



ESCOLA SUPERIOR AGRÁRIA
INSTITUTO POLITÉCNICO DE CASTELO BRANCO

**DEGRADAÇÃO DE CORANTES AZO PELA
BACTÉRIA *Pseudomonas putida* MET 94**

Engenharia Biológica e Alimentar
Relatório do Trabalho de Fim de Curso

Ana Catarina Mendes Pimenta

—◆—
CASTELO BRANCO

2007

Índice

Índice de Figuras	I
Índice de Tabelas	III
Resumo	IV
Abstract	V
1. Introdução	1
1.1 Corantes	2
1.1.1 História dos corante	2
1.1.2 Cor nos efluentes têxteis	3
1.1.3 Classificação dos corantes	4
1.1.4 Corantes azo	4
1.1.5 Remoção dos corantes	5
1.2 Crescimento microbiano	6
1.3 Cinética enzimática	8
1.3.1 Cofactores	11
1.4 <i>Pseudomonas putida</i>	11
2. Materiais e Métodos	13
2.1 Crescimento de <i>P. putida</i> em condições aerobiose e anaerobiose	13
2.1.1 Crescimento em condições aerobiose	13
2.1.2 Crescimento em condições anaerobiose	14
2.2 Crescimento na presença de corante Sudan Orange G em condições de aerobiose e anerobiose	14
2.3 Degradação do SOG com células inteiras de <i>P. putida</i>	17
2.3.1 Obtenção de células	17
2.3.2 Estudo da descoloração células inteiras <i>P. putida</i>	19
2.3.2.1 Efeito da concentração de celular	19
2.3.2.2 Efeito do pH	19
2.3.2.3 Efeito da temperatura	20
2.3.2.4 Estudo da cinética de descoloração	20
2.3.2.5 Efeito da adição de um mediador redox	21
2.3.2.6 Cinética de degradação de corantes monitorizada por HPLC	21
2.4 Actividade enzimática com extractos celulares	22
2.4.1 Preparação do extracto celular	22

2.4.1.1	Determinação da concentração de proteína	23
2.4.2	Actividade enzimática com extractos celulares em condições de aerobiose e anaerobiose.....	24
2.4.2.1	Efeito da concentração de proteína na degradação com extracto celular.....	24
2.4.2.2	Efeito do pH na degradação com extracto celular	25
2.4.2.3	Efeito da adição de um mediador redox na degradação com extracto celular	25
2.4.2.4	Efeito de cofactores na degradação com extracto celular	25
2.4.3	Actividade enzimática nas fracções	26
3.	Resultados e Discussão	27
3.1	Crescimentos em condições de aeróbias e anaeróbias na presença e ausência de corante	27
3.1.1	Crescimentos na ausência de corante	27
3.1.2	Crescimentos na presença de corante em aerobiose e anaerobiose, com células pré-adaptadas	28
3.2	Estudo da descoloração células inteiras <i>P. putida</i> em repouso, não adaptadas em anaerobiose	31
3.2.1	Efeito da concentração celular na catálise com células inteiras	32
3.2.2	Efeito do pH na catálise com células inteiras	33
3.2.3	Efeito da temperatura na catálise com células inteiras	35
3.2.4	Estudo da cinética de descoloração na catálise com células inteiras	36
3.2.5	Efeito da adição de um mediador redox na catálise com células inteiras	37
3.2.6	Cinética de degradação de corantes monitorizada por HPLC.....	39
3.3	Actividade enzimática na presença de extracto celular	40
3.3.1	Actividade enzimática com extracto celular em condições de aerobiose e anaerobiose	41
3.3.2	Efeito da concentração de proteína na degradação com extracto celular	42
3.3.3	Efeito do pH na degradação com extracto celular	42
3.3.4	Efeito do mediador na degradação com extracto celular	43
3.3.5	Degradação do SOG com extracto celular na presença de cofactores	43
3.4	Actividade enzimática nas fracções.....	45
4.	Conclusões	46
5.	Referências Bibliográficas	48
	Agradecimentos	

Resumo

Uma grande percentagem de corantes utilizados na indústria têxtil é libertada nos efluentes industriais. Sendo os tratamentos convencionais para a sua remoção difíceis, procura-se alternativamente encontrar uma aproximação biotecnológica a estes.

Investigou-se a capacidade da bactéria *Pseudomonas putida* MET 94 na degradação de corantes da indústria têxtil e caracterizou-se o crescimento da estirpe em condições aeróbias e anaeróbias, na ausência e presença do corante azo, Sudan Orange G (SOG), sendo o crescimento anaeróbio bastante mais lento e com maior capacidade degradativa (80%) do que em aerobiose (31%).

Na degradação do corante com células inteiras, estudou-se o efeito de alguns parâmetros (p.e. concentração celular, pH, temperatura, cinética e adição do mediador), sendo as condições óptimas de degradação em anaerobiose a pH 8,0, 30°C e 50µM. Na presença de mediador antraquinone-2-sulfonate, AQS, verifica-se um aumento da velocidade com a concentração.

Por HPLC, comparou-se a percentagem e velocidade de descoloração para as condições óptimas, verificando-se a redução de 100% do pico de corante para uma velocidade de 0,18 nmol/min.mL e observando-se a formação de novos produtos.

Estudaram-se ainda alguns parâmetros do sistema enzimático envolvido com extractos celulares, fracção membrana e solúvel: concentração de proteína, pH, efeito do mediador e cofactores (NAD, NADP, FAD e FMN).

Palavras-chave: Corante azo; Sudan Orange G; Degradação; *Pseudomonas putida*.