *Water Research* **2004**, *38*, 3558. [[CrossRef](#)]
- <sup>18</sup> Kvesitadze, E.; Sadunishvili, T.; Kvesitadze, G. Mechanisms of organic contaminants uptake and degradation in plants. *World Academy of Science, Engineering and Technology* **2009**, *55*, 458. [[Link](#)]
- <sup>19</sup> Fang, J.; Barcelona, M. J. Coupled oxidation of aromatic hydrocarbons by horseradish peroxidase and hydrogen peroxide. *Chemosphere* **2003**, *50*, 105. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- <sup>20</sup> Chen, Z.; L. Hui; Peng, A.; Gao, Y. Oxidation of polycyclic aromatic hydrocarbons by horseradish peroxidase in water containing an organic cosolvent. *Environmental Science and Pollution Research* **2014**, *21*, 10696. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- <sup>21</sup> Torres, E.; Bustos-Jaimes, I.; Le Borgne, S. Potential use of oxidative enzymes for the detoxification of organic pollutants. *Applied Catalysis B: Environmental* **2003**, *46*, 1. [[CrossRef](#)]
- <sup>22</sup> Wagner, M.; Nicell, J. A. Peroxidase-catalyzed removal of phenols from a petroleum refinery wastewater. *Water Science and Technology* **2001**, *43*, 253. [[PubMed](#)]
- <sup>23</sup> da Silva, M. R.; de Sá, L. R. V.; Russo, C.; Scio, E.; Ferreira-Leitão, V. S. The use of HRP in decolorization of reactive dyes and toxicological evaluation of their products. *Enzyme Research* **2010**, ID 703824. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- <sup>24</sup> Liu, J.-Z.; Wang, T.-L.; Ji, T.-L. Enhanced dye decolorization efficiency by citraconic anhydride-modified horseradish peroxidase. *Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic* **2006**, *41*, 81. [[CrossRef](#)]
- <sup>25</sup> De Souza, S. M. A. G. U.; Forgiarini, E.; De Souza, A. A. U. Toxicity of textile dyes and their degradation by the enzyme horseradish peroxidase (HRP). *Journal of Hazardous Materials* **2007**, *147*, 1073. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- <sup>26</sup> Mohan, S. V.; Prasad, K. K.; Rao, N. C.; Sarma, P. N. Acid azo dye degradation by free and immobilized horseradish peroxidase (HRP) catalyzed process. *Chemosphere* **2005**, *58*, 1097. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- <sup>27</sup> Bhunia, A.; Durani, S.; Wangikar, P. P. Horseradish peroxidase catalyzed degradation of industrially important dyes. *Biotechnology and Bioengineering* **2002**, *72*, 562. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- <sup>28</sup> Šekuljica, N. Ž.; Prlainović, N. Ž.; Stefanović, A. B.; Žuža, M. G.; Čičkarić, D. Z.; Mijin, D. Ž.; Knežević-Jugović, Z. D. Decolorization of Anthraquinonic Dyes from Textile Effluent Using Horseradish Peroxidase: Optimization and Kinetic Study. *The Scientific World Journal* **2015**, ID 371625. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- <sup>29</sup> Ambatkar, M.; Mukundan, U. Enzymatic decolourisation of Methyl Orange and Bismarck Brown using crude peroxidase from *Armoracia rusticana*. *Applied Water Science* **2015**, *5*, 397. [[CrossRef](#)]
- <sup>30</sup> LaFleur, L. A. Sources of pulping and bleaching derived chemicals in effluents. In M. Servos, Environmental Fate and Effects of Pulp and Paper Mill Effluents. St. Lucie Press, Delray Beach, FL, 1996.

- <sup>31</sup> Wagner, M.; Nicell, J. A. Treatment of a foul condensate from Kraft pulping with horseradish peroxidase and hydrogen peroxide. *Water Research* **2001**, *35*, 485. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- <sup>32</sup> Filali-Meknassi, Y.; Tyagi, R. D.; Surampalli, R. Y.; Barata, C.; Riva, M. C. Endocrine disrupting compounds in wastewater, sludge treatment processes and receiving waters: Overview. *Practice Periodical of Hazardous, Toxic and Radioactive Waste Management* **2004**, *8*, 39. [[CrossRef](#)]
- <sup>33</sup> Colborn, T.; Saal, F. S. V.; Soto, A. M. Developmental effects of endocrine-disrupting chemicals in wildlife and humans. *Environmental Health Perspectives* **1993**, *101*, 378. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- <sup>34</sup> Auriol, M.; Filali-Meknassib, Y.; Tyagia, R. D.; Adams, C. D. Oxidation of natural and synthetic hormones by the Horseradish peroxidase enzyme in wastewater. *Chemosphere* **2007**, *68*, 1830. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- <sup>35</sup> Caza, N.; Bewtra, J. K.; Biswas, N.; Taylor, K. E. Removal of phenolic compounds from synthetic waste water using soybean peroxidase. *Water Research* **1999**, *33*, 3012. [[CrossRef](#)]
- <sup>36</sup> Kinsley, C.; Nicell, J. A. Treatment of aqueous phenol with soybean peroxidase in the presence of polyethylene glycol. *Bioresource and Technology* **2000**, *73*, 139. [[CrossRef](#)]
- <sup>37</sup> Kennedy, K.; Alemany, K.; Warith, M. Optimization of soybean peroxidase treatment of 2,4-dichlorophenol. *WaterSA* **2002**, *28*, 149. [[Link](#)]
- <sup>38</sup> Steevensz, A. Comparison of soybean peroxidase with laccase in the removal of phenol from synthetic and refinery wastewater samples. *Journal of Chemical Technology & Biotechnology* **2009**, *84*, 761. [[CrossRef](#)]
- <sup>39</sup> Duarte-Vazquez, M. A.; Ortega-Tovar, M. A.; García-Almendarez, B. E.; Regalado, C. Removal of aqueous phenolic compounds from a model system by oxidative polymerization with turnip (*Brassica napus* L Var purple top white globe) peroxidase. *Journal of Chemical Technology and Biotechnology* **2003**, *78*, 42. [[CrossRef](#)]
- <sup>40</sup> Feng, W.; Taylor, K. E.; Biswas, N.; Bewtra, J. K. Soybean peroxidase trapped in product precipitate during phenol polymerization retains activity and may be recycled. *Journal of Chemical Technology and Biotechnology* **2013**, *88*, 1429. [[CrossRef](#)]
- <sup>41</sup> Bódalo, A.; Gómez, J. L.; Gómez, E.; Bastida, J.; Máximo, M. F. Comparison of commercial peroxidases for removing phenol from water solutions. *Chemosphere* **2006**, *63*, 626. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- <sup>42</sup> Al-Ansari, M. M.; Steevensza, A.; Al-Aasma, N.; Taylora, K. E.; Bewtrab, J. K.; Biswasb, N. Soybean peroxidase-catalyzed removal of phenylenediamines and benzenediols from water. *Enzyme and Microbial Technology* **2009**, *45*, 253. [[CrossRef](#)]
- <sup>43</sup> Steevensz, A.; Madur, S.; Feng, W.; Taylor, K. E.; Bewtra, J. K.; Biswas, N. Crude soybean hull peroxidase treatment of phenol in synthetic and real wastewater: Enzyme economy enhanced by Triton X-100. *Enzyme and Microbial Technology* **2014**, *55*, 65. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- <sup>44</sup> Akhtar, S.; Khan, A. A.; Husain, Q. Partially purified bitter melon (*Momordica charantia*) peroxidase catalyzed decolorization of textile and other industrially important dyes. *Bioresource Technology* **2005**, *96*, 1804. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- <sup>45</sup> Diao, M.; Ouédraogo, N.; Baba-Moussa, L.; Savadogo, P. W.; N'Guessan, A. M.; Bassolé, I. H. N.; Dicko, M. H. Biodepollution of wastewater containing phenolic compounds from leather industry by plant peroxidases. *Biodegradation* **2011**, *22*, 389. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- <sup>46</sup> Osuji, A. C.; Eze, S. O. O.; Osayi, E. E.; Chilaka, F. C. Biobleaching of Industrial Important Dyes with Peroxidase Partially Purified from Garlic. *The Scientific World Journal* **2014**, ID 183163. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- <sup>47</sup> González, P. S.; Maglione, C. A.; Giordana, M.; Paisio, C. E.; Talano, M. A.; Agostini, E. Evaluation of phenol detoxification by *Brassica napus* hairy roots, using *Allium cepa* test. *Environmental Science and Pollution*

- Research International* **2012**, *19*, 482. [CrossRef] [PubMed]
- <sup>48</sup> González, P. S.; Ontañón, O. M.; Armendariz, A. L.; Talano, M. A.; Paisio, C. E.; Agostini, E. *Brassica napus* hairy roots and rhizobacteria for phenolic compounds removal. *Environmental Science and Pollution Research International* **2013**, *20*, 1310. [CrossRef] [PubMed]
- <sup>49</sup> Singh, S.; Melo, J. S.; Eapen, S.; D'Souza, S. F. Phenol removal using *Brassica juncea* hairy roots: role of inherent peroxidase and H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. *Journal of Biotechnology* **2006**, *123*, 43. [CrossRef] [PubMed]
- <sup>50</sup> Jha, P.; Jobby, R.; Kudale, S.; Modi, N.; Dhaneshwar, A.; Desai, N. Biodegradation of phenol using hairy roots of *Helianthus annuus* L. *International Biodeterioration and Biodegradation* **2013**, *77*, 106. [CrossRef]
- <sup>51</sup> Angelini, V. A.; Orejas, J.; Medina, M. I.; Agostini, E. Scale up of 2,4-dichlorophenol removal from aqueous solutions using *Brassica napus* hairy roots. *Journal of Hazardous Materials* **2011**, *185*, 269. [CrossRef] [PubMed]
- <sup>52</sup> Govere, E. M.; Tonegawa, M.; Bruns, M. A.; Wheeler, E. F.; Kephart, K. B.; Voigt, J. W.; Dec, J. Using minced horseradish roots and peroxidase for the deodorization of swine manure: A pilot scale study. *Bioresourse Technology* **2007**, *98*, 1191. [CrossRef] [PubMed]
- <sup>53</sup> Govere, E. M.; Tonegawa, M.; Bruns, M. A.; Wheeler, E. F.; Heinemann, P. H.; Kephart, K. B.; Dec, J. Deodorization of swine manure using minced horseradish roots and peroxidase. *Journal of Agriculture and Food Chemistry* **2005**, *53*, 4880. [CrossRef] [PubMed]
- <sup>54</sup> Murcia, M. D.; Gomez, M.; Gomez, E.; Bodalo, A.; Gomez, J. L., Hidalgo, A. M. Assessing combination treatment, enzymatic oxidation and ultrafiltration in a membrane bioreactor, for 4-chlorophenol removal: Experimental and modeling. *Journal of Membrane Science* **2009**, *342*, 198. [CrossRef]
- <sup>55</sup> Bódalo, A.; Gómez, J. L.; Gómez, E.; Bastida, J.; Máximo, M. F.; Montiel, M. C. Ultrafiltration membrane reactors for enzymatic resolution of aminoacids; design model an optimization. *Enzyme and Microbial Technology* **2001**, *28*, 355. [CrossRef] [PubMed]
- <sup>56</sup> Entezari, M. H.; Mostafai, M.; Sarafraz-Yazdi, A. A combination of ultrasound and a bio-catalyst: removal of 2-chlorophenol from aqueous solution. *Ultrasonics Sonochemistry* **2006**, *13*, 37. [CrossRef] [PubMed]
- <sup>57</sup> Karimi, S.; Abdulkhani, A.; Ghazali, A. H. B.; Ahmadun, F.-R.; Karimi, A. Color remediation of chemimechanical pulping effluent using combination of enzymatic treatment and Fenton reaction. *Desalination* **2009**, *249*, 870. [CrossRef]
- <sup>58</sup> Wu, J.; Rudy, K.; Spark, J. Oxidation of aqueous phenol by ozone and peroxidase. *Advances in Environmental Research* **2000**, *4*, 339. [CrossRef]
- <sup>59</sup> Saitoh, T.; Fukushima, K.; Miwa, A. Combined use of surfactant-induced coagulation of poly(allylamine hydrochloride) with peroxidase-mediated degradation for the rapid removal of estrogens and phenolic compounds from water. *Separation and Purification Technology* **2014**, *128*, 11. [CrossRef]
- <sup>60</sup> Kunz, A.; Reginatto, V.; Durán, N. Combined treatment of textile effluente using the sequence *Phanerochaete chrysosporium*-ozone. *Chemosphere* **2001**, *44*, 281. [CrossRef] [PubMed]
- <sup>61</sup> Couri, S.; Damaso, M. C. T., Agência Embrapa de Informação Tecnológica. Disponível em: <[https://www.agencia.cnptia.embrapa.br/gestor/tecnologia\\_de\\_alimentos/arvore/CONT000fid5sgif02wyiv80z4s473v6o7sud.html](https://www.agencia.cnptia.embrapa.br/gestor/tecnologia_de_alimentos/arvore/CONT000fid5sgif02wyiv80z4s473v6o7sud.html)>. Acesso em: 15 dezembro 2015.
- <sup>62</sup> Brasil. Decreto n.º 6.041 de 8 de fevereiro de 2007. Brasília-DF.