



UNIVERSIDADE FEDERAL DE CAMPINHA GRANDE
CENTRO DE EDUCAÇÃO E SAÚDE
CURSO DE BACHARELADO EM FARMÁCIA
TRABALHO DE CONCLUSÃO DO CURSO

FRANCISCO GABRIEL PEREIRA

**EXTRAÇÃO E PURIFICAÇÃO DA PEROXIDASE DE FONTES
VEGETAIS E SUA APLICAÇÃO NA BIOCONVERSÃO DE FENOL**

CUITÉ- PB

2024

FRANCISCO GABRIEL PEREIRA

**EXTRAÇÃO E PURIFICAÇÃO DA PEROXIDASE DE FONTES VEGETAIS E
SUA APLICAÇÃO NA BIOCONVERSÃO DE FENOL**

Trabalho de Conclusão de Curso
apresentado ao Curso de Bacharelado em
Farmácia da Universidade Federal de
Campina Grande como parte dos requisitos
para obtenção do título de bacharel em
Farmácia.

Orientador: Prof. Dr. Wellington Sabino
Adriano

CUITÉ- PB

P436e Pereira, Francisco Gabriel.

Extração e purificação da peroxidase de fontes vegetais e sua aplicação na bioconversão de fenol. / Francisco Gabriel Pereira. - Cuité, 2024.
49 f. : il. color.

Trabalho de Conclusão de Curso (Bacharelado em Farmácia) - Universidade Federal de Campina Grande, Centro de Educação e Saúde, 2024.

"Orientação: Prof. Dr. Wellington Sabino Adriano".

Referências.

1. Peroxidases. 2. Fontes vegetais - peroxidases. 3. Fenol. 4. Peroxidases vegetais - purificação. 5. Peroxidases vegetais - extração. 6. Bioconversão de fenol. 7. Centro de Educação e Saúde. 8. Farmácia - curso - Cuité. I. Adriano, Wellington Sabino. II. Título.

CDU 613.2(043)

EXTRAÇÃO E PURIFICAÇÃO DA PEROXIDASE DE FONTES VEGETAIS E SUA APLICAÇÃO NA BIOCONVERSÃO DE FENOL

Francisco Gabriel Pereira¹

Wellington Sabino Adriano²

RESUMO

As peroxidases são importantes enzimas extraídas das mais variadas espécies de plantas, sendo utilizadas para os mais diversos fins. Entre as várias utilizações da peroxidase, se destaca seu uso na degradação dos compostos fenólicos para a preservação dos aquíferos e ecossistemas, já que os fenóis, liberados principalmente em resíduos industriais, prejudicam o meio ambiente. Sendo assim, esse Trabalho de Conclusão de Curso foi baseado na premissa de concordância e explanamento, exposta por levantamentos bibliográficos mais atuais, sobre a importância dos métodos de extração e purificação das peroxidases vegetais, sendo justificado pela relevância em se aprofundar no tema proposto, para o entendimento das bases científicas que corroboram características essenciais das peroxidases como agentes antipoluentes eficazes contra compostos fenólicos. Quanto ao objetivo, essa pesquisa foi direcionada em descrever as técnicas mais utilizadas nos últimos anos sobre a extração e purificação da enzima peroxidase, bem como a utilização desta na bioconversão do fenol. Tendo como objetivos específicos: i) relatar as espécies de plantas mais utilizadas na extração da POX; ii) conjunturar sobre os métodos mais modernos de purificação de peroxidases; iii) apresentar os processos químicos envolvidos na catalização enzimática dos compostos fenólicos pela POX; iv) realizar um levantamento de autores e artigos que assemelhem suas pesquisas ao tema proposto desse trabalho. O resultado obtido com esse trabalho evidenciou, a partir de comparações entre artigos publicados por autores que exploraram os benefícios da peroxidase e seus métodos de extração, a diversidade e o custo-benefício dos diversos procedimentos extrativos e de purificação, tendo como a cromatografia por troca iônica o padrão ouro nos métodos de purificação de peroxidase. Assim sendo, concluiu-se que as POX, facilmente obtidas e tendo fontes ilimitadas de obtenção, se demonstraram como agentes antipoluentes altamente eficazes em ecossistemas prejudicados por substâncias

fenólicas de natureza industrial; e seus métodos de extração e purificação como altamente vantajosos e eficazes para a promoção da proteção ambiental diante do desenvolvimento industrial em uma dada área.

EXTRACTION AND PURIFICATION OF PEROXIDASE FROM VEGETABLE SOURCES AND ITS APPLICATION IN THE BIOCONVERSION OF PHENOL

Francisco Gabriel Pereira¹

Wellington Sabino Adriano²

ABSTRACT

Peroxidases are important enzymes extracted from the most varied species of plants, being used for the most diverse purposes. Among the various uses of peroxidase, its use in the degradation of phenolic compounds for the preservation of aquifers and ecosystems stands out, since phenols, released mainly in industrial waste, harm the environment. Therefore, this Course Completion Work was based on the premise of agreement and explanation, exposed by more current bibliographical surveys, on the importance of extraction and purification methods of plant peroxidases, being justified by the relevance of delving deeper into the proposed topic, to the understanding of the scientific bases that corroborate essential characteristics of peroxidases as effective anti-polluting agents against phenolic compounds. As for the objective, this research was aimed at describing the techniques most used in recent years for the extraction and purification of the peroxidase enzyme, as well as its use in the bioconversion of phenol. Having the specific objectives: i) report the plant species most used in the extraction of POX; ii) provide information on the most modern methods for purifying peroxidases; iii) present the chemical processes involved in the enzymatic catalysis of phenolic compounds by POX; iv) carry out a survey of authors and articles that resemble their research to the proposed theme of this work. The result obtained from this work showed, based on comparisons between articles published by authors who explored the benefits of peroxidase and its extraction methods, the diversity and cost-benefit of the various extractive and purification procedures, such as exchange chromatography ionic the gold standard in peroxidase purification methods. Therefore, it was concluded that POX, easily obtained and having unlimited sources, proved to be highly effective anti-polluting agents in ecosystems harmed by phenolic substances of an industrial nature; and its extraction and

purification methods as highly advantageous and effective for promoting environmental protection in the face of industrial development in a given area.

Keywords: Peroxidases. Extraction. Purification. Phenolic compounds

¹Graduando do Curso de Farmácia pela UFCG

²Orientador Profe. Me. do Curso de Farmácia pela UFCG

Dedico esse trabalho a quem se dedicou inteiramente a me proporcionar o melhor,

minha amada mãe Maria do Socorro
(Corrita).

AGRADECIMENTOS

Primeiramente agradeço a Deus e o Sagrado Coração de Jesus por guiar e proteger meus passos, me fortalecendo a cada dia para que pudesse finalizar esse trabalho e sempre dar-me esperança em um futuro reservado de coisas grandiosas e boas.

Aos meus pais Maria do Socorro (Corrita) e José Pereira (Zeza) que são peças essenciais e fundamentais em toda a minha trajetória acadêmica para que eu pudesse dar prioridade e percorresse o caminho dos estudos com maestria e sabedoria, sou muito grato a vocês, meus pais por todo o amparo em dias difíceis onde procurei o abrigo em vocês.

Ao meu irmão Guilherme Pereira, que sempre me ajudou muito, serviu de apoio momentos complicados e sempre continuando ao meu lado para que pudesse chegar aonde estou.

A todos os meus familiares que contribuíram de forma direta e indireta para a minha formação acadêmica e na minha construção pessoal, em especial ao meu tio José Edvanaldo Pereira que me ajudou diretamente em todo o processo da minha graduação e minhas avós Francisca de Oliveira Pereira e Rita Pereira da Silva (*in memoriam*) que sempre torceram e estremeceram por cada conquista minha, fazendo questão de mostrar isso em cada conversa que tivemos.

Ao meu padrinho Jomário Pereira que fez papel muito importante e me serviu como exemplo para percorrer na jornada acadêmica, uma pessoa ímpar nessa vida e também a minha afilhada Isabelly que sempre me mostra a alegria e toda a felicidade quando me chama de “padim”.

A minha tia Fátima que foi uma pessoa muito importante no meu ensino médio, sendo uma mulher que admiro muito e quero um bem grande.

Aos meus amigos que fiz em Sousa durante meu ensino médio, Alan, Ana Vitória, Luan, Rafaela e Thamyres que são pessoas muito importantes para mim e agradeço de coração toda as histórias que vivemos, conselhos dados e a construção dessa amizade tão linda.

Tenho bastante carinho as minhas grandes amigas que a graduação me concedeu Anny Caroline, Ana Paula, Gabrielle Maniçoba, Jessica Gabrielly, Joanna Karla e

Silvânia Nariely que se fizeram presente nos momentos mais conturbados e difíceis, mas também nos momentos de alegria, compartilhando os mais diversos conhecimentos e experiências, que fizeram minha graduação se tornar mais leve. São pessoas que vou levar para toda minha vida. A minha amiga Anna Karla que a graduação me mostrou no momento que achei que ia ficar só no curso de férias, mas ela como um ser luz e coração imenso, me

A toda equipe da Roval do Cariri e ao meu preceptor Jair Dantas Alves por ter me proporcionado um estágio tão enriquecedor e cheio de conhecimentos que me fizeram direcionar meus olhos e me descobrir no ramo da manipulação. Formando meus pensamentos que me fizeram enxergar como futuro farmacêutico magistral.

Aos professores do curso de farmácia que repassaram seus conhecimentos para a construção dos profissionais da saúde que fazem a graduação em farmácia no Centro de Educação e Saúde da Universidade Federal de Campina Grande.

A professora Francinalva que me mostrou como os projetos de extensão veio para engrandecer a vivência acadêmica e juntar a comunidade com os universitários, através de suas palavras e conselhos nos momentos que mais precisávamos nos encontros e reuniões, sendo ela muito importante na minha formação como profissional e como pessoa.

Ao professor Wellington Sabino Adriano por ter aceitado me orientar, por todos os conhecimentos repassados e principalmente por toda a paciência que teve comigo no decorrer da construção desse TCC, obrigado por todas as horas que se dedicou para tirar minhas dúvidas.

Sumário

1 Introdução	12
2.1 BIOLOGIA E FUNÇÕES DA PEROXIDASE EM PLANTAS	15
2.1.1 Papel fisiológico e biológico da peroxidase em plantas	15
2.1.2 Mecanismos de ação da peroxidase	17
2.2 TIPOS DE PEROXIDASE EM FONTES VEGETAIS	18
2.3 MÉTODOS DE EXTRAÇÃO DE PEROXIDASE	25
2.3.1 Métodos convencionais	25
2.3.3 Fatores que influenciam a eficiência da extração	27
2.4 MÉTODOS DE PURIFICAÇÃO DE PEROXIDASE	28
2.5 APLICAÇÕES DA PEROXIDASE NA BIOCONVERSÃO DE FENOL	30
2.5.1 Fenol como poluente industrial	30
2.5.2 Mecanismos de bioconversão catalisados por peroxidase	32
3 METODOLOGIA DA REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	34
3.1 BASES DE DADOS PESQUISADAS	34
3.2 CRITÉRIOS DE EXCLUSÃO E INCLUSÃO	34
5 CONSIDERAÇÕES FINAIS	43
REFERÊNCIAS	44

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Figura 1: <i>Cedro Cedrela fissilis</i>	17
Figura 2:Figura 2: Mapa de distribuição de <i>C. fissilis</i> no brasil com modificações.....	18
Figura 3: Figura 3: <i>Commiphora gileadensis</i>	19
Figura 4: Figura 4: <i>Ficus carica</i>	20
Figura 5: Figura 5: <i>Plumeria rubra L.</i>	20

LISTA DE QUADROS

Quadro 1: Disposição dos artigos científicos selecionados para a Revisão Integrativa.....	32
--	----

1 INTRODUÇÃO

No Brasil se consta uma grande variedade de vegetais, onde na sua maioria é de baixo custo e encontrado facilmente em todos os estados brasileiros. A grande variedade de fontes vegetais vem sendo utilizada e caracterizada nas suas aplicações nas indústrias de alimentos e farmacêutica, nas formas de processos analíticos, industriais e bioquímicos, tendo como fontes alguns exemplos como a: *Cedrela fissilis*, *Commiphora gileadensis*, *Ficus carica*, *Artocarpus heterophyllus*, *Azadirachta indica*, *Panicum maximum*, *Vigna radiata*, *Caralluma umbellata* (NETO, A. J. Z,2021).

Esses vegetais apresentam uma grande fonte inesgotáveis de enzimas, onde se pode ser utilizada no preparo de um extrato bruto ou na sua forma *in natura*, sendo obtidos por meio de procedimentos de fácil extração. Dependendo da aplicação analítica do vegetal, sempre se deve fazer sua extração e posteriormente sua purificação. Geralmente, se divide em vários procedimentos, em que cada etapa vira um processo de pré-extração e pré-purificação. Uma das etapas de extração é a preparação do extrato bruto e da purificação (ZERAİK, t al, 2018). Deixando suas fontes de extração bem ampla e com forte potência para pesquisas e descobertas de fontes com altos níveis de enzimas.

O processo de extração deve sempre seguir um método já predefinido como a de Galdino, 2018 que possa buscar a concentração da enzima através de extrato bruto no processo de extração. Para assim ser levado para o processo de purificação, que seja definido as vertentes das pesquisas. Também sendo usada nas aplicações das bioconversões, entre elas a do fenol.

Os compostos fenólicos são conhecidos como poluentes devido seu efeito mutagênico e sua toxicidade em baixas doses (WANG et al., 2015). Com isso se apresenta uma das principais classes de poluentes orgânicos, o fenol e alguns de seus derivados, podem ser encontrados na composição de desinfetantes, pesticidas, antissépticos e plásticos (DE ARAUJO et al., 2016). Sendo setor industrial que se concentra as maiores atividades para a contribuição da contaminação ambiental. O seu grande consumo de água leva à produção de vários rejeitos de produtos líquidos contendo substâncias tóxicas recalcitrantes, as quais acabam por ser despejadas em depósitos hídricos de forma inadequada (SALLES, P. T. F. PELEGRINI, N. N. B. PELEGRINI, 2016).

Mas a ação de redução do peróxido de hidrogênio enquanto se catalisam a oxidação de compostos orgânicos, faz com que a peroxidase vire a principal enzima na bioconversão do fenol devido sua alta disponibilidade e baixo custo, sendo bastante eficaz

em um efluente sintético contaminado com fenol e na toxicidade, baixando os níveis (QUINTANILLAGUERRERO et al., 2018).

A partir dessa contextualização, este trabalho tem com relevância a descrição das fontes de peroxidase do meio vegetal, como os métodos de extração e com cada autor descreveu a melhor forma para que se tenha um grau de pureza e eficácia para as análises dos extratos brutos. Levando em consideração as maneiras mais diretas na bioconversão do fenol da sua forma mais tóxica e prejudicial no meio ambiente.

A extração e purificação de peroxidase de fontes vegetais e sua aplicação na bioconversão do fenol representam um tema de significativa importância científica e prática. Visto que os fenóis são poluentes comuns em águas residuais industriais e podem ter efeitos prejudiciais ao meio ambiente, com isso a ação da peroxidase na capacidade de degradar os compostos fenólicos. E com a utilização da sua extração através de fontes vegetais que são de abundância e renováveis, tornando-as candidatas atraentes para a obtenção da peroxidase.

Explorando de métodos de extração e purificação de fontes vegetais está alinhada com a tendência de recursos sustentáveis e renováveis em aplicação com a biotecnologia. Os compostos fenólicos, incluindo os fenóis, podem apresentar riscos para a saúde dos seres humanos e dos ecossistemas onde ele se apresenta, ao explorar a peroxidase de fontes vegetais, que são consideradas seguras, existe um potencial de desenvolvimento de processos de bioconversão que sejam menos perigosos e mais sustentáveis em comparação com os métodos químicos tradicionais.

Diante do exposto, com o fim de deliberar acerca da melhor maneira de obtenção e utilização das POX, sobretudo, para a descontaminação ambiental, foram formuladas as seguintes perguntas: “Quais são os principais métodos utilizados na extração e purificação da peroxidase a partir de fontes vegetais e qual a sua aplicabilidade na bioconversão de fenol?”

Para responder esses questionamentos, foi proposto como objetivo desse trabalho descrever as técnicas mais utilizadas nos últimos anos sobre a extração e purificação da enzima peroxidase, bem como a utilização desta na bioconversão do fenol.

Ainda podem ser considerados, também, objetivos desse trabalho, de modo específico: a) relatar as espécies de plantas mais utilizadas na extração da POX; b) conjunturar sobre os métodos mais modernos de purificação de peroxidases; c) apresentar os processos químicos envolvidos na catalização enzimática dos compostos fenólicos pela

POX; d) realizar um levantamento de autores e artigos que assemelhem suas pesquisas ao tema proposto desse trabalho.

2 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

2.1 BIOLOGIA E FUNÇÕES DA PEROXIDASE EM PLANTAS

2.1.1 Papel fisiológico e biológico da peroxidase em plantas

Conceitualmente, as enzimas podem ser compreendidas como proteínas que possuem a atribuição específica de precipitar reações químicas celulares, sendo, por esta razão, notáveis catalisadores devido às suas propriedades. Em sua maioria, estas proteínas são globulares, com exceção das ribozimas, as quais são enzimas de unidades do RNA (MARZZOCO; TORRES, 2022).

Nos últimos anos, maiores estudos têm sido desenvolvidos a fim de estabelecer funções diversificadas para estas proteínas, dentre as quais, por exemplo para tratamentos não convencionais de processos industriais que geram grande quantidade de efluentes com alto potencial de contaminação do meio ambiente, para processos bioquímicos (FONSECA, 2022).

Isto porque as enzimas são, em síntese, proteínas biocatalizadoras que podem ser encontradas em múltiplas fontes e utilizadas em materiais recalcitrantes e em diversos índices de pH e temperatura. Dentre elas, destaque-se a enzima peroxidase (POX), pertencente ao grupo das oxirredutases, o que significa que faz uso do peróxido de hidrogênio na função de co-substrato com o objetivo de oxidar os substratos orgânicos e inorgânicos, fenólicos e não fenólicos, gerando radicais livres (VEDANA; BROCHIER, 2021).

Esta oxidação ocorre através da eliminação do H_2O_2 , o que origina a lignina e, conseqüentemente, aumentando a resistência mecânica da parede das células para agir contra a ação de enzimas líticas provenientes de diversos patógenos (FONSECA, 2022).

A POX, assim, está ligada à oxidação dos fenóis, à formação e reticulação de componentes da parede celular, a espécies reativas de oxigênio, à produção de fitoalexinas, à suberização celular de vegetais hospedeiros, ao catabolismo de auxinas e a processos de lignificação (MARTINS, 2019).

Além disso, a peroxidase pode ser produzida e extraída de distintas fontes animais e vegetais, dentre as quais microrganismos, mamíferos e plantas. Esta enzima está, ainda, dentre as proteínas-RP, pertencente à família PR-9, estando, portanto, vinculadas à patogênese (MARTINS, 2019; WERLANG *et al.*, 2018).

Ressalte-se que, na falta de peróxidos, a POX também pode tanto catalisar a oxidação de determinados substratos através do oxigênio molecular, quanto hidroxilar distintos compostos aromáticos, como, por exemplo, a tirosina, a fenilalanina, dentre outros fenólicos (ALENCAR; KOBLITZ, 2018).

As peroxidases podem ser classificadas em heme- e não heme-peroxidases a partir da presença ou não do grupo heme. Estas últimas, por sua vez, são subdivididas em outras duas famílias: a peroxidase-ciclo-oxigenase (PCOXS), que tem origem exclusivamente animal, estando relacionadas com a imunidade, as respostas defensivas do organismo etc., e a peroxidase-catalase (PCATS), que provêm, mormente, de vegetais, fungos e bactérias, mas também de invertebrados aquáticos (peroxidase-catalase) (FONSECA, 2021).

Essas POX não-animais são ainda subdivididas em três classes: a) Classe I: presentes em organismos procariontes e eucariontes, com papel significativo na desintoxicação do H₂O₂; b) Classe II: presentes em fungos, agindo na biodegradação de lignina; e c) Classe III: encontradas de forma vasta entre vegetais, como os rábanos, amendoim, soja, etc., com papel no ciclo de vida vegetal, no metabolismo de ROS e da parede das células, na lignificação, na suberização, na cicatrização de danos, no crescimento e amadurecimento de frutos, na germinação, dentre outros processos (ALENCAR; KOBLITZ, 2018).

Dentre as principais características da POX está a termoestabilidade, o que significa que essa enzima pode manter-se ativa em temperaturas adversas e se regenerar em algumas horas após a desnaturação térmica tanto em temperatura ambiente quanto em temperaturas mais baixas (WERLANG *et al.*, 2018).

Importante ressaltar que, estando presente, como mencionado anteriormente, no reino vegetal, a peroxidase possui papel fisiológico e biológico relevante no ciclo de desenvolvimento das plantas, sendo responsável, reitere-se, pela lignificação, que funciona como meio de defesa desses organismos, pela detoxificação das células, pelo processo cicatricial de ferimentos e, obviamente, pela oxidação de compostos fenólicos (FONSECA, 2022).

Enquanto enzima pertencente ao grupo das oxirredutases, a peroxidase diminui os prejuízos relacionado ao excesso de peróxidos nos órgãos vegetais em condições de estresse que são associadas à germinação, à colheita e ao envelhecimento. Isto porque tais processos podem ocasionar o aumento de peróxidos nas células vegetais e, conseqüentemente, danos oxidativos, gerando produtos tóxicos que serão combatidos

pela ação catalisadora da POX que enfrenta reações relacionadas à deterioração nutricional (RODRIGUES, 2018).

Quando ocorre em vegetais, a POX faz uso tanto do peróxido, quanto, em determinados casos, do oxigênio – aquele como substrato e este como acceptor de hidrogênio – a fim de promover a reação oxidativa (LIMA; COSTA, 2018).

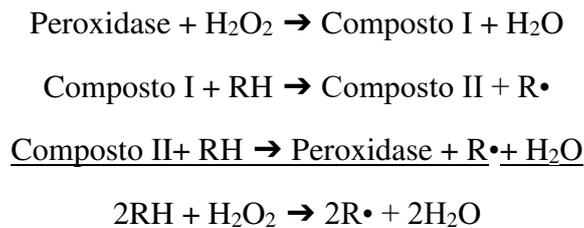
Logo as enzimas incluem um grupo capaz de catalisar a transferência do hidrogênio com oxidação do substrato utilizando o poder oxidante do H₂O₂ ou de peróxidos orgânicos. O substrato geralmente é um composto aromático (tirosina, compostos fenólicos, etc.), sendo que também podem atuar sobre compostos não aromáticos, como o ácido ascórbico (Rodrigues, 2018, p. 37).

Além disso, através da biossíntese da parede celular vegetal, a peroxidase auxilia na defesa contra patógenos, cuja penetração se torna mais lenta com o aumento das barreiras mecânicas. Sua ação, entretanto, pode causar mudanças negativas na coloração, no aroma, no sabor e nas propriedades nutricionais de vegetais estocados e sua inativação atua também como indicador de adequação de branqueamento em processamentos (LIMA; COSTA, 2018; RODRIGUES, 2018).

Isso porque a POX está atrelada ao escurecimento enzimático, o que se dá através do uso de compostos fenólicos como substratos que podem levar à oxidação quando associados a peróxidos. Ressalte-se, entretanto, que, em alguns casos, este escurecimento é almejado, como ocorre com algumas frutas, a exemplo de ameixas, café e uvas passas. Em outras situações, porém, pode afetar negativamente na aparência do fruto e na redução de sua vida útil (OLIVEIRA, 2018).

2.1.2 Mecanismos de ação da peroxidase

A fórmula química que expressa a reação geral catalisada pela POX pode ser descrita como a seguinte: $ROOH + AH_2 \rightarrow H_2O + ROH + A$. Nesta fórmula, conforme ensinam Alencar e Koblitz (2018), o composto ROOH indica o substrato oxidante, que, comumente, pode ser o peróxido de hidrogênio (R = H) ou um metil/etil peróxido. O peróxido, então, reage com a POX e gera o Composto I oxidado que se reduz em duas etapas a fim de regenerar a peroxidase, a partir do que serão produzidos radicais livres, conforme as fórmulas abaixo:



Nesta fórmula, portanto, o substrato se associa à peroxidase, favorecendo a ocorrência da reação catalisada. O mecanismo de ação da POX, assim, é estimulado pela diferença de potencial que há entre o seu centro ativo e o substrato.

Ressalte-se que os efeitos específicos desta reação geral da POX em organismos vegetais vivos, demonstrada nas fórmulas anteriores, são difíceis de serem pormenorizados, principalmente por sua semelhança com os resultados de reação de outras enzimas e por fazer uso de grande número de substratos cujos resultados sofrem reações de condensação e polimerização subsequentes (ALENCAR; KOBLITZ, 2018).

Com relação ao seu papel atrelado à cicatrização de feridas, a peroxidase atua como enzima respiratória para a formação do *callus* e seu mecanismo de ação se dá através do aumento do volume de CO₂ e do consumo de O₂ sempre que a planta sofre algum dano (PEIXOTO, 2020).

2.2 TIPOS DE PEROXIDASE EM FONTES VEGETAIS

2.2.1 Identificação e caracterização de diferentes isoformas

Diversas enzimas desempenham uma gama de funções garantindo de forma complexa o funcionamento biológico das fontes vegetais, entre elas se encontra a enzima peroxidase, sendo identificada nas variadas espécies de plantas, essa enzima, apresenta uma variada de formas presente em diferentes compartimentos subcelulares. A primeira reação catalisada pela peroxidase foi registrada pelo farmacêutico Louis Antoine Plance em um estudo sobre a resina de *jalap* no uso da medicina na França, onde se teve uma série de testes para determinar acerca da remessa particular foi adulterada com resina *gaiac* (*guaiacum*) (FONSECA, 2021)

Onde o farmacêutico observou que a resina de *gaiac* apresentou um distinto tom azulado ao entrar em contato com as raízes de rábano, essa reação se deu pela peroxidase presente nas raízes, que ao se catalisar a oxidação do 2,5-di-(4-hidroxi-3-metoxifenil)-

3,4-dimetilfurante, um composto que se apresenta em menor quantidade na resina, também conhecido na literatura como ácido alfa-guaiacônico, sendo assim, essa reação de catalização formou em bis-metilenoquinona, substância de tom azulado conhecida com guaiacum blue. E assim se teve a primeira reação protagonizada pela peroxidase, que se foi usado como termo nas seguintes literaturas e formas de identificar primária para suas isoformas (FONSECA, 2021).

As diferentes formas de peroxidases (peróxido de hidrogênio óxido-redutases) são encontradas na natureza amplamente. Tendo em sua especificidade relacionada aos substratos de forma que suas propriedades multifuncionais e a sua disponibilidade justifiquem suas aplicações nos diversos processos analíticos, industriais e bioquímicos (VETAL; RATHOD, 2015).

Sendo uma das classes de enzimas que possui grande importância para a aplicação em uma vasta gama de tratamentos de efluentes, como sua participação na degradação de corantes e compostos fenólicos, além está presente na aplicação de kits de diagnósticos e no processo de alimentos (BANSAL; KUMARI; K-ANWAR, 2022). Enzimas peroxidases são de forma majoritária proteínas heme, que utilizam do peróxido de hidrogênio ou hidroperóxidos orgânicos como um co-substrato para oxidar uma variedade de substâncias orgânicas e inorgânicas.

As heme-peroxidases são enzimas essenciais para o metabolismo do peróxido de hidrogênio e a sinalização além de oxidorreductores ubíquas, as heme-peroxidases catalases catalisam a oxidação de um ou dois doadores de elétrons pelo peróxido de hidrogênio. Exemplo de grupo prostético é a ferriprotoporfirina IX que é uma característica bastante comum de todas as peroxidases heme, onde o grupo consiste em quatro anéis pirrólicos ligados por pontes de metileno com ferro (III), como o átomo central (SOUZA, 2020).

Peroxidases contendo o grupo heme pertencem a 4 grandes superfamílias de proteínas, dominadas de superfamília peroxidases-catalases, que evoluíram independentemente, superfamília das peroxidases-ciclooxigenases, superfamília das peroxidases-clorito dismutases e a superfamília peroxidases-peroxygenases. Sendo em maior abundância a superfamília peroxidase-catalase e presente no reino vegetal, essa família ao longo da sua história evoluiu e adquiriu diversas funções em diferentes (SOUZA, 2020).

Nas plantas as enzimas peroxidases podem ser divididas em duas classes heme-peroxidases, dependendo das suas isoformas, sendo elas as I- peroxidases intracelulares

relacionadas com peroxidases bacterianas e as II- peroxidases direcionadas à via secretora. Um grupo maior de isoformas da peroxidase podem ser identificadas e caracterizadas através da metodologia de focalização isoeletrica, no entanto essa identificação e caracterização se mostrou controversa, visto que algumas formas proteicas tenham sido detectadas por viés metodológicos na detecção de moléculas modificadas por desamidação e/o reticulação de outros grupos químicos de vegetais (SOUZA, 2020).

No estudo de Fonseca (2021) se utilizou a isoforma HRP peroxidase (horseradish-peroxidase), classificada na classe III (peroxidase de plantas secretoras clássicas) que foi identificada e caracterizada nas raízes de *Raphanus sativus*. Onde se caracteriza por uma isoforma com três alfa-hélices que são acrescentadas a dobra de peroxidase central, uma ligação de dissulfeto de Cys 177 para Cys 209 mantendo a integridade geral da estrutura nessa região específica. Sendo uma das mais estudada na última década (FONSECA, 2021).

Uma forma de caracterizar as isoformas é pela sua classificação filogeneticamente do genoma de COFFE SPP como Dovigo (2018), no qual se teve a identificação em APx, APx-R e APx- L, divididas de acordo com a localização subcelular e resíduos catalíticos, em APx-R com algumas substituições na sequência proteica, já na isoforma APx-L a diferenciação acontecia pela ausência quase total de vários resíduos importante para a formação dos sítios catalíticos e heme. Essas comparações foram se baseando na isoforma APx que serviu como grupo controle do estudo, se baseando nas características de identificação dessa isoforma (DOVIGO, 2018).

2.2.2 Variação entre espécies vegetais

Existe uma grande variação de isoformas da peroxidase quando se investiga as fontes vegetais, sendo assim foi escolhido algumas espécies para mostrar as apresentações das isoformas da enzima em cada uma delas, sendo elas: *Cedrela fissilis*, *Commiphora gileadensis*, *Ficus carica*, *Artocarpus heterophyllus*, como citado anteriormente, essas fontes vegetais apresentam na sua composição a enzima peroxidase.

2.2.2.1 *Cedrela fissilis*

A espécie *Cedrela fissilis* (figura 1) é uma espécie nativa da Mata Atlântica, popularmente conhecida como cedro ou cedro rosa, é uma arvore arbórea podendo atingir

até 40 metros de altura e mais encontra nas regiões do Rio Grande do Sul até Minas Gerais (figura 2) tendo maior quantidade nas formações de Floresta Ombrófila Densa Submontana. Sendo atualmente encontrada ameaçada de extinção em decorrência da importância econômica na participação da produção de madeiras de qualidade, potencial na utilização em programas de reflorestamento e conservação. Essa planta apresenta ações antrópicas, no ataque de patógenos, a perda da viabilidade e capacidade de germinação das sementes, quando armazenadas por longos períodos (OLIVEIRA,2018).



Figura 1: Cedro *Cedrela fissilis*, fontes: Árvores do Brasil

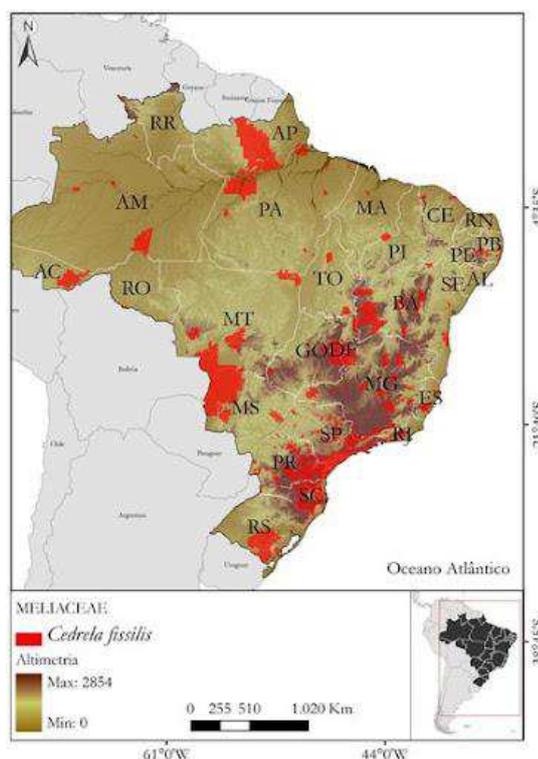


Figura 2: Mapa de distribuição de *C. fissilis* no Brasil. Fonte: CNCFlora, (2012), com modificações

Através do programa usado por OLIVEIRA, 2018 para descrever as proteínas up e down-reguladas identificadas pelo software Blast2Go PRO v 3.0 e UniProtKB (www.uniprot.org) em brotações de *Cedrela fissilis* com 45 de incubação em lâmpadas de LED BAmV e fluorescente (FLU), e em explantes (EXP) oriundos de segmentos nodais cotiledonares excisados de plântulas com 60 dias de idade, foi conseguido identificar a presença da isoforma da peroxidase 3 no score 41,19, na quantidade de 4 peptídeos, como também a isoforma da peroxidase OS (fragmento), com score 41,21 e quantidade de peptídeos igual a 5 e a isoforma peroxidase OS com score 18,10 na presença da concentração de peptídeos igual a 3 na *Cedrela fissilis*. (OLIVEIRA,2018)

2.2.2.2 *Commiphora gileadensis*

A espécie *Commiphora gileadensis* (figura 3) um arbusto do gênero *Commiphora*, mas tendo uma variação de tamanho onde em casos pode correr de crescer até os 4 metros de altura, tem características de apresentar, folhetos oblongos, com pontas agudas e levemente peludas, mais encontrado nos países do mediterrâneo, sendo uma planta medicinal que se é utilizado sua seiva, madeira, cascas e sementes, tendo um potencial farmacêuticos pelas suas atividades fitoquímicas e constituintes químicos. Também se

tem ação aromática através da quebra do seu galho e a maceração das suas folhas (JARDINEIRO NET,2020).



Figura 3: *Commiphora gileadensis*. fontes: The Balm Of Gliedad Farm

A análise do estudo de SAFHI, 2022 onde se usou como método a leitura através do espectro do ultravioleta, onde se tem a produção dos cromóforos, usando uma curva de padrão correspondente a solução 40-550 mg/L, com resultados padronizados para equivalente uma grama de matéria seca. Para a concentração das isoforma da peroxidase na *Commiphora gileadensis* se teve a denominação de C3 a concentração obtida no estudo foi de 60,87 Umg^{-1} (SAFHI,2022)

2.2.2.3 *Ficus carica*

É uma planta frutífera, de porte pequeno a médio, crescendo até os 10 metros, sendo bastante ramificada, com folhas verdes, caducas no inverno, com textura papirácea, suas flores não são visíveis pois se encontram dentro do figo, que é uma infrutescência e não uma fruta em si, também possui ação como planta medicinal, sendo indicada para trata inflamações, ferimentos, escorrimentos, tendo propriedades, laxantes, expectorantes, antibiótica. Suas partes utilizadas são suas folhas e seiva (JARDINEIRO NET, 2020)



Figura 1: *Ficus carica*, fontes: Urban Junble

No estudo de HEGAZY, 2023 se encontrou as isoformas no *Ficus carica* dando o nome a classificação de FP1, FP2 e FP3. Onde a isoforma FP1 é monomérica com um peso molecular de 30.000 Daltons, sendo exibida em mesmo pH e temperatura da FP3 que são respectivamente 5,5 e 40°C, já a isoforma FP2 foi obtida observando o pH igual a 7 e uma temperatura de 30°C (HEGAZY,2023).

2.2.2.4 *Plumeria rubra L*

Uma planta nativa da América Central, essa espécie é mais conhecida com jasmim manga, apresentando como um arbusto ou uma árvore extremamente ornamental, podendo chegar aos 3 metros de altura. Usa na medicina Ayurveda, possui inúmeras propriedades farmacológicas, sendo bactericida, vermífuga, calmante e na insônia (JARDINHERIO NET, 2020).



Figura 1: *Plumeria rubra L* fontes: Universidade Federal do Estado do Rio de Janeiro

Na pesquisa de Merchán-Gaitán, 2023 a isoforma da peroxidase denominada de Hsp70 onde se foi usada na atividade da RNA polimerase dependente de RNA viral, transporte intercelular de proteínas de replicação para analisar a sua redução no acúmulo do vírus PMeV e PMeV2 introduzido no tomate, fazendo que a replicação e redução frente a essa isoforma seja limitada (MERCHÁN-GAITÁN, 2023).

2.3 MÉTODOS DE EXTRAÇÃO DE PEROXIDASE

2.3.1 Métodos convencionais

Os métodos mais convencionais que se encontra na literatura são os de maceração, maceração assistida por agitação e extração Soxhlet, sendo também os mais utilizados em todo o mundo (ALARA et al., 2018; BELWAL e outros, 2018). A extração por maceração será baseada na separação sólido- líquido, com a presença de uma solvente orgânico ou uma água para representar a fase líquida.

Recentemente se tem as publicações de vários processos para a obtenção da peroxidase, metodologia de extração de Jackson e Ricardo, onde se precisar prensar as folhas do material de análise, para a proporção de 1 grama de folhas para 4 mL de solução tampão de fosfato de sódio 50 mM, com um pH de 6,0 tendo que estar gelado na temperatura de 5°C. Após isso, precisa homogeneizar em um liquidificador por 5 minutos em uma rotação de baixa potência, para que seja filtrado em uma gaze com o diâmetro reduzido através de 6 dobras, sendo o filtrado recolhido em banho de gelo e centrifugado a 11.000 g, a 5°C, por 15 minutos (MACIEL, H. P. F,2017).

Outra forma de extração é seguindo o método de Clemente e Siddiq, que definiram que se começa pela determinação do pH ideal, antes de fazer o extrato, usando a solução tampão de fosfato de sódio em concentração de 100 mM e os testes com pH de 5,5; 6,5 e 7,0. Terminado a determinação do pH se parte para fazer a extração, sendo pesado 30 gramas da matéria que vai ser utilizada, fazendo sua homogeneização no liquidificador com cerca de 60 mL de solução tampão e com o pH definido, após ter ficado uma mistura homogênea, as amostras devem ser filtradas em tecido de algodão, os filtrados devem ser centrifugados e 17.000 gramas por 20 minutos a uma temperatura de 4°C (GALDINO, N. O, 2018)

Seguindo a método da Embrapa onde se deve congelar as folhas antes de homogeneizar com uma temperatura máxima de 4° C em 10 mL de solução tampão de

fosfato 0,05 M com um pH de 7,0, contendo 1 mg de polivinilpirrolidona- 10. Depois se deve filtrar e centrifugar a 4000g por 20 minutos em refrigeração, e o precipitado sedimentado deve ser descartado. Com a observação que todos as vidrarias se deve ser acondicionada em temperatura de 18°C negativos, por pelo menos 4 horas, sendo necessário que os tubos estejam bem gelados, se mantendo em banho maria de gelo em todo o tempo do processo, a fim de evitar alguma atividade da enzima (MA, A. P. O. C, 2024).

Como foi analisado se tem vários métodos para a extração da enzima peroxidase no meio vegetal, sendo de muito a sua extração por meio de extratos brutos, pois se tem uma grande concentração da amostra, fazendo modificações que permitem redução na quantidade de reagentes utilizados e, conseqüentemente no custo, proporcionando maior confiabilidade nos resultados e reduzem o tempo para as análises (MA, A. P. O. C, 2024).

2.3.2 Técnicas avançadas de extração

A oxidação de distintos compostos fenólicos em soluções aquosas apresenta diferentes resultados a depender das enzimas POX utilizadas e de outros fatores. Em estudo realizado por Miyaguti (2021) na degradação de fenol, cresóis, nitrofenóis e clorofenóis foram utilizadas as enzimas horseradish peroxidase, lignina peroxidase, manganês peroxidase e cloroperoxidase. Como resultado, o autor observou que alguns compostos, dentre os quais o 4-clorofenol, o 4-cresol e o pentaclorofenol, se degradaram com mais facilidade por mais de uma daquelas enzimas POX, o que não ocorreu, entretanto, nas tentativas de oxidação enzimática e redução da toxicidade de algumas substâncias que continham o 4-nitrofenol e o 2-cresol, tendo em vista que tais enzimas não se mostraram eficientes para estes fins. A conclusão de tal estudo foi, assim, que essa eficiência das POX na oxidação de fenóis em soluções aquosas depende do tipo de enzima a ser utilizada, além de fatores como pH.

Interessante frisar que são vários os processos de obtenção de peroxidases, inclusive da horseradish peroxidase, acima citada, a qual, segundo a pesquisa de Maciel, Gouvêa e Pastores (2018), pode ser facilmente obtida das folhas da árvore *Copaifera langsdorffii*, abundante em todo o país. O extrato enzimático bruto, inclusive, também pode ser obtido de forma fácil e pouco custosa através, a princípio, do uso da proporção de 1g de folha para 4 mL de tampão fosfato de sódio 50 mM pH 6,0 gelado a 5°C homogeneizado por 5min em liquidificador e filtrado em gaze, recolhido em banho gelado

e centrifugado a 11.000 g, a 5°C por 15min. Após este processo, a enzima pode ser extraída por precipitação com acetona 65% gelada, com etanol 65% ou com sulfato de amônio a 90% de saturação.

Das enzimas POX mais utilizadas na oxidação de fenóis, cite-se aquela extraída do rabanete, através da maceração do vegetal no almofariz com 10 mL de tampão fostato em pH 6,5, posteriormente filtrado (LIMA, 2018).

A técnica de extração dos fenóis que utiliza a peroxidase do rabanete consiste na redução do substrato em radicais fenoxi na criação de dímeros que, posteriormente, formarão polímeros por meio da oxidação sucessiva (LOPEZ, 2021).

Além desta, há, ainda, a POX existente no extrato de alcachofra (*Cynara scolymus L.*), extraída através da trituração de 200 g de material vegetal com 500 mL de tampão fosfato em pH 6,5 acrescido de 0,1% de bissulfito de sódio, posteriormente filtrado e centrifugado a 17000 g por 30min a 4°C (BERNARDI, 2020).

Estudo produzido por Molina *et al.* (2018) através do uso da POX da alcachofra na oxidação enzimática de fenóis indicou que o fornecimento de quantidades adequadas de H₂O₂ e de O₂ ao meio gera o aumento da oxidação fenólica por esta enzima.

2.3.3 Fatores que influenciam a eficiência da extração

Os fatores que mais se consta na literatura que influencia no processo de extração é o tempo, temperatura, intensidade de agitação e proporção soluto-solvente (WOLFF,2019).

No estudo de Silva, 2019 onde foi definido um dos parâmetros para serem analisados foi o tempo, se notou que as amostras tiveram uma importância em relação ao tempo de extração no banho maria partir dos 70 minutos onde se usou se teve uma análise para definir uma tendência linear em relação o tempo nas temperaturas definidas anteriormente na metodologia do estudo, tendo resultados positivos no processo de extração (SILVA, 2019)

Também no trabalho de Silva (2019) a temperatura também foi um dos fatores utilizado no processo de extração para ser capaz de maximizar a eficiência do processo de extração e na identificação individual da influência. A temperatura só se mostrou influente entre os 50 e 90 minutos na extração. Também exercendo uma influência positiva e participando no processo de linearidade (SILVA, 2019).

A intensidade de agitação está ligada com o aumento da velocidade que se determina para a analisar a extração do extrato, isso foi demonstrado quando foi aumentada a potência no processo de extração fazendo com que tivesse uma maior intensidade de agitação nas moléculas contidas no extrato (CANABARRO,2016).

Foi analisado a participação do processo de extração no item de influencia a relação de soluto-solvente, onde se tem que determinar que a mesma relação seja de forma harmônica para que se tenha uma abrangência do solvente sobre o soluto. Sendo assim o fator foi bem importante para a determinação da extração visto que o mesmo apresentou fatores de rendimentos maiores do que o esperado e onde se viu que se tivesse menos solvente do que a quantidade de soluto precisava aumentar a temperatura para que ocorresse a extração, assim a influência dos fatores estão interligadas, um fator sempre agindo com a influência do outro para que se tenha uma extração de forma mais eficaz possível (CABRAL,2020).

2.4 MÉTODOS DE PURIFICAÇÃO DE PEROXIDASE

Ao longo dos anos, distintas peroxidases vêm sendo objeto de estudos que intentam analisar suas características e formas de aproveitamento. Isto ocorre devido à especificidade de seus substratos e propriedades multifuncionais, o que implicam em seu uso em diversos processos industriais, bioquímicos e analíticos, dentre os quais se destacam o tratamento de resíduos contaminados, síntese orgânica e de polímeros, construção de biossensores, entre outros usos (SOUZA, 2020).

Ocorre que, a depender da aplicação da peroxidase, faz-se imperiosa sua purificação a fim de proporcionar melhorias na eficiência de seu papel catalítico, objeto que, há algum tempo, tem ocupado a literatura científica no sentido de estudar e determinar os melhores métodos para tanto, os quais vão desde procedimentos simples até técnicas com maior sofisticação (HAAS; VAZ e KEMPKA, 2019).

Majoritariamente, estes métodos intentam alcançar uma peroxidase de alta purificação, mesmo que em baixo rendimento, para futura caracterização enzimática ou imobilização e aplicação industrial. Ressalte-se que, nesta última finalidade, a purificação da peroxidase se mostra ainda mais indispensável quando há aprimoramento de suas propriedades, como a estabilidade térmica e a capacidade de degradação de determinados

substratos, fazendo com que o nível de pureza e seu rendimento estejam atrelados ao seu uso final (ANTUNES et *al.*, 2017).

Em consequência, são vastas as técnicas que, durante anos, têm sido utilizadas para alcançar a purificação de peroxidases, podendo ser citadas, como exemplo, a CTI, a precipitação com solventes e sais, a partição trifásica, a centrifugação, o uso de propano comprimido, processos cromatográficos, dentre outros que, em síntese, serão tratados nos tópicos que se seguem (GAUTÉRIO, 2016; HAAS; VAZ e KEMPKA, 2019).

Como mencionado anteriormente, muitos são os métodos utilizados para purificação total ou parcial da peroxidase, os quais se diferenciam em suas técnicas e resultados tanto sobre a purificação quanto sobre a recuperação dessas enzimas. O uso de um ou outro método é determinado, portanto, não apenas a partir dos fins a que se pretende a peroxidase, mas também das características físico-químicas e de impurezas moleculares (ANTUNES et *al.*, 2017).

Dentre as técnicas mais comumente utilizadas, é possível citar a precipitação de proteínas por adição de sais. Tal método, que comumente utiliza sulfato de amônio, retira das proteínas toda a camada de hidratação a partir da competição, pelas moléculas de água, dos íons salinos com a proteína, tendendo a agregar e a precipitar os resíduos hidrofóbicos (HAAS; VAZ e KEMPKA, 2019).

Outra técnica é a precipitação por uso de solventes, mormente acetona, etanol e metanol, cujo principal efeito também é a diminuição da atividade da água na proteína, resultado da redução da dielétrica do solvente em conjunto com o deslocamento aquoso e à imobilização parcial das moléculas de água, o que gera o agregamento e a precipitação das moléculas de proteína (SANTOS, 2022).

2.4.1 Técnicas cromatográficas

As técnicas cromatográficas são consideradas as mais comumente utilizadas com este fim, principalmente em razão de seus resultados em relação à purificação e à recuperação dessas enzimas.

Em síntese, a cromatografia tem o objetivo de isolar e purificar o metabólito de interesse de acordo com o uso a que se destina. Via de regra, esta técnica pode ser dividida em líquida ou gasosa, mas somente a primeira é útil à purificação de metabólitos celulares (HAAS; VAZ e KEMPKA, 2019).

Dentre as técnicas mais recentes de cromatografia, é possível citar, por exemplo, a purificação por CTI (Cromatografia de Troca Iônica), cujo princípio se sustenta na reversão das atrações eletrostáticas moleculares quando expostas a uma matriz sólida composta por grupos de cargas opostas que são a ela unidos covalentemente. Dentre as vantagens do uso deste método, cita-se o alcance da purificação enzimática em 2,4 vezes a partir de um único processo e de sua recuperação em até 41%. Além disso, pode também ser utilizada em conjunto com outras técnicas, como a precipitação por sais e solventes (GAUTÉRIO, 2016).

Dentre as técnicas cromatográficas, há também a cromatografia de por exclusão, que é resultante da separação proteica dentro das moléculas, partindo do conceito de que, em comparação às moléculas maiores, que seriam retidas por mais tempo, moléculas menores penetrarão com mais facilidade e em maior quantidade na estrutura porosa do meio gel (NELSON; COX, 2014).

Também existe a cromatografia de afinidade, a qual consiste em uma técnica de separação de proteínas a ser utilizada em casos de interações específicas, nas quais os grânulos na coluna têm um grupo químico ligado de forma covalente a uma macromolécula e, “quando uma mistura de proteínas é adicionada à coluna, qualquer proteína com afinidade para esse ligante se liga aos grânulos e sua migração através da matriz é retardada” (HAAS; VAZ e KEMPKA, 2019, P. 697).

2.5 APLICAÇÕES DA PEROXIDASE NA BIOCONVERSÃO DE FENOL

2.5.1 Fenol como poluente industrial

A expansão do setor industrial, nos últimos séculos, é um fenômeno bastante controverso. Isso porque, se de um lado, ela contribuiu para o desenvolvimento da sociedade, aumentando as oportunidades de emprego, propiciando inovações tecnológicas e o crescimento econômico de diversas nações, por outro, trouxe à tona alguns problemas, muitos dos quais considerados graves, como o aumento dos riscos de acidentes de trabalho e ambientais, a emissão de poluentes e o descarte de resíduos, que exigem medidas de segurança preventivas e outras mitigadoras dos resultados dos processos industriais (KABBACH *et al*, 2018).

Alguns processos industriais tradicionais, como é o caso, por exemplo, daqueles que são desenvolvidos em fábricas têxteis, de papel, de celulose, petrolíferas, etc.,

produzem grandes volumes de efluentes líquidos com alto teor de fenol, os quais são considerados tóxicos e perigosos para o meio ambiente, prejudicando uma variedade de organismos vivos (ELY, 2017).

Isso porque alguns compostos fenólicos podem ser convertidos em derivados compostos por radicais de oxigênio, os quais são muito reativos e podem tornar-se extremamente tóxicos para seres humanos e animais, além de constituir contaminante de alto risco para o meio ambiente (CAMPOS *et al.*, 2019).

Para os organismos vivos, essa toxicidade deriva do fato de que, quando os fenóis atravessam a parede celular, são metabolizados e geram radicais livres e metabólitos eletrolíticos que podem se unir ao DNA. Ainda, estes compostos são considerados fatores irritantes da pele, podendo causar necrose tanto na derme como em células de outros órgãos, como rins e fígado, além de danos na epiderme em razão da reação do fenol com aminoácidos presentes na queratina (OLIVEIRA, 2018).

Além dos efeitos nocivos que possui o fenol, é muito importante salientar que os seus derivados podem ser altamente tóxicos. Os mais perigosos são formados por substituições na molécula de fenol com grupos clorados ou que contém nitrogênio, aumentando assim a sua toxicidade em função do número de substituintes que são incorporados a sua estrutura (BAMPI *et al.*, 2018).

Além disso, estes compostos podem ser produzidos rapidamente e se acumular em variedades resistentes, como é o caso dos ácidos clorogênico, caféico e ferrúlico. Ocorre que, enquanto, em alguns casos, quando originados naturalmente de plantas, a resistência destes compostos pode ser útil à redução de perdas causadas por doenças próprias de determinados vegetais, como o feijão, por exemplo, já que também são tóxicos aos patógenos, em outros, quando derivados de alguns processos industriais, pode resultar em prejuízo aos demais organismos (CAMPOS *et al.*, 2019).

Isto porque o fenol, inclusive em baixas concentrações, pode ser um fator de envenenamento, tendo em vista que cerca de 1g de fenol pode ser uma dose letal para um homem em idade adulta, causando sintomas como escurecimento da urina, irritação das mucosas, boca e garganta secas, perda de peso, cefaleia, danos teciduais, dores musculares, fraqueza e, finalmente, a morte (OLIVEIRA, 2018).

2.5.2 Mecanismos de bioconversão catalisados por peroxidase

Quimicamente, os compostos fenólicos podem ser explicados como estruturas químicas compostas por um ou mais substituintes hidroxílicos e anéis aromáticos, apresentando estrutura variável, podendo ser encontrados nas formas de moléculas simples ou com alto grau de polimerização e, por isso, são considerados multifuncionais (ANGELO; JORGE, 2017).

Além dessas propriedades, o fenol, também chamado de ácido carbólico, fênico ou hidroxibenzeno, também se caracteriza por ser:

[...] uma substância orgânica que se apresenta como um sólido cristalino, volátil, de odor característico e de fórmula molecular C_6H_6O . É tóxico, levemente ácido e solúvel em água de forma moderada (8,3g em 100ml), tem peso molecular de 94,1g.mol⁻¹, ponto de fusão de 43°C, ponto de ebulição 182°C, densidade relativa 1,071g.ml⁻¹ a 20 °C, pKa = 9,95 em água (Oliveira, 2018).

Estes compostos podem ser originados de fontes naturais, como as plantas e o solo, por exemplo, ou de atividades humanas, como resíduos de produção industrial e agrícola, como é o caso, por exemplo, das indústrias petroquímicas, de papel, celulose, têxteis, tinturas, de fármacos, dentre inúmeras outras (ELY, 2017).

Se originados das plantas, os fenóis são produto de seu metabolismo secundário e se mostram eficientes para seu crescimento e reprodução, além de se formarem em condições de estresse, como doenças, ferimentos, etc., mostrando-se úteis na diminuição de perdas causadas por essas condições em razão de sua resistência (ANGELO; JORGE, 2017).

Em geral, quando mantido em temperatura ambiente, o fenol, que é um composto sólido, apresenta solubilidade em água próxima a 10%. Isso significa, por conseguinte, que, em determinados efluentes em que o fenol se faz presente, sua retirada através de técnicas tradicionais que se baseiam em coagulação e floculação, como a extração, a adsorção e a oxidação química e bioquímica, mostra resultados pouco expressivos (NASCIMENTO *et al.*, 2017).

Por esta razão, muitos estudos têm sido desenvolvidos a fim de identificar métodos alternativos para a remoção de fenol em efluentes, principalmente naqueles oriundos de produção industrial, os quais, como se discutirá nos tópicos que se seguem,

são tóxicos e prejudiciais ao meio ambiente. Dentre essas alternativas, está o uso de enzimas oxidativas na bioconversão desse contaminante, como é o caso da peroxidase, vastamente encontrada em uma série de recursos naturais, como a soja, o tomate, a batata, dentre outros (ELY, 2017).

Como discutido em tópicos anteriores, a peroxidase consiste em uma importante enzima e, quando presente em plantas, tende a estar envolvida em múltiplas reações, dentre as quais a lignificação, a defesa contra patógenos, a cicatrização de ferimentos e, inclusive, a oxidação de fenóis (CAMPOS; SILVEIRA, 2018).

Isso porque as POX são predominantemente proteínas heme, fazendo uso de H₂O₂ comoceptor de elétrons, conseguindo, em razão disso, atuar como agentes oxidativos de diversos substratos orgânicos e inorgânicos. Esses processos de oxidação, por sua vez, geram radicais altamente reativos com relevante papel nas reações poliméricas, pois apresentam grande peso molecular, pouca solubilidade em água e, justamente por isso, são facilmente removíveis da solução através de processos físico-químicos, a exemplo da filtração, da flotação e da sedimentação (ELY, 2017).

Significa, assim, que a polimerização espontânea de fenóis e de seus derivados é resultado da oxidação causada pela peroxidase, o que faz com que estes compostos, naturalmente solúveis em água, tornem-se insolúveis neste meio e possam ser removidos posteriormente, em etapas que envolvem a separação de elementos sólidos e líquidos (ASSENHAIMER; WILBERG e RUBIO, 2020).

Em outras palavras, nesta forma de tratamento de efluentes, a enzima POX catalisa a oxidação de compostos aromáticos por meio do peróxido de hidrogênio, produzindo radicais que se unem a fim de formar oligômeros maiores, quase insolúveis em soluções aquosas e facilmente apartáveis por filtração ou sedimentação (OLIVEIRA *et al.*, 2021).

Ao contrário das técnicas tradicionais de tratamento de efluentes que contêm compostos fenólicos, o uso de POX apresenta vantagem significativa não apenas na remoção destes compostos, como também em relação à redução de custos e à formação de subprodutos (ELY, 2017).

Além disso, após isolada, as enzimas POX também apresentam vantagem, pois atuam com maior especificidade e, com isso, possibilitam que o tratamento do efluente seja direcionado a um poluente específico, ou seja, pode ser destinado unicamente aos fenóis, preservando, assim, outros compostos (OLIVEIRA *et al.*, 2021).

3 METODOLOGIA DA REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

O método de abordagem utilizado na pesquisa caracteriza-se como dedutivo, vez que se volta para a apresentação de soluções a um problema particular a partir de premissas universais.

Em relação às técnicas de pesquisa, é referida como pesquisa bibliográfica, desenvolvida a partir da leitura, análise e apreciação de artigos de relevância acadêmica e de obras produzidas pelos principais autores da temática abordada.

Quanto aos objetivos, a pesquisa se apresenta na forma descritiva, vez que desempenha uma análise sobre os métodos de extração e purificação de peroxidase a partir de fontes vegetais, bem como as técnicas utilizadas na sua purificação.

Além disso, em relação à abordagem da proposta, esta se qualifica como pesquisa qualitativa, pois permite o desenvolvimento de idéias e sugestões para o uso da peroxidase como agente antipoluição, contribuindo para a despoluição dos terrenos e aquíferos contaminados, sobretudo, por compostos fenólicos.

Em síntese, pode-se concluir que a presente pesquisa tem em sua abordagem uma análise qualitativa, através de utilização do método dedutivo, objetivando uma pesquisa descritiva e utilizando-se dos procedimentos bibliográficos, com o intuito de reunir informações para uma melhor compreensão deste trabalho.

3.1 BASES DE DADOS PESQUISADAS

Foi usado as bases de dados como: Brasil Scientific Library Online (SciELO); Periódicos da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pela Comunidade Acadêmica Federada (CAFE), através do acesso da Universidade Federal de Campina Grande; Biblioteca da Universidade de São Paulo (USP).

3.2 CRITÉRIOS DE EXCLUSÃO E INCLUSÃO

Levando em consideração os critérios de inclusão, artigos publicados em revistas nacionais e internacionais, artigos que se enquadrem nos critérios de inclusão da pesquisa e que não tivesse fora da linha temporal definida. Sempre passando por uma triagem, onde serão elegíveis e incluídos na pesquisa somente aqueles coerentes aos objetivos do trabalho.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Para analisar os resultados dando maior ênfase na parte de extração, purificação e ação da enzima na catalise do fenol foram escolhidos 15 artigos para a construção do quadro 1.

Quadro 1 - Disposição dos artigos científicos selecionados.

Autor/Ano	Título	Objetivos	Resultados do estudo
Fonseca,2022	“Caracterização bioquímica de acessos de <i>Coffea canephora</i> Pierre ex A. Froehner na interação com o fungo <i>Hemileia vastatrix</i> Berk. & Br”	Gerar dados a partir do estudo da interação <i>Coffea canephora</i> x <i>Hemileia vastatrix</i> , em relações de compatibilidade e incompatibilidade.	A atuação dessas enzimas estaria controlando os níveis de compostos envolvidos no processo de morte celular, que restringiria/reduziria e até mesmo favoreceria o processo de infecção do fungo. O estudo também indica a possível participação da enzima peroxidase, que poderia atuar no controle dos níveis de peróxido de hidrogênio ou no processo de lignificação celular.
Vedana, Brochier,2021	Aplicação da peroxidase do resíduo de mandioca para tratamento de efluente	foi avaliar o pH ótimo e a atividade enzimática da enzima peroxidase a partir da casca e da entrecasca da mandioca para aplicação posterior em efluente têxtil sintético contendo a tinta 13 Pink	A partir dos resultados obtidos, é possível confirmar que a peroxidase extraída de diferentes partes da mandioca, como a casca e a entrecasca da mandioca, possuem o potencial de ser utilizada no tratamento enzimático de efluentes para remoção de corante têxtil 13 Pink,

			reduzindo também possíveis impactos ambientais causados por estes resíduos.
Martins,2019	Elicitores de resistência no manejo de <i>Fusarium</i> sp. em milho	Determinar o efeito de diferentes elicitores no manejo da murcha de <i>Fusarium</i> sp. em sementes de milho roxo	mostraram que foram identificados cinco gêneros fúngicos: <i>Fusarium</i> sp. (49,5%), <i>Aspergillus</i> sp. (30,5%), <i>Penicillium</i> sp. (16%), <i>Rhizopus</i> sp. (11,5%) e <i>Cladosporium</i> sp. (1,5%) no lote de sementes. Observou-se também que os tratamentos não afetaram a qualidade fisiológica das sementes. Para os teste in vitro, foi verificado efeito fungistático dos elicitores Rocksil® e Ecolife® e Bion® sobre o <i>Fusarium</i> sp,. Em relação a atividade enzimática, não foi possível identificar diferença significativa entre os tratamentos.
Oliveira,2018	"Long-term subculture affects rooting competence via changes in the hormones and protein profiles in <i>Cedrela fissilis</i> Vell.(<i>Meliaceae</i>) shoots."	Investigar os efeitos da subcultura de longo prazo no desenvolvimento de brotos in vitro e ex vitro enraizamento associado a alterações nos perfis hormonais e proteicos em <i>C. fissilis</i> .	Mostraram que a compreensão dos mecanismos hormonais e moleculares relacionados ao potencial de formação de AR em brotos sob subculturas sucessivas é relevante para melhorar a

			produção de mudas em larga escala em C. fissilis
Martins,2021	“Purificação da peroxidase na casca de soja”	Purificar a peroxidase presente na casca de soja, e os resultados obtidos demonstram que ela pode ser comercializada para algumas aplicações	Por ser um método simples e de baixo custo mostra-se útil para a purificação da peroxidase de casca de soja. No entanto são necessários estudos para investigar as limitações que este método pode apresentar.
Merchán-Gaián,2023	"The Role of Plant Latex in Virus Biology."	O látex também parece ter efeitos sobre vírus e laticíferos são um ambiente hostil para a colonização de vírus.	Os componentes do látex representam uma fonte natural promissora para a descoberta de novas moléculas pró e antivirais nas áreas da agricultura e da medicina.
Galdino,2018	Palmito de pupunha (<i>Bactris gasipaes Kunth.</i>) composição mineral e cinética de enzimas oxidativas	Foi determinar a atividade enzimática da polifenoloxidase (PPO) e da peroxidase (POD), bem como avaliar o comportamento destas frente ao tratamento térmico e assim calcular a cinética de inativação térmica das mesmas para suas porções termorresistente e termolábil.	Apresentaram valores que estão dentro da faixa de energia de ativação reportada para o processo de inativação térmica de enzimas.
Silva,2019	"Uso da metodologia de superfície de resposta na otimização da	Otimizar a extração de compostos fenólicos totais	Foi capaz de descrever de forma significativa a variabilidade

	<p>extração de compostos fenólicos da casca dos frutos de <i>Hymenaea courbaril</i> L.(Jatobá)."</p>	<p>(CFT) e flavonoides totais (FLAT), tanto de forma isolada quanto simultaneamente, da casca do fruto do jatobá, usando a metodologia de superfície de resposta (MSR) para determinar as condições experimentais de concentração de etanol, tempo e temperatura de extração capazes de maximizar a eficiência do processo, identificando, também, qual a influência individual de cada variável experimental e as influências de suas interações no processo extrativo.</p>	<p>observada para as variáveis de resposta. As condições otimizadas foram 60,6% de etanol, 64,18 °C e tempo de extração de 71,93 min, e o modelo apresentou como valores preditos 35,265 ± 2,22 mg equivalentes ao ácido gálico/g de matéria seca e 1,210 ± 0,16 mg equivalentes a rutina/g de matéria seca, para compostos fenólicos totais e flavonoides totais, respectivamente.</p>
Canabarro,2022	<p>"SECAGEM DE FOLHAS DE PITANGUEIRA (<i>Eugenia uniflora</i>) EM MICROONDAS À VÁCUO: INFLUÊNCIA DO PROCESSO NOS ATRIBUTOS DE QUALIDADE DAS FOLHAS E EXTRATOS SUPERCRÍTICOS."</p>	<p>Avaliar a secagem de folhas de pitangueira em micro-ondas à vácuo (MOV) via abordagens experimental e modelagem matemática, bem como a influência da secagem na cor das folhas, no rendimento e composição dos extratos obtidos via extração supercrítica</p>	<p>Secagem com MOV pode ser uma ótima opção frente a métodos de secagem como a convectiva, contudo, estudos voltados à escalabilidade do processo em termos econômicos e energéticos devem ser conduzidos para viabilizar o processo.</p>
Souza,2020	<p>Extração, purificação e</p>	<p>Extrair, purificar e caracterizar</p>	<p>A peroxidase de casca de yacon</p>

	caracterização bioquímica de peroxidase de <i>Smallanthus sonchifolius</i> e sua aplicação na bioconversão de fenol.	enzima peroxidase da casca de raízes de yacon, bem como aplicar a enzima obtida na bioconversão de 2,4-diclorofenol, em efluente sintético, e avaliar o potencial toxicológico do mesmo.	apresenta potencial e pode ser uma alternativa a ser explorada em processos de biocatálise.
Kempka,2019	Extração e purificação de peroxidases vegetais: uma revisão	Compilar informações acerca da extração e/ou purificação de peroxidases contidas em diferentes tecidos vegetais, apresentando métodos de extração, processos de purificação, atividades enzimáticas e seus incrementos, de acordo com os processos químicos e físicos aplicados	Existe uma ampla gama de possibilidades para obtenção da enzima peroxidase de vegetais, com variabilidade na atividade enzimática quando aplicados métodos de extração distintos. Os
Campos et al,2019	Metodologia para determinação da peroxidase e da polifenol oxidase em plantas	Determinar a metodologia mais eficaz para a determinação da peroxidase e da polifenol oxidase em plantas.	Se obteve duas novas metodologias, uma para peroxidase e uma para polifenol oxidase.
Oliveira,2018	Aplicação de enzimas peroxidases no tratamento de efluentes contaminados com fenol: uma revisão	Realizar uma revisão bibliográfica sobre as aplicações de enzimas peroxidases no tratamento de efluentes contendo fenol.	As enzimas peroxidases foram consideradas uma alternativa viável na aplicação de tratamento de efluentes contaminados com fenol. Devido a sua alta disponibilidade e baixo custo, essas

			enzimas podem apresentar vantagens em relação a outros métodos, dentre elas a alta eficiência que proporcionam ao tratamento.
Oliveira,2018	Métodos tradicionais e emergentes para evitar o escurecimento enzimático de vegetais.	Revisar os principais métodos utilizados para evitar o escurecimento enzimático de vegetais	Observa-se a junção de diferentes áreas para minimizar o problema do escurecimento enzimático. É o caso da modificação genética, em que a biotecnologia tem sido um importante aliado na tecnologia e engenharia de alimentos, contribuindo com o conhecimento sobre a produção de alimentos mais resistentes ao escurecimento enzimático. Nesse sentido também se destaca o uso da serotonina como um agente que pode trazer benefícios à proteção dos tecidos vegetais, sendo um componente naturalmente presente em muitas plantas.

Fonte: Autoria Própria, 2024

Conforme mostrado na tabela anterior, diversos autores utilizaram a peroxidase em suas pesquisas para os mais diversos fins. Dessa forma foi possível correlacionar os estudos desses autores e comparando seus métodos com as pesquisas mais atuais.

A partir das denotações feitas por Ely (2017) em sua pesquisa sobre a Horseradish peroxidase (HRP), fica claro a importância das enzimas oxidativas na degradação de compostos fenólicos resultantes de processos industriais que geram impacto ambiental.

Associando o parágrafo acima com a abordagem revisada por Oliveira (2018), foi observado os efeitos positivos das peroxidases no tratamento de aquíferos contaminados com compostos fenólicos, no qual é sabido que a presença desses compostos em efluentes, representa um grave risco na manutenção e renovação dos ecossistemas ali presentes devido, principalmente, a sua natureza microbicida e fitotóxica, ambas relacionadas com a liberação de radicais de oxigênio dos fenóis e sua interação, indutoramente degradativa, com o núcleo celular, como elucida Campos et al. (2019) em visível aquiescência com Ely (2017) .

Em concordância com o que foi dito acima e, assim, visando a recuperação desses efluentes e demais ambientes contaminados por componentes residuais fenólicos Verdana e Bolchier (2021) divaga sobre as peroxidases naturalmente produzidas por resíduos de mandioca, facilmente obtidas e purificadas para oxidação fenólica. O mesmo é posto por Galdino (2018), com o uso do palmito, por Silva (2019), com a extração da peroxidase das cascas de frutas de Jatobá e por Martins (2019), com seus estudos com a casca de soja. Parte essencial de cada estudo descrito, foi fundamentada na utilização de técnicas de extração e purificação corretas das POX.

Em síntese, as técnicas atuais de recuperação de efluentes são mais eficazes e menos onerosas. Ao explicitar essa colocação, pôde ser avaliado que Ely (2017), consonantemente, reforça o papel catalisador da POX em compostos aromáticos descrito por Oliveira et. al. (2021) que, por sua vez, deixa claro que a partir do método de oxidação enzimática, que catalisa fenóis em substâncias insolúveis, é possível promover a sedimentação dos ácidos fenólicos presentes nos efluentes e, logo após, sua retirada.

Das técnicas de purificação das peroxidases, a cromatografia por troca iônica ganha destaque pela facilidade em se obter e purificar as peroxidases. Posto isso, Galtério (2016) e Haas, Vaz e Kempka (2019) concordam, através de suas respectivas pesquisas, que o alcance da purificação enzimática pela cromatografia de troca iônica é 2,4 vezes maior se comparadas à técnicas mais antigas que utilizam a precipitação enzimática por uso de solventes, mormente, acetona, etanol e metano relatadas por Santos (2022) ou pela precipitação de proteínas por adição de sais exposto por Haas, Vaz e Kempka (2019); e com uma taxa de recuperação superior a 41% quando a enzima é exposta à reversão das atrações eletrostáticas moleculares numa matriz sólida.

Em estudo realizado por Miyaguti (2021), as enzimas peroxidase de raiz forte, lignina peroxidase, peroxidase de manganês e cloroperoxidase foram utilizadas na degradação de fenol, cresóis, nitrofenóis e clorofenóis. Como resultado, o autor observou que alguns compostos, incluindo 4-clorofenol, 4-cresol e pentaclorofenol, eram degradados mais facilmente por mais de uma dessas enzimas POX, o que não ocorreu, porém, nas tentativas de oxidação. análise enzimática e redução da toxicidade de algumas substâncias que tinham 4-nitrofenol e 2-cresol, tendo em vista que tais enzimas não se mostraram eficientes para esses fins. A conclusão deste estudo foi, portanto, que a eficiência da POX na oxidação de fenóis em soluções aquosas depende do tipo de enzima a ser utilizada, além de fatores como o pH.

5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

O presente estudo preocupou-se com a descrição das fontes de peroxidase no ambiente vegetal e seus métodos de extração, juntamente com cada autor explicando as melhores formas de obter níveis de pureza e eficiência para análise do extrato bruto. Consideramos o método mais direto de remoção das formas mais tóxicas e prejudiciais de fenol do meio ambiente através da bioconversão. Conceitualmente, as enzimas podem ser entendidas como proteínas que desempenham a tarefa específica de desencadear reações químicas nas células, e por isso são catalisadores essencialmente importantes. A maioria dessas proteínas é esférica, exceto as ribozimas, que são enzimas baseadas em RNA.

Foi notado durante a pesquisa que as técnicas desenvolvidas atualmente para purificar a peroxidase, as técnicas cromatográficas são consideradas as mais utilizadas para esse fim, principalmente pelos seus resultados em relação à purificação e recuperação dessas enzimas. Do ponto de vista químico, os compostos fenólicos podem ser descritos como estruturas químicas contidas em um ou mais substitutos hidroxila e um anel aromático de estrutura variável, encontrados tanto na forma molecular simples quanto considerados de alto grau de polimerização e, portanto, multifuncionalidade.

Por esta razão, muitas pesquisas foram desenvolvidas para identificar métodos alternativos de remoção de fenóis de águas residuais, especialmente da produção industrial.

REFERÊNCIAS

ANTUNES, R. S. *et al.* Enzimas vegetais: extração e aplicações biotecnológicas. **INFARMA: Ciências Farmacêuticas**, [s. l.], v. 29, n. 3, p. 181-198, 2017.

ALENCAR, S. M.; KOBLIZ, M. G. B. Oxirredutases. *In: ALENCAR, S. M.; KOBLIZ, M. G. B. (org.). BIOQUÍMICA DE ALIMENTOS: teoria e aplicações práticas.* Rio de Janeiro: Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, 2018, p. 125-152.

ANGELO, P. M.; JORGE, N. Compostos fenólicos em alimentos – uma breve revisão. **REVISTA DO INSTITUTO ADOLGO LUTZ**, São Paulo, v. 66, n. 1, p. 1-9, 2017.

ASSENHAIMER, C.; WILBERG, K. Q.; JORGE, R. Oxidação e remoção de compostos fenólicos com peroxidase de soja e flotação. *In: SALÃO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA*, 13., 2020, Porto Alegre. Anais [...]. Porto Alegre: UFRGS, 2020, p. 79.

BAMPI, J. *et al.* Remoção de fenol em águas residuárias através de biofilme suportado em carvão ativado estudo em batelada. *In: JORNADA DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA E TECNOLÓGICA*, 8., 2018, Realeza. Anais [...]. Realeza: UFFS, 2018, p. 1-4.

BANSAL, N; KUMARI, L; KANWAR, S S. Peroxidase and its applications. *Int. J. Inst. Pharm. Life Sciences*, p. 1–28, 2022.

BERNARDI, C. Caracterização química e potencial biotecnológico do extrato de alcachofra (*Cynara scolymus L.*) no tratamento de sementes. 2020. 96 f. Dissertação (Mestrado em Biotecnologia) – Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Dois Vizinhos, 2020.

CAMPOS, A. D.; SILVEIRA, E. M. L. Metodologia para determinação da peroxidase e da polifenol oxidase em plantas. *Comunicado Técnico, Pelotas*, v. 87, n. 1, p. 1-3, 2018.

CAMPOS, A. D. *et al.* Atividade de peroxidase e polifenoloxidase na resistência do feijão à antracnose. **PESQUISA AGROPECUÁRIA BRASILEIRA**, Brasília, v. 39, n. 7, p. 637-643, 2019.

CANABARRO, NI, and MC FERREIRA. "SECAGEM DE FOLHAS DE PITANGUEIRA (*Eugenia uniflora*) EM MICROONDAS À VÁCUO: INFLUÊNCIA DO PROCESSO NOS ATRIBUTOS DE QUALIDADE DAS FOLHAS E EXTRATOS SUPERCRÍTICOS."

DE ARAUJO, B. S. et al. Uptake and transformation of phenol and chlorophenols by hairy root cultures of *Daucus carota*, *Ipomoea batatas* and *Solanum aviculare*. *Chemosphere*, v. 63, n. 4, p. 642–651, abr. 2016.

Dovigo, D, R.; **A FAMÍLIA GÊNICA DA ASCORBATO PEROXIDASE EM GENOMAS DE COFFEA SPP : GENÔMICA COMPARATIVA E ASPECTOS EVOLUTIVOS.** -- Rio Claro, 2018

ELY, C. **APLICAÇÃO DE ENZIMAS HORSE RADISH PEROXIDASE NO TRATAMENTO DE EFLUENTE DE BIORREFINARIA.** 2017. 93 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Ambientais) – Universidade do Estado de Santa Catarina, Lages, 2017.

FONSECA, A. S. **CARACTERIZAÇÃO BIOQUÍMICA DE ACESSOS DE COFFEA CANEPDORA PIERRE EX A. FROEHNER NA INTERAÇÃO COM O FUNGO HEMILEIA VASTATRIX BERK. & BR.** 2022. 63 f. Tese (Doutorado em Biodiversidade e Biotecnologia) – Universidade Federal de Rondônia, Porto Velho, 2022.

FONSECA, S. H. P. **PURIFICAÇÃO E CARACTERIZAÇÃO PARCIAL DE ENZIMAS DE PEROXIDASE EM RAÍZES DE RAPHANUS SATIVUS.** 2021. 30 f. TCC (Graduação em Ciências Biológicas) – Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, 2021.

GALDINO, N. O.; CLEMENTE, E. **PALMITO DE PUPUNHA (BACTRIS GASIPAES KUNTH.) COMPOSIÇÃO MINERAL E CINÉTICA DE ENZIMAS OXIDATIVAS.** *FOOD SCIENCE AND TECHNOLOGY*, v. 28, n. 3, p. 540–544, 2018.

GAUTÉRIO, G. V. **PURIFICAÇÃO DE PEROXIDASE POR CROMATOGRÁFIA DE TROCA IÔNICA EM LEITO EXPANDIDO INTEGRADO À ULTRAFILTRAÇÃO E SUA APLICAÇÃO NA REDUÇÃO DOS NÍVEIS DE DEOXINIVALENOL.** 2016. 140 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia e Ciência de Alimentos) – Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Rio Grande, 2016.

HAAS, A.; VAZ, C.; KEMPKA, A. P. Extração e purificação de peroxidases vegetais: uma revisão. **Periódico Tchê Química**, Porto Alegre, v. 16, n. 31, p. 692-703, 2019.

HEGAZY, M, M., et al. "COMPOSITION AND BIOLOGICAL ACTIVITIES OF FICUS CARICA LATEX." *FIG (FICUS CARICA): PRODUCTION, PROCESSING, AND PROPERTIES.* Cham: Springer International Publishing, 2023. 597-641

KABBACH, C. B. *et al.* Análise de riscos do processo de produção de fenol e acetona a partir do benzeno e propeno. **THE JOURNAL OF ENGINEERING AND EXACT SCIENCES**, [s. l.], v. 4, n. 1, p. 1-11, 2018.

LIMA, B. M.; COSTA, F. B. Determinação da enzima peroxidase (POD) e composto bioativos em brotos de palma ‘gialla’. *In: CONGRESSO INTERNACIONAL DA DIVERSIDADE DO SEMIÁRIDO*, 3., 2018, Natal. Anais [...]. Natal: Editora Realize, 2018, p. 1-5.

LIMA, N. B. Extração e determinação de atividade de peroxidase do rabanete, analisando a influência do íon potássio. *In: SEMINÁRIO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA*, 22., 2018, Feira de Santana. Anais [...]. Feira de Santana: UEFS, 2018, p. 1-4.

LOPEZ, M. A. R. **USO DE BIOCÁRVÕES PARA A REMOÇÃO DE FENOL EM MATRIZES AQUOSAS**. 2021. 105 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Ambiental) – Universidade Federal de Ouro Preto, Ouro Preto, 2021.

MA, A. P. O. C. **PEROXIDASE E DA POLIFENOL**. Disponível em: <<https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/31616/1/comunicado87.pdf>>. Acesso em: 23 jan. 2024.

MACIEL, H. P. F.; GOUVÊA, C. M. C. P.; PASTORE, G. M. Extração e caracterização parcial de peroxidase de folhas de *Copaifera langsdorffii* Desf. **Food Science and Technology**, v. 27, n. 2, p. 221–225, 2017.

MACIEL, H. P. F. GOUVÊA, C. M. C. P.; PASTORE, G. M. Extração e caracterização de peroxidase e folhas de *Copaifera langsdorffii* Desf. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 27, n. 2, p. 221-225, 2018.

MARTINS, J. V. S. **ELICITORES DE RESISTÊNCIA NO MANEJO DE FUSARIUM SP. EM MILHO**. 2019. 51 f. TCC (Graduação em Engenharia Agrônoma) – Universidade Federal da Paraíba, Areia, 2019.

MARZZOCO, A.; TORRES, B. B. **BIOQUÍMICA BÁSICA**. 4. ed. São Paulo: Guanabara Koogan, 2022.

MERCHÁN-GAITÁN, Julia B., et al. "THE ROLE OF PLANT LATEX IN VIRUS BIOLOGY." *Viruses* 16.1 (2023): 47.

MIYAGUTO, R. M. **OXIDAÇÃO ENZIMÁTICA DE SOLUÇÕES FENÓLICAS COM TIROSINASE IMOBILIZADA EM QUITOSANA**. 2021. 113 f. Dissertação (Mestrado em Tecnologia Bioquímico-Farmacêutica) – Universidade de São Paulo, São Paulo, 2021.

MOLINA, D. L. *et al.* Enzymatic removal of phenols from aqueous solution by artichoke (*cynara scolymus L.*) extracts. **ENZYME AND MICROBIAL TECHNOLOGY**, [s. l.], v. 33, n. 1, p. 738-742, 2018.

NELSON, D. L.; COX, M. M. **PRINCÍPIOS DE BIOQUÍMICA DE LEHNINGER**. 6. ed. Artmed: Porto Alegre, 2014.

NETO, A. J. Z.; KLOTH, C. G.; SKORONSKI, E. (EDS.). **APLICAÇÃO DE ENZIMAS PEROXIDASES NO TRATAMENTO DE EFLUENTES CONTAMINADOS COM FENOL: UMA REVISÃO**. [s.l.] ATENA, 2021

NASCIMENTO, R. F. *et al.* (org.). **Processos oxidativos avançados: fundamentos e aplicações em matrizes ambientais**. Fortaleza: Imprensa Universitária UFC, 2017.

OLIVEIRA, M. G. *et al.* Aplicação de enzimas peroxidases no tratamento de efluentes contaminados com fenol: uma revisão. *In*: PANIAGUA, C. E. S. (org.). **Coleção desafios das engenharias: engenharia sanitária**. São Paulo: Atena, 2021.

OLIVEIRA, P. H. R. Métodos de preparação industrial de solventes e reagentes químicos. **Revista Virtual de Química**, Rio de Janeiro, v. 7, n. 4, p. 1579-1593, 2018.

OLIVEIRA, C. T. A. **Métodos tradicionais e emergentes para evitar o escurecimento enzimático de vegetais**. 2018. 33 f. TCC (Graduação em Engenharia de Alimentos) – Universidade Federal de Uberlândia, Patos de Minas, 2018.

OLIVEIRA dos Reis de Oliveira, Tadeu, et al. "Long-term subculture affects rooting competence via changes in the hormones and protein profiles in *Cedrela fissilis* Vell.(Meliaceae) shoots." *Plant Cell, Tissue and Organ Culture (PCTOC)* 148.1 (2022): 137-153.

OSTERWALDER, Alexander; PIGNEUR, Yves. **Inovações em modelos de negócios: um manual para visionários, inovadores e revolucionários**. Rio de Janeiro: Ed. Alta Books, 2011.

QUINTANILLA-GUERRERO, F. et al. Chemical modification of turnip peroxidase with methoxypolyethylene glycol enhances activity and stability for phenol removal using the immobilized enzyme. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, v. 56, n. 17, p. 8058–8065, 2018.

RODRIGUES, T. L. **Qualidade, atividade antioxidante e atividade da peroxidase durante a maturação de frutos de facheiro (*Pilosocereus pachycladus* Ritter)**. 2018. TC (Graduação em Agronomia) – Universidade Federal da Paraíba, Areia, 2018.

SALLES, P. T. F. PELEGRINI, N. N. B. PELEGRINI, R. T. Tratamento Eletroquímico de Efluente Industrial contendo corantes reativos. *Engenharia Ambiental*, v. 3, p. 15, 2016.

Safhi, F.A.; ALshamrani, S.M.; Jalal, A.S.; El-Moneim, D.A.; Alyamani, A.A.; Ibrahim, A.A. **Genetic Characterization of Some Saudi Arabia's Accessions from *Commiphora gileadensis* Using Physio-Biochemical Parameters, Molecular Markers, DNA Barcoding Analysis and Relative Gene Expression**. *Genes* 2022, 13, 2099.

SANTOS, L. M. **Purificação da peroxidase na casca de soja**. 2022. 98 f. TCC (Graduação em Bioquímica) – Fundação Educacional do Município de Assis, Assis, 2022.

Silva, Roger Wellington Vicente da, et al. "Uso da metodologia de superfície de resposta na otimização da extração de compostos fenólicos da casca dos frutos de *Hymenaea courbaril* L.(Jatobá)." *Brazilian Journal of Food Technology* 22 (2019): e2018089.

SINGH, S. et al. Phenol remediation by peroxidase from an invasive mesquite: Turning an environmental wound into wisdom. ***Journal of Hazardous Materials***, [s. l.], v. 334, p. 201–211, 2017.

SOUZA, D. H. **Extração, purificação e caracterização bioquímica de peroxidase de *Smallanthus sonchifolius* e sua aplicação na bioconversão de fenol**. 2020. 89 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Ambientais) – Universidade do Estado de Santa Catarina, Lages, 2020.

PEIXOTO, C. P. **Princípio de fisiologia vegetal: teoria & prática**. Rio de Janeiro: PoD Editora, 2020.

VEDANA, K.; BROCHIER, B. Aplicação da peroxidase do resíduo de mandioca para tratamento de efluente. *In: CONGRESSO TÉCNICO-CIENTÍFICO DA ENGENHARIA E DA AGRONOMIA, 7.*, 2021, Brasília. **Anais [...]**. Brasília: CONFEA, 2021, p. 1-5.

VETAL, Mangesh D.; RATHOD, Virendra K. Three phase partitioning a novel technique for purification of peroxidase from orange peels (*Citrus sinenses*). *Food and Bioproducts Processing*, v. 94, n. March, p. 284–289, 2015. Disponível em: .

VIEIRA, I. C.; LUPETTI, K. O.; FATIBELLO-FILHO, O. Determinação de paracetamol em produtos farmacêuticos usando um biossensor de pasta de carbono modificado com extrato bruto de abobrinha (*Cucurbita pepo*). **Química nova**, v. 26, n. 1, p. 39–43, 2023.

WANG, Y. et al. Enhanced tolerance and remediation to mixed contaminants of PCBs and 2,4-DCP by transgenic alfalfa plants expressing the 2,3-dihydroxybiphenyl-1,2-dioxygenase. *Journal of Hazardous Materials*, v. 286, p. 269–275, abr. 2015.

WERLANG, I. M. S. *et al.* Temperatura, pH e concentração de substrato ótimas de peroxidases extraídas de folhas de *Ficus auriculata* Lour e *Ficus elastica*. *In: SEMINÁRIO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA UDESC, 28.*, 2018, Florianópolis. **Anais [...]**. Florianópolis: UDESC, 2018, p. 1-2.

WOLFF, S, M,; Silveira A, C,; Lazzarotto, M,; "Metodologia para extração de fenólicos totais e antioxidantes da erva-mate." (2019).

ZERAIK, A. E. et al. Desenvolvimento de um spot test para o monitoramento da atividade da peroxidase em um procedimento de purificação. **Química nova**, v. 31, n. 4, p. 731–734, 2008.