



UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO
UNIDADE ACADÊMICA DE SERRA TALHADA
CURSO DE BACHARELADO EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

**CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA DE LACASE DO
CAMARÃO *Litopenaeus vannamei* E O USO DESSA ENZIMA PARA A
DEGRADAÇÃO DE CORANTES**

MONOGRAFIA

GIRLANNE DE MEDEIROS MARCOLINO

SERRA TALHADA - PE
2022

GIRLANNE DE MEDEIROS MARCOLINO

**CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA DE LACASE DO CAMARÃO
Litopenaeus vannamei E O USO DESSA ENZIMA PARA A DEGRADAÇÃO DE
CORANTES**

Monografia apresentada ao Curso de Bacharelado em Ciências Biológicas da Universidade Federal Rural de Pernambuco, Unidade Acadêmica de Serra Talhada (UFRPE/UAST), em exigência a aquisição do título de Bacharel em Ciências Biológicas.

Orientador: Prof. Dr. Diego de Souza Buarque

SERRA TALHADA - PE 2022

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
Universidade Federal Rural de Pernambuco
Sistema Integrado de Bibliotecas
Gerada automaticamente, mediante os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

M321c Marcolino, Gírlanne de Medeiros
Caracterização físico-química de lacase do camarão *Litopenaeus vannamei* e o uso dessa enzima para a degradação de corantes / Gírlanne de Medeiros Marcolino. - 2022.
41 f. : il.

Orientador: Diego de Souza Buarque.
Inclui referências.

Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação) - Universidade Federal Rural de Pernambuco, Bacharelado em Ciências Biológicas, Serra Talhada, 2022.

1. Lacase. 2. Corante. 3. *L. vannamei*. 4. Degradação. I. Buarque, Diego de Souza, orient. II. Título

CDD 574

GIRLANNE DE MEDEIROS MARCOLINO

**CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA DE LACASE DO
CAMARÃO *Litopenaeus vannamei* E O USO DESSA ENZIMA PARA A
DEGRADAÇÃO DE CORANTES**

Monografia apresentada ao Curso de Bacharelado em Ciências Biológicas da Universidade Federal Rural de Pernambuco, Unidade Acadêmica de Serra Talhada (UFRPE/UAST), em exigência a aquisição do título de Bacharel em Ciências Biológicas.

Orientador: Prof. Dr. Diego de Souza Buarque

BANCA EXAMINADORA:

Prof. Dr. Diego de Souza Buarque
Prof. Adjunto da UFRPE (Unidade Acadêmica de Serra Talhada) 1º titular (Presidente)

Prof. Dr. Rogério de Aquino Saraiva
Prof. Adjunto da UFCA (Universidade Federal do Cariri) 2º titular

Prof. Dr. Airton Torres Carvalho
Prof. Adjunto da UFERSA (Universidade Federal Rural do Semi-Árido) 3º titular

À minha família, em especial ao meu pai, minha mãe e meu irmão, que mesmo de longe sempre se fizeram presente em cada momento, todas as minhas conquistas são para vocês.

Com amor, dedico!

AGRADECIMENTOS

Agradeço,

A Deus pela vida, pelos momentos bons que me foi proporcionado e por sempre me proteger.

A UFRPE/UAST, por ter sido uma segunda casa para mim, bem como aos professores do curso de Bacharelado em Ciências Biológicas, que me acolheram e me passaram seus conhecimentos.

Ao Laboratório de Química da UFRPE/UAST e ao Laboratório de Enzimologia da UFPE, que foram primordiais para a construção deste trabalho.

Profundamente, ao meu orientador Dr. Diego Buarque, por todos os ensinamentos, acolhimento e principalmente paciência, durante todo o tempo de orientação. Pela oportunidade dada de crescer de forma acadêmica com a pesquisa científica.

Imensamente, a minha família. Minha mãe, que sempre me apoiou em todas as minhas decisões e loucuras (uma delas foi morar a quase 300km deles). Ao meu pai, que mesmo do jeito dele, sempre demonstrou seu carinho e seu orgulho por mim. Ao meu querido irmão, que se tornou um rapaz lindo durante esses 4 anos que eu quase não o vi (inclusive, se prepare que você vai passar por isso logo logo viu). Eu amo vocês.

Ao meu querido noivo, que sempre me apoiou, me deu amor, carinho e teve uma enorme paciência comigo, me viu chorar várias vezes e mesmo assim me dizia que tudo ia dar certo e não me deixava desistir. Como também, me dava chocolate para me acalmar.

Aos meus colegas e amigos que pude fazer durante a graduação, em especial a minha dupla de pesquisa, Larissa, que compartilhou dos vexames comigo e das raivas também. As minhas migas Vitória Régia, Clara, Rackel, Felícia, Victoria K, Thaís, Jeferson, Karen e Jully, pelos rolês tops durante a graduação (e aos que virão depois também). A aqueles que não foram citados aqui, mas alugam um lugar no meu coração.

A todos aqueles que contribuíram de certa forma, ao longo da minha caminhada durante o curso.

“Somos os prisioneiros de uma sociedade "descartável". A única maneira de escapar é criar um design sustentável”.

Philippe Starck

RESUMO

Visando a biorremediação para combater impactos causados pelos efluentes têxteis, o presente estudo teve como objetivo determinar os parâmetros físico-químicos da enzima e avaliar o efeito de lacases da principal espécie de camarão cultivada no Brasil (*Litopenaeus vannamei*). Dessa forma, com a enzima já purificada parcialmente, foi realizada a determinação da atividade de lacases, utilizando o substrato ABTS e Colina, posteriormente, foi determinado os parâmetros físico-químicos, por fim foi analisado o efeito das enzimas lacase na degradação dos corantes vermelho de fenol, coomassie brilliant blue r, azul de bromofenol e azul de metileno. Com isso, as enzimas já parcialmente purificadas, juntamente com o ABTS, pode-se observar que a mesma não obteve especificidade com o substrato, com isso, não houve atividade. Com isso, foi utilizado o substrato Colina para a determinação dos parâmetros físico-químicos, onde a mesma conseguiu reagir com a enzima e apresentou um pH ótimo alcalino (pH 9,5) e obteve sua temperatura ótima no grau de 100°C. Após isso, foi calculado o percentual de degradação através da absorbância por minuto, na ausência e na presença da lacase, obtendo um resultado satisfatório para a degradação do corante azul de bromofenol. Portanto, a enzima lacase foi capaz de degradar um dos corantes, de forma que estudos futuros poderão ampliar os corantes testados para viabilizar a lacase como uma enzima importante no combate aos corantes.

Palavras-chave: Enzima, vermelho de fenol, coomassie r, azul de metileno, azul de bromofenol, *L. vannamei*.

ABSTRACT

Aiming at bioremediation to combat impacts caused by textile effluents, the present study aimed to determine the physicochemical parameters of the enzyme and to evaluate the effect of laccases from the main shrimp species cultivated in Brazil (*Litopenaeus vannamei*). Thus, with the enzyme already partially purified, the determination of the activity of laccases was carried out, using the substrate ABTS and Choline, later, the physicochemical parameters were determined, and finally, the effect of laccase enzymes on the degradation of dyes was analyzed. phenol red, coomassie brilliant blue r, bromophenol blue and methylene blue. With this, the enzymes already partially purified, together with ABTS, it can be observed that it did not obtain specificity with the substrate, thus, there was no activity. With this, the substrate Colina was used to determine the physicochemical parameters, where it was able to react with the enzyme and presented an optimal alkaline pH (pH 9.5) and obtained its optimal temperature at 100°C. After that, the percentage of degradation was calculated through the absorbance per minute, in the absence and in the presence of laccase, obtaining a satisfactory result for the degradation of the bromophenol blue dye. Thus, laccase was able to degrade one of the dyes, for future studies which will allow use laccases as an important enzyme against dyes.

Keywords: Enzyme, phenol red, coomassie r., bromophenol blue, methylene blue, *L. vannamei*.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Fórmula estrutural de um corante azóico	18
Figura 2: Estrutura da coordenação do cobre na molécula de Lacase	21
Figura 3: Procedimento de Laboratório. A) Procedimento de pipetagem do extrato bruto, juntamente com o tampão e substrato. B) Processo de incubação das amostras em banho maria, ambos realizado no Laboratório de Química da UFRPE/UAST.	24
Figura 4. Eletroforese SDS-PAGE do extrato purificado de lacases do camarão <i>Litopenaeus vannamei</i> com sulfato de amônio e purificada. P – padrão de pesos moleculares; Coluna 1: fração (0 – 30%); Coluna 2: F (30 – 80%); Setas: mostram a localização das bandas de proteínas.	27
Figura 5: Acompanhamento da faixa de pH ótimo da lacase. O resultado encontra-se expresso pela média (n=3) e desvio padrão do experimento realizado em triplicata.....	28
Figura 6: Acompanhamento da faixa de temperatura ótima da lacase. O resultado encontra-se expresso pela média (n=3) e desvio padrão do experimento realizado em triplicata.....	29
Figura 7: Determinação da degradação do corante azul de metileno, na ausência (100%) e na presença da enzima lacase do camarão <i>Litopenaeus vannamei</i> . A) Metileno – absorbância apenas do azul metileno; Metileno + lacase – absorbância do azul metileno na presença da lacase. B) absorbância apenas do azul de bromofenol; Bromofenol + lacase – absorbância do azul de bromofenol na presença da lacase. B) Vermelho de fenol + lacase – absorbância do vermelho de fenol na presença de lacase; Coomassie r + lacase – absorbância do Coomassie r na presença de lacase. N – Não houve diferença estatística significativa. * - Houve diferença estatística significativa em $P < 0,05$. Os resultados estão expressos em média \pm desvio padrão e a análise estatística foi teste T.....	30

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Determinação da purificação e atividade da lacase do camarão *Litopenaeus vannamei*, precipitado com as concentrações de 0 – 30% e de 30 – 80% de sulfato de amônio e do sobrenadante 26

Tabela 2: Determinação da atividade da lacase do camarão *Litopenaeus vannamei*, em função dos substratos ABTS e Hidroquinona 28

SUMÁRIO

1.0 INTRODUÇÃO	13
REVISÃO DE LITERATURA	15
INDÚSTRIA TÊXTIL	15
EFLUENTES	15
CORANTES	17
BIORREMEDIAÇÃO	18
TRATAMENTOS UTILIZADOS NA DEGRADAÇÃO DE CORANTES.....	19
<i>Litopenaeus vannamei</i>	20
LACASES.....	20
OBJETIVOS	23
GERAL	23
ESPECÍFICO	23
MATERIAIS E MÉTODOS	23
PURIFICAÇÃO PARCIAL DA LACASE	23
DETERMINAÇÃO DA ATIVIDADE DE LACASE COM O SUBSTRATO ABS E COLINA.....	23
DETERMINAÇÃO DOS PARÂMETROS FÍSICO-QUÍMICOS DAS LACASES.....	24
EFEITO DAS LACASES NA DEGRADAÇÃO DOS CORANTES	24
5.0 RESULTADOS E DISCUSSÃO	25
6.0 CONCLUSÃO	31
REFERÊNCIAS	32

1.0 INTRODUÇÃO

A quantidade de compostos xenobióticos vem crescendo de forma muito rápida nos últimos anos, principalmente nos ecossistemas aquáticos. Dentro desse contexto, a indústria têxtil merece ênfase, uma vez que, estes efluentes gerados pelos setores deste segmento chegam a ser considerados como um dos mais poluidores entre os setores industriais (AZMI; BANERLJEE, 2001). Além disso, devido ao grande volume de efluente gerado por essas indústrias, são encontrados em abundância os resíduos de corantes que são utilizados de forma intensiva (KATHERESAN *et al.*, 2018).

Do ponto de vista ambiental, os corantes utilizados pela indústria têxtil, representam um grande problema, visto que esses efluentes contendo corantes, estão presentes nas águas residuárias que são geradas por esses setores, onde geralmente são resistentes ao tratamento biológico habitual. Os compostos dos corantes geralmente são estáveis e de difícil biodegradação, possuindo uma estrutura molecular complexa (DOS SANTOS; VEIBER, 2009).

Os efluentes têxteis possuem características variadas como também diferentes composições, que vão depender do tipo de corante utilizado em cada caso e do processo de coloração (BRAILE; CAVALCANTE, 1993). Além disso, são caracterizados por serem extremamente coloridos, visto que possuem corantes que não se fixam na fibra durante o processo de tingimento (ZHUO *et al.*, 2019). Isto leva à poluição dos corpos d'água pelos corantes reativos, os quais alteram os ciclos biológicos prejudicando os processos da fotossíntese, causando também prejuízos ambientais (KUNZ *et al.*, 2002). A quantidade certa de corantes que são produzidos e despejados ainda é desconhecida, porém, uma estimativa de produção mundial é de 10.000 t/ano (FORGACS; CSERHÁTI; OROS, 2004).

As águas residuárias coloridas têm sérios riscos de impactos ambientais, bem como causam uma poluição visual, provocando assim problemas à biota aquática. Com isso, acaba conduzindo muitos problemas, afetando na atividade fotossintética nos sistemas hídricos, reduzindo assim o nível de oxigenação do meio, por motivos de os corantes restringir a entrada de radiação solar, visto que os corantes vão absorver essa radiação. Ademais, os corantes vem sendo considerados substâncias bioacumulativas, carcinogênicas, tóxicas e mutagênicas (COGO, 2011; COSTA *et al.*, 2010; DE LIMA *et al.*, 2007).

Dentre as formas de degradar os corantes poluentes do meio ambiente, o uso da lacase na indústria têxtil vem crescendo rapidamente (COUTO, HERRERA, 2006). De acordo com o

exposto, estudos identificaram a atividade de lacases em camarões, que apresentam potenciais aplicações biotecnológicas, bem como na biotransformação de xenobióticos e efluentes industriais e na descoloração de ambientes aquáticos contaminados (PACHECO; SOARES, 2014).

O uso de lacases tem um enorme potencial de aplicação na indústria referente à sua grande diversidade de oxidação de substratos (ALCALDE *et al.*, 2006). Além disso, na detoxificação de corantes pode ter um elevado benefício, contribuindo para a descoloração de corantes sintéticos, visto que essas enzimas possuem uma alta taxa de degradação de compostos presentes em efluentes industriais (KUNZ *et al.*, 2002). Além do mais, a enzima pode acelerar a degradação de corantes aromáticos, o mesmo pode acontecer pela ruptura do anel aromático (SILVA *et al.*, 2012). Com isso, a utilização das lacases de camarão auxilia na degradação de corantes da indústria têxtil.

Portanto, visando a biorremediação para combater os impactos causados pelos efluentes têxteis, o presente estudo tem como objetivo caracterizar os parâmetros físico-químicos, bem como avaliar o efeito de lacases da principal espécie de camarão cultivada no Brasil (*Litopenaeus vannamei*) (BARBIERI; OSTRENSKY, 2002). Essa enzima foi utilizada para combater a remoção de corantes comumente encontrados indústria têxtil, evidenciando o coomassie brilliant blue r e vermelho de fenol, azul de bromofenol e azul de metileno.

REVISÃO DE LITERATURA

INDÚSTRIA TÊXTIL

A indústria têxtil no Brasil possui um grande valor sócio econômico (ABIT, 2016). Porém, apesar de seus benefícios, a indústria têxtil chega a ser um dos maiores consumidores de água, quando comparada com outros setores industriais (DILARRI *et al.*, 2016). O maior consumo de água, ocorre durante o processo de tingimento e acabamento, onde acabam gerando mais de 50L de efluentes por quilo de tecido que é produzido. Além disso, os corantes têm chamado mais atenção dentre os compostos químicos utilizados por essas indústrias, pelo fato de possuírem um alto potencial de poluição (ARSLAN-ALATON; GURSOY; SCHMIDT, 2008). Outrossim, o setor têxtil é responsável pela maior parte da produção, uso e também do descarte desses efluentes contendo essas substâncias (DILARRI *et al.*, 2016).

O Brasil possui um forte setor têxtil, onde há uma representação forte da parte da economia do país, porém, há uma falta de responsabilidade ambiental no descarte dos efluentes que são gerados por esses setores (REVANKAR; LELE, 2007). As água residuárias que são coloridas devido as indústrias têxteis, são consideradas as mais poluídas entre os setores, onde mais de 100 mil pigmentos e corantes têxteis são utilizados em comum no mundo (ROBINSON, *et al.*, 2001)

Do ponto de vista ambiental, um dos maiores desafios do setor têxtil é a remoção da cor dos banhos de lavagens (KONSTANTINOU; ALBANIS, 2004). Entretanto, quando as empresas se disponibilizam a reduzir os impactos causados durante a produção, os custos ambientais podem ser minimizados, ou até mesmo eliminados (SANTOS, 1997).

Ademais, os principais métodos de descoloração de águas contendo efluentes, que são encontrados na literatura, são principalmente por meio de processos de tratamento físico-químicos e biológicos (IMMICH, 2006; ROYER, 2008; ZANELLA *et al.*, 2010).

EFLUENTES

A composição dos efluentes têxteis é extremamente heterogênea, onde apresentam uma diversidade de corantes e produtos químicos, onde os mesmos são processos realizados

pelos setores têxteis, que são tingimento e acabamento (SABUR; KHAN; SAFIULLAH, 2012). Os efluentes são caracterizados por serem extremamente coloridos, onde durante o processo de tingimento, os corantes acabam não fixando na fibra (O'NEILL *et al.*, 1994; TWARDOKUS, 2004). Nos processos industriais, as indústrias têxteis acabam gerando diversos resíduos com compostos tóxicos por causa da alta quantidade de água utilizada. Com isso, acabam gerando efluentes de alta capacidade química, pelo fato de possuírem várias etapas de lavagens e tingimentos (GAYLARDE; BELLINASSO; MANFIO, 2005; DOS SANTOS; SANTAELLA, 2002).

A complexidade dos efluentes têxteis se dá pelo alto conteúdo de corantes, aditivos e surfactantes, que na maioria das vezes podem estar presentes em elevadas concentrações, sendo eles compostos orgânicos que são de estruturas complexas (LEÃO *et al.*, 2022). Além disso, a maioria das indústrias têxteis se encontram em países subdesenvolvidos, onde muitas vezes é responsável por um tratamento pobre de águas residuais (FORSS; WELANDER, 2011).

Em Pernambuco, um dos maiores problemas que o Órgão Ambiental enfrenta, é a poluição hídrica, estimulada pelo lançamento de efluentes têxteis, devido as lavanderias do jeans. Vale enfatizar aquelas que estão localizadas na Região do Agreste, no Polo de Confecções. A medida que esses efluentes são descartados em corpos d'águas da Região, sendo responsável pelo abastecimento dos municípios, sendo eles Caruaru, Toritama, Agrestina, Santa Cruz do Capibaribe, Vertentes, Surubim, Riacho das Almas, Cupira, Taquatiringa do Norte e Brejo da Madre de Deus, ocorrendo assim, problemas na qualidade de água para ocorrer o abastecimento (SILVA, 2005).

Na medida em que esses efluentes são despejados e não são tratados da maneira correta, acabam provocando diversos impactos ambientais, acarretando em prejuízos à qualidade da água, bem como causando uma interferência nos ecossistemas aquáticos, podendo assim, inibir os processos como a fotossíntese. Estudos apontam que corantes podem ser carcinogênicos, como a classe dos azo corantes (AFTAB *et al.*, 2011; KALYUZHNYI ; SKLYAR, 2000), como também, muitos dos produtos utilizados na degradação, podem ser tóxicos e mutagênicos (SANTOS; CERVANTES; LIER, 2007; SOUSA; LOPES; ANDRADE, 2016). Segundo autores como Meehan *et al.* (2006), diariamente efluentes que contém corantes têxteis são descartados em corpos d'água naturais em grande quantidade.

Além disso, uma vez que esses corantes estão no ambiente, já mostram sua alta toxicidade e efeitos genotóxicos nos organismos daquele local (YESILADA, O., ASMA, D., CING, S., 2003).

Segundo Guaratini e Zanoni (2000), os efluentes provenientes dessas indústrias, quando não são tratados de forma correta, antes de serem lançados no meio ambiente, podem atingir reservatórios naturais e também estações de tratamento de água, comprometendo assim todo um ambiente aquático. À medida que esses corantes são lançados em ambientes aquáticos, mesmo que em pequena quantidade, já se pode observar uma mudança na coloração daquele corpo d'água, sendo facilmente detectado pelas autoridades e também pelo público responsável por esses assuntos ambientais (TWARDOKUS, 2004; ROYER, 2008).

Segundo os autores Pandey; Singh e Iyengar (2007), afirmam que quando um efluente contendo corantes são lançados em um corpo d'água, a cor acaba afetando na transparência daquele corpo receptor, isto acarreta na inibição de fotossíntese que é realizada pelas algas daquele local, provocando uma depleção de oxigênio dissolvido no sistema. Além disso, esse processo pode contribuir para o aumento de mortalidade dos peixes no ambiente aquático, como também outros seres vivos presentes nesse local.

CORANTES

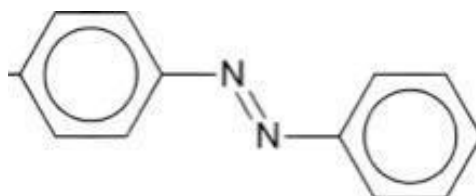
O uso de corantes pelo homem é uma atividade bem antiga (ZOLLINGER, 1987), sendo elas registradas a mais de 4 mil anos. Mesmo nas cavernas, se usavam pigmentos para fazer as inscrições rupestres. Porém, naquela época, se utilizava recursos naturais para este feito, de forma que apenas em 1856 que iniciou ao uso de corantes artificiais. Atualmente, mais de 90% dos corantes utilizados são sintéticos (REDQ\UFSC, 2001).

Segundo os dados disponíveis da UNIDO (*United Nations Industrial Development Organization*) (2018), mostram que o Brasil, até 2018, foi o 10º produtor mundial de têxteis, obtendo uma produção de quase US\$ 13 bilhões. Alguns autores como Chattopadhyay, Chatterjee e Sen (2008), afirmaram que a coloração se tornou parte das confecções, sendo ela uma das mais importantes. Isso fez com que o consumidor aumentasse a aceitabilidade de peças coloridas. Além disso, atividades industriais como couro, têxteis, impressão, cosméticos, papéis, entre outros, utilizam corantes sintéticos para que assim possam colorir seus produtos (SHARMA *et al.*, 2011).

Os corantes sintéticos se enquadram na categoria de poluentes emergentes (HORVAT *et al.*, 2012). Há basicamente uma classe de corante a ser empregado para cada tipo de aplicação e de fibra, por isso a existência de diversos tipos no mercado (GUARATINI; ZANONI, 2000). As estruturas dos corantes são subdivididas em orgânicos e inorgânicos (antraquinona, azo, etc.), onde os mesmos são classificados de acordo com sua estrutura química e aplicação (SARON; FELISBERTI, 2005; POPLI; PATEL, 2014). Segundo Immich (2006), de acordo com a fixação, os corantes são classificados em branqueadores, de enxofre, corantes, básicos, diretos, a cuba, pré-fixados, dispersos, azóicos e ácidos.

Os corantes azo (figura 2) são compostos orgânicos sintéticos, extremamente usados no tingimento têxtil, compondo cerca de 50% dos corantes que são mais produzidos no mundo (LOURENÇO; NOVAES; PINHEIRO, 2006). Além disso, autores como Hunger *et al.* (2004), afirmam que entre os mais de 3 mil corantes que são utilizados na indústria têxtil para o tingimento, cerca de 70% são considerados do tipo azo (-N=N-). Alguns autores como Manu e Chaudhari (2002), afirmam que, dentre os corantes azo utilizados nos processos de tingimento, cerca de 30% da quantidade inicial utilizada, permanecem sem fixação devido a sua baixa eficiência no processo de tingimento, tornando assim o efluente altamente poluidor.

Figura 1. Fórmula estrutural de um corante azóico



Fonte: http://www.pysanky.info/Chemical_Dyes/History.html

Os corantes atualmente são aplicados em diversos setores industriais, com isso, grandes quantidades de corantes são encontradas em efluentes líquidos, sendo assim um grande potencial poluidor (PIZATO, 2013). Muitos dos corantes que são utilizados pelos setores têxteis, são produzidos para resistir a muitos processos, bem como a degradação microbológica, a luz e também a produtos químicos (DEMARCHE; JUNGHANN; NAIR, 2012). Assim, o entendimento dos demais métodos de tratamentos, principalmente a biorremediação, pode ajudar no combate a esses corantes têxteis.

BIORREMEDIAÇÃO

A biorremediação utiliza de organismos vivos, como também dos seus subprodutos para o tratamento de ambientes contaminados por poluentes, reduzindo o nível de concentração de poluição a um nível não detectável, bem como não tóxico, sempre dentro dos parâmetros estabelecidos pelos setores ambientais (SALVI, 2011; KUMAR, *et al.*, 2011).

Para ocorrer o processo de descontaminação, geralmente são utilizados organismos autóctones, seres do próprio ambiente, ou organismos alóctones, seres que são introduzidos naquele ambiente danificado, geneticamente modificado ou no seu estado nativo, onde os mesmo obtém capacidade de degradar compostos xenobióticos, gerando um produto menos poluente e recalcitrante, quando comparado com a molécula inicial (CASTELLANI, 1939; GAYLARDE; BELLINASSO; MANFIO, 2005). Segundo Boopathy (2000), os processos podem ocorrer de duas formas, *ex situ* e também *in situ*. Sendo elas fora do ambiente contaminado, ou no próprio local. Dentre os fatores utilizados para acelerar ou diminuir a velocidade da degradação, utilizam-se de fatores físicos, químicos e biológicos (GAYLARDE; BELLINASSO; MANFIO, 2005).

TRATAMENTOS UTILIZADOS NA DEGRADAÇÃO DE CORANTES

Há uma busca constante por novos métodos de tratamento de efluentes. Porém, por não existir apenas um método de tratamento padrão, os autores Guaratini e Zanoni (2000) exemplificam que a melhor escolha para o tratamento seria a depender do tipo de corante a ser removido, bem como avaliar a sua composição, concentração e também o fluxo de produção de efluentes.

Dentre os processos de biorremediação, os biológicos merecem um destaque, pela relativa facilidade que é encontrada na implementação de sistemas onde operam em grande escala. Uma das soluções para a remoção desses efluentes industriais, seria correlacionar o uso dos processos biológicos aos processos químicos e físico-químicos (DULLIUS, 2004; IMMICH, 2006; ROYER, 2008; ZANELLA *et al.*, 2010).

Alguns trabalhos vêm sendo realizados com o objetivo de isolar e selecionar microrganismos e moléculas capazes de descolorir e degradar diferentes corantes sintéticos, como também outros compostos recalcitrantes, como bactérias, leveduras, fungos basidiomicetos e ascomicetos, como também organismos aquáticos como camarões

(SHYAMALA *et al.*, 2014; CHEN *et al.*, 2016; KUMAR *et al.*, 2017; SARIOGLU *et al.*, 2017; AKSU; DÖNMEZ, 2003; ABADULLA *et al.*, 2000; KAMIDA *et al.*, 2005; MACHADO *et al.*, 2006; NIEBISCH *et al.*, 2010; NIEBISCH *et al.*, 2014; BULLA *et al.*, 2017; HAO *et al.*, 2007; JIN *et al.*, 2007; BRUSCATO, 2011; MIRANDA *et al.*, 2013; ZHENG *et al.*, 2013; BENGHAZI *et al.*, 2014; KABBOUT; TAHA, 2014; YANTO ; TACHIBANA, 2014; NEOH *et al.*, 2015; FILLAT *et al.*, 2016; MARZALL-PEREIRA, 2017; THEERACHAT, 2019; PACHECO; SOARES, 2014).

Nos últimos anos, a utilização de enzimas em processos de degradação de efluentes com corantes vem crescendo demasiadamente. Neste contexto, a Organização para a Cooperação e Desenvolvimento Econômico (OCED), reconhece que a utilização da tecnologia enzimática como componente de desenvolvimento industrial enzimático é de extrema importância (CARDOSO; MORAES; CASS, 2009).

Além disso, há algumas vantagens de se trabalhar com enzimas para o tratamento de efluentes, como o fato de que as mesmas possuem uma alta capacidade de trabalhar em ampla faixa de concentração de pH, como também de temperatura, de contaminantes, de salinidade, (SILVA; COELHO; CAMMAROTA, 2010). Entretanto, há algumas desvantagens, como o alto custo com a produção dessas enzimas, porém, muitos estudos estão sendo realizados para que a produção dessas moléculas sejam mais baratas e produtivas (SILVA *et al.*, 2012). Com isso, o cultivo de uma das principais espécies de camarão do Brasil, que contém a enzima lacase localizado no hepatopâncreas, traz vantagens para o tratamento desses efluentes.

Litopenaeus vannamei

O *Litopenaeus vannamei*, ou como também é conhecido “Camarão Branco do Pacífico” ou “Camarão Cinza”, é uma das espécies de camarão mais cultivadas no Brasil (FURTADO, *et al.*, 2010) e se encontra distribuído pela costa do Pacífico Oriental, bem como pela América do Sul e Central, sendo considerada uma das espécies de mais importância na carcinicultura mundial (LAI, CHENG, KUO, 2005). Devido ao aumento de produção do cultivo de camarão, acarretou em uma maior quantidade de resíduos de processamento, ou seja, novos problemas ambientais. Realmente, esses resíduos são considerados um dos principais subprodutos da indústria pesqueira. Ademais, um método utilizado para tratar resíduos de camarões é a hidrólise, onde pode ser utilizado para recuperar moléculas bioativas, como as enzimas lacases (SIMPSON *et al.*, 1997; MIZANI; AMINLARI; KHODABANDEH, 2005).

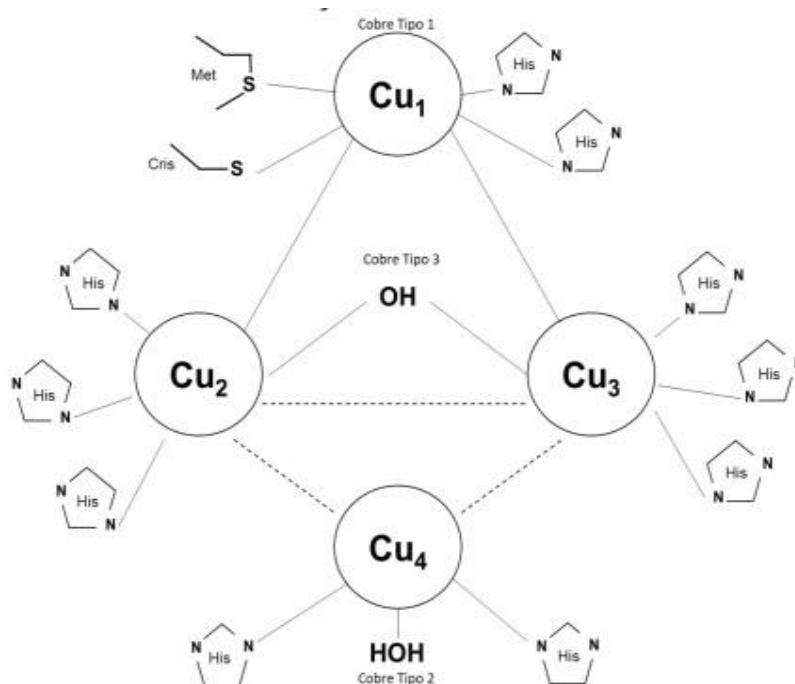
LACASE

As lacases são enzimas (benzenodiol oxigênio oxidoreductase, EC 1.10.3.2), pertencentes à família das multicobre oxidases e são classificadas como oxidoredutores (CHRISTOPHER; YAO; JI, 2014), onde oxidam os compostos fenólicos e aminas aromáticas (MENEZES; BARRETO, 2015; AGUIAR, 2006). Assim, essas enzimas são capazes de acelerar a remoção de elétrons desses compostos (GIESE *et al.*, 2004).

A molécula da lacase é uma glicoproteína, onde possui um centro ativo em sua estrutura que vai ser composto por quatro átomos de cobre (Cu), e são distribuídos em três sítios de ligação redox diferentes. A enzima lacase possui um cobre Tipo 1, um cobre Tipo 2 e dois cobsres Tipo 3 (POLAK; JAROSZ-WILKOLAZKA, 2012; COUTO; HERRERA, 2006; MINUSSI, 2002). O cobre tipo 1 está ligado a duas histidinas, uma metionina e uma cisteína. O cobre tipo 2, está coordenado com uma molécula de água (H_2O) e também 2 histidinas. O cobre tipo 3 está coordenado com 3 histidinas que estão acopladas por uma ponte de ligação hidroxila (DESAI; NITYANAND, 2011; CHRISTOPHER; YAO; JI, 2014).

No que diz respeito ao mecanismo, vai ocorrer a remoção de um próton e um elétron do substrato. Nesse processo, o elétron é deslocado para a lacase, que vai reduzir seu cobre Tipo 1, fazendo com que, posteriormente, ocorra uma transferência de elétrons interna para o cobre Tipo 2 e Tipo 3, nesse processo de transferência é que ocorre a oxidação dos substratos inorgânicos ou orgânicos (GARCIA, 2009; MOROZOVA *et al.*, 2007).

Figura 2. Estrutura da coordenação do cobre na molécula de Lacase.



Fonte: Adaptada, CHRISTOPHER; YAO; JI, (2014).

A lacase pode ser considerada uma enzima com baixa especificidade quando comparada com outras, pois a mesma consegue atuar em uma grande variedade de substâncias, como benzenos, aminas aromáticas, alguns componentes inorgânicos (DESAI; NITYANAND, 2011), complexos metálicos e principalmente fragmentos fenólicos, tornando assim, a enzima uma grande e importante biodegradadora de corantes, como também pode ser utilizadas para outras aplicações biotecnológicas (SOARES, 2000; GARCIA, 2009). Ainda assim, a atividade da lacase pode ser identificada através de espectrofotometria, como também através do monitoramento da coloração dos produtos de oxidação (CHENTHAMARAKSHAN *et al.*, 2017).

A lacase é uma das enzimas responsáveis pela degradação de corantes têxteis, visto que, por serem enzimas extracelulares e apresentarem baixa especificidade para o substrato de interesse, as tornam assim, extremamente interessantes para serem utilizadas no tratamento de resíduos têxteis, como também de outros resíduos de características variáveis (DELLAMATRICE, 2005; DELLAMATRICE; MONTEIRO, 2006; KAMIDA *et al.*, 2005; DURAN; ESPOSITO, 1997). Além disso, a utilização de mediadores junto às lacases é um fato interessante, visto que, em alguns casos, a enzima não consegue catalisar o substrato de interesse, devido o mesmo não conseguir adentrar em seu sítio ativo, por motivos do tamanho da molécula de substrato (BETTIN, *et al.* 2014).

Ademais, a enzima é utilizada em diversos setores da indústria, bem como no branqueamento e biorremediação de polpas celulósicas, na degradação de corantes têxteis, na produção de etanol, agente de descoloração, como também na remoção de compostos fenólicos e aromáticos dos resíduos líquidos (LEONOWICZ *et al.*, 2001; DESAI; NITYANAND, 2011; MENEZES; BARRETO, 2015).

OBJETIVOS

Geral:

Utilizar lacase do camarão *Litopenaeus vannamei* para a remoção de corantes, visando contribuir com processos de biorremediação destes compostos tóxicos.

Específicos:

- Determinar a atividade das lacases do camarão *Litopenaeus vannamei*;
- Determinar os parâmetros físico-químicos das lacases;
- Determinar o efeito das lacases na degradação dos corantes azul de bromofenol, azul de metileno, coomassie brilliant blue r e vermelho de fenol.

MATERIAL E MÉTODOS

Purificação parcial de lacase

A purificação parcial das lacases foi feita de modo que o extrato enzimático de *Litopenaeus vannamei* foi submetido à precipitação com sulfato de amônio ((NH₄)₂SO₄). O resultado da centrifugação do extrato bruto, foi submetido a frações com concentrações de 0 – 30% e de 30 – 80% de sulfato de amônio. O sulfato de amônio foi adicionado lentamente ao extrato bruto que estava sob agitação. Em seguida, ocorreu a centrifugação dos compostos. Então, as frações foram ressuspensas em tampão tris-HCl 0,1M pH 8,0. A purificação foi avaliada por meio de eletroforese SDS-PAGE, de acordo com a metodologia de Laemmli (1970).

Determinação da atividade de lacases com o substrato ABTS, Hidroquinona e Colina

A Determinação da atividade foi realizada colorimetricamente, de acordo com Zhang et al. (2018), por meio do substrato ABTS (2,2'-Azino-bis[3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid]-diammonium salt). Amostras de 100 µL das lacases e 900 µL de solução ABTS, sendo 1 mM em tampão acetato 100 mM (pH 4,0), e a formação do produto foi quantificada em espectrofotômetro (UV mini 1240, Shimadzu, Japão) a 420 nm. A atividade enzimática específica da enzima foi expressa por meio da variação de absorbância por minuto. O substrato utilizado no primeiro ano de PIBIC (2020-2021) foi a hidroquinona, onde amostras de 50 µL foram incubadas com tampão tris-HCl 0,1 M pH 8,0 e hidroquinona (3mg/mL) e a formação do

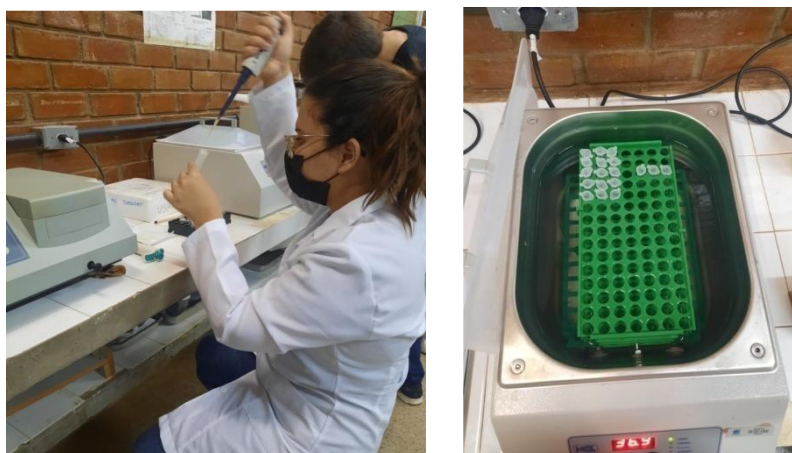
produto foi quantificada em espectrofotômetro (A405nm). Já utilizando o substrato colina, foi utilizado amostras de 100 μ L das lacases e 200 μ L de solução Colina, sendo utilizado o tampão tris-HCl 0,1 M pH 8,0, e a formação do produto foi quantificada em espectrofotômetro a 400 nm.

Determinação dos parâmetros físico-químicos das lacases

Os parâmetros físico-químicos foram determinados de acordo com a metodologia descrita por Buarque et al. (2009). Para o pH ótimo foram utilizadas lacases previamente purificadas (parcialmente) de *L. vannamei*, as quais foram incubadas com o substrato Colina conforme descrito anteriormente, por 30 minutos. As reações foram realizadas com variação dos seguintes tampões: acetato de sódio (pH 5,0), fosfato de sódio (pH 6,0 a 7,0), citrato de fosfato (pH 6,8), tris-HCl (pH 7,5 a 9,0), glicina-NaOH (9,5 a 11,0), e fosfato de sódio-NaCl (11,5). Em seguida foi determinada a atividade residual em percentual.

O efeito da temperatura na atividade das lacases parcialmente purificadas de *L. vannamei* foi analisado com temperaturas entre 25°C e 100°C. Para os experimentos de temperatura ótima, as lacases foram incubadas com Glicina-NaOH e Colina nas temperaturas descritas, por 30 minutos, em que a determinação das absorbâncias foram feitas conforme descrito na determinação da atividade.

Figura 3. Procedimento de Laboratório. A) Procedimento de pipetagem do extrato bruto, juntamente com o tampão e substrato. B) Processo de incubação das amostras em banho maria, ambos realizado no Laboratório de Química da UFRPE/UAST.



Fonte: Arquivo pessoal (2022)

Efeito das lacases na degradação dos corantes

Nesta etapa foi utilizada a metodologia adaptada de Zhuo et al. (2019) para a realização do experimento. As reações foram realizadas à 25°C utilizando 50 µL de tampão tris-HCl 0,1 M pH 8,0, 50 µL de lacases e 50 µL de vermelho de fenol, ou coomassie r, ou azul de bromofenol, ou azul de metileno (100 mg/L). Posteriormente, ocorreu um ajuste no volume para 200 µL com água deionizada. Passados 15 minutos de incubação, foi determinada a concentração residual dos corantes com base numa leitora de microplaca contendo um comprimento de onda de 592 nm. A degradação dos corantes foi determinada com base na determinação das absorvâncias do corante na ausência e presença da enzima. Para os experimentos descritos acima, foram feitas duplicatas e os resultados foram apresentados em média (n = 2) e desvio padrão. A estatística utilizada foi o teste T.

5.0 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Com a realização da purificação da lacase e o seu extrato ter sido submetido à precipitação com sulfato de amônio, a primeira amostra foi suspensa a uma fração de 0 até 30% de adição de sulfato de amônio, onde observou-se na tabela 1, o seu rendimento foi 48,09%, porém a sua atividade específica foi de 60,16 mU/mg. Logo após haver a primeira purificação, as proteínas que não precipitaram foram ressuspensas a uma fração de 30 até 80% de adição de sulfato de amônio, para que assim houvesse uma purificação mais precisa. As proteínas que não precipitaram ao final do experimento, foram denominadas como sobrenadante final (SF), seus resultados se encontram negativos, uma vez que havia pouca proteína para ser detectada.

De fato, a amostra utilizada foi a fração (30 – 80%), de tal forma que, o seu rendimento foi de 11,90%, sendo assim menor, aumentando o seu grau de purificação (12,40 vezes em relação ao extrato bruto), pois como já houve uma purificação anterior, a ressuspensão das proteínas foi em menor quantidade. Além disso, foi obtida uma atividade específica maior proveniente dessa fração, no valor de 742,58 mU/mg, doze vezes mais em relação ao extrato bruto, sendo assim, a ideal para o uso de degradação dos corantes. Neste contexto, no experimento dos autores Jaiswal, Pandey e Dwivedi (2014), foi utilizada a lacase de *Trichoderma harzianum*, onde foi purificada 151,7 vezes através de cromatografia por afinidade Con-A, resultando no valor de 0,39% de rendimento e 130,5 unidades/mg de atividade específica. No nosso experimento, a atividade específica teve um valor de 742,58 mU/mg, ou seja, cinco vezes maior que a atividade da *T. harzianum*.

Tabela 1: Determinação da purificação e atividade da lacase do camarão *Litopenaeus vannamei*, precipitado com as concentrações de 0 – 30% e de 30 – 80% de sulfato de amônio e do sobrenadante.

Amostra	Volume (mL)	Atividade (mU/min)	Proteína (µg/mL)	Atividade total	Proteína total	Atividade específica (mU/mg)	Purificação	Rendimento (%)
Extrato bruto	1	11	183,68	11	183,68	59,88	1	100
F (0 – 30%)	1	5,29	87,91	5,29	87,91	60,16	1,004	48,09
F (30 – 80%)	1	1,31	1,76	1,31	1,76	742,58	12,40	11,90
SF	1	2,36	-2,46	2,36	-2,46	-956,75	-15,97	21,45

Após a precipitação da lacase, o extrato foi submetido à eletroforese SDS-PAGE, onde a proteína em questão se encontra com um peso molecular em torno de 35 kDa na fração (30-80%) (terceira banda indicada por seta branca na figura 4). Porventura, na F (30-80%) seu grau de purificação foi maior, de forma que no gel de eletroforese, apenas três bandas foram detectadas na fração (30-80%), confirmando que a purificação da lacase de *L. vannamei* apresentou eficiência..

Nesse contexto, no experimento de Garcia (2006), foi utilizada a lacase de *Pycnoporus sanguineus*, onde sua purificação foi obtida em Na₂SO₄, resultando em um rendimento de 13,9% com um fator de purificação de 54,1. A enzima purificada foi exposta a eletroforese em gel SDS-PAGE, onde a mesma migrou em uma única banda, resultando em um peso molecular de 70 kDa. No nosso experimento, o peso molecular foi em torno de 35 kDa, ou seja, obtivemos uma lacase com características estruturais diferentes. Isto é possível, uma vez que foram utilizados organismos diferentes do estudo citado.

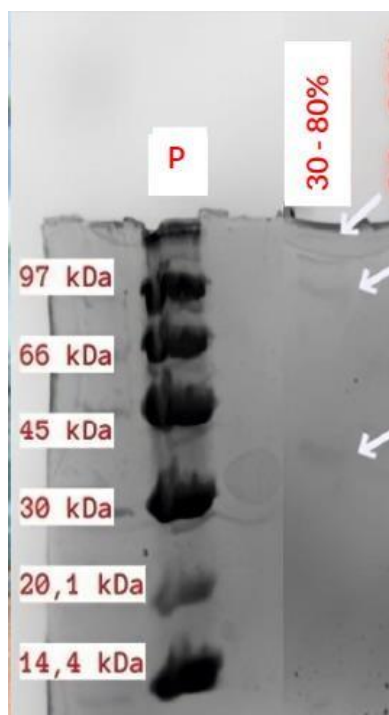


Figura 4. Eletroforese SDS-PAGE do extrato purificado de lacases do camarão *Litopenaeus vannamei* com sulfato de amônio e purificada. P – padrão de pesos moleculares; Coluna 1: fração (0 – 30%); Coluna 2: F (30 – 80%); Setas: mostram a localização das bandas de proteínas.

Com as enzimas parcialmente purificadas, a atividade da lacase foi quantificada em espectrofotômetro frente ao substrato ABTS. Além disso, a atividade foi determinada comparativamente com o substrato hidroquinona. A tabela abaixo (tabela 2) mostra que a enzima não obteve especificidade com o ABTS, com isso, não houve atividade específica.

Comparando com o trabalho de Rampinelli (2016), em que foi utilizada a lacase de *Pleurotus sajor-caju* CCB 019, utilizando o substrato ABTS, a mesma atingiu os valores de pH ótimo, que foram 2,5 e 3,0, resultando numa atividade relativa em torno de 98%. Porém, quando foi aumentando o pH até a faixa alcalina, observou-se uma diferença drástica em relação à atividade da lacase, sendo cerca de 50% menor. Com isso, pode-se observar que no trabalho de Rampinelli, a atividade da lacase é maior em pH ácido, quando se utiliza o ABTS, porém isso pode variar.

Nesse contexto, quando comparamos com o nosso trabalho do primeiro ano do PIBIC (2020-2021), foi utilizado o substrato hidroquinona para reagir com a lacase, onde a mesma obteve uma atividade no valor de 8 mU/mL. Já no experimento atual, a enzima não teve atividade com o substrato ABTS.

Tabela 2: Determinação da atividade da lacase do camarão *Litopenaeus vannamei*, em função dos substratos ABTS e Hidroquinona.

Substratos	Atividade (mU/mL)
ABTS	--
Hidroquinona	8

Após a realização dos experimentos, onde a enzima foi incubada e quantificada em espectrofotômetro frente ao substrato Colina, foi obtido o pH ótimo e temperatura ótima. A determinação do pH ótimo (figura 5) da enzima, foi realizado pela variação do valor do pH, numa faixa de 5,0 a 11,5 a 37°C, onde a mesma apresentou uma melhor atividade no pH alcalino de 9,5, resultando numa atividade residual de 100%. Já entre o meio ácido e neutro (pH 6,5), a *L. vannamei* teve uma queda entorno de 50% na sua atividade enzimática.

A determinação da temperatura ótima (figura 6) foi realizada pela variação da temperatura, na faixa de 25°C a 100°C, com o pH ótimo (pH 9,5), onde a mesma obteve uma melhor atividade residual na temperatura de 100°C, no valor de 100%, e nas temperaturas mais elevadas, a enzima conseguiu manter sua atividade num valor considerável.

Nesse contexto, quando comparamos com o trabalho de Riedi (2019), foi utilizado lacase de *Pleurotus ostreatus*, frente ao substrato ABTS, com variação de pH na faixa de 3,0 a 7,0. A mesma atingiu seu pH ótimo na faixa de 4,0, obtendo uma atividade enzimática de 100%. Já na faixa de pH 5,0, a atividade enzimática diminuiu cerca de 13% em comparação com o pH ótimo (4,0). Já no nosso experimento, a enzima lacase do camarão *L. vannamei*, a enzima atingiu o pH ótimo na faixa de 9,5.

Para o valor de temperatura ótima, Riedi avaliou utilizando um intervalo de 20°C a 80°C, sendo que a lacase de *P. ostreatus* atingiu sua temperatura ótima em 60°C, com 100% de sua atividade, entretanto, com a temperatura a 40°C, sua atividade se manteve em 86%. Já no nosso experimento, a lacase atingiu sua temperatura ótima na faixa de 100°C.

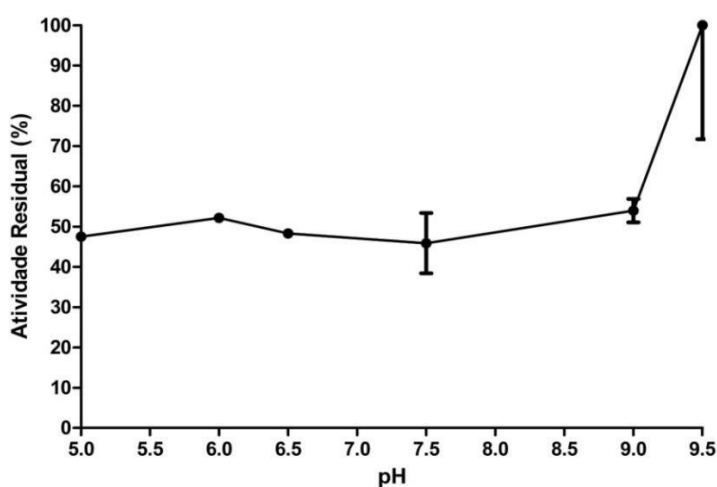


Figura 5. Acompanhamento da faixa de pH ótimo da lacase. O resultado encontra-se expresso pela média (n=2) e desvio padrão do experimento realizado em duplicata.

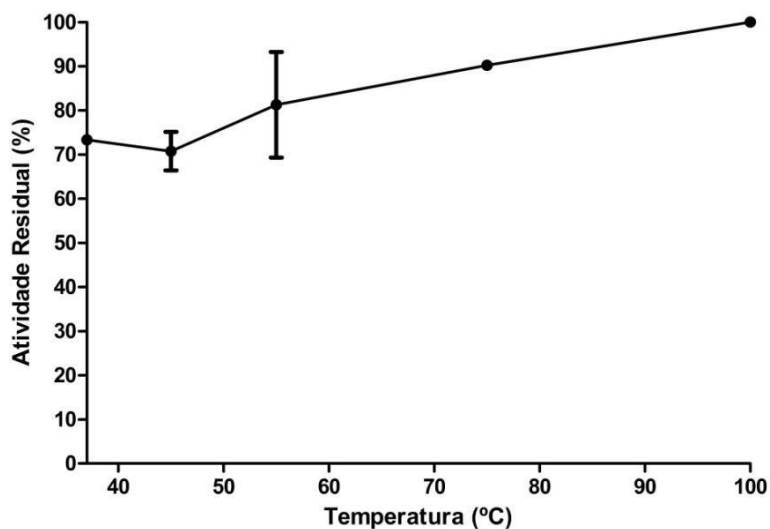


Figura 6. Acompanhamento da faixa de temperatura ótima da lacase. O resultado encontra-se expresso pela média (n=2) e desvio padrão do experimento realizado em duplicata.

A figura abaixo (figura 7) mostra o percentual de degradação dos corantes vermelho de fenol, coomassie r, azul de bromofenol e azul de metileno, na ausência (100%) e na presença da enzima. Feito os experimentos, foi possível observar que para os corantes vermelho de fenol, coomassie r e o azul de metileno, não houve diferença estatística significativa em relação ao 100%, pois a enzima não conseguiu degradar nenhum desses corantes. Já na figura 7B, a absorbância residual teve uma diferença estatística significativa de 25%, ou seja, a enzima lacase conseguiu degradar $\frac{1}{4}$ do azul de bromofenol, diminuindo a porcentagem do corante de 100% para 75%.

Comparando com o trabalho de Carvalho (2005), foi utilizada a lacase de *Lentinnus sp.*, de modo que, na presença do substrato Álcool veratrílico, foi-se possível degradar 15% do corante vermelho de fenol. Já no nosso experimento atual, a lacase não obteve sucesso para a degradação desse corante

Comparando com o trabalho de Zhuo et al. (2019), os resultados da degradação do azul de bromofenol foram melhores, de modo que eles utilizaram diferentes isoenzimas de lacase *Pleurotus ostreatus* HAUCC 162, a LACC6, LACC10 e LACC9. A LACC6 obteve um resultado de descoloração melhor, degradando em 24 horas 79,1% do corante azul de bromofenol (100 mg/L). A taxa de descoloração da LACC10 foi de 71,1% deste corante. Já a LACC9 foi a que possuiu uma menor taxa de degradação, no valor de 65,1 para o azul de

bromofenol. Já no nosso experimento, a lacase do *L. vannamei* conseguiu degradar 25% deste mesmo corante.

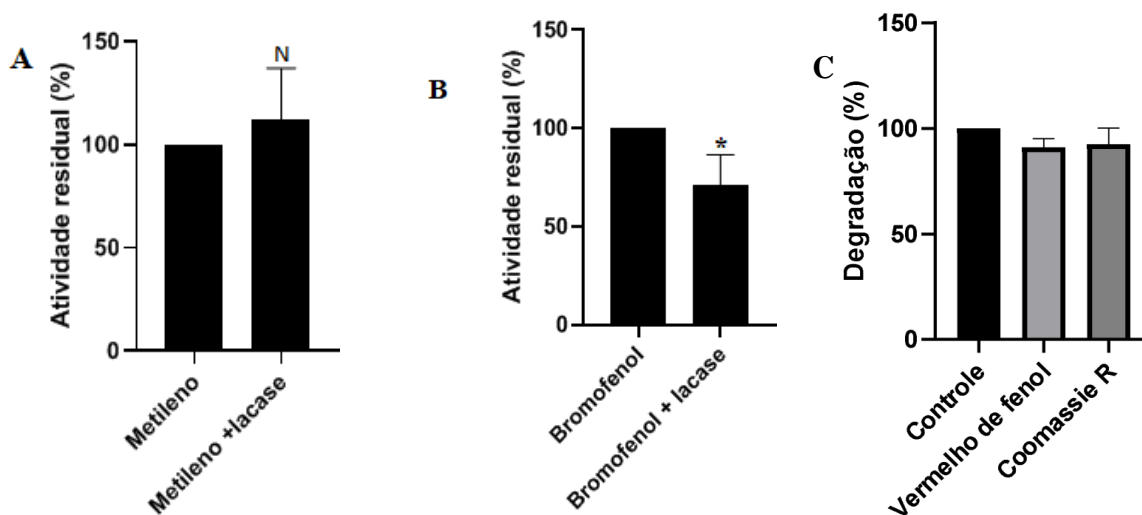


Figura 7. Determinação da degradação dos corantes, na ausência (100%) e na presença da enzima lacase do camarão *Litopenaeus vannamei*. A) Metileno – absorvância apenas do azul metileno; Metileno + lacase – absorvância do azul metileno na presença da lacase. B) absorvância apenas do azul de bromofenol; Bromofenol + lacase – absorvância do azul de bromofenol na presença da lacase. C) Vermelho de fenol + lacase – absorvância do vermelho de fenol na presença de lacase; Coomassie r + lacase – absorvância do Coomassie r na presença de lacase. N – Não houve diferença estatística significativa. * - Houve diferença estatística significativa em $P < 0,05$. Os resultados estão expressos em média \pm desvio padrão e a análise estatística foi teste T.

6.0 CONCLUSÃO

A enzima foi utilizada para degradar compostos da indústria têxtil, enfatizando o azul de bromofenol, azul de metileno, vermelho de fenol e o coomassie brilliant blue r, onde foi possível observar que a mesma conseguiu degradar apenas o corante azul de bromofenol.

Além disso, teve como finalidade utilizar o substrato Colina para reagir com a lacase, e assim realizar a determinação dos parâmetros físico-químicos desta enzima. Neste contexto, a lacase do *L. vannamei* apresentou uma faixa de pH ótimo e temperatura ótima, sendo elas pH 9,5 e 100°C respectivamente. Desse modo, foi possível concluir que a lacase do *L. vannamei* obteve uma melhor atividade em pH alcalino e em temperatura elevada, podendo apresentar aplicações industriais e de biorremediação.

7.0 REFERÊNCIAS

ABADULLA E; TZANOV T; COSTA S; ROBRA KH; CAVACO-PAULO A; GÜBITZ GM. **Decolorization and detoxification of textile dyes with a laccase from *Trametes hirsuta***. Appl Environ Microbiol. 2000 Aug;66(8):3357-62. doi: 10.1128/AEM.66.8.3357-3362.2000. PMID: 10919791; PMCID: PMC92155.

ABIT – **Associação Brasileira da Indústria Têxtil**. Disponível em: . Acesso em 03 set. 2022

AFTAB, U.; KHAN, M. R.; MAHFOOZ, M.; ALI, M.; ASLAM, S. H., e REHMAN, A. **Decolourization and degradation of textile azo dyes by corynebacterium sp. Isolated from industrial effluent**. *Pakistan Journal of Zoology*, v. 43, p. 1-8, 2011.

AGUIAR, A. P. **Seleção de espécies de basidiomicetos produtoras de ligninases para caracterização e aplicação das enzimas sobre corantes aromáticos**. 137 p. Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista, Área de concentração Ciência e Tecnologia de Alimentos, São José do Rio Preto, SP. 2006.

AKSU, Z.; DÖNMEZ, G. A. **Comparative study on the biosorption characteristics of some yeasts for Remazol Blue reactive dye**. *Chemosphere*, v. 50, n. 8, p. 1075–1083. 2003.

ALCALDE, M.; FERRER, M.; PLOU, F.J.; BALLESTEROS, A. **Environmental biocatalysis: from remediation with enzymes to móvel Green processes**. *TRENDS in Biotechnology*, v. 24, n. 6, p. 281-287, 2006.

ARSLAN-ALATON, I.; GURSOY, B. H.; SCHMIDT, J. E. **Advanced oxidation of acid and reactive dyes: Effect of Fenton treatment on aerobic, anoxic and anaerobic processes**. *Dyes and Pigments*, v. 78, p. 117-130, 2008.

AZMI, W.; BANERJEE, U. **Biological de coloriation o fcrystal Violet by a newly isolated *Bacillus* sp. And microbial assessment of toxicology of untreated and treated dye**. *ScientiaIranica*, Tehran, v. 8, n.3, p.171-178, July 2001.

BARBIERI, R. C.; OSTRENSKY, A.. **Camarões marinhos**. Viçosa: Aprenda Fácil, 2001-2002. 2v.

BENGHAZI, L; RECORD, E; SUÁREZ, A; GOMEZ-VIDAL, JA; MARTÍNEZ, J; DE LA RUBIA T. **Production of the *Phanerochaete flavido-alba* laccase in *Aspergillus niger* for synthetic dyes decolorization and biotransformation**. *World J Microbiol Biotechnol*. 2014 Jan;30(1):201-11. doi: 10.1007/s11274-013-1440-z. Epub 2013 Jul 25. PMID: 23884844.

BETTIN, F. et. al. **Aplicação de mediadores redox na descoloração de corantes utilizando caldo enzimático bruto de *pleurotus sajor-caju* ps-2001**. COBEQ 2014 XX Congresso Brasileiro de Engenharia Química. 8 p. 2014

BOOPATHY, R. **Review: Factors limiting bioremediation technologies.** Tecnologia em biorecursos, Volume 74, pp. 63-67, 2000.

BRAILE, P.M.; CAVALCANTE, J.E.W.A., **Manual de Tratamento de Águas Residuárias Industriais.** São Paulo: CETESB, 1993. 764 p.

BRUSCATO, E. **Potencial Biotecnológico de Fungos Endofíticos na Descoloração de Corantes da Indústria Têxtil.** Dissertação (Mestrado em Genética) - Setor de Ciências Biológicas, Universidade Federal do Paraná, Curitiba. 2011.

BULLA, L. M. C. et al. **Activity of the endophytic fungi *Phlebia* sp. and *Paecilomyces formosus* in decolourisation and the reduction of reactive dyes' cytotoxicity in fish erythrocytes.** Environmental Monitoring and Assessment, v. 189, n. 2, p. 1-11, 2017. Tradução. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s10661-017-5790-0>. Acesso em: 12 set. 2022.

CARDOSO, C. L., MORAES, M. C. D., CASS, Q. B. **Imobilização de enzimas em suportes cromatográficos: uma ferramenta na busca por substâncias bioativas,** Química Nova, v. 32, n. 1, pp. 175-187. 2009.

CARVALHO, C. C.; **Produção de Lignases por Basidiomicetos Através de Fermentação em Estado Sólido, Caracterização e Aplicação das Enzimas.** São Paulo, 2005. Acesso em 3 de set 2022. https://repositorio.unesp.br/bitstream/handle/11449/94967/carvalho_cc_me_rcla.pdf;jsessionid=059542853CBEF81FF81F927F499A92B2?sequence=1.

CASTELLANI, A. **Viability of some pathogenic fungi in destiled water.** Jornal Americano de Medicina Tropical e Higiene, 1939.

CHATTOPADHYAY, P., CHATERJEE, S., SEN, S. K. **Biotechnological Potential of Natural Food Grade Biocolorants.** African Journal of Biotechnology Vol. 7 (17), pp. 2972-2985, Índia, 2008.

CHEN BY; MA CM; HAN K; YUEH PL; QIN LJ; HSUEH CC. **Influence of textile dye and decolorized metabolites on microbial fuel cell-assisted bioremediation.** Bioresour Technol. 2016 Jan; 200:1033-8. doi: 10.1016/j.biortech.2015.10.011. Epub 2015 Oct 13. PMID: 26482945.

CHENTHAMARAKSHAN, A., PARAMBAYIL, N., MIZIRIYA, N. *et al.* **Otimização da produção de lacase de *Marasmiellus palmivorus* LA1 pelo método Taguchi de Planejamento de experimentos.** *BMC Biotechnol* 17 , 12 (2017). <https://doi.org/10.1186/s12896-017-0333-x>.

CHRISTOPHER, L.P; YAO, B.; JI, Y. **Lignin biodegradation with laccase mediators systems.** Frontiers in Energy Research. v. 2, p. 1-12. 2014.

COGO, M. D. C. **Estudo de caracterização e disposição dos resíduos de uma indústria têxtil do Estado do Rio Grande do Sul.** Tese de Doutorado, UFRGS, Rio Grande do Sul. 2011.

- COSTA, M. C., SANTOS, A. B. D., MOTA, F. S. B., et al. **Reductive decolourisation of azo dyes and the effect of redox mediators in the presence of the electron acceptor sulfate**, *Química Nova*, v. 33, n. 7, pp. 1514-1519. 2010.
- COUTO, S. R.; HERRERA, J. L. T. **Industrial and biotechnological applications of laccases: A review**. *Biotechnology Advances*. v. 24, p.500-513, 2006.
- DE FREITAS, K. R. **Caracterização e reuso de efluentes do processo de beneficiamento da indústria têxtil**. Tese de Mestrado, UFSC, Florianópolis, 2002.
- DE LIMA, R. O. A., BAZO, A. P., SALVADORI, D. M. F., et al. **Mutagenic and carcinogenic potential of a textile azo dye processing plant effluent that impacts a drinking water source**, *Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis*, v. 626, n. 1, pp. 53-60. 2007.
- DELLAMATRICE, P. M. **Biodegradação e toxicidade de corantes têxteis e efluentes da Estação de Tratamento de Águas Residuárias de Americana, SP**. 2005. 137p. Tese (Doutorado em Ecologia de Agroecossistemas) - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2005.
- DELLAMATRICE, P. M.; MONTEIRO, R. T. R. **Toxicidade de resíduos têxteis tratados por microrganismos**. *Journal of Brazilian Society of Ecotoxicology*, Rio Grande, v. 1, n. 1, p. 63-66, 2006.
- DEMARCHE, P., JUNGHANNS, C., NAIR, R. R., et al. **Harnessing the power of enzymes for environmental stewardship**, *Biotechnology advances*, v. 30, n. 5, pp. 933-953. 2012.
- DESAI, S.S.; NITYANAND, C. **Microbial laccases and their applications: A review**. *Asian Journal of Biotechnology*. v. 3, n. 2, p. 98-124. 2011.
- DILARRI, G.; DE ALMEIDA, É. J. R.; PECORA, H. B.; CORSO, C. R. **Removal of Dye Toxicity from an Aqueous Solution Using an Industrial Strain of *Saccharomyces Cerevisiae* (Meyen)**. *Water, Air, & Soil Pollution*, v. 227, p. 269, 2016.
- DOS SANTOS, A. B., SANTAELLA, S. T. **Remoção de QDO Residuária de Indústria Têxtil Empregando o Processo de Lodos Ativos em Batelada**. *Revista Sanitária e Ambiental – ABES*. Vol. 7 – N° 3 – jul/set 2002 e N° 4 – out/dez 2002, 151-15. Brasil, 2002.
- DOS SANTOS, R. V., VEIBER, R. E. **Foto-oxidação heterogênea aplicada na degradação de corantes reativos**. 20 nov. 2016, 17:19. 2009.
- DULLIUS, C. H. **Utilização de fungos para biodegradação de corantes têxteis sintéticos**. 72p. Dissertação de Mestrado. Programa de Pós-graduação em Desenvolvimento Regional. Universidade de Santa Cruz do Sul. Santa Cruz do Sul – RS, 2004.
- DURÁN, N.; ESPOSITO, E. **Biodegradação de lignina e tratamento de efluentes por fungos ligninolíticos**. In: MELO, I.S. DE; AZEVEDO, J. L. de (Ed.). *Microbiologia*

ambiental. Jaguariúna: EMBRAPA, CNPMA, 1997. 440 p.

FILLAT, Ú. et al. **Screening of eucalyptus wood endophytes for laccase activity.** Process Biochemistry. 2016.

FORGACS, E.; CSERHÁTI, T; OROS, G. **Removal of synthetic dyes from wastewater: a review.** Environment International, Belgrad, v.30, n. 7,p . 953-971, 2004.

FORSS, J., WELANDER, U. **Biodegradation of azo and anthraquinone dyes and continuous systems.***International Biodeterioration & Biodeterioration*, v. 65, n. 1, p. 227-237, 2011.

FURTADO, Plínio Schmidt et al. **Suplementação de taurina em dietas com duas concentrações proteicas para pós-larvas de camarão-branco-do-pacífico.** Revista Brasileira de Zootecnia, v. 39, n. 11, p. 2330-2335, 2010. Disponível em: <<https://doi.org/10.1590/S1516-35982010001100003>>.

GARCIA, T. A. **Purificação e caracterização das lacases de *Pycnoporus sanguineus*.** 126 p. Tese (doutorado) – Universidade de Brasília, Programa de Pós-Graduação em Biologia Molecular, Brasília, DF, 2009.

GAYLARDE, C.C.; BELLINASSO, M.L.; MANFIO, G.P. **Biorremediação: aspectos biológicos e técnicos da biorremediação de xenobióticos.** Biotecnologia Ciência & Desenvolvimento, n. 34, 2005.

GIESE, E.G.; COVIZZI, L.G.; DEKKER, R.F.H.; BARBOSA, A.M.. **Influência de Tween na produção de lacases constitutivas e indutivas pelo *Botryosphaeria* sp.** Acta. Scientiarum. Biological Sciences. Maringá. v. 26, n. 4, p. 463–470. 2004.

GUARATINI, C.C.I.; ZANONI, M.V.B. **Corantes Têxteis.** Química Nova, v.23, n. 1, p.71-78, 2000.

HAO J; SONG F; HUANG F; YANG C; ZHANG Z; ZHENG Y; TIAN X. **Production of laccase by a newly isolated deuteromycete fungus *Pestalotiopsis* sp. and its decolorization of azo dye.** J Ind Microbiol Biotechnol. 2007 Mar;34(3):233-40. doi: 10.1007/s10295-006-0191-3. Epub 2006 Dec 15. PMID: 17171552.

HORVAT, A. J. M.; PETROVIC, M.; BABIC, S.; PAVLOVIC, D. M.; ASPERGER, D.; PELKO, S.; MANCE, A. D.; KASTELAN-MACAN, M. **Analysis, occurrence and fate anthelmintcs and their transformation products in the environment.** Trends in Analytical Chemistry, v. 31, p. 61-24, 2012.

HUNGER, K., GREGORY, P., MIEDERER, P., BERNETH, H., HEID, C., MENNICKE, W. **Important Chemical Chromophores of Dye Classes.** Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA. 2004.

IMMICH, A. N. S. **Remoção de Corantes de Efluentes Têxteis Utilizando Folhas de *Azadirachta indica* como Adsorvente.** Dissertação (Mestrado em Engenharia Química – Universidade Federal de Santa Catarina). Florianópolis, 2006.

JAISWAL, N., PANDEY, V. P., DWIVEDI, U. N. **Purification of a thermostable alkaline laccase from papaya (*Carica papaya*) using affinity chromatography**, International Journal of Biological Macromolecules, 2014. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2014.08.032>.

JIN, XC; LIU, GQ; XU, ZH; TAO, WY. **Decolorization of a dye industry effluent by *Aspergillus fumigatus* XC6**. Appl Microbiol Biotechnol. 2007 Feb;74(1):239-43. doi: 10.1007/s00253-006-0658-1. Epub 2006 Nov 4. PMID: 17086413.

KABBOUT, R.; TAHA, S. **Biodecolorization of textile dye effluent by biosorption on fungal biomass materials**. Physics Procedia, v. 55, p. 437-444. 2014.

KALYUZHNYI, S.; SKLYAR, V. **Biominalisation of dyes and their breakdown products in anaerobic aerobic hybrid and UASB reactors**. Water Science and Technology, v. 41, n. 12, p. 23-30, 2000.

KAMIDA, H. M.; DURRANT, L. R.; MONTEIRO, R. T. R.; ARMAS, E. D. **Biodegradação de efluentes têxteis por *Pleurotus sajor-caju***. Química Nova, São Paulo, v. 28, n. 4, p. 629-632, 2005.

KATHERESAN, V. et al. **Efficiency of various recent wastewater dye removal methods: A review**. Journal of environmental chemical engineering. 2018.

KONSTANTINO, I. K.; ALBANIS, T. A., **TiO₂-assisted photocatalytic degradation of azo dyes in aqueous solution: Kinetic and mechanistic investigation**. A review. Applied catalysis B: Environmental, v. 49, p. 1-14, 2004.

KUMAR, A., BISHT, B. S., JOSHI, V. D. & DEHWA, T. **Review on Bioremediation of Polluted Environment: A Management**. Jornal internacional de ciência do ambiente, pp. 1079-1093, 2011.

KUMAR, A.S., N. ARUNAGIRINATHAN, S. VIJAYANAND, J. HEMAPRIYA and INDRA, V. 2017. **Bioremediation and Detoxification of a Textile Azo Dye-Evans Blue by Bacterial Strain AKIP2**. Int.J.Curr.Microbiol.App.Sci. 6(5): 2687-2694. doi:<http://dx.doi.org/10.20546/ijcmas.2017.604.313>

KUNZ, A.; PERALTA - ZAMORA, P.; MORAES, S. G.; DURÁN, N. **Novas Tendências no Tratamento de Efluentes Têxteis**. Revista Química Nova, São Paulo, v.25, p 78-82, 2002.

LAI, Ching-Yi; CHENG, Winton; KUO, Ching-Ming. **Molecular cloning and characterisation of prophenoloxidase from haemocytes of the white shrimp, *Litopenaeus vannamei***. Fish & shellfish immunology, v. 18, n. 5, p. 417-430, 2005. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2004.10.004>

LAEMMLI, UK. **Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4**. Nature 227, 680-685. 1970.

LEÃO, M. D., CARNEIRO, E. V., SCHWABE, W. K., RIBEIRO, E. D. L., e SOARES, A. F. S. a. T. Z. S. C. **Controle Ambiental na Indústria Têxtil: Acabamentos de Malha**. p. 356-380. 2002.

LEONOWICZ, A.; CHO, N.S.; LUTEREK, J.; WILKOLAZKA, A.; WASILEWSKA, M.W.; MATUSZEWSKA, A. HOFRICHTER, M.; WESENBERG, D.; ROGALSKI, J. **Fungal laccase: properties and activity on lignina**. Journal of Basic Microbiology. Berlin. p. 185-227. 2001.

LOURENÇO, D. R., NOVAIS, J. M., PINHEIRO, H. M. **Effect of Some Operational Parameters on Textile Dye Biodegradation in a Sequential Batch Reactor**. Journal of Biotechnology n° 89, pág 163-164. Lisboa, 2001.

MACHADO, K.M.G et al. **Biodegradation of reactive textile dyes by basidiomycetous fungi from Brazilian ecosystems**. Brazilian journal of microbiology , v. 37, n. 4, p. 481-487. 2006.

MANU, B.; CHAUDHARI, S. **Anaerobic Decolorization of simulated textile containing azo dye**. Bioresource Technology 82 pg. 225-231. Índia, 2001.

MARZALL-PEREIRA, M. **Descoloração de Corantes Têxteis por Novas Espécies e Linhagens Mutantes de Neopestalotiopsis e Secreção Proteica de Neofusicoccum sp.** Dissertação (Mestrado em Genética) - Setor de Ciências Biológicas, Universidade Federal do Paraná, Curitiba. 2017.

MEEHAN, C., BANAT, I. M., MCMULLAN, G., NIGAM, P., AMYTH, F., MARCHANT, R. **Decolorization of Remazol Black B using a thermotolerant yeast, Kluyveromyces marxianus IMB3**, Environ Int 26, 2006, 75-79.

MENEZES, C.R; BARRETO, A.R. **Biodegradação de resíduos lignocelulósicos por fungos basidiomicetos: Caracterização dos resíduos e estudo do complexo enzimático fúngico**. Revista eletrônica em gestão, Educação e Tecnologia Ambiental. v. 19, n.2, p.1365-1391. 2015.

MINUSSI, R. C. **Produção, purificação, caracterização e aplicação industrial de lacase fungica**. 95 p. Tese (doutorado)- Universidade Estadual de Campinas, Faculdade de Engenharia de Alimentos, Campinas, SP. 2002.

MIRANDA, R.C. et al. **Biotreatment of textile effluent in static bioreactor by Curvularia lunata URM 6179 and Phanerochaete chrysosporium URM 6181**. Bioresource Technology. v. 142, p. 36. 2013.

MIZANI M, AMINLARI M, KHODABANDEH M. **Um método eficaz para produzir um pó de extrato de proteína nutritivo a partir de resíduos de cabeça de camarão**. Internacional de Ciência e Tecnologia de Alimentos . 2005; 11(1):49-54. doi: 10.1177/1082013205051271.

MOROZOVA, O. V. et al. **"Blue" Lacases**. Biokhimiya, v. 72, p. 1396-1412. 2007.

NEOH, CH; LAM, CY; LIM, CK; YAHYA, A; BAY, HH; IBRAHIM, Z; NOOR, ZZ. **Biodecolorization of recalcitrant dye as the sole source of nutrition using Curvularia clavata NZZ and decolorization ability of its crude enzymes**. Environ Sci Pollut Res

Int. 2015. Aug; 22 (15): 11669-78. doi: 10.1007/s11356-015-4436-4. Epub 2015 Apr 9. PMID: 25850745.

NIEBISCH, C.H. et al. **Assessment of *Heteroporus biennis* secretion extracts for decolorization of textile dyes.** International Biodeterioration & Biodegradation , v. 88, p. 20-28. 2014.

NIEBISCH, C.H. et al. **Decolorization and biodegradation of reactive blue 220 textile dye by *Lentinus crinitus* extracellular extract.** Journal of Hazardous Materials . v. 180, n. 1–3, p. 316–322. 2010.

O'NEILL, C., HAWKES, FR, HAWKES, DL, LOURENÇO, ND, PINHEIRO, HM e DELÉE, W. **Cor em Efluentes Têxteis—Fontes, Medição, Consentimentos de Descarga e Simulação: Uma Revisão.** Journal of Chemical Technology & Biotechnology, 1999, 74, 1009-1018. [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1097-4660\(199911\)74:11<1009::AID-JCTB153>3.0.CO;2-N](https://doi.org/10.1002/(SICI)1097-4660(199911)74:11<1009::AID-JCTB153>3.0.CO;2-N)

PACHECO, S. M. V.; SOARES, C. H. L.. **Imobilização e caracterização de lacase e seu uso na biodegradação de efluentes de indústrias papelarias.** Quím. Nova, São Paulo , v. 37, n. 2, p. 209- 214, Apr. 2014 . Available from . access on 03 Set. 2022. <https://doi.org/10.5935/0100-4042.20140036>.

PANDEY, A., SINGH, P., e IYENGAR, L. **Bacterial decolorization and degradation of azo dyes.** International Biodeterioration and Biodegradation, v. 59, n. 2, p. 73-84, 2007.

PIZATO, E. **Avaliação da capacidade de remoção de corante têxtil pelo fungo *Lasiodiplodia theobromae* MMPI em efluente sintético e industrial.** 101 p. Dissertação (mestrado) – Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Programa de Pós-Graduação em tecnologia de processos químicos e bioquímicos, Pato Branco, PR. 2013.

POLAK, J.; JAROSZ-WILKOLAZKA, A. **Fungal laccases as green catalysts for dye synthesis.** Process Biochemistry. Lublin, Poland. v.47. p. 1295–1307. 2012.

POPLI, S.; PATEL, U.D. **Destruction of azo dyes by anaerobic–aerobic sequential biological treatment: a review.** International Journal of Environmental Science and Technology. v. 2, p. 405–420. 2014.

RAMPINELLI, J.R. **Utilização da casca de banana para a produção de lacase por *Pleurotus sajor-caju* CCB 019.** Tese de Doutorado, Pós-graduação em Engenharia Química, Universidade Federal de Santa Catarina. 2016, 132p.

REDQ/UFSC – Revista Eletrônica do Departamento de Química. **Corantes e Pigmentos.** Santa Catarina, 2001. Disponível em <https://www.qmc.ufsc.br/qmcweb/artigos/dye/corantes.htm>.

REVANKAR, M. S.; LELE, S. S. **Synthetic dye decolorization by *Ganoderma* sp. WR-1.** Bioresource Technology, v. 98, p. 775-780, 2007.

RIEDI, H. P. **Caracterização e imobilização de duas lacases de basidiomicetos e seu uso na degradação simultânea de rifampicina e isoniazida.** Universidade Tecnológica Federal do Paraná - Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia Ambiental. Curitiba. 2019.

ROBINSON, T, MCMULLAN, G, MARCHANT, R, NIGAM, P. **Remediation of dyes in textile effluent: a critical review on current treatment technologies with a proposed alternative.** Bioresour Technol. 2001, May; 77(3):247-55. doi: 10.1016/s0960-8524(00)00080-8. PMID: 11272011.

ROYER, B. **Remoção de corantes têxteis utilizando casca de semente de Araucaria angustifolia como bioissorvente.** 2008. 68f. Dissertação (Mestrado em Química) - Instituto de Química, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2008.

SABUR, M. A.; KHAN, A. A.; SAFIULLAH, S. **Treatment of textile wastewater by coagulation precipitation method.** Journal of Scientific Research, v. 4, n. 3, p. 623–633, 2012.

SALVI, M. B. **Fungos basidiomicetos em bioremediação.** São Paulo: Instituto de botânica de São Paulo, 2011.

SANTOS, A. B.; CERVANTES, F. J., VAN LIER, J. B. **Impacto dos Mediadores Redox na Remoção de Cor de Corantes Azo e Antraquinônico por Lodo Granular Anaeróbio sob condições Mesofílicas e Termofílicas.** Revista Sanitária e Ambiental – ABES, Vol. 12 – Nº 1 - jan/mar. Brasil, 2007.

SANTOS, S. **Impacto Ambiental Causado pela Indústria Têxtil.** Florianópolis, p. 01-08. mar. 1997. Disponível em: http://www.abepro.org.br/biblioteca/enegep1997_t6410.pdf. Acesso em: 06 set. 2022.

SARIOGLU, O.F, KESKIN, N.O.S, CELEBIOGLU, A, TEKINAY, T, UYAR, T. **Bacteria encapsulated electrospun nanofibrous webs for remediation of methylene blue dye in water.** Colloids Surf B Biointerfaces. 2017 Apr 1;152:245-251. doi: 10.1016/j.colsurfb.2017.01.034. Epub 2017 Jan 19. PMID: 28119219.

SARON, C., FELISBERTI, M. I. **Ação de Colorantes na Degradação e Estabilização de Polímeros.** Química Nova, Vol. 29, Nº. 1, 124-128. Campina, 2006.

SHARMA, P.; KAUR, H.; SHARMA, M.; SAHORE, V. **A review on applicability of naturally available adsorbents for the removal of hazardous dyes from aqueous waste.** Environmental Monitoring and Assessment, v. 183, p. 151-195, 2011.

SHYAMALA, A. et al. **Bioremediation of Methyl Orange, a synthetic textile azo dye by a halotolerant bacterial strain.** Int. J. Curr. Res. Aca. Rev , v. 2, n. 8, p. 373-381. 2014.

SILVA, G. L. **Redução de Corante em Efluente de Processo de Tingimento de Lavanderias Industriais por Adsorção em Argila,** Tese de Doutorado, UFPE, 2005.

SILVA, M.C.; CORRÊA, A.D.; TORRES, J.A.; AMORIM, M.T.S.P.. **Descoloração de corantes industriais e efluentes têxteis simulados por peroxidase de nabo (Brassica**

campestre). Química Nova. v. 35, n. 5, p. 889-894. 2012.

SILVA, R.L.L.; COELHO, M.A.Z.; CAMMAROTA, M.C.. **Remoção de cor de efluentes têxteis com cogumelos *Agaricus bispora***. Acta Scientiarum Technology. Maringá. v.32, n.3, p. 219-225. 2010.

SIMPSON B.K., NAYERI G., YAYLAYAN V., ASHIE I.N.A.. **Enzymatic hydrolysis of shrimp meat**. Food Chem 1997; 61:131–8.

SOARES, G. M. B. Aplicação **de sistemas enzimáticos a degradação de corantes têxteis**. 2000. 173 p. Tese (Doutorado) - Universidade do Minho, Departamento de Engenharia Têxtil, Braga, Portugal.

SOUSA, E.T.; LOPES, W.A.; ANDRADE, J.B. **Fontes, formação, reatividade e determinação de quinonas na atmosfera**. Química Nova. v. 39, n.4, p. 486-495. 2016.

THEERACHAT, M., GUIEYSSE, D., MOREL, S. et al. **Lacases de organismos marinhos e suas aplicações na biodegradação de poluentes tóxicos e ambientais: uma revisão**. Appl Biochem Biotechnol 187, 583–611 (2019). <https://doi.org/10.1007/s12010-018-2829-9>.

TWARDOKUS, R. G. **Reuso de Água no Processo de Tingimento da Indústria Têxtil**. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química – Universidade Federal de Santa Catarina). Florianópolis, 2004.

UNIDO - UNITED NATIONS INDUSTRIAL DEVELOPMENT ORGANIZATION. INDSTAT 2 2021, ISIC Revision 3 (Demo), 2018. Disponível em: . Acesso em: 08 out. 2022.

YANTO, D.H.Y.; TACHIBANA, S. **Enhanced biodegradation of asphalt in the presence of Tween surfactants, Mn²⁺ and H₂O₂ by *Pestalotiopsis* sp. in liquid medium and soil**. Chemosphere, v. 103, p. 105–113. 2014.

YESILADA, O., ASMA, D., CING, S., **Decolorization of textile dyes by fungal pellets**, Process Biochemistry 38, Malatya, 2003, 933-938.

ZANELLA, G.; SCHARF, M; VIERIA, G. A.; PERALTA-ZAMORA, P. **Tratamento de banhos de tingimento têxtil por processos foto-fenton e avaliação da potencialidade de reuso**. Química Nova, Blumenau, v. 33, n. 5, p. 1039-1043, dez. 2010.

ZHANG J, SUN L, ZHANG H, WANG S, ZHANG X, GENG. A. **A novel homodimer laccase from *Cerrena unicolor* BBP6: Purification, characterization, and potential in dye decolorization and denim bleaching**. PLoS ONE 13(8): e0202440. 2018. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0202440>.

ZHENG M., CHI, Y., YI, H., SHAO, S. **Decolorization of Alizarin Red and other synthetic dyes by a recombinant laccase from *Pichia pastoris***. Biotechnol Lett. 2014 Jan; 36(1):39-45. doi: 10.1007/s10529-013-1323-2. PMID: 24078122.

ZHUO R, ZHANG J, YU H, MA F, ZHANG X. **The Roles of *Pleurotus ostreatus* HAUCC 162 Laccase Isoenzymes in Decoloration of Synthetic Dyes and the Transformation Pathways.** Chemosphere, 234, 733 - 745. 2019.

ZOLLINGER, H. **Color chemistry, synthesis, properties and application of organic dyes and pigments.** Weinheim, New York, p. 367, 1987.