



## Exposição da peroxidase à luz ultravioleta: efeitos sobre a atividade enzimática

A. F. V. Comunello<sup>1</sup>, C. F. Oliveira<sup>1</sup>, L. Kupski<sup>1</sup>, J. G. Buffon<sup>1</sup>

1 - Escola de Química e Alimentos – Universidade Federal do Rio Grande – CEP: 96203-900 – Rio Grande – RS – Brasil, Telefone: 3233-6796 – e-mail: (anaflaviacomunello@gmail.com)

**RESUMO** – A peroxidase (PO) é amplamente utilizada no tratamento de efluentes e degradação de corantes e micotoxinas. O aumento da eficiência da enzima nesses processos pode ocorrer pela aplicação de tratamentos físicos com luz ultravioleta. Assim, o objetivo desse estudo foi avaliar o efeito da luz ultravioleta na atividade enzimática da PO. Para tanto, extrato de peroxidase comercial foi submetido a luz ultravioleta (365 nm), por tempos variando de 5 a 60 min. Os dados foram expressos em atividade enzimática relativa. O tratamento com luz ultravioleta não alterou a atividade da PO ( $p < 0,05$ ) nos primeiros 10 min de exposição. Contudo, a partir desse tempo observou-se redução da atividade da enzima em até 49% em 55 min. Esses resultados indicam que, possivelmente, devido a estabilidade da enzima comercial, o tratamento com luz ultravioleta não foi capaz de incrementar a atividade da PO.

**ABSTRACT** – Peroxidase (PO) is widely used in wastewater treatment and the degradation of dyes and mycotoxins. The enzyme's efficiency in these processes can be enhanced by applying physical treatments with ultraviolet light. Therefore, the aim of this study was to evaluate the effect of ultraviolet light on the enzymatic activity of PO. For this purpose, commercial peroxidase extract was subjected to ultraviolet light (365 nm) for times ranging from 5 to 60 minutes. The data were expressed as relative enzymatic activity, assuming the enzyme activity in the control treatment as 100%. Ultraviolet light treatment did not alter PO activity ( $p < 0.05$ ) within the first 10 minutes of exposure. However, from that time onward, a reduction in enzyme activity of up to 49% was observed at 55 minutes. These results suggest that, possibly due to the stability of the commercial enzyme, ultraviolet light treatment was not able to enhance PO activity.

**PALAVRAS-CHAVE:** tratamento físico; incremento; guaiacol.

**KEYWORDS:** physical treatment; enhancement; guaiacol.

### 1. INTRODUÇÃO

As enzimas são proteínas que apresentam atividade catalítica, podendo ser classificadas em 7 grupos de acordo com as reações que catalisam (IUBMB, 2024). As peroxidases (PO) são enzimas classificadas no grupo das oxidoredutases, decompondo peróxidos (comumente o peróxido de hidrogênio) para oxidar substratos orgânicos e inorgânicos (Demarche et al., 2012; Passardi et al.,



19 A 21 DE MAIO DE 2025 | BENTO GONÇALVES | RS

2007; Kerstner, Santos e Garda-Buffon, 2021). Essas enzimas podem ser de fonte vegetal, animal e microbiana (Chen et al., 2014; Fernandes et al., 2020; Karim e Husain, 2009).

Devido a versatilidade de aplicação da PO, ela pode ser utilizada em diferentes áreas na indústria, destacando-se na degradação de corantes (Calza, Zacchigna, e Laurenti, 2016) e no tratamento de efluentes (Ramalho et al., 2015). Além disso, estudos em escala laboratorial evidenciaram a capacidade das enzimas PO em degradar micotoxinas, contaminantes naturais de grande preocupação para saúde pública (Feltrin et al., 2017; Garcia, Feltrin e Garda-Buffon, 2018; Nogueira et al., 2022).

Tendo em vista a importância da PO na degradação de contaminantes sintéticos e naturais, estratégias capazes de aumentar a eficiência catalítica dessa enzima vêm sendo estudadas, dentre estas a luz ultravioleta (luz UV) (Kerstner et al., 2024; Peykarestan e Seify, 2012). No estudo de Kerstner et al. (2024) o aumento da atividade de PO extraída de farelo de arroz foi observada quando utilizado luz UV em comprimento de 365 nm por 45 min, resultando em atividade relativa cerca de 20% superior a solução enzimática bruta. Assim, o objetivo desse estudo foi avaliar o efeito da luz UV na atividade enzimática da PO após diferentes tempos de exposição, visando incremento da sua atividade catalítica para posterior emprego na redução de micotoxinas.

## **2. MATERIAL E MÉTODOS**

### **2.1 Materiais**

A peroxidase de raiz forte tipo VI foi adquirida da empresa Sigma Chemical Company (E.U.A.). Para determinação da atividade enzimática foram utilizados tampão fosfato de potássio 100 mM pH 6, peróxido de hidrogênio 0,08% (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>), água destilada e guaiacol 1%.

### **2.2 Tratamento físico da enzima**

O tratamento físico da PO foi realizado em câmara com gabinete revelador cromatográfico modelo GRC-03 da marca Dist, contendo lâmpada UV de 8 W e comprimento de onda de 365 nm, seguindo metodologia de Kerstner et al. (2024), com modificações no tempo de exposição e volume de extrato enzimático. Para tanto, 1 mL de solução enzimática foi adicionado em placas de petri (15 mL), posicionadas a 25 cm de distância da lâmpada e expostas a luz UV por 5, 10, 20, 25, 35, 40, 45, 50, 55 e 60 min.

### **2.3 Determinação da atividade enzimática**



19 A 21 DE MAIO DE 2025 | BENTO GONÇALVES | RS

A determinação da atividade da enzima foi feita antes e após os tratamentos, seguindo metodologia de Devaiah e Shetty (2009). O meio reacional consistiu por 0,4 mL de água destilada, 0,3 mL de tampão fosfato de potássio 100 mM pH 6, 0,2 mL de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 0,08%, 0,2 mL do extrato enzimático e 0,1 mL de guaiacol 1%. A reação foi acondicionada em banho termostático a 25 °C, por 20 min e lida em espectrofotômetro a 470 nm. Uma unidade da atividade enzimática da PO (U) representa a quantidade de enzima que catalisa a oxidação de 1 µmol de guaiacol em 1 min. A atividade relativa da enzima foi calculada considerando a atividade do experimento controle (PO sem tratamento físico) como sendo 100%.

## 2.4 Análise estatística

A normalidade dos dados foi verificada pelo teste de Kolmogorov-Smirnov. O teste de Tukey foi aplicado para identificar os tempos de tratamentos que tiveram diferenças, ao nível de significância de 5%. Todos os testes estatísticos foram realizados no software Statistica 7.0.

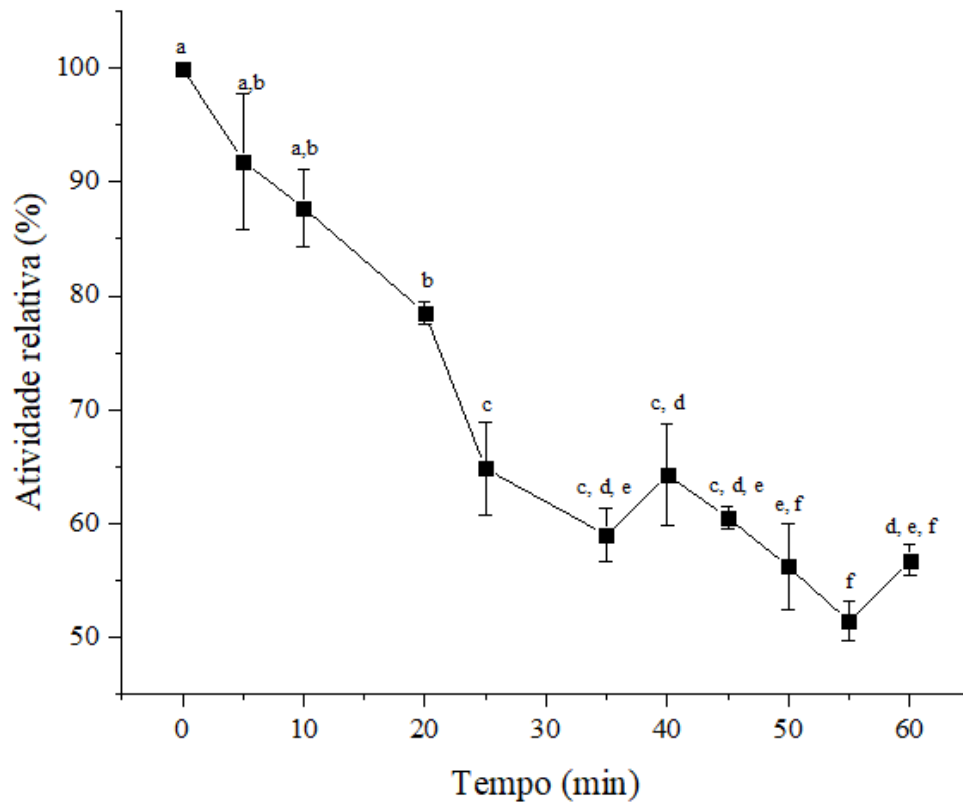
## 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

A atividade enzimática da PO do extrato comercial diluído em água ultrapura denominado controle foi de 0,0034 U mL<sup>-1</sup>. O tratamento com luz ultravioleta (365 nm) não alterou a atividade da PO ( $p > 0,05$ ) após 5 e após 10 min de exposição. Contudo, após este período de exposição a luz UV foi observado um decréscimo na atividade da enzima, com redução de até 49% na atividade relativa, como pode ser observado na Figura 1. Esse resultado difere do encontrado por Kerstner et al. (2024), que observaram incremento de 20,7% e 24,1% na atividade de PO extraída de farelo de arroz tratada por 45 min e 60 min, respectivamente. Os mesmos autores também avaliaram esse tratamento em PO extraída de farelo de soja e observaram que os incrementos de atividade ocorreram nos tempos de 15 e 60 min.

Essa diferença nos resultados pode ser devido à natureza das enzimas utilizadas. A peroxidase extraída de resíduos agroindustriais possivelmente apresenta composição aminoacídica diferenciada da obtida de raiz forte adquirida comercialmente, o que pode levar a diferentes comportamentos quando submetidas a luz UV. Outro aspecto relacionado à natureza da enzima é a sua pureza, pois durante a extração de PO de resíduos agroindustriais podem ser coextraídos compostos que interferem em sua atividade (Garcia, Feltrin e Garda-Bufferon, 2018). Além disso, o volume de solução enzimática utilizado na exposição à luz UV pode interferir nos resultados de atividade, visto que a ação da luz é superficial.



**Figura 1** - Atividade relativa da enzima peroxidase comercial sob tratamento com luz ultravioleta em comprimento de onda de 365 nm



Letras iguais indicam que não houve diferença significativa estatisticamente (Tukey HSD,  $p > 0,05$ ). As barras indicam o desvio padrão das análises.

#### 4. CONCLUSÕES

O tratamento com luz UV a 365 nm não alterou ( $p > 0,05$ ) a atividade da enzima PO comercial de raiz forte nos primeiros 10 min de exposição. Entretanto, foi observado que com o aumento do tempo de exposição houve decréscimo na atividade relativa da enzima, com redução de até 49% em 55 min de exposição. Esses resultados indicam que nas condições avaliadas o tratamento físico com luz UV não possibilitou o incremento da atividade relativa da PO, sugerindo sua aplicação diretamente nos estudos de degradação de micotoxinas, sem tratamento prévio com luz UV.

#### REFERÊNCIAS



19 A 21 DE MAIO DE 2025 | BENTO GONÇALVES | RS

CALZA, P., ZACCHIGNA, D., LAURENTI, E. Degradation of orange dyes and carbamazepine by soybean peroxidase immobilized on silica monoliths and titanium dioxide. **Environmental Science and Pollution Research**, p. 23742–23749, 2016.

CHEN, Z., LI, H., PENG, A., GAO, Y. Oxidation of polycyclic aromatic hydrocarbons by horseradish peroxidase in water containing an organic cosolvent. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 21, n. 10696–10705, 2014.

DEMARCHE, P., JUNGHANNS, C., NAIR, R. R., AGATHOS, S. N. Harnessing the power of enzymes for environmental stewardship. **Biotechnology Advances**, v. 30, n. 5, p. 933–953, 2012.

DEVAIAH, S. P., SHETTY, H. S. Purification of an infection-related acidic peroxidase from pearl millet seedlings. **Pesticide Biochemistry and Physiology**, v. 94, n. 2–3, p. 119–126, 2009.

FELTRIN, A. C. P., FONTES, M. R. V., GRACIA, H. D. K., BADIALE-FURLONG, E., GARDA-BUFFON, J. Peroxidase from soybean meal: Obtention, purification and application in reduction of deoxynivalenol levels. **Química Nova**, v. 40, n. 8, p. 908–915, 2017.

FERNANDES, M., SOUZA, D. H., HENRIQUES, R. O., ALVES, M. V., SKORONSKI, E., JUNIOR, A. F. Obtaining soybean peroxidase from soybean hulls and its application for detoxification of 2,4-dichlorophenol contaminated water. **Journal of Environmental Chemical Engineering**, v. 8, n. 3, 2020.

GARCIA, S. O., FELTRIN, A. C. P., & GARDA-BUFFON, J. (2018). Zearalenone reduction by commercial peroxidase enzyme and peroxidases from soybean bran and rice bran. **Food Additives & Contaminants: Part A**, v. 35, n. 9, p. 1819–1831, 2018.

IUBMB. International Union of Biochemistry And Molecular Biology. Enzyme Nomenclature, 2024. Disponível em: <https://iubmb.qmul.ac.uk/>. Acesso em 07 de março de 2025.

KARIM, Z., HUSAIN, Q. Redox-mediated oxidation and removal of aromatic amines from polluted water by partially purified bitter melon (*Momordica charantia*) peroxidase. **International Biodeterioration and Biodegradation**, v. 63, n. 5, p. 587–593, 2009.

KERSTNER, F. D. O., SANTOS, L. O., GARDA-BUFFON, J. Mechanism of action, sources, and application of peroxidases. **Food Research International**, v. 143, p. 110266, 2021.

KERSTNER, F., CERQUEIRA, M. B. R., TREICHEL, H., SANTOS, L. O., GARDA-BUFFON, J. Strategies for aflatoxins B<sub>1</sub> and M<sub>1</sub> degradation in milk: Enhancing peroxidase activity by physical treatments. **Food Control**, v. 166, p. 110750, 2024.

NOGUEIRA, W. V., MOYANO, F. J., TESSER, M. B., GARDA-BUFFON, J. Mitigation of aflatoxin B<sub>1</sub> in fish feed by peroxidase from soybean meal. **Food Additives & Contaminants: Part A**, v. 40, n. 1, p. 110-120, 2023.

PASSARDI, F., THEILER, G., ZAMOCKY, M., COSIO, C., ROUHIER, N., TEIXERA, F., MARGIS-PINHEIRO, M., IOANNIDIS, V., PENEL, C., FALQUET, L., DUNAND, C. PeroxiBase: The peroxidase database. **Phytochemistry**, v. 68, n. 12, p. 1605–1611, 2007.



19 A 21 DE MAIO DE 2025 | BENTO GONÇALVES | RS

PEYKARESTAN, B., SEIFY, M. R. UV irradiation effects on seed germination and growth, protein content, peroxidase and protease activity in red bean. **International Journal of Science and Engineering Investigation**, v.1, n.3, 107–111, 2012.

RAMALHO, R. P. R. S., SCALIZE, P. S., CARAMORI, S. S. Peroxidase de gramínea de Cerrado como alternativa no tratamento de efluentes agroindustriais. **Revista Ambiente & Água**, v. 10, p. 50–59, 2015.