

EXPLORAÇÃO DA ENZIMA PEROXIDASE NA DEGRADAÇÃO SUSTENTÁVEL DO CORANTE TARTRAZINA: UMA ABORDAGEM COMPUTACIONAL

Beatriz Blanda de Lima ¹

Alúísio Marques da Fonseca ²

RESUMO

O presente estudo foca na teoria da degradação do corante tartrazina (E102) usando a enzima peroxidase como abordagem sustentável para o tratamento de efluentes industriais. No caso, os corantes do tipo azo, como a tartrazina, são amplamente utilizados na indústria têxtil, alimentícia e cosmética, devido à sua capacidade de gerar cores intensas e duráveis. Contudo, o descarte inadequado desses corantes no ambiente representa um risco significativo, devido à sua resistência à degradação natural e à potencial liberação de compostos tóxicos, como aminas aromáticas. A tartrazina, em particular, é alvo de preocupações quanto à segurança alimentar e à saúde, uma vez que estudos associam seu consumo a reações alérgicas e outros efeitos adversos em indivíduos sensíveis. Neste cenário, a enzima peroxidase surge como uma alternativa eficaz, catalisando reações de oxidação e demonstrando potencial para a remoção de corantes de efluentes. Este trabalho buscou avaliar a eficiência da peroxidase na degradação da tartrazina, otimizando as condições de reação e investigando os produtos resultantes. A pesquisa pretende contribuir para o desenvolvimento de processos de tratamento de águas residuais que sejam ecologicamente viáveis, ajudando a minimizar o impacto ambiental dos corantes sintéticos e promovendo a preservação dos recursos hídricos e da saúde pública.

Palavras-chaves: Corante azo. Degradação enzimática. Sustentabilidade. Efluentes industriais.

1. INTRODUÇÃO

Os corantes azo, amplamente empregados em setores como a indústria têxtil, alimentícia e cosmética, são caracterizados pela presença de grupos azo ($-N=N-$) em sua estrutura, conferindo-lhes cores intensas e duráveis. Estes compostos são utilizados para realçar a aparência de produtos, desde tecidos e alimentos até medicamentos e cosméticos, e estão entre os corantes sintéticos mais produzidos mundialmente. No entanto, o descarte inadequado de corantes azo na natureza, especialmente no tratamento de efluentes têxteis, apresenta sérios riscos ambientais. "Efluentes industriais contendo corantes representam sérios riscos ambientais e requerem soluções tecnológicas adequadas" (LIN et al., 2023).

Dentre os corantes azo, a tartrazina (E102) é um dos mais utilizados e também alvo de preocupações relacionadas à saúde e ao meio ambiente. Esse corante amarelo é amplamente aplicado na indústria alimentícia, farmacêutica e cosmética para dar cor vibrante aos produtos. Em alimentos, é encontrado em doces, bebidas, e produtos de panificação; na indústria farmacêutica, colabora na diferenciação de medicamentos; e nos cosméticos, está presente em maquiagens e produtos de higiene pessoal (Freitas, 2012: 66). Embora a tartrazina seja aprovada em muitos países, estudos apontam possíveis reações adversas, incluindo alergias em pessoas sensíveis e hiperatividade em crianças, embora as evidências ainda sejam debatidas (Prado & Godoy, 2003). Além disso, sua alta resistência à degradação natural torna o descarte desse corante nos efluentes industriais um desafio ambiental significativo.

Nesse contexto, o uso de enzimas, como a peroxidase, representa uma alternativa promissora para o tratamento de efluentes contendo corantes resistentes. A peroxidase é uma enzima amplamente estudada por sua capacidade de catalisar reações de oxidação utilizando o peróxido de hidrogênio (H_2O_2) como agente oxidante. Encontrada em plantas, animais e microrganismos, essa enzima desempenha um papel crucial na proteção celular contra o estresse oxidativo, degradando o peróxido de hidrogênio que pode ser tóxico em altas concentrações (Copini, 2022). Sua aplicabilidade em reações de degradação de corantes tem sido investigada devido ao seu potencial para remover compostos tóxicos de efluentes industriais de forma eficiente e ambientalmente segura.

O presente estudo buscou avaliar o potencial da peroxidase na degradação da tartrazina, investigando as condições ideais para sua atividade e os produtos gerados nesse processo. Ao explorar as interações entre a enzima e o corante, este trabalho pretende contribuir para o desenvolvimento de métodos sustentáveis de tratamento de águas residuais, com o objetivo de reduzir o impacto ambiental dos corantes sintéticos e proteger a saúde pública e os recursos hídricos.

1.1. Corantes azo e a tartrazina E102

Os corantes azo são compostos químicos bastante utilizados em diversos setores, usados em várias indústrias, pois conseguem criar cores intensas e bem marcantes. Eles são definidos pela presença de um ou mais grupos azo em sua estrutura e são aplicados em áreas como têxteis, alimentos e cosméticos. Os corantes têxteis são substâncias coloridas utilizadas para conferir cor permanente a fibras e tecidos. A indústria têxtil, que utiliza uma grande variedade de corantes, enfrenta desafios significativos relacionados ao tratamento de efluentes, especialmente em relação à remoção de corantes das águas residuais geradas durante o processo de tingimento (Guaratini & Zanoni, 2000).

Reck e Paixão (2016) destacam que os corantes azo são poluentes resistentes devido à sua estrutura química estável, apresentando desafios significativos para a remoção em efluentes. Apesar de oferecer uma grande variedade de cores e resistir bem à luz e ao calor, tem uma preocupação crescente com a toxicidade de alguns desses corantes e com as aminas aromáticas que eles podem liberar, "Os corantes sintéticos azo são uma importante classe de poluentes, pois apresentam em sua composição estruturas de anéis aromáticos e grupos azo funcionais que lhes conferem estabilidade e os tornam componentes de difícil remoção" (Reck; Paixão, 2016, p. 61).

A Tartrazina (E102) é um corante amarelo da família dos corantes azo e eficaz usada nas indústrias alimentícia, farmacêutica e cosmética devido a sua habilidade em dar uma cor amarela vibrante aos produtos. Os corantes têm sido incorporados de forma precoce e em quantidades significativas na alimentação, representando diversos riscos à saúde, especialmente para crianças. Este grupo, sendo o maior consumidor desses produtos, é atraído pelo apelo visual que os corantes proporcionam, tornando os alimentos mais atrativos e aprimorando suas

características sensoriais (Silva et al., 2019, p. 2). Entretanto, com o aumento das preocupações sobre a segurança alimentar e os possíveis efeitos negativos dos aditivos artificiais na saúde, surgiu a demanda de encontrar maneiras eficazes de degradar esses compostos.

Ainda que o uso da tartrazina seja aprovado em muitos países, sua segurança tem sido objeto de debate. Estudos têm sugerido que a tartrazina pode estar associada a reações alérgicas em indivíduos sensíveis, especialmente aqueles com asma ou intolerância à aspirina. O corante amarelo tartrazina é um dos azocorantes que pode causar reações alérgicas mais severas, principalmente naquelas pessoas com intolerância à aspirina e pacientes asmáticos, isso tudo pelo seu uso amplamente difundido (Rodrigues, 2015:15). Nesse contexto, buscar métodos eficazes para degradar a tartrazina, como o uso de enzimas, é fundamental para reduzir os impactos ambientais causados por esse corante.

1.2. A peroxidase como solução enzimática para a degradação da tartrazina

A peroxidase têm se destacado como uma alternativa propícia para o tratamento de efluentes e resíduos sólidos, especialmente em um contexto de crescente preocupação ambiental. Segundo Copini (2022), "a utilização das peroxidases vem sendo vastamente estudada devido às suas funcionalidades e às suas diversas aplicações industriais". Assim, uma enzima envolvida em reações de oxidação, tem se mostrado eficaz na degradação de corantes azo, como a tartrazina.

A peroxidase é uma enzima que catalisa reações de oxidação usando peróxido de hidrogênio (H_2O_2) como agente oxidante. Essas enzimas são encontradas em uma variedade de organismos, incluindo plantas, animais e microrganismos, e desempenham papéis importantes nos processos metabólicos. A peroxidase é essencial para proteger as células do estresse oxidativo porque ajuda a quebrar o peróxido de hidrogênio, que pode ser tóxico em altas concentrações. Copini, D. V. (2022).

2. METODOLOGIA

O objetivo do presente estudo é avaliar a eficiência da enzima peroxidase como catalisador para a degradação do corante azo tartrazina E102. A metodologia para explicar os processos de degradação da tartrazina com a enzima peroxidase incluiu quatro etapas distintas, cada uma delas implementada com o uso de avançados instrumentos computacionais. Essas etapas são realizadas da seguinte maneira:

2.1. Preparação dos sistemas moleculares.

Nesta primeira etapa do estudo, os sistemas moleculares foram preparados com o uso de Discovery Studio 21.1. Foram preparados e otimizados modelos 3D da enzima peroxidase e da molécula tartrazina obtidos no Protein Data Bank com o código: PDB #1ENO (Silva et al. 2012). Além disso, diversos ajustes das moléculas foram aplicados para o cálculo do raio de corte. Para ter certeza da eficácia e racionalidade dos modelos, alguns parâmetros moleculares foram especificados: carga atômica dos átomos individualmente, geometria e energia interação com o Autodocktools (Huey et al. 2012; Nascimento & Honório 2012). Em vista disso, a fase de otimização foi fundamental para garantir a validade dos modelos e a estabilidade dos sistemas moleculares construídos, permitindo que as simulações seguintes fossem realizadas com um alto grau de precisão.

2.2. Simulação de docking molecular

Na segunda fase do estudo, houve a simulação de acoplamento molecular entre a enzima peroxidase e o corante tartrazina (Figura 1A) por meio da utilização do programa Dock Vina (Trott and Olson 2010). A grade foi utilizada na mesma região do ligante nativo, NAD (Figura 1B), com as coordenadas nos eixos X, Y e Z: 1,771 16,941 44,049, com tamanho especificado na forma cúbica, de 27x27x27 Å³. Esta abordagem permitiu uma visão detalhada das interações entre o ligante (tartrazina) e a proteína alvo (peroxidase), com o intuito de identificar os sítios de ligação preferenciais e prever a afinidade entre as moléculas envolvidas. A análise das interações resultantes foi essencial para compreender os mecanismos pelos quais a tartrazina se liga à enzima, fornecendo informações indispensáveis sobre as possíveis conformações do complexo enzima-substrato.

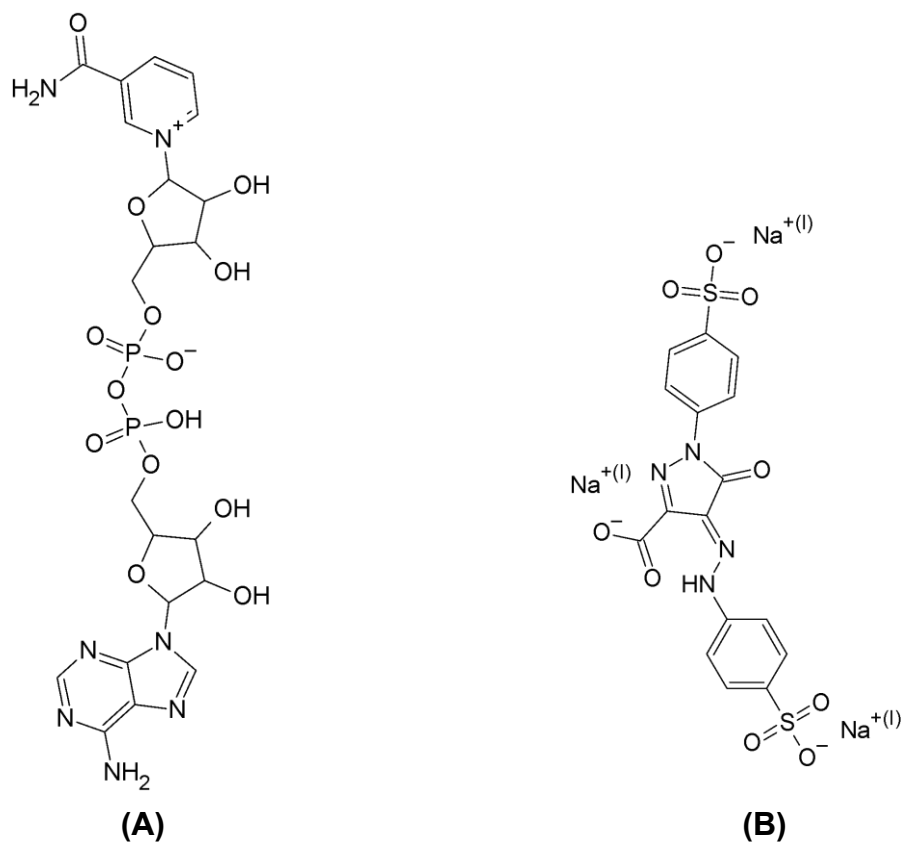


Figura 1.(A) Estrutura do NAD (ligante de referência) e (B) Estrutura do corante tartrazina.

2.3. Análise estrutural

Por fim, na quarta fase, foi realizada uma análise estrutural detalhada dos complexos formados entre a enzima peroxidase e o substrato tartrazina durante as simulações, utilizando o software PyMOL (DeLano 2020). Esta análise possibilitou a visualização tridimensional das interações moleculares específicas, facilitando a identificação de resíduos-chave envolvidos na ligação entre a enzima e o corante. Através dessa abordagem, foram observadas as características estruturais que influenciam a eficácia catalítica da peroxidase na degradação do corante azo.

O objetivo da pesquisa visa buscar a eficácia da enzima peroxidase na degradação da tartrazina em ambiente simulado, bem como analisar a seletividade da enzima em relação a outros corantes azo. Logo, busca-se contribuir para a

compreensão dos mecanismos envolvidos na degradação da tartrazina e potenciais aplicações dessa pesquisa no contexto do tratamento de efluentes industriais.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

As simulações realizadas têm como resultado a interação entre a peroxidase e o corante tartrazina. No primeiro momento, os modelos tridimensionais da peroxidase e tartrazina foram otimizados, como é mostrado nas Tabelas 1, assegurando a estabilidade dos sistemas moleculares analisados.

Tabela 1. Valores de energia obtidos do Docking molecular.

Ligantes	Energia de afinidade (kcal/mol)	RMSD (Å)
NAD	-9,2	1,6
Tartrazina	-8.1	1,5

Logo depois, simulações de acoplamento molecular evidenciaram locais de ligação preferenciais entre a tartrazina e a peroxidase. De acordo com os dados obtidos, a tartrazina se liga principalmente ao sítio ativo da enzima, como N evidenciado pela interação representada na Figura 1A e 1B, em comparação com o ligante de referência, NAD. Esta ligação é fundamental para o estudo da afinidade entre as moléculas, o que é crítico para aplicações em processos de degradação.

3.1. Análise das interações de NAD com a enzima peroxidase (Imagem A)

Na análise das interações de NAD com a enzima peroxidase, observou-se que o NAD estabelece um conjunto de interações de hidrogênio e interações hidrofóbicas que estabilizam sua ligação no sítio ativo da enzima. Entre os resíduos envolvidos nessas interações estão Tyr 32, Asp 28, Leu 88, Ala 90 e Tyr 198, que contribuem para a manutenção da conformação do NAD na cavidade de ligação, permitindo que ele desempenhe seu papel nas reações redox catalisadas pela enzima. Além disso, resíduos como Ser 136, Leu 137 e Ala 138 encontram-se em proximidade direta com o anel de nicotinamida do NAD, facilitando o processo catalítico essencial para a atividade da peroxidase. Esses resíduos, ao interagirem com o anel de nicotinamida, possibilitam uma orientação adequada do NAD, favorecendo sua oxidação ou redução. Tais interações são fundamentais para a eficiência catalítica da peroxidase,

que depende da estabilização e da orientação precisa do NAD no sítio ativo para realizar com eficácia as reações redox.

3.2. Análise das interações do corante com a enzima peroxidase (Imagem B)

Na análise das interações do corante azo com a enzima peroxidase, observou-se um padrão de ligação que, embora similar ao NAD, exhibe algumas diferenças importantes no contexto da atividade catalítica. O corante forma interações de hidrogênio significativas com resíduos como Asp 28 e Asn 30, sugerindo uma afinidade particular por essa região específica do sítio ativo da enzima. Essas interações de hidrogênio são complementadas por associações hidrofóbicas com resíduos como Trp 52, Ala 90 e Asp 89, que se ligam ao anel aromático do corante, provavelmente estabilizando-o na cavidade ativa. A orientação do corante, no entanto, parece diferir do ligante nativo (NAD), com um ângulo e posição de ligação que sugerem um mecanismo de interação específico. A presença de resíduos como Trp 52 e Asp 89, que participam de interações hidrofóbicas e hidrogênicas, é crucial, pois estes podem facilitar as reações redox que levam à degradação catalítica do corante. A atuação da peroxidase sobre o corante pode envolver a clivagem das ligações duplas conjugadas responsáveis pela cor do composto, uma etapa essencial para sua degradação em processos de tratamento de efluentes, indicando que a peroxidase pode promover uma oxidação eficaz do corante.

3.3. Comparação e discussão das semelhanças e diferenças nas interações

Tanto o NAD quanto o corante estabelecem interações de hidrogênio com resíduos na cavidade ativa da peroxidase, evidenciando uma afinidade significativa da enzima por ambos. Essas interações ocorrem em regiões onde os resíduos desempenham papéis catalíticos, como Asp 28 e Leu 137, sugerindo que o corante, assim como o NAD, pode ser alvo de reações catalíticas na peroxidase. No entanto, existem diferenças importantes entre os dois compostos em relação à estrutura e posição de ligação. Enquanto o NAD se associa predominantemente com resíduos que favorecem diretamente as reações redox, o corante se posiciona de maneira mais próxima a resíduos aromáticos, como Trp 52, que podem facilitar a clivagem oxidativa de sua estrutura. Para que o corante seja degradado, a peroxidase deve utilizar o ambiente redox da cavidade ativa para promover a oxidação e ruptura das ligações

duplas conjugadas do corante, que conferem a coloração ao composto. Assim, a enzima apresenta potencial para degradar corantes nos efluentes por meio de uma reação de oxidação que desestabiliza a estrutura do corante, resultando na perda de sua cor e auxiliando na remediação ambiental.

NAD (A)

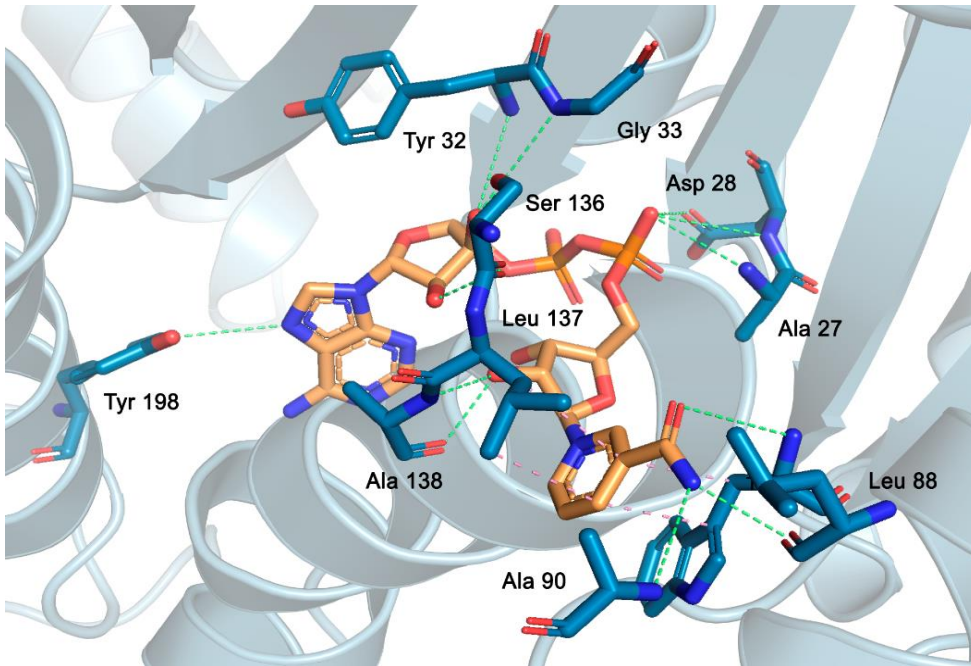


Figura 1. (A) Interações entre a peroxidase e NAD (ligante de referência)

Corante (B).

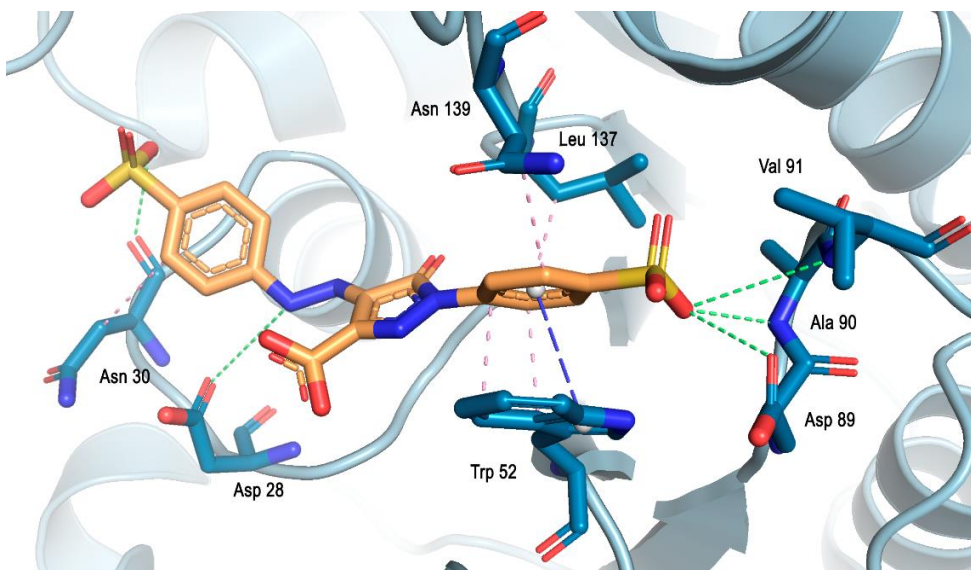


Figura 2. (B) Interações entre a peroxidase e o corante tartrazina.

4. CONCLUSÃO

Em síntese, a análise estrutural dos complexos formados nas simulações revelou resíduos-chave envolvidos nas interações entre a peroxidase e os compostos estudados, como o NAD e o corante tartrazina, que compartilham afinidades com regiões catalíticas da enzima. Tanto o NAD quanto a tartrazina formam interações de hidrogênio e hidrofóbicas com resíduos na cavidade ativa, como Asp 28 e Leu 137, sugerindo que a peroxidase possui um ambiente propício para promover reações redox em ambos os compostos. No entanto, as diferenças na orientação e nos resíduos específicos de interação apontam para mecanismos distintos de ação, nos quais a peroxidase pode facilitar a degradação oxidativa do corante. A associação com resíduos aromáticos, como Trp 52, e a proximidade de regiões redox indicam que a enzima é capaz de romper as ligações duplas conjugadas da tartrazina, desestabilizando sua estrutura e eliminando sua cor. Esses achados destacam a peroxidase como uma ferramenta promissora para o tratamento de efluentes industriais, possibilitando a remoção eficiente de corantes como a tartrazina por meio de um mecanismo de degradação catalítica, o que contribui para uma abordagem ambientalmente sustentável de remediação.

REFERÊNCIAS

BERNAL, Claudia; RODRÍGUEZ, Karen; MARTÍNEZ, Ronny. Integrating enzyme immobilization and protein engineering: An alternative path for the development of novel and improved industrial biocatalysts. *Biotechnology Advances*, v. 36, p. 1470-1480, set./out. 2018.

COPINI, Daniele Vania. *Peroxidases: obtenção, recuperação e aplicação na área ambiental*. 2022. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Engenharia Ambiental e Sanitária) - Universidade Federal da Fronteira Sul, Erechim, 2022.

DeLANO, W. L. *The PyMOL Molecular Graphics System, Version 2.3*. Schrödinger LLC, 2020.

EFSA PANEL ON FOOD ADDITIVES AND NUTRIENT SOURCES ADDED TO FOOD. Scientific opinion on the re-evaluation of tartrazine (E 102) on request from the European Commission. *EFSA Journal*, v. 7, n. 11, p. 1331, 2009. Disponível em: <https://efsa.onlinelibrary.wiley.com/doi/10.2903/j.efsa.2009.1331>. Acesso em: 28 out. 2024.

ELY, Cyntia; KEMPKA, Anielia P.; SKORONSKI, Everton. Aplicação de Peroxidases no Tratamento de Efluentes. *Revista Virtual de Química*, v. 8, n. 5, 27 jul. 2016.

FERNANDES, Layse Almeida de Farias; FELIX, Tatiane da Silva. Experimentação com corantes naturais: uma alternativa sustentável para a indústria têxtil de Caruaru. *Revista de Engenharia e Tecnologia*, [S.l.], v. 11, n. 1, p. 16-20, jan./mar. 2022. DOI: <https://doi.org/10.51359/2763-7425.2022.253840>. Acesso em: 31 ago. 2024.

FREITAS, A. S. Tartrazina: uma revisão das propriedades e análises de quantificação. *Acta Tecnológica*, v.7, n.2, p.65-72, São Luis, 2012.

GUARATINI, C. C. I. ZANONI, M. V. B. Corantes têxteis: uma revisão sobre as tecnologias de tratamento e os impactos ambientais. *Química Nova*, v. 23, n. 1, p. 71-78, 2000.

HUEY, R.; MORRIS, G. M.; FORLI, S. Using AutoDock 4 and AutoDock Vina with AutoDockTools: A Tutorial. In: *The Scripps Research Institute Molecular*, 2012. p. 32.

LIMA, L. M. Química Medicinal Moderna: desafios e contribuições brasileiras. *Química Nova*, v. 30, n. 6, p. 1456-1468, nov. 2007.

LIN, J.; YE, W.; XIE, M. et al. Environmental impacts and remediation of dye-containing wastewater. *Nature Reviews Earth & Environment*, [s.l.], 2023. DOI: [10.1038/s43017-023-00489-8](https://doi.org/10.1038/s43017-023-00489-8).

NASCIMENTO, L. F. HONÓRIO, K. M. Introdução ao AutoDock: Ferramenta de Docking Molecular. *Revista Brasileira de Ensino de Bioquímica e Biologia Molecular*, v. 10, p. 65-74, 2012.

PRADO, M. A.; GODOY, H. T. Corantes artificiais em alimentos. *Alimentos e Nutrição*, Araraquara, v. 14, n. 2, p. 237-250, 2003.

RECK, I. M.; PAIXÃO, R. M. Impactos ambientais dos corantes azo e tratamentos de remoção: uma revisão. *Revista Uningá Review*, v. 28, n. 2, p. 61-66, out./dez. 2016. Disponível em: <http://www.mastereditora.com.br/review>. Acesso em: 13 nov. 2024.

RODRIGUES, P. S. *Estudo do uso de corantes artificiais em alimentos e estimativa de ingestão de tartrazina pela população brasileira*. 2015. 105 f. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2015.

SANTACRUZ-JUÁREZ, Ericka; BUENDIA-CORONA, Ricardo E. RAMÍREZ, Ramsés E.; SÁNCHEZ, Carmen. Fungal enzymes for the degradation of polyethylene: Molecular docking simulation and biodegradation pathway proposal. *Journal of Hazardous Materials*, v. 411, p. 125118, 5 jun. 2021.

SILVA, M. C.; CORRÊA, A. D.; TORRES, J. A.; AMORIM, M. T. S. P. Descoloração de corantes industriais e efluentes têxteis simulados por peroxidase de nabo (*Brassica campestris*). *Química Nova*, v. 35, 2012. DOI: <https://doi.org/10.1590/S0100-40422012000500005>.

SILVA, N. B.; MOURA, V. M. C.; IBIAPINA, D. F. N.; BEZERRA, K. C. B. Aditivos químicos em alimentos ultraprocessados e os riscos à saúde infantil. *Revista Eletrônica Acervo Saúde*, Teresina, v. 21, n. 21, 2019.

SOUZA, Cláudio Lima de; PERALTA-ZAMORA, Patrício. Degradação reductiva de azo-corantes utilizando ferro metálico. *Engenharia Sanitária e Ambiental*, v. 11, n. 1, p. 16-20, jan./mar. 2006.

TROTT, O.; OLSON, A. J. AutoDock Vina: improving the speed and accuracy of docking with a new scoring function, efficient optimization, and multithreading. *Journal of Computational Chemistry*, v. 31, n. 2, p. 455-461, 2010.