

# REMOCIÓN DE DIRECT BLUE 273, UN COLORANTE AZO DE LA INDUSTRIA DEL PAPEL, POR ADSORCIÓN Y POR DEGRADACIÓN ENZIMÁTICA CON PEROXIDASA DE CÁSCARA DE SEMILLA DE SOJA.

Campo Dall' Orto, Viviana<sup>a,b</sup>; González Clar, Pamela Yanina<sup>a</sup>; Levin, Gustavo<sup>a,b</sup>; Miranda, María Victoria<sup>a,b</sup>.

<sup>a</sup>UBA, Facultad de Farmacia y Bioquímica, Junín 956, CABA (1113). <sup>b</sup>CONICET.

E-mail: vcdall@ffyb.uba.ar

## Introducción:

El objetivo de este trabajo es explorar dos mecanismos para la decoloración de Direct Blue 273 (DB273) un colorante azo de la industria del papel.

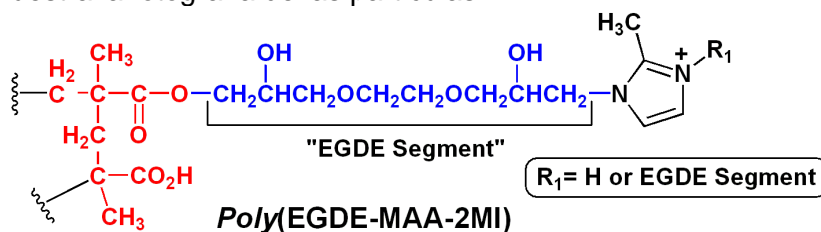
Se estudió la adsorción del colorante sobre un polianfolito derivado de ácido metacrílico, etilenglicol diglicidil éter y 2-metilimidazol (Poly(EGDE-MAA-2MI)), obtenido mediante una estrategia de síntesis en un solo paso y con notable capacidad de carga para compuestos iónicos [1,2].

Por otra parte, las soluciones acuosas de DB273 fueron tratadas con peróxido de hidrógeno 0.2 mM en presencia de peroxidasa extraída de cáscara de semilla de soja [3]. Se realizaron estudios cinéticos de decoloración y se encontraron las condiciones de máxima eficiencia.

## Resultados:

### Adsorción de DB273 sobre partículas de Poly(EGDE-MAA-2MI):

La Figura 1 muestra la estructura probable del polianfolito Poly(EGDE-MAA-2MI), y la Figura 2a muestra la fotografía de las partículas.

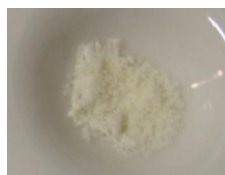


El punto isoeléctrico del compuesto es 5.5, y al pH de trabajo (pH 6.0) presentaba 1.19 mmol de sitios iónicos positivos por gramo, con una carga promedio de la unidad polimérica de -0.23.

La Figura 2b muestra el colorante adsorbido a las partículas del polianfolito. Los mejores ajustes de la isoterma de adsorción del colorante a 24° C se obtuvieron con los modelos de Temkin y Langmuir. La máxima capacidad de carga para DB273 fue estimada en  $0.46 \pm 0.08$  mmol g<sup>-1</sup> ó  $403 \pm 44$  mg g<sup>-1</sup>, con una K<sub>L</sub> de  $2.01 \pm 0.46 \times 10^{-5}$  M. Los valores de  $\Delta G_{ads}$  a 24° C y de  $\Delta H$  fueron - 26.7 y 21 kJ mol<sup>-1</sup> respectivamente, sugiriendo que el proceso de fisiorción involucra interacción electrostática, interacción no-polar, puentes de hidrógeno e intercambio iónico entre DB273 y el adsorbente.

La cantidad de DB273 adsorbida al polianfolito disminuyó un 23% en presencia de sales disueltas (KNO<sub>3</sub>). La desorción del colorante en KNO<sub>3</sub> 1 M y en SDS 1 mM no fue significativa; solamente se produjo la liberación de un 10% del colorante adsorbido en SDS 80 mM.

Fue posible degradar el colorante adsorbido y preconcentrado sobre las partículas por contacto con NaClO 0.1 M durante 4 horas (Figura 2c).



a- Polianfolito

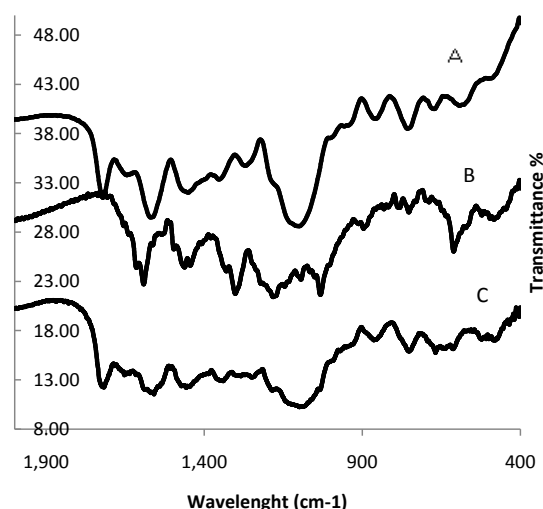


b- DB273-polianfolito



c- DB273-polianfolito  
tratado con NaClO 0.1 M.

La Figura 3 muestra los espectros FTIR del polianfolito (A), de DB273 (B) y del colorante adsorbido a las partículas de polianfolito (C). Se observaron cambios en las bandas del polímero relacionadas con el estiramiento de los residuos 2MI (757 y 672  $\text{cm}^{-1}$ ) y con los grupos carboxilato (1570  $\text{cm}^{-1}$ ) del adsorbente como consecuencia de la adsorción de DB273.



#### Oxidación enzimática de DB273:

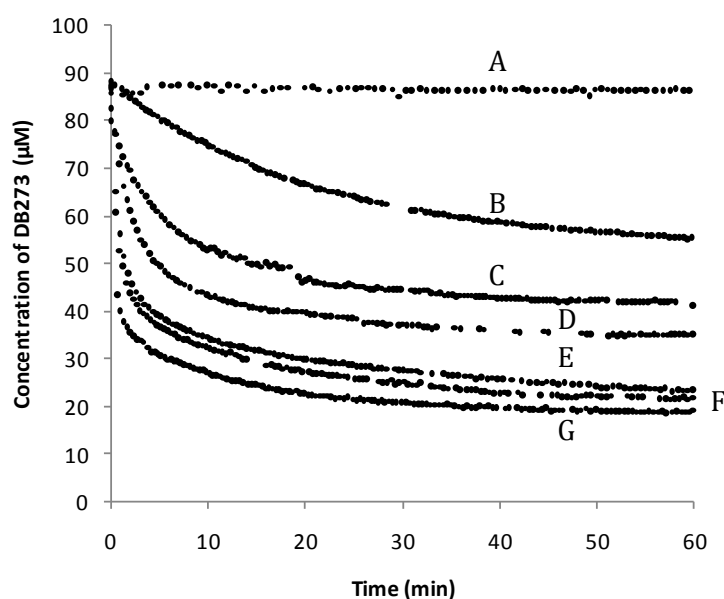
Se observó decoloración de las soluciones acuosas de DB273 87  $\mu\text{M}$  por acción de  $\text{H}_2\text{O}_2$  0.2 mM en presencia de peroxidasa de soja (SBP) (Figura 4). En ausencia de extracto enzimático (Figura 4A) o bien cuando se utilizó un extracto desnaturalizado por acción de calor, la degradación fue mínima.

Se observó una caída exponencial en la concentración de DB273 que ajustó al siguiente modelo cinético empírico (ec. 1).

$$[DB273]_t = [DB273]_{\infty} + [DB273]_1 \times e^{(-k_1 \times t)} + [DB273]_2 \times e^{(-k_2 \times t)} \quad (1)$$

La Tabla 1 muestra los parámetros en función de la actividad nominal de SBP:

actividad SBP	0.3 U mL <sup>-1</sup> (B)	0.6 U mL <sup>-1</sup> (C)	1.2 U mL <sup>-1</sup> (D)	2.4 U mL <sup>-1</sup> (E)	3.0 U mL <sup>-1</sup> (F)
Parámetros					
[DB273] <sub>∞</sub> ( $\mu\text{M}$ )	52.50±0.29	41.30±0.10	34.60±0.11	22.20±0.19	21.40±0.12
[DB273] <sub>1</sub> ( $\mu\text{M}$ )	22.8 ± 9.3	18.79 ± 0.72	34.10 ± 0.43	43.60 ± 0.60	41.70 ± 0.50
k <sub>1</sub> (min <sup>-1</sup> )	0.0589 ± 0.0077	0.3544 ± 0.0223	0.546 ± 0.013	1.157 ± 0.032	1.556 ± 0.039
[DB273] <sub>2</sub> ( $\mu\text{M}$ )	12.9 ± 9.1	16.30 ± 0.70	16.80 ± 0.35	20.40 ± 0.24	21.70 ± 0.21
k <sub>2</sub> (min <sup>-1</sup> )	0.0294 ± 0.0095	0.0683 ± 0.0023	0.0638 ± 0.0023	0.0474 ± 0.0016	0.0658 ± 0.0016



La cantidad de DB273 que permanece en el equilibrio ( $[DB273]_{\infty}$ ) decayó exponencialmente con el aumento de la actividad de SBP.

El segundo término representa la decoloración por acción directa de SBP: el 48% del DB273 inicial se degradó por acción de la enzima cuando se empleó  $3.0 \text{ U ml}^{-1}$ , y se requiere un mínimo de  $0.096 \text{ U mL}^{-1}$  para observar disminución de color por esta vía. La constante de velocidad de pseudo-primer orden ( $k_1$ ) creció linealmente con la actividad de SBP.

El tercer término representaría la fracción de colorante que se degradó por polimerización originada por los productos radicales que se liberaron al medio como consecuencia de la reacción enzimática. Esa fracción fue dependiente de la actividad enzimática, pero  $k_2$  sería independiente.

El empleo de una actividad de  $9.0 \text{ U ml}^{-1}$  produjo una disminución de la concentración de DB273 del 48% en el primer minuto, y de un 75% luego de 30 minutos (Figura 4G).

### **Conclusiones:**

El equilibrio de decoloración se alcanzó en 60 minutos de contacto entre la solución de DB273  $87 \text{ µM}$  y  $\text{H}_2\text{O}_2$   $0.2 \text{ mM}$  en presencia de SBP, con una eficiencia del 73% para una actividad de  $3.0 \text{ U mL}^{-1}$ . Por otra parte, la decoloración por adsorción sobre el polianfolito fue del 88% para una concentración inicial de DB273 de  $87 \text{ µM}$ . Los métodos propuestos exhibieron una eficiencia similar.

### **Referencias:**

- 1- J. M. Lázaro Martínez, A. K. Chattah, G. A. Monti, M. F. Leal Denis, G. Y. Buldain, Viviana Campo Dall'Orto. *Polymer*, 49 (2008) 5482–5489.
- 2- JM Lázaro Martínez, AK Chattah, Rosa M. Torres Sánchez, Graciela Y. Buldain, V. Campo Dall'Orto. *Polymer* 53 (2012) 1288-1297.
- 3- M.L. Magri, M.V. Miranda, O. Cascone. *Biocatal. Biotransfor.* 23 (2005) 339 - 346.