

“PROCESSO DE TRATAMENTO DE EFLUENTE PAPELEIRO KRAFT E1 PELO SISTEMA DE ENZIMA-MEDIADOR: LACASE-HIDROXAMATOS “

Lignina é um biopolímero aromático complexo e degradável por poucos microrganismos, como por exemplo os basidiomicetos de degradação branca. A indústria tem mostrado grande interesse em enzimas extracelulares tais como lignina peroxidase, manganês peroxidase e lacases de fungos de degradação branca, devido ao potencial para degradar tanto compostos fenólicos tóxicos como a lignina.

Lacases (EC 1.10.3.1) são enzimas multi-cobre que catalisam a oxidação de uma grande variedade de substratos fenólicos concomitantemente com redução do oxigênio a água. Muitos produtores de lacase liberam isoenzimas que diferem na estabilidade e aspectos catalíticos. A lacase tem um efeito limitado na biorremediação devido a sua especificidade para unidades fenólicas na lignina. Alguns autores (Bourbonnais, R. & Paice, M.G. (1990) *FEBS Lett.*, 267, 99-102) encontraram que a faixa de substratos da lacase poderia ser estendida a unidades não fenólicas da lignina por inclusão de um mediador como o 2,2'-azinobis(3-etilbenzotiazolina-6-sulfonato) (ABTS). Lacase-ABTS acoplada eficientemente desmetila e deslignifica polpas kraft. 1-Hidroxibenzotriazol (HBT), ácido violúrico, hidroxaminas, oximas, ácidos hidroxâmicos e amidas atuam como mediadores na deslignificação de polpas na presença de lacase (Call, H.P. (1994) PCT. World patent application WO 94/29510; Call H.P. (1997) WO 97/36039-A1; Call H.P. (1997) WO 97/36041-A1; Call H.P. (1998) DE 19821263-A1) e ácido 3-hidroxiantranílico oxida compostos modelos de lignina não fenólicas (Eggert, C.B., Temp, U. & Eriksson, K.-E. (1996) *FEBS Lett.*, 391, 144-148).

O efeito de derivados hidroxâmicos em culturas de *Thermoascus aurantiacus* sobre efluentes foi previamente relatado (Durán, N. & Machuca, A. (1996) Ped. Priv. PIBr 9601590) e por sideróforos hidroxâmicos (Durán, N., Santiago, M. & Peralta-Zamora, P. (1997) Ped. Priv. PIBr 9700553).

Lacase tem sido descrita recentemente tanto no sistema enzimático puro como associado a mediadores na degradação de lignina em madeiras, polpas e compostos modelos (Li, K.C., Xu, F. & Eriksson, K.E.L. (1999) *Appl. Environ. Microbiol.*, 65, 2654-2660). Autores tem pesquisado as propriedades de polimerização e despolimerização de sistema lacase-mediador (Potthast, A., Rosenau, T., Koch, H. &

e amplamente usados para branqueio de polpas. Entretanto, cloração seguido de extração alcalina resulta em grandes volumes de efluentes contendo altos níveis de compostos orgânicos adsorvíveis (AOX), primariamente na forma de clorofenóis, cloroguaiacóis, cloroalifáticos, clorocatecois, clorosiringois, e grande quantidade de cloroaromáticos polimerizados.

Este processo relata a eficiência de um procedimento que combina processo enzimático (lacase) e mediadores (vários) no tratamento de efluente E₁.

Neste processo a lacase foi obtida de *Trametes versicolor* CCT 4521 crescido por 20 dias a 30°C e 240 rpm em meio líquido contendo (g/L): peptona, 10; extrato de malte, 5; CuSO₄ .5H₂O, 0,005; glicose, 20; pH 5,4. A lacase foi induzida pela adição de 2,5-xilidina 0,5 mmol L⁻¹ após 96 h de crescimento do fungo. A atividade da lacase na cultura foi de 10000 U/L.

A atividade de lacase foi medida pela oxidação de siringaldazina. O ensaio continha 0,1 mL de siringaldazina 1,0 mmol L⁻¹, 0,3 mL de tampão citrato-fosfato (pH 5.0) 50 mmol L⁻¹ e 0,6 mL de filtrado da cultura. A oxidação da siringaldazina foi monitorada pela medida do aumento de absorbância A₅₂₅ por 5 minutos. A atividade enzimática foi expressada em unidades, 1 U foi definida como 1 μmol de siringaldazina oxidada por min. Lacase foi adicionada em diferentes valores de atividades (25, 50 e 100 U/L) ao efluente E₁. Os mediadores usados foram 1-hidroxibenzotriazol (HBT), ácido 3-hidroxiantranílico (3-HAA) e ácido acetohidroxâmico (AHA) na concentração de 0,34 mmol L⁻¹. Fenóis totais, carbono orgânico total e cor foram monitorados de 0 a 5 h de tratamento. Outros derivados de hidroxâmicos como desferral e o derivado extraído de *Thermoascus aurantiacus* foram também utilizados. Os resultados obtidos pela aplicação deste processo mostraram que quanto maior a concentração de lacase maior eliminação de fenóis. A Figura 1 mostra a redução de fenóis totais do efluente E₁ (controle) (•) tratado por 5 h com lacase (▲), lacase e HBT (■), quando: A) Atividade da lacase foi 25 U/L, B) Atividade de lacase foi 50 U/L e C) Atividade de lacase foi 100 U/L. A melhor redução de fenóis atingiu 23% na ausência de mediadores. A presença de HBT não aumentou a degradação dos fenóis. Foi observado que 3-HAA foi rapidamente degradado pela lacase mostrando que este ácido não é um bom substrato para este sistema. Entretanto, estudos cinéticos similares com AHA demonstraram que este não foi

degradado pela lacase e atuou muito eficientemente sobre o efluente E₁, reduzindo 70% e 73% de fenóis totais e carbono orgânico total, respectivamente.

Diante de todos estes fatos, o presente processo fornece uma alternativa para a descontaminação biológica de efluentes kraft E₁ via enzimática na presença de
5 mediadores que possuem grupos hidroxâmicos, eficientes na degradação de derivados de ligninas e cloroligninas.

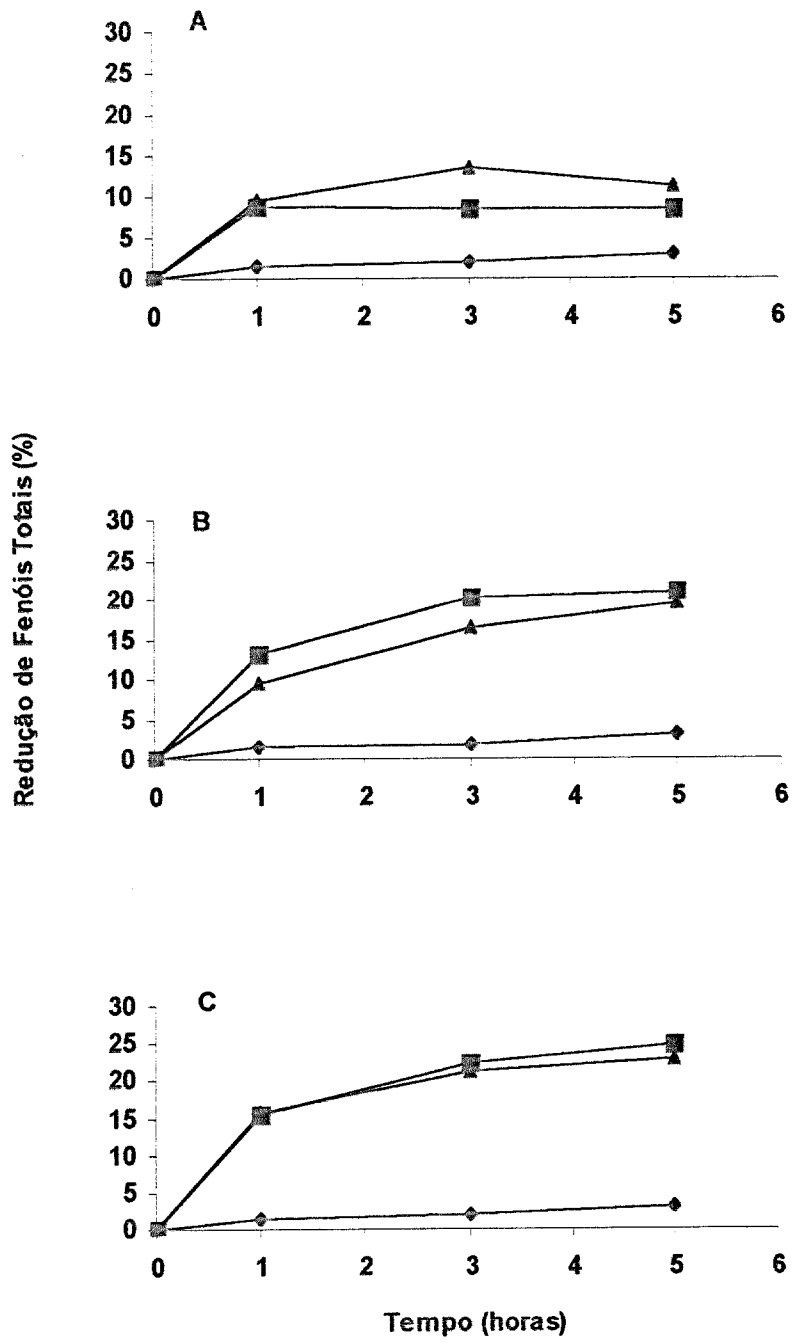


FIGURA 1

REIVINDICAÇÕES

1. “PROCESSO DE TRATAMENTO DE EFLUENTE PAPELEIRO KRAFT E1 PELO SISTEMA DE ENZIMA-MEDIADOR: LACASE-HIDROXAMATOS”

5 caracterizado pela produção de lacase pelo fungo *Trametes versicolor* induzida pela 2,5-xilidina.

2. “PROCESSO DE TRATAMENTO DE EFLUENTE PAPELEIRO KRAFT E1 PELO SISTEMA DE ENZIMA-MEDIADOR: LACASE-HIDROXAMATOS”

10 caracterizado pela utilização da enzima lacase produzida pelo fungo *Trametes versicolor* como enzima oxidativa na remediação de efluente kraft E₁ da indústria papaleira.

3. “PROCESSO DE TRATAMENTO DE EFLUENTE PAPELEIRO KRAFT E1 PELO SISTEMA DE ENZIMA-MEDIADOR: LACASE-HIDROXAMATOS”

15 caracterizado pela utilização de mediadores de lacase como ABTS, HBT, 3-HAA na presença da enzima lacase produzida pelo fungo *Trametes versicolor* na remediação de efluente kraft E₁ da indústria papaleira.

4. “PROCESSO DE TRATAMENTO DE EFLUENTE PAPELEIRO KRAFT E1 PELO SISTEMA DE ENZIMA-MEDIADOR: LACASE-HIDROXAMATOS”,

20 caracterizado pela utilização de mediadores de lacase derivados de ácido hidroxâmico, como o polihidroxiato de *Thermoascus aurantiacus*, acetohidroxâmico e desferral na presença da enzima lacase produzida pelo fungo *Trametes versicolor* na utilização como enzima oxidativa na remediação de efluente kraft E₁ da indústria papaleira.

5. “PROCESSO DE TRATAMENTO DE EFLUENTE PAPELEIRO KRAFT E1 PELO SISTEMA DE ENZIMA-MEDIADOR: LACASE-HIDROXAMATOS”,

25 caracterizado pela alta efetividade de ácido acetohidroxâmico na degradação de fenóis e de carbono orgânico total no efluente kraft E₁ da indústria papaleira.

RESUMO

“PROCESSO DE TRATAMENTO DE EFLUENTE PAPELEIRO KRAFT E1 PELO SISTEMA DE ENZIMA-MEDIADOR: LACASE-HIDROXAMATOS “

Este processo refere-se a uma metodologia no tratamento de efluente E₁ pelo sistema lacase-mediador. O valor máximo atingido de diminuição de fenóis na ausência de mediadores foi de 23%. O 1-hidroxibenzotriazol (HBT) não apresentou efeito significativo em efluentes kraft. Dos mediadores estudados os hidroxamatos foram os mais eficientes no tratamento do efluente kraft E₁. Entre os hidroxamatos o ácido acetohidroxâmico (AHA), foi o mais eficiente na degradação de fenóis (70%) e no carbono orgânico total (73%) e não apresentou degradação significativa pela lacase.