



UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
CENTRO DE BIOCÊNCIAS
DEPARTAMENTO DE ANTIBIÓTICOS
BACHARELADO EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

THAMIRYS TATYANNE VIANA DE LIMA

**IMOBILIZAÇÃO DE *Phanerochaete chrysosporium* EM MATRIZ SINTÉTICA E
NATURAL PARA DEGRADAÇÃO DO CORANTE ÍNDIGO CARMIM**

RECIFE
2024

THAMIRYS TATYANNE VIANA DE LIMA

**IMOBILIZAÇÃO DE *Phanerochaete chrysosporium* EM MATRIZ SINTÉTICA E
NATURAL PARA DEGRADAÇÃO DO CORANTE ÍNDIGO CARMIM**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao
Curso de Ciências Biológicas da Universidade
Federal de Pernambuco, como requisito parcial
para obtenção do título de Bacharel em Ciências
Biológicas.

Orientador (a): Prof. Dr. Erik Jonne Vieira de Melo

Coorientador (a): Ma. Jackelly Felipe de Oliveira

RECIFE

2024

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor,
através do programa de geração automática do SIB/UFPE

Lima, Thamirys Tatyane Viana de.

Imobilização de *Phanerochaete chrysosporium* em matriz sintética e natural para degradação do corante índigo carmim / Thamirys Tatyane Viana de Lima. - Recife, 2024.

59p. : il., tab.

Orientador(a): Erik Jonne Vieira de Melo

Coorientador(a): Jackelly Felipe de Oliveira

Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação) - Universidade Federal de Pernambuco, Centro de Biociências, Ciências Biológicas - Bacharelado, 2024.

1. Basidiomicetos. 2. Biodegradação. 3. Bioprocessos. 4. Fenoloxidasas. 5. Toxicidade. I. Melo, Erik Jonne Vieira de. (Orientação). II. Oliveira, Jackelly Felipe de. (Coorientação). IV. Título.

500 CDD (22.ed.)

THAMIRYS TATYANNE VIANA DE LIMA

**IMOBILIZAÇÃO DE *Phanerochaete chrysosporium* EM MATRIZ SINTÉTICA E
NATURAL PARA DEGRADAÇÃO DO CORANTE ÍNDIGO CARMIM**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao
Curso de Ciências Biológicas da Universidade
Federal de Pernambuco, como requisito parcial
para obtenção do título de Bacharel em Ciências
Biológicas.

Aprovado em: 08/03/2024

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Erik Jonne Vieira de Melo (Orientador)
Universidade Federal de Pernambuco

Ma. Jackelly Felipe de Oliveira (Coorientadora)
Universidade Federal de Pernambuco

Profa. Dra. Norma Buarque de Gusmão (1º Titular)
Universidade Federal de Pernambuco

Ma. Ninive Bezerra Florêncio (2º Titular)
Universidade Federal de Pernambuco

MSC. Pérsio Alexandre da Silva (Suplente)
Universidade Federal de Pernambuco

Dedico este trabalho a minha avó paterna
Severina Farias de Santana (*in memoriam*)

AGRADECIMENTOS

A Deus por ter me fortalecido ao ponto de superar as dificuldades para alcançar esta etapa tão importante.

Ao amor da minha vida, Severina Farias (voinha) que sempre me incentivou a realizar esse sonho.

À minha família por todo apoio que sempre me deram.

À minha melhor amiga, Ruth Dantas por toda força, apoio e encorajamento em todas as etapas do meu processo de formação acadêmica.

À Profa. Norma Gusmão por ter me acolhido no LAMAI e pela sua orientação e apoio para realização deste trabalho.

Aos meus orientadores, Erik Jonne e Jackelly Oliveira por todo apoio, direcionamento e contribuição para minha formação.

Aos meus companheiros do Laboratório de Microbiologia Ambiental e Industrial (LAMAI), Pérsio, Fernanda, Carlos e Nínive, pelo apoio, aprendizado e auxílio durante os experimentos.

Aos colegas do Departamento de Antibióticos.

Aos meus amigos da graduação, em especial as minhas Inbonhas (Sabrina, Jenyfer, Gabriela, Vitória, Luana, Jayrla, Débora, Samantha e Hauanna).

À Universidade Federal de Pernambuco.

RESUMO

Os corantes sintéticos são amplamente utilizados em diversas indústrias, principalmente pelo setor têxtil. Os processos têxteis envolvem alto consumo de corantes sintéticos, produzindo grandes volumes de efluentes corados, geralmente não tratados, que são lançados nos recursos hídricos naturais, causando impactos na saúde humana e nos ecossistemas. A biorremediação desses ambientes contaminados com os fungos da podridão branca vem se destacando devido à alta capacidade degradativa associada à produção de enzimas extracelulares. Ainda, a biodegradação por imobilização celular mostra-se como potencial tratamento alternativo desses efluentes, pois oferece uma série de vantagens, tais como: a alta biomassa e atividade metabólica, maior resistência a produtos químicos tóxicos e a reutilização dos suportes. Desse modo, o objetivo deste estudo foi avaliar o potencial do fungo *Phanerochaete chrysosporium*, imobilizado em suportes sintético e biológico, em degradar o corante índigo carmim. Ainda, avaliar a produção enzimática (fenoloxidasas) e testar a toxicidade dos resíduos da degradação. O isolado fúngico, na forma de células livres e imobilizado, foi submetido aos ensaios de descoloração do índigo em uma concentração de 25 mg/L. Após sete dias de tratamento, o basidiomiceto descoloriu 73,10% quando imobilizado na espuma de poliuretano, 62,50% em bucha vegetal e 47,38% em esponja de aço inoxidável. Em relação ao teste enzimático, o fungo apresentou maior eficiência na produção de enzimas fenoloxidasas, especialmente a lignina peroxidase, quando imobilizado. Por fim, o teste toxicológico não demonstrou redução da toxicidade das amostras tratadas quando comparadas com o controle. Sendo assim, *P. chrysosporium* imobilizado pode ser um candidato promissor em estudos posteriores para biodegradação de efluentes industriais contendo corantes.

Palavras-chave: Basidiomicetos; Biodegradação; Bioprocessos; Fenoloxidasas; Toxicidade.

ABSTRACT

Synthetic dyes are widely used in various industries, primarily in the textile sector. Textile processes involve high consumption of synthetic dyes, producing large volumes of colored effluents, generally untreated, which are released into natural water resources, causing impacts on human health and ecosystems. The bioremediation of these environments contaminated with white rot fungi has been highlighted due to the high degradative capacity associated with the production of extracellular enzymes. Furthermore, biodegradation by cellular immobilization is a potential alternative treatment for these effluents, as it offers a series of advantages, such as high biomass and metabolic activity, greater resistance to toxic chemicals, and the reuse of supports. Therefore, the objective of this study was to evaluate the potential of the fungus *Phanerochaete chrysosporium*, immobilized on synthetic and biological supports, to degrade the indigo carmine dye. Furthermore, evaluate enzyme production (phenoloxidases) and test the toxicity of degradation residues. The fungal isolate, in the form of free and immobilized cells, was subjected to indigo discoloration tests at a concentration of 25 mg/L. After seven days of treatment, the basidiomycete discolored 73.10% when immobilized in polyurethane foam, 62.50% in vegetable loofah, and 47.38% in stainless steel sponge. In relation to the enzymatic test, the fungus showed greater efficiency in the production of phenoloxidase enzymes, especially lignin peroxidase, when immobilized. Finally, the toxicological test did not demonstrate a reduction in the toxicity of the treated samples compared to the control. Therefore, immobilized *P. chrysosporium* may be a promising candidate in further studies for the biodegradation of industrial effluents containing dyes.

Keywords: Basidiomycetes; Biodegradation; Bioprocesses; Phenoloxidases; Toxicity.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1.	Estrutura molecular do Corante Índigo Carmim.	17
Figura 2.	Setores industriais com a aplicação do Índigo Carmim.	18
Figura 3.	<i>Phanerochaete chrysosporium</i> cultivado em placa com Ágar Sabouraud.	29
Figura 4.	Imobilização de micélio.	30
Figura 5.	Descoloração de corante índigo carmim (25 mg/L) por <i>P. chrysosporium</i> livre e imobilizado (tempo inicial).	32
Figura 6.	Ensaio de fitotoxicidade com sementes de <i>Cucumis sativus</i> .	34
Figura 7.	Biomassa imobilizada.	36
Figura 8.	Percentual de descoloração do corante índigo carmim (25 mg/L) tratado por <i>P. chrysosporium</i> livre e imobilizado.	37
Figura 9.	Crescimento da Raiz (%CR) de <i>Cucumis sativus</i> na presença do material residual do corante índigo carmim tratado por <i>P. chrysosporium</i> livre e imobilizado.	42
Figura 10.	Índice de Germinação (%G) das sementes de <i>Cucumis sativus</i> na presença do material residual do corante índigo carmim tratado por <i>P. chrysosporium</i> livre e imobilizado.	43

LISTA DE TABELAS

Tabela 1.	Dosagem enzimática da Lacase.	33
Tabela 2.	Dosagem enzimática da Lignina Peroxidase.	33
Tabela 3.	Dosagem enzimática da Manganês Peroxidase.	33
Tabela 4.	Suportes utilizados no ensaio de imobilização de <i>Phanerochaete chrysosporium</i> e biomassa imobilizada.	36
Tabela 5.	Percentual de descoloração (%D) e produção de enzimas ligninolíticas (U/L) em ensaio de descoloração do corante Índigo Carmim (25 mg/L) por <i>Phanerochaete chrysosporium</i> imobilizado em Espuma de poliuretano (EPO).	38
Tabela 6.	Percentual de descoloração (%D) e produção de enzimas ligninolíticas (U/L) em ensaio de descoloração do corante Índigo Carmim (25 mg/L) por <i>Phanerochaete chrysosporium</i> imobilizado em Bucha vegetal (VEG).	38
Tabela 7.	Percentual de descoloração (%D) e produção de enzimas ligninolíticas (U/L) em ensaio de descoloração do corante Índigo Carmim (25 mg/L) por <i>Phanerochaete chrysosporium</i> imobilizado em Esponja de aço inoxidável (AÇO).	38
Tabela 8.	Percentual de descoloração (%D) e produção de enzimas ligninolíticas (U/L) em ensaio de descoloração do corante Índigo Carmim (25 mg/L) por <i>Phanerochaete chrysosporium</i> por células livres (CEL).	39

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ABTS	2,2'-azinobis (3-etilbenzotiazolina-6-ácido sulfônico)
BOD	Estufa incubadora para demanda bioquímica de oxigênio
EPO	Espuma de Poliuretano
IC	Índigo Carmim
Lac	Lacase
LAMAI	Laboratório de Microbiologia Ambiental e Industrial
LiP	Lignina Peroxidase
MnP	Manganês Peroxidase
SAB	Sabouraud

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	12
1.2 OBJETIVOS	14
1.2.1 Objetivo geral	14
1.2.2 Objetivos específicos	14
2 REFERENCIAL TEÓRICO	14
2.1 CORANTES SINTÉTICOS	14
2.1.1 Corante Índigo Carmim	16
2.2 CORANTES INDIGÓIDES E SEUS IMPACTOS	19
2.3 DEGRADAÇÃO DOS CORANTES	20
2.3.1 Degradação físico-química	21
2.3.2 Degradação biológica	22
2.4 O FUNGO <i>Phanerochaete chrysosporium</i>	24
2.4.1 <i>Phanerochaete chrysosporium</i> e degradação dos corantes	25
2.5. IMOBILIZAÇÃO DE FUNGOS PARA DEGRADAÇÃO DE CORANTES	27
3 MATERIAL E MÉTODOS	29
3.1 FUNGO FILAMENTOSO	29
3.2 ENSAIO DE IMOBILIZAÇÃO DE MICÉLIO EM ESPUMA DE POLIURETANO (EPO) E BUCHA VEGETAL	29
3.3 IMOBILIZAÇÃO DE MICÉLIO EM ESPONJA DE AÇO INOXIDÁVEL	30
3.4 ENSAIO DE DESCOLORAÇÃO DO CORANTE ÍNDIGO CARMIM POR CÉLULAS LIVRES	31
3.5 ENSAIO DE DESCOLORAÇÃO DE CORANTE ÍNDIGO CARMIM POR FUNGO IMOBILIZADO	31
3.6 DOSAGEM ENZIMÁTICA	32
3.7 ENSAIO DE FITOTOXICIDADE	34
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO	35
4.1 IMOBILIZAÇÃO EM SUPORTES SINTÉTICO E BIOLÓGICO	35
4.2 DESCOLORAÇÃO DO CORANTE ÍNDIGO CARMIM POR CÉLULAS LIVRES E IMOBILIZADAS	37
4.3 TESTE DE FITOTOXICIDADE	41
5 CONCLUSÃO	44
REFERÊNCIAS	45

1 INTRODUÇÃO

A industrialização impulsionada pelo crescimento populacional e pelo desenvolvimento mundial acelerou a poluição ambiental causada por numerosos compostos recalcitrantes descartados todos os dias na natureza (Deshmukh; Khardenavis; Purohit, 2016).

Segundo Dadi et al. (2017), o crescimento populacional tem influência direta na liberação de diversos poluentes químicos no meio ambiente, pois para atender mais pessoas é preciso aumentar a produção de tal forma que a geração de águas residuais cresça na mesma proporção. Consequentemente, um maior estado crítico ambiental pode ser observado por alterações na qualidade do ar, do solo e da água (Deshmukh; Khardenavis; Purohit, 2016).

Os corantes sintéticos surgiram com o processo de industrialização, em 1856, e são amplamente empregados nos campos industriais, principalmente no setor têxtil (Carneiro; Zanoni, 2016; Choi, 2021; Cruz, 2021). Os corantes sintéticos constituem um grupo diverso de compostos orgânicos que podem ser classificados em termos de origem, estrutura química, método de aplicação, cor e solubilidade (Gürses et al., 2016). Esses corantes são de extrema importância para o setor industrial, no entanto, quando lançados nos recursos hídricos são responsáveis pelo aumento da poluição e deterioração desse ecossistema (Deshmukh; Khardenavis; Purohit, 2016; Georgin et al., 2019). A presença de anéis aromáticos na estrutura molecular dos corantes sintéticos confere a esses compostos, alta estabilidade química e taxa de degradação muito lenta, favorecendo sua bioacumulação nos organismos aquáticos (Ba Mohammed, et al., 2020).

Efluentes com coloração são despejados não apenas pela indústria têxtil, mas também pelas indústrias de curtumes e alimentos (Lalnunhlimi; Krisnaswamy, 2016; Almeida; Corso, 2019). No entanto, são as fábricas têxteis que mais utilizam corantes sintéticos e, apesar da importância socioeconômica, seu processamento industrial constitui uma das mais graves formas de impactar o meio ambiente diante da sua expansão no mercado mundial e aplicação em larga escala de corantes com natureza distinta (Ito et al., 2016; Janaina et al., 2020).

No Brasil, em 2020, foram somados US\$3,8 bilhões mesmo com a crise econômica promovida pela pandemia do corona vírus, o que promoveu um superávit

de 1,14 bilhão no quesito exportação de produtos têxteis (Brasil, 2021). No país, o lançamento de efluentes industriais é regulamentado pela Resolução Nº 430/2011, complementar a Resolução Nº 357/2005, do Conselho Nacional do Meio Ambiente (CONAMA). Essa resolução estabelece padrões e condições para lançamento de efluentes nos corpos hídricos receptores com níveis aceitáveis. De acordo com a resolução, os corantes provenientes de fontes antrópicas devem estar ausentes ou cabíveis à remoção por métodos de tratamentos convencionais e não devem causar efeito tóxico sobre a vida aquática da matriz receptora (Brasil, 2005; Brasil, 2011). Dessa forma, há a necessidade crucial para o desenvolvimento de ferramentas de tratamento que mitiguem essa problemática dos efluentes industriais que carregam os corantes sintéticos.

O método de tratamento de efluentes industriais corados, por sua vez, pode depender de muitos fatores, mas principalmente da natureza química dos corantes presentes. Entre eles, métodos químicos, físicos e biológicos podem ser selecionados ou uma combinação deles pode ser empregada para um tratamento mais eficiente (Gupta et al., 2015; Lellis et al., 2019; Benkhaya et al., 2020). Salientando que as tecnologias convencionais são caracterizadas pela degradação incompleta dos corantes nas águas residuais (Saroj et al., 2014; Mella et al., 2017).

Diante disso, processos de degradação utilizando microrganismos destacam-se por facilitar a conversão desses poluentes em intermediários ambientalmente menos tóxicos (Singh; Singh, 2015; Orzechowski et al., 2018). A remoção de corantes mediada por fungos pode envolver mecanismos de biossorção, bioacumulação e degradação enzimática (enzimas ligninolíticas), podendo ou não ocorrer simultaneamente (Lu et al., 2017; Khan, Patel e Khan, 2020). Ressaltando que a biodegradação é uma aplicação tecnológica amigável, eficiente e ecologicamente correta em comparação aos processos físico-químicos utilizados na remediação de áreas contaminadas (Rosa, 2018).

Nesta perspectiva, o objetivo deste estudo foi imobilizar o fungo basidiomiceto *Phanerochaete chrysosporium* com habilidade ligninolítica em suportes sintético e biológico para descoloração/degradação do corante Índigo Carmim. Ainda, investigar sua potencialidade para futura aplicação no biotratamento de efluentes industriais com coloração.

1.2 OBJETIVOS

1.2.1 Objetivo geral

Avaliar o potencial biodegradador do fungo *Phanerochaete chrysosporium* imobilizado em suportes sintético e biológico na descoloração do corante Índigo Carmim.

1.2.2 Objetivos específicos

- Testar a aderência do fungo aos suportes (natural e sintético);
- Realizar ensaio de descoloração do corante com o fungo imobilizado;
- Avaliar a taxa de descoloração;
- Testar a toxicidade do produto residual.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 CORANTES SINTÉTICOS

Até o século XIX os corantes eram todos extraídos de fontes naturais como plantas e animais. O primeiro corante sintético foi produzido, em 1856, por William Henry Perkin. Após a descoberta da Mauveína, o químico inglês produziu uma nova geração de corantes. Desde então, com a crescente industrialização, os corantes de origem natural passaram a ser substituídos por corantes sintéticos (Carneiro; Zaroni, 2016; Jamee; Siddique, 2019; Benkhaya et al., 2020).

Os corantes sintéticos encontram aplicações em diversas indústrias, como têxtil, alimentícia, farmacêutica, papelaria, couro e cosméticos (Hassaan; El Nemr, 2017). Existem cerca de 10.000 categorias diferentes de corantes sintéticos comercializados cuja produção mundial está estimada em 1 milhão de toneladas por ano, das quais, 15% é perdida nas etapas de aplicação e processamento (Jung, 2011; Rauf et al., 2013; Bo Jiang et al., 2014; Jamee; Siddique, 2019).

No contexto nacional, o Brasil é responsável pelo consumo anual de mais de 25 mil toneladas de corantes sintéticos. Aproximadamente 2% desse consumo são descartados nos efluentes causando diversos problemas ambientais (Bolzon 2007; Saggiaro et al., 2012; Crema, 2015; Antes, 2017).

Esses corantes são amplamente utilizados pelas indústrias, especialmente pelo setor têxtil (Cruz, 2021). A indústria têxtil no Brasil possui importante valor socioeconômico, sendo esse ramo responsável pela alta produção e empregabilidade no país (Rosa, 2018). Conforme o Relatório Setorial da Indústria Têxtil Brasileira produzido pela Inteligência de Mercado (IEMI), apoiado pela Associação Brasileira da Indústria Têxtil e de Confecção (ABIT) e o Centro de Tecnologia da Indústria Química e Têxtil (CETIQT), em 2022, o setor teve um faturamento estimado de R\$ 193,2 bilhões, correspondente a 6,6% do valor da produção total da indústria brasileira de transformação. Além disso, a cadeia têxtil empregou cerca de 1,3 milhão de brasileiros, o que equivale a 18,2% do total de colaboradores atuando na produção industrial deste mesmo ano (Brasil Têxtil, 2023).

A região Nordeste do Brasil abriga o segundo maior polo de confecções do país, formado pelos estados do Ceará, Paraíba, Rio Grande Norte, Pernambuco e Bahia (Santana, 2022). O mercado têxtil do Agreste pernambucano que compreende os municípios de Caruaru, Santa Cruz do Capibaribe, Toritama e Riacho das Almas, é responsável pela produção de aproximadamente 800 milhões de peças, movimentando cerca de R\$ 4 bilhões por ano, considerada uma das principais atividades econômicas da mesorregião que contribui significativamente para o desenvolvimento local (Santos et al. 2013; ABIT, 2022). Contudo, segundo Dilarri et al. (2016), apesar dos benefícios socioeconômicos associados, esse campo industrial é responsável pela maior parte da produção e despejo de efluentes com coloração. Em escala global, cerca de 280.000 toneladas de corantes são lançadas anualmente no meio ambiente por meio de águas residuais da indústria têxtil (Berradi et al., 2019).

A indústria de alimentos também possui participação significativa na liberação de efluentes contendo corantes. De acordo com a Agência Nacional de vigilância Sanitária (ANVISA), no Brasil é permitido o uso de onze corantes sintéticos, são eles: Amaranto, Azorrubina, Amarelo Crepúsculo, Azul Patente, Eritrosina, Indigotina, Azul Brilhante, Vermelho 40, Verde Rápido, Ponceau 4R e Tartrazina. Segundo De Fraga, Hartz e Scheeren (2021) os resíduos originados pelas indústrias alimentícias, apresentam elevada concentração de matéria orgânica e intensa coloração, considerado um dos principais fatores para poluição dos corpos hídricos.

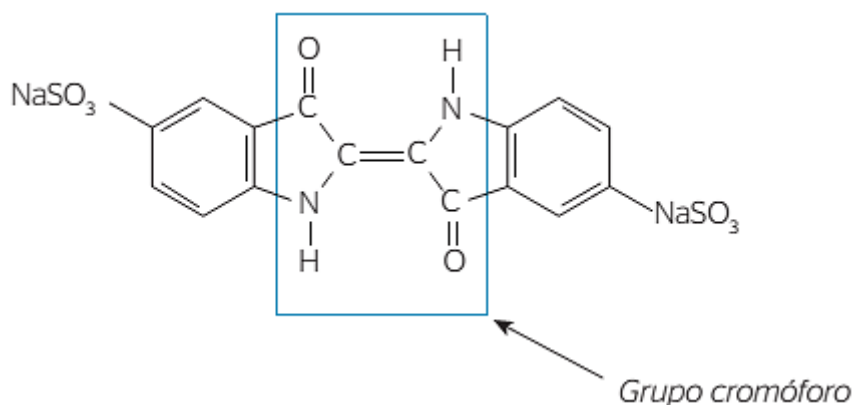
Outro setor que tem contribuído para o descarte de efluentes corados é a indústria de curtumes. Esta indústria possui importância significativa na economia brasileira que detém um dos maiores rebanhos bovino comercial do mundo, sendo, um dos principais produtores e exportadores de couro do mercado mundial (IBGE, 2017). No processo industrial, os couros acabados e semiacabados são submetidos à etapa de tingimento, a grande problemática envolvida é que para garantir uma maior fixação dos corantes, estes são aplicados em quantidades excessivas o que acarreta seu esgotamento incompleto gerando uma fração residual no efluente (Püntener, 2000; Gomes et al., 2016).

2.1.1 Corante Índigo Carmim

O Índigo Carmim (IC) também conhecido como Acid blue 74 ou sal sódico do ácido 5,5'- indigosulfônico é um corante de origem indiana utilizado desde as civilizações antigas do Egito, Grécia e Roma. Sua forma natural Indigotina era extraída de uma planta do gênero *Indigofera* spp. ou *Isatis tinctoria*. Baseado na estrutura química e natureza do grupo cromóforo, o IC é classificado como um corante do tipo ácido, pertencente à classe dos indigóides e à família dos corantes do tipo Vat ou corantes à cuba, ou à tina (Kapor, 2001; Bolzon, 2007; Saggioro, 2012; Meira, 2014; Antes, 2017).

Quanto a sua estrutura molecular (Figura 1) a presença do agrupamento NaSO_3 confere ao Índigo, solubilidade em meio aquoso e o classifica como um corante ácido. O grupo cromóforo responsável por atribuir cor consiste em um arranjo transversal de dois elétrons doadores (NH) e de dois elétrons aceptores (C=O). Esse sistema conjugado é denominado H-cromóforo e faz com que o IC tenha o pico de absorbância máximo localizado no comprimento de onda 610 nm (Guaratini; Zanoni, 2000; Bolzon, 2007; Costa, 2009; Dotto et al., 2011; Saggioro et al., 2012; Antes, 2017).

Figura 1. Estrutura molecular do Corante Índigo Carmim.

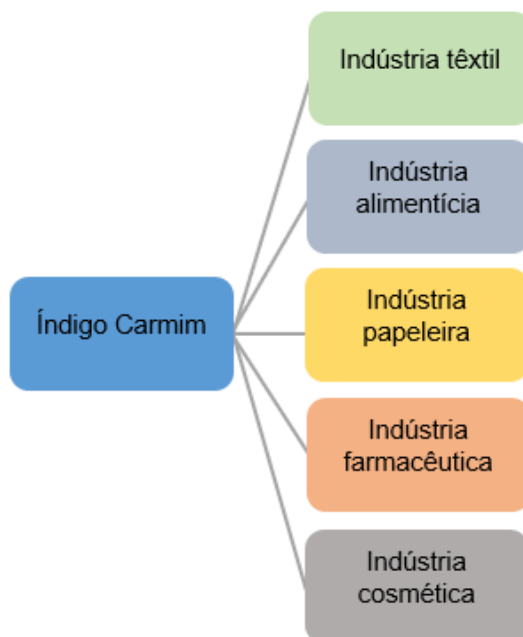


Fonte: Quintero e Cardona (2010).

Os componentes aromáticos proporcionam estabilidade adicional à molécula do Índigo devido às ligações carbono-carbono e à simetria dos anéis, tornando-a mais resistente à quebra. Além disso, o Índigo Carmim possui ponto de fusão de 390 – 392 °C e fortes ligações de hidrogênio intramoleculares, resultando em baixa solubilidade em solventes orgânicos (Guaratini; Zanoni, 2000; Bolzon, 2007; Trigueros, 2008; Antes, 2017).

Este corante apresenta coloração azul e tem grande empregabilidade no setor industrial, possui aplicações na indústria têxtil, alimentícia, papelaria, farmacêutica e cosmética (Figura 2) (Ristea, 2023). Ressaltando que seu principal emprego ocorre nas indústrias têxteis, especialmente para tingir jeans e derivados do denim (Carneiro; Zanoni, 2016; Choi, 2021). O Índigo Carmim também tem atuação no diagnóstico clínico, funciona como marcador de microrganismos e como aditivo de produtos farmacêuticos (Bolzon, 2007; De Almeida, 2012; Antes, 2017).

Figura 2. Setores industriais com a aplicação do Índigo Carmim.



Fonte: Ristea (2023) – imagem adaptada.

No final do século XIX, com o desenvolvimento das técnicas de síntese química, o índigo tornou-se um dos produtos mais importantes e rentáveis da indústria química. No século XX, o índigo sintético ainda representa um dos produtos mais importantes da indústria têxtil, substituindo quase completamente o índigo derivado de plantas (Fabara, 2020).

Conforme a Associação Brasileira da Indústria Têxtil e de Confecção (ABIT) o Brasil é apontado como a maior cadeia têxtil do Ocidente, estando entre os cinco maiores produtores e consumidores de denim (jeans) em escala mundial. Considerando a variedade de corantes utilizados nesse segmento, o Índigo Carmim recebe maior destaque por ser tradicionalmente utilizado no tingimento desse tipo de tecido (Moreira, 2019; Chowdhury et al., 2020; ABIT, 2023).

O jeans é umas das roupas mais produzidas e consumidas mundialmente e estima-se que são vendidas dois bilhões de peças a cada ano. Para cada veste jeans fabricado são consumidos em média 3-12 g do corante índigo (Moreira, 2019; Chowdhury et al., 2020). Contudo, cerca de 24.000 toneladas por ano de índigo sintético são utilizadas nesta aplicação, o que representa mais de 2% da produção mundial de corantes sintéticos.

2.2 CORANTES INDIGÓIDES E SEUS IMPACTOS

Os corantes sintéticos são moléculas complexas e relativamente estáveis que resistem à degradação e tendem a bioacumular-se por longos períodos nas matrizes receptoras (Ahmed et al., 2022). Além dos impactos ambientais, o despejo irresponsável desses compostos também ameaça a saúde humana, cujos riscos toxicológicos estão relacionados ao modo e tempo de exposição ao corante, podendo causar dermatites, náuseas, dores de cabeça, problemas respiratórios, defeitos congênitos e câncer (Bellato et al., 2015; Al- Mamun et al., 2019).

Dentre os setores consumidores de corantes sintéticos a indústria têxtil é um dos principais responsáveis pela contaminação do meio ambiente (Hoseinzadeh; Rezaee, 2015; Aldalbahi et al., 2021). Segundo Rehman et al. (2018) na etapa de tingimento cerca de 15% do corante não é fixado e essa parcela é descartada diretamente como efluentes líquidos em corpos d'água. Provocando desequilíbrio ambiental devido a elevada concentração de corantes e da toxicidade de cada categoria (Bedoui et al., 2015).

A presença desses corantes nos recursos hídricos altera os parâmetros físico-químicos das águas, resultando em poluição ambiental (Chequer et al., 2013). Junto a isso, a intensidade da coloração causa impacto visual, turvação do meio e dificulta a passagem da radiação solar para camadas mais profundas, reduzindo assim o processo de fotossíntese. Consequentemente, compromete a qualidade da água, diminui a disponibilidade de oxigênio dissolvido e afeta diretamente os organismos desse ecossistema (Holkar et al., 2016; Mani et al., 2019).

Segundo Zucca et al. (2016) a classe dos corantes indigóides apresentam estrutura química bastante resistente à luz, pH e exposição a elevadas temperaturas, assim, são classificados como compostos mais duradouros. Além disso, o Índigo Carmim possui estrutura molecular complexa e significativa estabilidade química, o que dificulta sua biodegradação (Santos et al., 2015). Apesar de sua importância em diferentes setores industriais, durante as fases de processamento uma fração considerável desses compostos são perdidos, sendo o meio ambiente o receptor final (De Andrade; Lopes, 2015).

Em seres humanos, o contato com o corante pode causar irritação na pele e nos olhos. Em casos mais graves, ocasiona lesões severas na córnea e região conjuntiva do olho (Naciri et al., 2016). Ainda, pode gerar problemas gastrointestinais

como náuseas, vômitos e diarreias. O corante também apresenta propriedades carcinogênicas, podendo induzir a formação de processos tumorais (Bolzon, 2007; Santana, 2022). Além disso, sua ingestão pode afetar o sistema nervoso, reprodutor e de desenvolvimento. Destacando que em alguns casos, a toxicidade pode levar o indivíduo à morte (Naciri et al., 2016).

Para Boom et al. (2023), é de grande relevância realizar estudos que envolvem o compartilhamento de informações relacionadas a toxicidade ecológica deste corante, visto que ao realizar leitura da ficha de informações de segurança de produtos químicos (FISPQ) do Índigo Carmim, fornecida pelo fabricante, não há dados quanto a sua toxicidade para os seres vivos, assim como, informações acerca de biodegradabilidade e bioacumulação.

Diante dos problemas ambientais, ecológicos e toxicológicos envolvendo o descarte inadequado dos corantes sintéticos em escala industrial, avanços científicos estão sendo desenvolvidos para entender seu ciclo de vida e minimizar os efeitos indesejáveis desses compostos quando lançados na natureza (Guaratini; Zanon, 2000; Pattanaik, 2020).

2.3 DEGRADAÇÃO DOS CORANTES

A geração de grandes volumes de águas residuais industriais altamente coloridas é motivo de preocupação, pois não existe um tratamento padrão para efluentes com essas características. Para prevenir os impactos associados a águas residuais contaminadas com corantes, é importante e necessário remover esses compostos dos efluentes industriais antes do seu descarte nos corpos d'água (De Almeida; Dilarri; Corso, 2016; Zhou et al., 2019).

Alguns métodos físico-químicos e biológicos convencionais são usados para o tratamento de águas residuais com coloração. No entanto, de acordo com Almeida, Dilarri e Corso (2016) nenhum deles é completamente eficaz, e alguns requerem uma combinação de métodos, tornando a aplicação inviável devido à geração de custos elevados.

O método físico baseia-se na separação física dos resíduos sólidos do efluente usando técnicas de gradeamento, filtração, sedimentação, flotação ou equalização. Enquanto o método químico consiste na aplicação de produtos químicos que alteram a estrutura dos compostos poluentes para degradá-los via

reações químicas, como troca iônica, oxidação, neutralização e coagulação. Já o método biológico utiliza organismos de forma isolada ou em consórcio para remover contaminantes através de reações bioquímicas. Esse processo pode ser aeróbio ou anaeróbio e ocorre utilizando sistemas de biodiscos, filtro percolador, lodos ativados, valas de oxidação e lagoas aeradas (Hidrogeron, 2016; Santello, 2023).

2.3.1 Degradação físico-química

A oxidação química é um método de tratamento químico que utiliza agentes oxidantes fortes, como cloro, peróxido de hidrogênio e outras substâncias, para induzir a degradação de compostos orgânicos presentes nos efluentes. Esse é o método mais empregado para remoção da cor de águas residuais, tendo o peróxido de hidrogênio como principal agente oxidante (Aravind, 2016).

O processo Fenton é um dos métodos de oxidação mais avançados em relação à oxidação química simples, cujo mecanismo baseia-se na formação de radicais hidroxila (OH) como resultado da reação de íons de ferro (Fe^{2+}) com peróxido de hidrogênio (H_2O_2) em condições ácidas. Esse radical é conhecido por ser o segundo agente oxidante mais forte e não seletivo capaz de oxidar compostos orgânicos em águas residuais (Sahinkaya et al., 2013).

Membranas de filtração podem ser utilizadas em vários métodos de tratamentos físicos, como na osmose reversa. O principal objetivo desta aplicação é tratar águas residuais muito poluídas que, ao final do processo de tratamento podem ser reaproveitadas para lavagem de materiais contendo corantes (Kurt et al., 2012).

Combinar o tratamento químico com o tratamento de natureza física é uma forma de melhorar o desempenho geral do tratamento de efluentes com coloração intensa, complementando as vantagens de cada tecnologia e superando as limitações de cada método. A nanofiltração é uma técnica que pode remover completamente a cor remanescente em uma solução de corantes que foi coagulada ou floculada. Essa técnica melhora a eficiência do tratamento químico e reduz a quantidade de lodo de metais pesados gerado durante o processo (Aouni et al., 2012; Liang et al., 2014; Ong et al., 2014).

A coagulação-floculação é o método de tratamento físico-químico mais utilizado para remover a cor dos efluentes e reduzir a carga global de poluentes. Essa técnica é empregada principalmente em estações de tratamento têxteis e é

muito eficaz na descoloração de águas residuais através da remoção das moléculas de corantes. No entanto, a aplicação do método está associada à formação de compostos aromáticos perigosos e requer tratamento adicional (Papic, 2004; Bidhendi, 2007; Samsami, et al., 2020).

Outro método físico-químico que recebe atenção é o processo de adsorção, que consiste em interações interfaciais, onde o adsorbato se liga à superfície ou aos poros do adsorvente. A capacidade de remover contaminantes está relacionada às propriedades do material adsorvente, ao tamanho das moléculas ou íons adsorvidos e à área superficial disponível. O carvão vegetal é o adsorvente mais conhecido, amplamente utilizado no tratamento de águas residuais têxteis (Patel et al., 2010; Bazrafshan et al., 2016).

Os métodos citados, embora eficazes, apresentam custos elevados, são ineficientes para alguns corantes, produzem grandes quantidades de lodo e não são viáveis para aplicações em larga escala (Deshmukh; Khardenavis; Purohit, 2016; Paz et al., 2017). Além disso, segundo Rani et al. (2014), os métodos físico-químicos produzem uma carga química adicional nos corpos hídricos, o que pode reduzir a penetração da luz, prejudicar a fotossíntese e impactar as plantas e animais.

2.3.2 Degradação biológica

Dentre os vários métodos de tratamento de efluentes corados, o biológico é considerado uma melhor alternativa para a remoção de corantes sintéticos de águas residuais em comparação com o tratamento físico e químico devido ao seu menor custo, reprodutibilidade, maior eficiência e baixa produção de poluição secundária (Tan et al., 2016).

Os métodos biológicos são baseados na biorremediação, processo biotecnológico em que os agentes biológicos realizam a transformação de diferentes compostos químicos tóxicos em formas menos prejudiciais. Esta aplicação consiste principalmente na biotransformação catalisada por diferentes categorias de enzimas produzidas pelos organismos vivos que podem ser utilizados no processo de degradação (Pires, 2013; Ricaczeski, 2020).

Para a remoção da cor dos efluentes, o tratamento biológico pode envolver a participação de algas, fungos e bactérias. No entanto, de acordo com Dewi et al. (2018) o processo de remediação biológica utilizando fungos é uma das melhores

formas de tratamento de águas residuais, por ser uma tecnologia alternativa e econômica.

Espécies fúngicas possuem a capacidade de adaptar o seu metabolismo às mudanças nas condições ambientais, como pH, temperatura e fontes de nutrientes. Além disso, são capazes de sintetizar uma variedade de enzimas com baixa especificidade de substrato, tornando-as estrategicamente utilizadas para a degradação de muitos compostos que poluem o meio ambiente, como os corantes encontrados nas águas residuais têxteis (Holkar et al., 2016; Baldantoni et al., 2017; Ricaczeski, 2020).

De modo particular, os fungos filamentosos são considerados um grupo interessante, pois apresentam habilidade para resistir à toxicidade ambiental, sobreviver em condições ambientais adversas, crescer em extensas redes formadas por micélio e metabolizar compostos orgânicos poluentes para obter energia e fonte de carbono, induzindo a produção de enzimas capazes de promover o tratamento de águas residuais (Rocha, 2015; Holkar et al., 2016; Ricaczeski, 2020).

Estudos apontam o uso de fungos de podridão branca da madeira como potenciais candidatos para descoloração de efluentes bem como para degradação de outros compostos recalcitrantes. Dessa forma, a micorremediação destaca-se como uma boa alternativa a ser empregada como ferramenta biológica para reduzir os danos ambientais causados pelo uso de agentes contaminantes com ênfase nos corantes sintéticos (Novotný et al., 1997; El Enshasy et al., 2017; Pandey et al., 2017; Chowdhary et al., 2018; Przystas et al., 2018; Akhtar; Mannan, 2020; Xiao et al., 2022).

Três mecanismos principais estão envolvidos na remoção de corantes mediados por fungos da podridão branca: biossorção, bioacumulação e biodegradação. Na biossorção a remoção do corante envolve a ligação de suas moléculas a grupos funcionais presentes na superfície da biomassa fúngica (ativa ou inativa). No mecanismo de bioacumulação, as moléculas do corante se acumulam no citoplasma das células. Enquanto na biodegradação, as moléculas do corante são degradadas ou mineralizadas em formas mais simples pela atividade de enzimas ligninolíticas (Kaushik; Malik, 2015; Sen et al., 2016).

A biodegradação do corante realizada por esses fungos é um processo aeróbio, dependente de energia e é induzido, majoritariamente, pela ação das enzimas lacase e/ou peroxidase. Esse processo acontece comumente em duas

etapas: i) clivagem de grupos cromóforos envolvidos na descoloração e ii) biotransformação dos compostos orgânicos em moléculas de menor complexidade (Ali, 2010; Kaushik; Malik, 2015; Sen et al., 2016; Vikrant et al., 2018).

Os fungos de podridão branca possuem características estruturais e metabólicas que lhes permitem a degradação de moléculas aromáticas semelhantes à lignina, como a dos corantes sintéticos. Seu arsenal enzimático pertence à família das oxirredutases, atua no meio extracelular e, devido ao seu caráter inespecífico e diversificado, tem potencial para oxidar, a nível estrutural, uma variedade de corantes diferentes. Este complexo enzimático é composto principalmente por Lignina Peroxidase (LiP), Manganês Peroxidase (MnP) e Lacase (Lac) (Ali, 2010; Rocha, 2015; Silva, 2017; Ortiz-Monsalve, 2019; Ricaczski, 2020).

No final do processo, esses contaminantes são removidos ou biotransformados em moléculas que, em sua maioria, geram danos mínimos ao meio ambiente. Salientando que a biodegradação é tão eficiente que, geralmente, é alcançada a transformação completa dos compostos poluentes em água, gás carbônico e minerais. Assim, a utilização destes catalisadores biológicos torna-se uma escolha acertada em termos de ecologia, eficiência e custo-benefício (Singh; Ward, 2004; Singh; Singh, 2015; Baldantoni et al., 2017).

2.4 O FUNGO *Phanerochaete chrysosporium*

Phanerochaete chrysosporium é um fungo da classe dos Basidiomycetes, frequentemente encontrado no solo e na madeira em decomposição cujo substrato natural é definido como lignocelulose. Os Basidiomycetes decompositores da madeira são os principais agentes na degradação de celulose e lignina, e possuem papel essencial nos serviços ecossistêmicos (Alexopoulos; Mims, 1996; Vallim, 1997).

Pertencente ao grupo dos fungos de podridão branca, o basidiomiceto *Phanerochaete chrysosporium* é um decompositor secundário de madeira com ocorrência em florestas da América do Norte, Europa e Irã. A espécie é apontada como o representante mais estudado dos fungos causadores da podridão branca, conhecido por sua capacidade em degradar substratos contendo lignina e remover o pigmento marrom associado a este polímero natural (Ricaczski, 2020).

Cepas desta espécie fúngica produzem enzimas extracelulares com baixa especificidade de substrato e com potencial para mineralizar, além da lignina, uma

variedade de contaminantes resistentes à degradação. Tal habilidade torna a espécie interessante para utilização em processos biotecnológicos, como por exemplo: na designificação da madeira para indústria papelreira, na biorremediação de poluentes ambientais (corantes sintéticos, hidrocarbonetos derivados do petróleo, herbicidas e pesticidas) e no tratamento de resíduos agrícolas contaminados com metais pesados (Monroy-Licht, 2016; Ricaczski, 2020).

De acordo com Masarin (2018), a capacidade que *P. chrysosporium* possui em competir com agentes contaminantes é uma importante vantagem adaptativa da espécie. Segundo o autor, essa habilidade pode ser explicada pela temperatura ideal de crescimento do fungo, entre 37 e 39 °C, somado a facilidade de liberação de esporos para ambiente externo, características que favorecem a aplicação tecnológica deste microrganismo em escala industrial (Ricaczski, 2020).

2.4.1 *Phanerochaete chrysosporium* e degradação dos corantes

Considerando que a maioria dos corantes são xenobióticos e se degradam lentamente na natureza, a busca contínua por microrganismos versáteis e capazes de degradar eficientemente inúmeros corantes sintéticos tem motivado a comunidade científica (Rosa, 2018; Lira, 2019; Santos et al., 2020; Ricaczski, 2020; Santana, 2022).

Os primeiros estudos sobre a descoloração de corantes mediado por fungos foram publicados no início da década de 1980 (De Almeida, 2018). O potencial do fungo *Phanerochaete chrysosporium* para degradação de corantes foi descrito pela primeira vez pelos pesquisadores, Glenn & Gold (1983). Os experimentos demonstraram que a descoloração realizada pelo fungo era resultado do seu metabolismo secundário e que ocorria paralelamente à degradação da lignina.

Após a identificação e isolamento das enzimas ligninolíticas, com potencial para degradar uma diversidade de poluentes somado ao seu rápido crescimento, *P. chrysosporium* passou a chamar atenção de muitos pesquisadores, tornando-se um microrganismo modelo para estudos de biorremediação (Tien; Kirk, 1983; Kuwahara et al., 1984; Ferreira et al., 2010; Teixeira et al., 2010; Guo, et al. 2014; Ricaczski, 2020).

O sistema lignolítico deste fungo é representado principalmente pelas enzimas lignina peroxidase e manganês peroxidase. Que são caracterizadas pelo

seu alto poder oxidativo e não específico pelo substrato, com capacidade de despolimerizar a lignina e uma variedade de outros compostos. Por esta razão, vários estudos têm sido realizados para investigar a sua habilidade na degradação de corantes têxteis (Ricaczski, 2020).

Banat et al. (1996), mencionaram *P. chrysosporium* na biodegradação de dezoito corantes do tipo azo em concentrações diferentes. A espécie conseguiu remover a cor de oito dos corantes testados, com uma taxa de descoloração entre 40% a 70%. Radha et al. (2005) também reportaram a degradação de diversos corantes sintéticos estruturalmente diferentes utilizando *P. chrysosporium*, que foi capaz de biodegradar os corantes avaliados numa porcentagem de descoloração que ultrapassou 75%.

Mais tarde, Enayatizamir et al. (2011) observaram a degradação e destoxificação do corante Azo Reactive Black 5 (RB5) pelo basidiomiceto *Phanerochaete chrysosporium*, com uma porcentagem de descoloração de 90%, em 72h, utilizando uma concentração 100 mg/L. Ainda, os resultados obtidos revelaram que não houve geração de compostos intermediários tóxicos após a biodegradação do corante RB5 pelo fungo.

No trabalho publicado por Bosco et al. (2017), o fungo filamentoso demonstrou eficiência na degradação do corante Congo Red numa porcentagem de 93%, tendo a remoção atribuída à atividade da enzima lignina peroxidase (LiP) induzida pelo álcool veratrílico. O fungo também apresentou elevada atividade da enzima peroxidase dependente de manganês (MnP) degradando 85% do corante Congo Red.

De Almeida et al. (2021) avaliaram o potencial da cepa de *Phanerochaete chrysosporium* para descolorir três corantes azo: Direct Yellow 27 (DY27), Reactive Black 5 (RB5) e Reactive Red 120 (RR120). Os resultados demonstraram eficiências na descoloração, após 10 dias de tratamento, de 82%, 89% e 94%, respectivamente. Os pesquisadores concluíram que a remoção dos corantes foi alcançada através da adsorção no micélio fúngico e da biodegradação, confirmadas por análises espectrofotométricas.

Algumas pesquisas recentes se concentraram na combinação de métodos físico-químicos e biológicos. Deveci et al., (2016) avaliaram a descoloração dos corantes Acid Red (AR88) e Reactive Red (RR180) através de um sistema de tratamento integrado, utilizando *P. chrysosporium* em biorreator de membrana

fúngica acompanhando de um reator de membrana fotocatalítica em escala laboratorial. Ao final do processo de degradação, foi possível a remoção de 99,9% da cor dos corantes sintéticos empregados na indústria têxtil.

Em resumo, todos os estudos reportados nesta seção evidenciam o sucesso dos resultados obtidos por outros trabalhos que utilizaram o *Phanerochaete chrysosporium* na biodegradação de uma variedade de corantes sintéticos de importância industrial e demonstram o potencial do fungo para aplicação em tratamentos biológicos ambientalmente alternativos.

2.5. IMOBILIZAÇÃO DE FUNGOS PARA DEGRADAÇÃO DE CORANTES

Apesar do potencial dos fungos da podridão branca no tratamento de corantes e outros compostos recalcitrantes, os sistemas de tratamento de efluentes utilizando fungos ainda não são frequentemente aplicados em escala industrial. De acordo com Ortiz-Monsalve (2019), para avaliar a eficiência da tecnologia, na maioria das vezes é necessário realizar estudos em escala de biorreator. No entanto, em biorreatores as células fúngicas livres estão associadas a dificuldades operacionais, como crescimento micelial em paredes e agitadores, entupimento de tubos, aumento dos requisitos de mistura e oxigenação, entre outros.

Em contrapartida, a imobilização da biomassa fúngica proporciona uma forma não convencional para reduzir essas limitações (Sharma et al., 2016; Przystas et al., 2018). A imobilização ou encapsulamento é um termo que descreve as diferentes maneiras pelas quais as células microbianas viáveis podem ser confinadas em uma matriz ou suporte. Estes materiais apresentam propriedades hidrodinâmicas diferentes do ambiente em que serão inseridas, restringe sua livre circulação e mantém suas atividades enzimáticas constantes (Martins et al., 2013; Elizei et al., 2014).

A imobilização acontece de duas maneiras, as células podem ser confinadas no interior ou na superfície do agente imobilizador. No primeiro caso, as células são fisicamente aprisionadas e/ou encapsuladas dentro das matrizes, e no segundo, ocorre a adesão das células à superfície do suporte de imobilização através de ligações químicas ou adsorção (Kovaleski; Bittencourt; Rodrigues, 2020).

A técnica de imobilização celular pode ser aplicada tanto para microrganismos quanto para enzimas (Mohamad et al., 2015; Kovaleski; Bittencourt; Rodrigues,

2020). Estudos demonstram que o aprisionamento de fungos filamentosos, leveduras, bactérias e catalisadores biológicos produzem excelentes inoculantes sólidos que são fáceis de usar, manusear e transportar. Além disso, as células microbianas retidas nas matrizes podem ser armazenadas por longos períodos, mantendo a viabilidade (Elizei et al., 2014).

Vários suportes de origem natural e sintética são utilizados para imobilização de células, como a espuma de poliuretano, a bucha vegetal, o alginato e quitosana. Para imobilização de fungos, a esponja de aço inoxidável também é referenciada como um material adequado (Rosa, 2018; Kurade et al., 2019). Do ponto de vista técnico, esses suportes são de fácil manuseio e, não apresentam toxicidade para os seres vivos e meio ambiente. Além de proporcionar boa aderência às células imobilizadas (Saratale et al., 2011; Carvajal et al., 2012; Daassi et al., 2013; Koyani et al., 2016).

Sistemas com células imobilizadas podem oferecer vantagens adicionais em relação à suspensão de células livres, tais como: níveis mais elevados de biomassa e de atividade metabólica, maior resistência a perturbações ambientais e exposição a produtos químicos tóxicos, permite a reutilização conveniente da biomassa, fácil separação líquido-sólido e confere proteção e estabilidade às células confinadas (Varjani; Upasani, 2017; Partovinia; Rasekh, 2018; Zhang et al., 2020; Dixit et al., 2021).

Pesquisas voltadas à imobilização de células microbianas aumentaram significativamente no campo da biotecnologia (Elakkiya; Prabhakaran; Thirumarimurugan, 2016). O uso de células imobilizadas tem aplicabilidade em vários bioprocessos, como no tratamento de águas residuais coradas (Li et al., 2019). Nesta aplicação, as vantagens da imobilização celular são: maiores taxas de degradação de corantes, maior densidade de biomassa e proteção das células contra os efeitos nocivos dos corantes e seus derivados (Pandey et al., 2020; Vargas-de la Cruz e Landa-Acuña, 2020).

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 FUNGO FILAMENTOSO

A cepa do fungo *Phanerochaete chrysosporium* isolado da madeira e preservado sob óleo mineral foi obtida da Micoteca URM (6181) e mantida no Laboratório de Microbiologia Ambiental e Industrial – LAMAI, pertencente ao Departamento de Antibióticos na Universidade Federal de Pernambuco. Baseado na metodologia de Rosa (2018), o isolado foi reativado a partir da transferência de fragmentos do micélio para o meio Sabouraud (SAB) e mantido a $30\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$. Quando o crescimento foi observado, a espécie fúngica foi transferida para novos meios de cultura SAB de modo a confirmar sua viabilidade e pureza.

Figura 3. *Phanerochaete chrysosporium* cultivado em placa com Ágar Sabouraud.



Fonte: Autoral (2024).

3.2 ENSAIO DE IMOBILIZAÇÃO DE MICÉLIO EM ESPUMA DE POLIURETANO (EPO) E BUCHA VEGETAL

Baseado no método de pré-tratamento de Rosa (2018), a espuma de poliuretano (EPO), adquirida em feira livre no Recife/PE foi cortada em unidades de 2 cm^3 pesando 0,1 g (cada). A bucha vegetal (*Luffa cylindrica*), também adquirida em feira livre no Recife/PE, foi cortada em unidades uniformes pesando 0,1 g (cada). Posteriormente, ambos os suportes foram lavados em etanol 70% (2X), água destilada esterilizada (2X) e deixados secar na estufa de secagem por 24 horas a

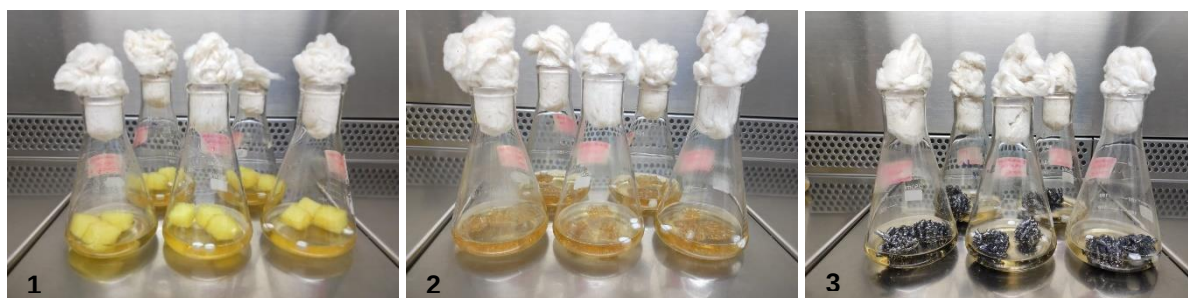
60° C. Após a secagem, três suportes foram adicionados por frasco de Erlenmeyer (250 mL) contendo caldo SAB (50 mL) e autoclavados.

Depois desse processo, três blocos de gelose do fungo filamentoso anteriormente cultivado, foram adicionados em cada frasco (Figura 4). O ensaio foi realizado em triplicata e mantidos em incubadora (TECNAL - TE, 421) com agitação a 110 rpm por 6 dias a 30 °C. O controle consistiu dos suportes sem a inoculação do fungo. Para constatação do micélio fúngico aderido e quantificação da biomassa, as matrizes foram pesadas seguindo o método de gravimetria, subtraindo-se o peso da matriz controle da matriz com fungo imobilizado.

3.3 IMOBILIZAÇÃO DE MICÉLIO EM ESPONJA DE AÇO INOXIDÁVEL

Inicialmente, a esponja de aço inoxidável (Scotch Brite, 3M) foi cortada em pequenas unidades de tamanho irregular conforme a metodologia de Couto et al. (2004), pesando 2,3 g (cada). O pré-tratamento foi realizado lavagem em etanol 70% (2X) e água destilada esterilizada (2X). Em seguida, as esponjas de aço foram mantidas na estufa de secagem por 24 horas a 60° C. Por fim, antes da utilização no ensaio de imobilização celular, as esponjas foram submetidas à esterilização por radiação ultravioleta (UV), por 20 minutos, na cabine de fluxo laminar. Após a esterilização, dois suportes foram inseridos por frasco de Erlenmeyer (250 mL) contendo caldo SAB (50 mL). Depois desse processo, três blocos de gelose do fungo foram adicionados em cada frasco (Figura 4). O ensaio foi realizado em triplicata e mantido em incubadora (TECNAL - TE, 421) com agitação a 110 rpm por 6 dias a 30 °C, conforme a metodologia descrita para as demais matrizes (3.2).

Figura 4. Imobilização de micélio.



Legenda: 1. Ensaio de imobilização em Espuma de poliuretano; 2. Ensaio de imobilização em Bucha vegetal; 3. Ensaio de imobilização em Esponja de aço inoxidável.

Fonte: Autoral (2024).

3.4 ENSAIO DE DESCOLORAÇÃO DO CORANTE ÍNDIGO CARMIM POR CÉLULAS LIVRES

No ensaio de descoloração foi utilizado o corante foi Índigo Carmim (Vetec), obtido comercialmente. Nele, três blocos de gelose do fungo, cultivado em placa com Ágar Sabouraud, foram inoculados em frascos de Erlenmeyer (250 mL) contendo 50 mL do caldo SAB (Peptona 10 g/L; D (+) Glicose 40 g/L; água destilada) estéril e 25 mg/L do corante Índigo Carmim. Para o controle negativo utilizou-se o mesmo volume do caldo SAB (50 mL) e 25 mg/L do corante sem adição do fungo (Figura 5).

Os 16 frascos Erlenmeyers foram incubados em estufa BOD QUIMIS (Q-315M) a $30\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$ por sete dias. Neste período, foram retiradas alíquotas no 3º, 5º e 7º dia para leitura em espectrofotômetro GEHAKA (VIS-200G). Para os ensaios de descoloração a leitura foi feita com comprimento de onda de 610 nm. Já para a dosagem enzimática, foi usado o comprimento de onda indicado no método de cada enzima (3.6). Todas as leituras foram realizadas em triplicata, permitindo o cálculo da média das leituras e o percentual de descoloração (Equação 1).

Equação 1 - Percentual de descoloração (%D)

$$\%D = \frac{\text{AbsT0} - \text{AbsTx} \times 100}{\text{AbsT0}}$$

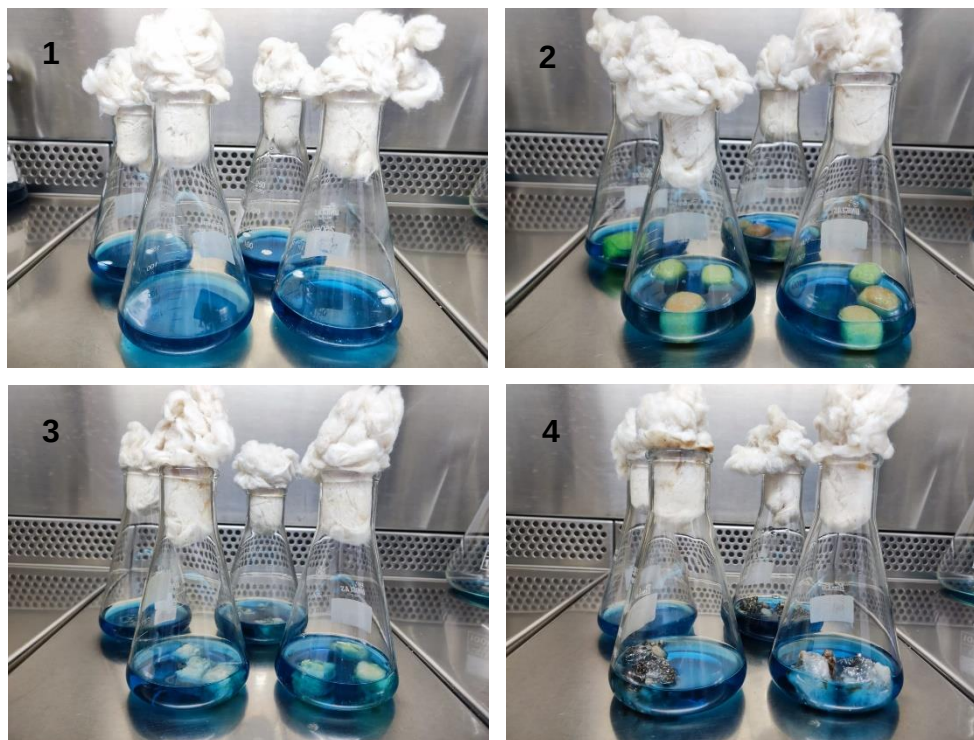
AbsT0: Absorbância inicial

AbsTx: Absorbância em cada tempo

3.5 ENSAIO DE DESCOLORAÇÃO DE CORANTE ÍNDIGO CARMIM POR FUNGO IMOBILIZADO

Em frascos de Erlenmeyer (250 mL) foi depositado 50 mL meio SAB contendo 25 mg/L de corante e três suportes imobilizados (espuma de poliuretano e bucha vegetal). No ensaio com esponja de aço inoxidável, foram utilizados dois suportes (Figura 5). A descoloração do corante foi acompanhada durante sete dias em condições estáticas na estufa BOD QUIMIS (Q-315M) a $30\text{ }^{\circ}\text{C}$, com retirada de 2 mL de material residual final para posterior aplicação no teste de toxicidade. Os experimentos foram realizados em triplicata e foram retiradas alíquotas para avaliar a taxa de descoloração e dosagem enzimática mediante a leitura em espectrofotômetro conforme a metodologia descrita para células livres (3.4).

Figura 5. Descoloração de corante índigo carmim (25 mg/L) por *P. chrysosporium* livre e imobilizado (tempo inicial).



Legenda: 1. Tratamento do corante com fungo livre; 2. Tratamento do corante com fungo imobilizado em Espuma de poliuretano; 3. Tratamento do corante com fungo imobilizado em Bucha vegetal; 4. Tratamento do corante com fungo imobilizado em Esponja de aço inoxidável.

Fonte: Autoral (2024).

3.6 DOSAGEM ENZIMÁTICA

A quantificação da produção de enzimas ligninolíticas pelo fungo *Phanerochaete chrysosporium* foi determinada por espectrofotometria utilizando a solução enzimática (sobrenadante) obtida após centrifugação a 120 rpm por 10 minutos. Foram medidas as atividades das enzimas, Lignina Peroxidase (LiP), Manganês Peroxidase (MnP) e Lacase (Lac) conforme os métodos abaixo.

A dosagem enzimática da Lac consistiu numa reação contendo: 500 µL de tampão Acetato de Sódio (100 mM); 750 µL de ABTS (1,8 mM) e 500 µL da solução enzimática) (Tabela 1) na temperatura de 37 °C. A leitura foi realizada em espectrofotômetro em dois tempos (0 e 10 minutos), no comprimento de onda de 420 nm conforme o método de Bourbonnais et al. (1997). O branco consistiu na substituição da solução enzimática por água destilada (500 µL).

Tabela 1. Dosagem enzimática da Lacase.

Reagente	Volume (µL)	Molaridade
TP Acetato de Sódio	500	100 mM
ABTS	750	1,8 mM
Solução Enzimática	500	-

Fonte: Autoral (2024).

A dosagem enzimática da LiP consistiu numa reação contendo: 440 µL de Ácido Tartárico (50 mM); 400 µL de Álcool Veratrílico (10 mM); 160 µL do Peróxido de Hidrogênio (5 mM) e 1000 µL da solução enzimática) (Tabela 2). A leitura foi realizada em espectrofotômetro em dois tempos (0 e 5 minutos), no comprimento de onda de 310 nm segundo o método de Kuwahara et al. (1984). O branco consistiu na substituição da solução enzimática por água destilada (1000 µL).

Tabela 2. Dosagem enzimática da Lignina Peroxidase.

Reagente	Volume (µL)	Molaridade
Ácido Tartárico	440	50 mM
Álcool Veratrílico	400	10 mM
Peróxido de Hidrogênio	160	5 mM
Solução Enzimática	1000	-

Fonte: Autoral (2024).

A dosagem enzimática da MnP consistiu numa reação contendo: 800 µL de Vermelho de Fenol (10 mM); 400 µL de Sulfato Manganês (1 mM) e 400 µL Peróxido de Hidrogênio (2 mM) e 400 µL da solução enzimática) (Tabela 3) na temperatura de 30 °C. A leitura foi realizada em espectrofotômetro em dois tempos (0 e 10 minutos), no comprimento de onda de 610 nm. Passados os 10 minutos a reação foi interrompida adicionando 800 µL do Hidróxido de Sódio (2 M) para nova leitura segundo a metodologia de Buswell (1995). O branco consistiu na substituição da solução enzimática por água destilada (400 µL).

Tabela 3. Dosagem enzimática da Manganês Peroxidase.

Reagente	Volume (µL)	Molaridade
Vermelho de Fenol	800	10 mM
Sulfato de Manganês	400	1 mM
Peróxido de Hidrogênio	400	2 mM
Solução Enzimática	400	-
Hidróxido de Sódio	800	2M

Fonte: Autoral (2024).

3.7 ENSAIO DE FITOTOXICIDADE

Para avaliar a toxicidade do material residual foram utilizadas sementes de *Cucumis sativus* (Feltrin®) de acordo com Tiquia et al. (1996). O pré-tratamento consistiu na desinfestação das sementes em solução de hipoclorito de sódio a 2% por 10 minutos, seguida de lavagens sucessivas com água destilada esterilizada. Posteriormente, 10 sementes de pepino (*C. sativus*) foram depositadas de maneira equidistante em placas de Petri contendo papel filtro duplo qualitativo (Figura 6), previamente esterilizado e embebido com 2 mL do material residual de cada amostra teste, anteriormente filtrado em sistema de filtração a vácuo utilizando filtro de membrana S&S (0,2 µm; 47 mm).

Figura 6. Ensaio de fitotoxicidade com sementes de *Cucumis sativus*.



Fonte: Autoral (2024).

O ensaio foi realizado em triplicada junto a aplicação de dois controles, o positivo (água destilada) e o negativo (sem tratamento). As placas foram envolvidas individualmente por filme plástico para evitar a evaporação de água, e mantidas em incubadora BOD QUIMIS (Q-315M) a 25 °C na ausência de luz por um período de seis dias. Ao final calculou-se o índice de germinação conforme as Equações 2, 3 e 4.

Equação 2 - Percentual de Germinação

$$(\%G) = \frac{\text{Média de sementes testes germinadas X 100}}{\text{média de sementes germinadas no controle}}$$

Equação 3 - Crescimento da Raiz

$$(\%CR) = \frac{\text{Média do crescimento das raízes das sementes teste X 100}}{\text{média do crescimento das raízes no controle}}$$

Equação 4 – Índice de germinação

$$(\text{IG}) = \frac{(\% \text{ Germinação da semente}) \times (\% \text{ Crescimento da raiz})}{100\%}$$

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

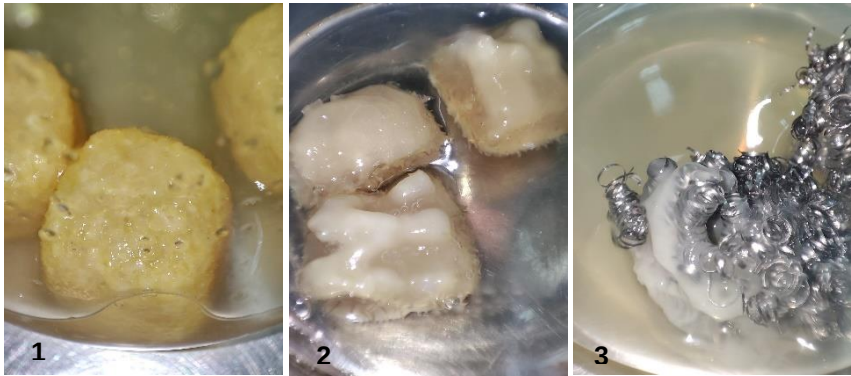
4.1 IMOBILIZAÇÃO EM SUPORTES SINTÉTICO E BIOLÓGICO

Há diversas opções de materiais sintéticos e naturais que podem ser utilizados em experimentos de imobilização celular. De acordo com Bassani (2018), existem várias condições que podem ter influência na imobilização de células, incluindo a matriz utilizada, método de imobilização, concentração de células iniciais, meio de cultura e o tamanho dos suportes. As propriedades físicas e químicas da matriz também são importantes para um sistema de imobilização adequado (Willaert, 2011). Embora estas características possam variar conforme a aplicação, existem algumas que são geralmente desejáveis para qualquer imobilização, como: ser um material atóxico, não poluente, de fácil obtenção e baixo custo, ser reutilizável, de fácil separação e com alta capacidade de retenção de biomassa (Willaert, 2011; Martins et al., 2013).

De acordo com Zhang et al. (2020), os sistemas com células imobilizadas além de proporcionar um ambiente adequado para o crescimento microbiano reduz o estresse no ambiente natural. Desta forma, aumenta a taxa de reprodução e sobrevivência celular, reduz a competição, aumenta a disponibilidade de nutrientes e a capacidade das células de se adaptarem ao ambiente em que foram inseridos. Além disso, as células imobilizadas apresentam vantagens como o aumento do rendimento e eficiência dos processos biotecnológicos a um baixo custo operacional (Dixit et al., 2021).

Conforme a metodologia utilizada para imobilização do fungo, a quantificação da biomassa foi calculada pelo método gravimétrico e os resultados estão demonstrados na Tabela 4. A biomassa fúngica imobilizada na espuma de poliuretano foi de 4,2 g, na para bucha vegetal foi de 5,6 g e na esponja de aço inoxidável foi de 5,6 g. Sendo assim, com base nos resultados gravimétricos obtidos no estudo, os ensaios de imobilização foram bem-sucedidos. *Phanerochaete chrysosporium* foi capaz de aderir aos três suportes testados em 6 dias (Figura 7).

Figura 7. Biomassa imobilizada.



Legenda: 1. *P. chrysosporium* imobilizado em Espuma de poliuretano; 2. *P. chrysosporium* imobilizado em Bucha vegetal; 3. *P. chrysosporium* imobilizado em Esponja de aço inoxidável.

Fonte: Autoral (2024).

Tabela 4. Suportes utilizados no ensaio de imobilização de *Phanerochaete chrysosporium* e biomassa imobilizada.

<i>P. chrysosporium</i>	Biomassa (g)
Espuma de poliuretano	4,2
Bucha vegetal	5,6
Esponja de aço inoxidável	5,6

Fonte: Autoral (2024).

Com base na Tabela 4, a bucha vegetal e a esponja de aço inoxidável apresentaram maiores concentrações de biomassa fúngica em relação à espuma de poliuretano. No entanto, comparando o peso seco e a área da superfície de contato das duas matrizes, a bucha vegetal apresentou melhor eficiência na imobilização do fungo em relação à esponja de aço. De acordo com Dzionek, Wojcieszynska e Guzik (2016), as fibras vegetais apresentam vantagens para imobilização de microrganismos devido à sua alta porosidade e baixa densidade. Além disso,

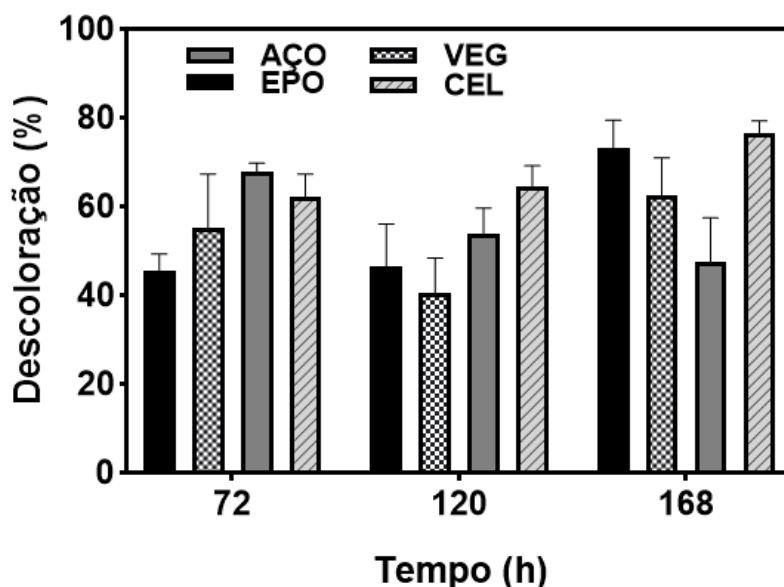
segundo os autores, o espaço entre as fibras facilita a troca de materiais e confere estabilidade às células. Estudos demonstraram que as buchas vegetais também podem ser usadas para transporte de catalisadores (Zhang et al., 2017; Nadaroglu et al., 2017).

Pinto (2017) obteve resultados semelhantes quanto a eficiência na imobilização física das células fúngicas em bucha vegetal. No estudo, os resultados revelaram excelentes taxas de crescimento e de imobilização celular, confirmando a viabilidade da matriz. Rosa (2018) relatou dificuldades no processo de imobilização do fungo da podridão branca *Scytinostroma duriusculum* em bucha vegetal por ser um suporte rico em fontes de carbono e energia, o que explicaria a não imobilização do fungo, divergindo dos resultados encontrados no presente trabalho.

4.2 DESCOLORAÇÃO DO CORANTE ÍNDIGO CARMIM POR CÉLULAS LIVRES E IMOBILIZADAS

P. chrysosporium mostrou-se versátil e eficiente na degradação do índigo carmim a uma concentração de 25 mg/L em 7 dias de tratamento. O percentual de descoloração final para os ensaios de células livres e imobilizadas em espuma de poliuretano, bucha vegetal e esponja de aço inoxidável foram de 76,43%, 73,10%, 62,50% e 47,38%, respectivamente (Figura 8).

Figura 8. Percentual de descoloração do corante índigo carmim (25 mg/L) tratado por *P. chrysosporium* livre e imobilizado.



Fonte: Autoral (2024).

Como a descoloração de corantes por fungos estão, muitas vezes, associadas ao processo de degradação enzimática, o percentual de descoloração (%D) e a produção de enzimas por *Phanerochaete chrysosporium* foram comparados, sendo apresentados nas Tabelas 5, 6, 7 e 8.

Tabela 5. Percentual de descoloração (%D) e produção de enzimas ligninolíticas (U/L) em ensaio de descoloração do corante Índigo Carmim (25 mg/L) por *Phanerochaete chrysosporium* imobilizado em Espuma de poliuretano (EPO).

Tratamento	%D	Tempo (h)	Lac	LiP	MnP
EPO	45,36±3,21	72	1,377	-	0,003
	38,21±16,52	120	-	3,226	0,002
	73,10±5,19	168	-	1,434	0,002

Legenda: Lacase (Lac). Lignina Peroxidase (LiP). Manganês Peroxidase (MnP). Não detectado (-).

Fonte: Autoral (2024).

Tabela 6. Percentual de descoloração (%D) e produção de enzimas ligninolíticas (U/L) em ensaio de descoloração do corante Índigo Carmim (25 mg/L) por *Phanerochaete chrysosporium* imobilizado em Bucha vegetal (VEG).

Tratamento	%D	Tempo (h)	Lac	LiP	MnP
VEG	54,17±11,24	72	7,616	-	0,003
	38,21±8,41	120	-	-	0,002
	62,50±6,89	168	-	3,584	0,001

Legenda: Lacase (Lac). Lignina Peroxidase (LiP). Manganês Peroxidase (MnP). Não detectado (-).

Fonte: Autoral (2024).

Tabela 7. Percentual de descoloração (%D) e produção de enzimas ligninolíticas (U/L) em ensaio de descoloração do corante Índigo Carmim (25 mg/L) por *Phanerochaete chrysosporium* imobilizado em Esponja de aço inoxidável (AÇO).

Tratamento	%D	Tempo (h)	Lac	LiP	MnP
AÇO	67,74±1,71	72	5,428	9,319	0,004
	47,62±13,35	120	-	1,219	0,002
	47,38±8,19	168	3,241	-	0,001

Legenda: Lacase (Lac). Lignina Peroxidase (LiP). Manganês Peroxidase (MnP). Não detectado (-).

Fonte: Autoral (2024).

Tabela 8. Percentual de descoloração (%D) e produção de enzimas ligninolíticas (U/L) em ensaio de descoloração do corante Índigo Carmim (25 mg/L) por *Phanerochaete chrysosporium* por células livres (CEL).

Tratamento	%D	Tempo (h)	Lac	LiP	MnP
CEL	62,14±4,24	72	4,861	-	0,002
	64,52±3,79	120	-	7,168	0,001
	76,43±2,31	168	-	1,792	0,001

Legenda: Lacase (Lac). Lignina Peroxidase (LiP). Manganês Peroxidase (MnP). Não detectado (-).

Fonte: Autoral (2024).

O fungo imobilizado em espuma de poliuretano apresentou melhores resultados na descoloração do corante em sete dias de tratamento (73,10%) em comparação com outras matrizes utilizadas para imobilização (Figura 8). Ansari et al. (2017) também encontraram resultados satisfatórios na imobilização de fungos em espuma de poliuretano para o tratamento de corantes sintéticos.

Segundo os autores, a espuma de poliuretano foi escolhida como suporte para imobilização microbiana devido à sua alta porosidade, baixo custo e disponibilidade comercial. No estudo, a biomassa fúngica imobilizada foi reutilizada por cinco ciclos consecutivos com taxa de remoção de cor de 73%. Os autores ressaltam que o suporte confere alta estabilidade às células e maior capacidade biossintética, garantindo melhor desempenho dos fungos em bioprocessos.

Rosa (2018) obteve resultados semelhantes em seu estudo de descoloração do corante Índigo carmim, onde os ensaios de imobilização dos fungos *Aspergillus niger* e *Scytinostroma duriusculum* foram bem-sucedidos para o mesmo suporte sintético utilizado neste estudo. O autor, nesse trabalho, demonstra que a espuma de poliuretano é composta por fibras finas, resistentes e com espaços irregulares, o que aumenta o poder de imobilização dos fungos que aderem à superfície da espuma e aos espaços internos e viabiliza a utilização de microrganismos nesse suporte na degradação de corantes têxteis.

O fungo *P. chrysosporium* imobilizado em bucha vegetal reduziu seu percentual de descoloração do corante em comparação à cultura fúngica suspensa (Figura 8). No entanto, no sistema com células imobilizadas nesta matriz, foi observado um aumento na produção da enzima lacase (7,616 U/L, em 72h), sugerindo que a biodegradação inicial pode estar associada a atividade desta enzima.

Dayi et al. (2018) em seu estudo na descoloração do corante Reactive Orange pelo fungo da podridão branca *Morchella esculenta* constataram que a utilização do micélio livre foi mais eficiente na remoção da cor do corante empregado. Quando os experimentos foram realizados com fungo imobilizado, a produção da enzima fenoloxidase aumentou. Os autores da pesquisa concluíram que a lacase produzida por *M. esculenta* pode ser responsável pela biodegradação, o que corrobora com os achados encontrados neste trabalho.

O sistema com células imobilizadas em esponja de aço inoxidável apresentou nas primeiras 72 horas o maior percentual de descoloração inicial (67,74%) em comparação aos demais tratamentos, seguido de um decaimento ao longo do processo (Figura 8). Ainda, foi detectado um pico de produção da enzima lignina peroxidase (9,319 U/L, em 72h) seguido de decaimento. Assim, podendo-se inferir que a descoloração máxima alcançada está relacionada à atividade desta enzima, uma vez que a eficiência da descoloração aumenta com o aumento da atividade da LiP e decai à medida que a atividade enzimática diminui.

De acordo com Zeng et al. (2015), a inibição e/ou redução da descoloração pode estar relacionada à diminuição da biomassa fúngica por deficiências nutricionais, ou por acúmulo de metabólitos tóxicos no meio, o que explicaria os baixos valores encontrados após as 72 horas. Segundo Ahmed e Ammar (2015), a esponja de aço inoxidável é um material totalmente seguro para imobilização e não provoca efeitos nocivos para células vivas. Diante disso, são necessários estudos que investiguem e caracterizem os intermediários tóxicos formados durante a degradação de corantes sintéticos para relacionar seu impacto com a baixa biodegradação observada no tratamento com fungo imobilizado neste suporte.

A enzima manganês peroxidase também é frequentemente associada à descoloração e degradação fúngica de corantes têxteis, agindo em conjunto com a lignina e a lacase (Rosa, 2018; Voberková et al., 2018). Li et al. (2015) avaliaram a descoloração do corante índigo carmim por *Phanerochaete chrysosporium* e a

produção de enzimas oxidativas. Em seu estudo, o índigo foi efetivamente degradado atingindo o percentual de descoloração de 90,18% após 6 h de incubação. Os autores atribuíram a descoloração à atividade da enzima manganês peroxidase. A baixa atividade desta enzima observada durante 7 dias de tratamento, que difere dos resultados obtidos no estudo de Li et al. (2015), sugerem que a biodegradação do corante índigo carmim realizada pela cepa livre ou imobilizada, foi promovida principalmente pelas enzimas lignina peroxidase e lacase.

4.3 TESTE DE FITOTOXICIDADE

As preocupações com o descarte inadequado de corantes sintéticos nos recursos hídricos vão além da contaminação visual causada por estes compostos, diante dos efeitos nocivos provocados nos organismos expostos. A avaliação da toxicidade é importante, pois os intermediários formados durante a degradação dos poluentes podem ser mais tóxicos do que o composto precursor. Os testes de toxicidade fornecem informações sobre o potencial de um produto químico em induzir efeitos tóxicos, a natureza desses efeitos e o grau de toxicidade. Dessa forma, é necessário avaliar a toxicidade do corante antes e depois da degradação (De Almeida, 2016; Oberoi e Philip, 2017; Giovanella et al., 2020).

A toxicidade dos corantes tratados pode ser avaliada por fitotoxicidade, citotoxicidade, genotoxicidade e toxicidade microbiana (Jadhav et al., 2011). No entanto, a fitotoxicidade é o teste mais empregado por ser considerado simples, acessível e sensível para diferentes tipos de contaminantes e em diferentes concentrações (Priac et al., 2017; Rosa, 2018; Gerber et al., 2017; Lyu et al., 2018).

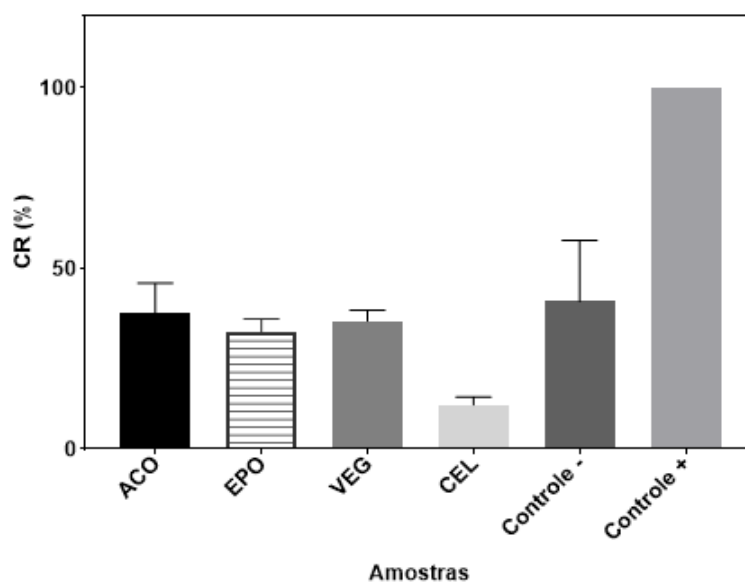
Neste estudo, para análise de toxicidade foi realizado teste de fitotoxicidade utilizando sementes de *C. sativus* (pepino) como indicador biológico antes e depois do tratamento do corante índigo carmim. De acordo Nouran et al. (2015) valores de índice de germinação inferiores a 50% indicam alta fitotoxicidade, valores entre 50 e 80% indicam fitotoxicidade moderada e valores acima de 80% indicam baixa ou nenhuma fitotoxicidade.

O grupo controle (positivo) apresentou 100% de germinação. O corante não tratado e o material residual dos três bioensaios apresentaram taxas de germinação de 96% e 100%, respectivamente. Pode-se inferir que os compostos presentes não

estão em concentrações suficientemente elevadas para impedir a germinação das sementes testadas.

Quanto ao crescimento da raiz, os resultados obtidos não mostraram diferenças significativas para o grupo controle negativo (corante sem tratamento) em relação ao material residual do biotratamento com fungo imobilizado (Figura 9).

Figura 9. Crescimento da Raiz (%CR) de *Cucumis sativus* na presença do material residual do corante índigo carmim tratado por *P. chrysosporium* livre e imobilizado.

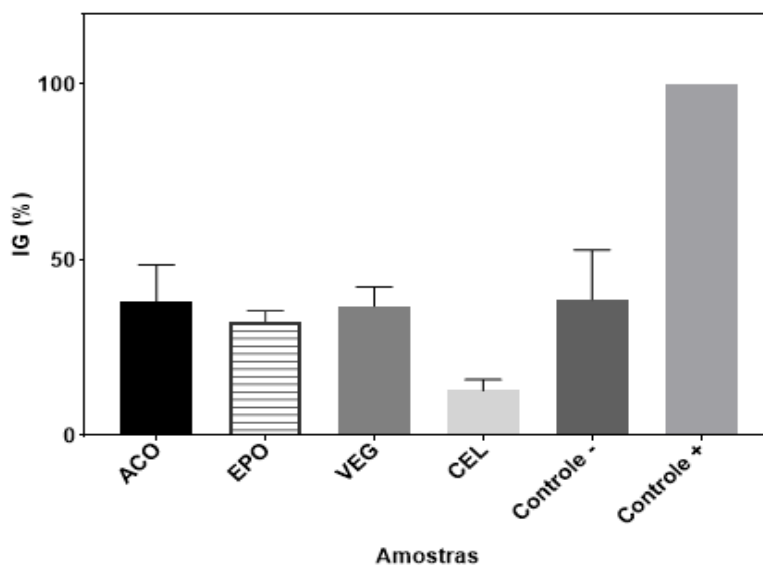


Legenda: Controles negativo (-) e positivo (+).

Fonte: Autoral (2024).

O mesmo foi observado para o índice de germinação, indicando que a descoloração por células imobilizadas não teve efeito na redução da toxicidade (Figura 10). Em contrapartida, foi possível notar a formação de raízes pequenas nos resíduos tratados por células livres e baixo índice de germinação (12,66%), indicando que tratamento fúngico por células não imobilizadas resultou na formação de intermediários mais tóxicos que o original. Evidenciando, dessa forma, as vantagens associadas à aplicação de células imobilizadas na degradação de corantes sintéticos.

Figura 10. Índice de Germinação (%G) das sementes de *Cucumis sativus* na presença do material residual do corante índigo carmim tratado por *P. chrysosporium* livre e imobilizado.



Legenda: Controles negativo (-) e positivo (+).

Fonte: Autoral (2024).

De Almeida et al. (2021) encontraram resultados semelhantes na biodegradação do corante Reactive Red 120 (RR120) por *P. chrysosporium* que resultou no aumento da fitotoxicidade devido à formação de derivados tóxicos, embora 94% da cor tenha sido removida. Os autores ressaltam que a ausência de cor não significa necessariamente ausência de toxicidade, e que é importante determinar a toxicidade dos resíduos que passaram por um processo de descoloração antes do lançamento no meio ambiente.

Os resultados obtidos neste estudo demonstram que os subprodutos da degradação do corante índigo carmim por *P. chrysosporium* são fitotóxicos (índice de germinação inferior a 50%). Pesquisas futuras podem ser realizadas para avaliar a aplicação desse fungo com potencialidade para degradar corantes sintéticos, em consórcio com microrganismos com potencial para destoxificar corantes, de modo a alcançar melhores taxas de descoloração somado à redução da toxicidade.

5 CONCLUSÃO

O fungo da podridão branca *Phanerochaete chrysosporium* imobilizado possui habilidade para degradar o corante índigo carmim, de modo que, seu potencial para uso em escala industrial merece ser estudado. Testes enzimáticos revelaram a produção de enzimas fenoloxidasas, especialmente lignina peroxidase e lacase, indicando que o fungo faz uso de tais via metabólica na degradação do corante.

Nos sistemas imobilizados, o maior percentual de descoloração final foi alcançado por células imobilizadas em espuma de poliuretano. Contudo, os tratamentos com fungo suspenso ou imobilizado não reduziram a toxicidade do corante. Portanto, novas pesquisas são necessárias para fornecer uma melhor correlação entre descoloração e toxicidade.

Phanerochaete chrysosporium imobilizado em matrizes sintética e natural mostrou-se ser um candidato promissor para a degradação de corantes sintéticos e produção de metabólitos que podem ser utilizados em processos de biorremediação de efluentes industriais com coloração.

REFERÊNCIAS

ABIT – ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DA INDÚSTRIA TÊXTIL. Disponível em: <https://www.abit.org.br/noticias/agreste-tex-2022-crescimento-de-15-em-visitantes-e-movimentacao-financeira-de-r-300-milhoes#:~:text=Ele%20destaca%20que%20o%20mercado,um%20novo%20evento%20em%202024>>. Acesso em: 12 mar. 2024.

ABIT – ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DA INDÚSTRIA TÊXTIL. Disponível em: <https://www.abit.org.br/cont/perfil-do-setor>>. Acesso em: 31 dez. 2023.

AHMED, Essam M.; AMMAR, Mohamed I. (2015). Stainless Steel Sponge as a Carrier for Immobilization of *Rhizopus nigricans* Isolate used for Biotransformation of Progesterone to 11 α -hydroxprogesterone. **J. of Advancement in Medical and Life Sciences**. V3I1.

AHMED, F., GULZAR, T., KIRAN, S. et al. Nickel oxide and carboxymethyl cellulose composite beads as catalyst for the pollutant degradation. **Appl Nanosci** 12, 3585–3595 (2022).

AKHTAR, N.; MANNAN, M.A. Mycoremediation: Expunging environmental pollutants **Biotechnology reports** v.26, p. e00452, 2020.

AL- MAMUN, M. R. et al. Photocatalytic activity improvement and application of UV-TiO₂ photocatalysis in textile wastewater treatment: A review. **Journal of Environmental Chemical Engineering**, v. 7, n. 5, p. 103248, 2019.

ALDALBAHI, A. et al. Effects of technical textiles and synthetic nanofibers on environmental pollution. **Polymers**, v. 13, n. 1, p. 155, 2021.

ALEXOPOULOS, C. J.; MIMS, C. W. **Introductory Mycology**. John Wiley & Sons, New York, p. 61-63, 1996.

ALI, H. Biodegradation of synthetic dyes: A review. **Water, Air, & Soil Pollution**, 213, 1–4, p. 251–273, 2010.

ALMEIDA, E. J. R.; CORSO, C. R. Comparative study of toxicity of azo dye Procion Red MX-5B following biosorption and biodegradation treatments with the fungi *Aspergillus niger* and *Aspergillus terreus*. **Chemosphere**, v. 112, p. 317–322, 2014.

ALMEIDA, E. J. R.; CORSO, Decolorization and removal of toxicity of textile azo dyes using fungal biomass pelletized. **International Journal of Environmental Science and Technology**, v. 16, n. 3, p. 1319- 1328, 2019.

ANSARI, Z., KARIMI, A., SEDGHI, S., RAZZAGHI, M., EBRAHIMI, S. 2017. Glucose oxidase effect on treatment of textile effluent containing reactive azo dyes by *Phanerochaete chrysosporium*. **Journal of Chemical Technology and Biotechnology**.

ANTES, B.S., Aplicação do processo foto-fenton na degradação do corante índigo carmin, 2017, 64f. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Engenharia Ambiental e Sanitária) - Universidade Federal da Fronteira Sul, Cerro Largo, 2017.

ANVISA - AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. Disponível em: <<https://www.gov.br/anvisa/pt-br>>. Acesso em: 31 dez. 2023.

AOUNI, A., et al. 2012. Reactive dyes rejection and textile effluent treatment study using ultrafiltration and nanofiltration processes. **Desalination**. 87- 96.

ARAVIND, P., SELVARAJ, H., FERRO, S., & SUNDARAM, M. (2016). An integrated (electro- and bio-oxidation) approach for remediation of industrial wastewater containing azo-dyes: understanding the degradation mechanism and toxicity assessment. **Journal of hazardous materials**, 318, 203-215.

ARICA, MEU, SHARIF, FA, ALAEDDINOGLU, NG, HASIRCI, N., HASIRCI, V., 1993. Aprisionamento covalente de *Aspergillus niger* em membrana pHEMA: aplicação em reatores de fluxo contínuo. J. Química. Tecnologia. Biotecnologia. 58, 281–285.

BA MOHAMMED, B. et al. Fe-ZSM-5 zeolite for efficient removal of basic Fuchsin dye from aqueous solutions: Synthesis, characterization and adsorption process optimization using BBDRSM modeling. **Journal of Environmental Chemical Engineering**, v. 8, n. 5, p. 104419, 2020.

BALDANTONI, A. D. et al. Anthracene and benzo(a)pyrene degradation in soil is favoured by compost amendment: perspectives for a bioremediation approach. **Journal of Hazardous Materials**, 2017.

BANAT, I. M.; NIGAM, P.; SINGH, D.; MARCHANT, R. Microbial decolorization of textile-dye-containing effluents: a review. **Bioresource Technology**, v. 58, p. 217-227. 1996.

BASSANI, Joseane Cristina et al. **Imobilização de células microbianas em esferas de alginato de cálcio e avaliação da viabilidade celular e estabilidade bioquímica em diferentes condições de armazenamento**. 2018. Dissertação de Mestrado. Universidade Tecnológica Federal do Paraná.

BAZRAFSHAN, E., ALIPOUR, M. R., & MAHVI, A. H. (2016). Textile wastewater treatment by application of combined chemical coagulation, electrocoagulation, and adsorption processes. **Desalination and Water Treatment**, 57(20), 9203-9215

BEDOUI, A., et al. 2015. Evaluation of an eventual ecotoxicity induced by effluents using a battery of biotests. **Environ Sci Pollut Res**. 22: 16700- 16708.

BELLATO, F. C. et al. Avaliação da fitotoxicidade de efluente têxtil contendo corante ci reactive blue 222 após o tratamento por *pleurotus ostreatus* em biorreator. In: **XI Congresso Brasileiro de Engenharia Química em Iniciação Científica. Campinas–SP. 2015**.

BENKHAYA, S.; M'RABET, S.; EL HARFI, A. A review on classifications, recent synthesis and applications of textile dyes **Inorganic Chemistry Communications**, v. 115, p. 107891, 2020.

BERRADI, Mohamed et al. Textile finishing dyes and their impact on aquatic environs. **Heliyon**, v. 5, n. 11, 2019.

BIDHENDI, GR Nabi et al. Evaluation of industrial dyeing wastewater treatment with coagulants and polyelectrolyte as a coagulant aid. **Journal of Environmental Health Science & Engineering**, v. 4, n. 1, p. 29-36, 2007.

BO JIANG, JINGTANG Z.; SHI Q, MINGBO W.; QINHUI Z.; ZIFENG Y, QINGZHONG X. Review on electrical discharge plasma technology for wastewater remediation. **Chemical Engineering Journal**. v. 236, p. 348–368, 2014.

BOLZON, L.B., **Nb2O5 como fotocatalisador para a degradação de índigo de carmina**, Dissertação de Mestrado, Instituto de Química, Universidade de Brasília, Brasília-DF, 2007.

BOOM, Anne Carmen ten et al. Determination of Indigo Carmine's toxicity in soil by respiratory method. **Matéria (Rio de Janeiro)**, v. 27, 2023.

BOSCO, F.; MOLLEA, C.; RUGGERI, B. Decolourisation of Congo Red by *Phanerochaete chrysosporium*: the role of biosorption and biodegradation. **Environmental Technology** (United Kingdom), 38, 20, p. 2581–2588, 2017.

BOURBONNAIS, R., PAICE, M. G., FREIRMUTH, B., BODIE, E., BONERMAN, S. Reactivities of various mediators and laccases with Kraft Pulp and Lignin Model Compounds. **Appl. And Environmental Microbiology**, v.63, p.4627-4632, 1997.

BRASIL TÊXTIL - RELATÓRIO SETORIAL DA INDÚSTRIA TÊXTIL BRASILEIRA. Disponível em: <<https://senaicetiqt.com/confira-o-relatorio-brasil-textil-2023/>>. Acesso em: 31 dez. 2023.

BRASIL. Ministério da Economia. Estatística de comércio exterior. Comex Stat Exportação e Importação Geral, 2021. Disponível em: <http://comexsrar.mdic.goc.br/pt/geral>>. Acesso em: 12 fev. 2024.

BRASIL. Ministério do Meio Ambiente. Conselho Nacional do Meio Ambiente - CONAMA. Resolução do CONAMA n. 357, de 17 de março de 2005. Disponível em: <https://www.siam.mg.gov.br/sla/download.pdf?idNorma=2747>. Acesso em: 10 fev. 2024.

BRASIL. Ministério do Meio Ambiente. Conselho Nacional do Meio Ambiente - CONAMA. Resolução do CONAMA n. 430, de 13 de maio de 2011. Disponível em: <https://www.siam.mg.gov.br/sla/download.pdf?idNorma=2747>. Acesso em: 10 fev. 2024.

BUSWELL J. A.; CAI Y.; CHANG S. Effect of nutrient nitrogen and manganese on manganese peroxidase and lactase production by *Lentinula (Lentinus) edodes*. **FEMS Microbiology Letters**, v. 128, p. 81-88, 1995.

CARNEIRO, P.A.; ZANONI, M.V.B. Corantes Têxteis. In: Zanoni, VB, Yamanaka H, Corantes: Caracterização Química. Toxicológica, Métodos de Detecção e tratamento, 1ª Edição, São Paulo: Cultura Acadêmica, 2016.

CARVAJAL, L. C., et al. 2012. Evaluation of three immobilization supports and two nutritional conditions for reactive black 5 removal with *Trametes versicolor* in air bubble reactor. **African Journal of Biotechnology**. 3310-3320.

CHEQUER, FM et al. Textile dyes: dyeing process and environmental impact. **Eco-friendly textile dyeing and finishing**, v. 6, n. 6, p. 151-176, 2013.

CHOI, Kwon-Young. Discoloration of indigo dyes by eco-friendly biocatalysts. **Dyes and Pigments**, v. 184, p. 108749, 2021.

CHOWDHARY, P.; RAJ, Abhay; BHARAGAVA, Ram Naresh. Environmental pollution and health hazards from distillery wastewater and treatment approaches to combat the environmental threats: A review. **Chemosphere**, v. 194, p. 229-246, 2018.

CHOWDHURY, M.F. et al. Current treatment technologies and mechanisms for removal of indigo carmine dyes from wastewater: A review. **Journal of Molecular Liquids**, v. 318, p. 114061, 2020.

COSTA, L.L.da. **Aplicação de nanotubos de titânia na fotodegradação de corantes**, Tese de Doutorado, Instituto de Química, Universidade de Brasília, Brasília-DF, 2009.

COUTO, S. Rodriguez et al. Stainless steel sponge: a novel carrier for the immobilisation of the white-rot fungus *Trametes hirsuta* for decolourization of textile dyes. **Bioresource Technology**, v. 95, n. 1, p. 67-72, 2004.

CREMA, Anna Paula Safenraider et al. Estudo das reações de descoloração de corantes em meio aquoso induzidas por plasma frio. 2015.

CRUZ, Nayara Vitória dos Santos. **Descoloração do corante têxtil marinho Direct 2R utilizando o fungo *Aspergillus tamarii* kita UCP 1279**. 2021. Trabalho de Conclusão de Curso. Brasil.

DAASSI, D., et al. 2013. Decolorization of the metal textile dye lanaset grey G by immobilized white- rot fungi. **Journal of Environmental Management**. 324-332.

DADI, D., STELLMACHER, T., SENBETA, F., VAN PASSEL, S., & AZADI, H. (2017). Environmental and health impacts of effluents from textile industries in Ethiopia: the case of Gelan and Dukem, Oromia Regional State. **Environmental monitoring and assessment**, 189(1), 11

DAYI, Bugra et al. Investigation of the ability of immobilized cells to different carriers in removal of selected dye and characterization of environmentally friendly laccase of *Morchella esculenta*. **Dyes and Pigments**, v. 151, p. 15-21, 2018.

DE ALMEIDA, Alana Pereira et al. Descoloração e desintoxicação de diferentes corantes azo por *Phanerochaete chrysosporium* ME-446 sob fermentação submersa. **Revista Brasileira de Microbiologia**, v. 52, p. 727-738, 2021.

DE ALMEIDA, ALANA PEREIRA. Descoloração de corantes têxteis por *Phanerochaete chrysosporium* por sistema submerso. 2018.

DE ALMEIDA, Darne Germano et al. Descoloração do corante Índigo Carmim e produção de Lacase por fungos filamentosos. **Scientia plena**, v. 8, n. 5, 2012.

DE ALMEIDA, Érica Janaina Rodrigues; DILARRI, Guilherme; CORSO, Carlos Renato. A indústria têxtil no Brasil: Uma revisão dos seus impactos ambientais e possíveis tratamentos para os seus efluentes. **BOLETIM DAS ÁGUAS, Departamento de Bioquímica e Microbiologia, Universidade Estadual Paulista (UNESP)**, p. 1-18, 2016.

DE ANDRADE, Fabrício Vieira; LOPES, Élisson Nogueira. ESTUDO DE ESTABILIDADE DO CORANTE ÍNDIGO CARMIM EM CONDIÇÕES DE DEGRADAÇÃO FORÇADA. **Revista Brasileira de Ciências da Vida**, v. 3, n. 2, 2015.

DE FRAGA, Karina Rodrigues; HARTZ, Taís Port; SCHEEREN, Carla Weber. Processos oxidativos avançados eficientes na degradação de corantes alimentícios. **Brazilian Journal of Development**, v. 7, n. 5, p. 50161-50171, 2021.

DESHMUKH, Radhika; KHARDENAVIS, Anshuman A.; PUROHIT, Hemant J. Diverse metabolic capacities of fungi for bioremediation. **Indian journal of microbiology**, v. 56, p. 247-264, 2016.

DEVECI, E., et al. Degradation of Recalcitrant Textile Dyes by Coupling Fungal and Photocatalytic Membrane Reactors. **Clean-Soil, Air, Water**, 44, 10, p. 1345–1351, 2016.

DEWI, R. S.; et al. Bioremediation of Indigosol Blue 04B Batik Effluent by Indigenous Fungal Isolates, *Aspergillus* spp. **Omni-Akuatika**, v. 14, n. 2, p. 11- 20, 2018.

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.

DIXIT, Mandeep et al. Enhanced bioremediation of pulp effluents through improved enzymatic treatment strategies: A greener approach. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, [s. l.], v. 152, p. 111664, 2021.

DOTTO, G.L., VIEIRA, M.L.G., GONÇALVES, J.O., et al., —Remoção dos corantes azul brilhante, amarelo crepúsculo e amarelo tartrazina de soluções aquosas utilizando carvão ativado, terra ativada, terra diatomácea, quitina e quitosana: estudos de equilíbrio e termodinâmica, **Química Nova**, v. 34, n. 7, pp. 1193–1199, 2011.

DZIOŃEK, A., WOJCIESZYŃSKA, D., & GUZIK, U. (2016). Natural carriers in bioremediation: A review. **Electronic Journal of Biotechnology**, 23, 28-36.

EL ENSHASY, H.A. et al. Mycoremediation: Decolourization potential of fungal ligninolytic enzymes. In **Mycoremediation and Environmental Sustainability**, v.1, p. 69-104, 2017.

ELAKKIYAL, M.; PRABHAKARAN, D.; THIRUMARIMURUGAN, M. Methods of cell immobilization and its applications. **International Journal of Innovative Research in Science**, v. 5, n.4, 2016.

ELIZEI, Virgínia Guerra et al. Imobilização de fungos filamentosos com potencial para uso agroindustrial. **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 81, p. 165-172, 2014.

ENAYATIZAMIR, N. et al. Biodegradation pathway and detoxification of the diazo dye Reactive Black 5 by *Phanerochaete chrysosporium*. **Bioresource Technology**, v. 102, n.22, p. 10359-10362, 2011.

FABARA, Andréa N.; FRAAIJE, Marco W. Uma visão geral das enzimas microbianas formadoras de índigo. **Microbiologia aplicada e biotecnologia**, v. 104, n. 3, pág. 925-933, 2020.

FERREIRA, L.F.; AGUIAR, M.; POMPEU, G.; MESSIAS, T.G.; MONTEIRO, R.T.R. Selection of vinasse degrading microorganisms. **World J. Microbiol. Biotechnol.**, v. 26, p. 1613-1621, 2010.

GEORGIN, J. et al. Potential of *Cedrella fissilis* bark as an adsorbent for the removal of red 97 dye from aqueous effluents. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 26, p. 19207- 19219, 2019.

GERBER, Michel David et al. Phytotoxicity of effluents from swine slaughterhouses using lettuce and cucumber seeds as bioindicators. **Science of the Total Environment**, v. 592, p. 86-90, 2017.

GHEDIN, Sara Cristine Denoni et al. Remoção dos corantes têxteis índigo carmim e azul de metileno pelo processo de adsorção utilizando pirita. 2022.

GIOVANELLA, P. et al. Metal and organic pollutants bioremediation by extremophile microorganisms. **Journal of hazardous materials**, v. 382, p. 121024, 2020.

GLENN, J. K.; GOLD, M. H. Decolorization of several dyes by a lignin degrading basidiomycete *Phanerochaete Chrysosporium*. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 45, p. 1741-1747. 1983.

GOMES, C. S.; PICCIN, J. S.; GUTTERRES, M. Optimizing adsorption parameters in tannery-dye-containing effluent treatment with leather shaving waste. **Process Safety and Environmental Protection**, v. 99, p. 98-106, 2016.

GRASSI, P. et al. Biosorption of crystal violet dye using inactive biomass of the fungus *Diaporthe schinii*. **Water Science Technology**, v. 79, n. 4, p. 709–717, 2019.

GUARATINI, Cláudia CI; ZANONI, Maria Valnice B. Corantes têxteis. **Química nova**, v. 23, p. 71-78, 2000.

GUO, Xia-Li; ZHU, Zheng-Wei; LI, Hong-Li. Biodegradation of sulfamethoxazole by *Phanerochaete chrysosporium*. **Journal of Molecular Liquids**, Vol.198, pp.169-172, October 2014.

GUPTA, V. K., et al. 2015. Decolorization of mixture of dyes: A critical review. **Global Journal Environ Sci Manage.** 71-94.

GÜRSES, A. et al. Classification of dye and pigments. In: **Dyes and pigments.** Springer, Cham, 2016. p. 31-45.

GÜRSES, Ahmet et al. Dyes and pigments: their structure and properties. **Dyes and pigments**, p. 13-29, 2016.

HASSAAN, M.; EL NEMR, A. Advanced Oxidation Processes for Textile Wastewater Treatment. **International Journal of Photochemistry and Photobiology**, v. 2, p. 85–93, 2017.

HERNÁNDEZ-GORDILLO, Agileo et al. Photodegradation of Indigo Carmine dye by CdS nanostructures underblue-light irradiation emitted by LEDs. **Catalysis Today**, Mexico, v. 1, n. 266, p.27-35, set. 2016.

HIDROGERON, G. Tratamento de efluentes. **Portal tratamento de água**, p. 1–17, 2016.

HIRSCHLER, R., Oliveira, D. F., & Lopes, L. C. (2011). Quality of the daylight sources for industrial colour control. **Coloration Technology**, 127(2), 88-100.

HOLKAR C. R., JADHAV A. J., PINJARI D. V., MAHAMUNI N. M. & PANDIT A. B. (2016). A critical review on textile wastewater treatments: possible approaches. **Journal of Environmental Management.**

HOSEINZADEH E, REZAEI A. Electrochemical degradation of RB19 dye using low-frequency alternating current: effect of a square wave. **RSC Adv** 2015;5:96918–26.

IBGE. Produção da Pecuária Municipal. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. p. 1–9, 2017.

ITO, T., et al. 2016. Long-term natural remediation process in textile dyepolluted river sediment driven by bacterial community changes. **Water Research.** 458-465.

JADHAV, S. B., PHUGARE, S. S., PATIL, P. S., JADHAV, J. P. 2011. Biochemical degradation pathway of textile dye Remazol red and subsequent toxicological evaluation by cytotoxicity, genotoxicity and oxidative stress studies. **International biodeterioration & biodegradation**, 65(6), 733-743.

JAMEE, R.; SIDDIQUE, R. Biodegradation of synthetic dyes of textile effluent by microorganisms: an environmentally and economically sustainable approach. **European Journal of Microbiology and Immunology**, v. 9, n. 4, p. 114-118, 2019.

JANAINA, A. K. et al. Textile sustainability: A Brazilian etiquette issue. **Environmental Science & Policy**, v. 109, p. 125-130, 2020.

JUNG, F. H.; CHEN, Y. Y.; CHEN, W S.; CHIO W.R.; CHEN, C.W.; CHIING-CHANG,C. Degradation of crystal violet by an FeGAC/H₂O₂ process. **Journal of Hazardous Materials.** v. 196, p. 420 – 425, 2011.

KAPOR, M.A., YAMANAKA, H., CARNEIRO, P.A, et al. —Eletroanálise de corantes alimentícios: determinação de índigo carmim e tartrazinall. **Eclética Química**, v.26, pp. 53-68, 2001.

KAUSHIK, P.; MALIK, A. Mycoremediation of Synthetic Dyes: An Insight into the Mechanism, Process Optimisation and Reactor Design. Em: SINGH, S. N. (Ed.). **Microbial Degradation of Synthetic Dyes in Wastewaters**. Environmental Science and Engineering [s.1]. First Edition. Cham: Springer. p. 1–25, 2015.

KHAN, R.; PATEL, V.; KHAN, Z. Bioremediation of dyes from textile and dye manufacturing industry effluent. In: **Abatement of Environmental Pollutants**. Elsevier, p. 107-125. 2020.

KOVALESKI, Gabriela; BITTENCOURT, Juliana Vitoria Messias; RODRIGUES, Sabrina Avila. **Estudo da imobilização celular de *Saccharomyces cerevisiae* em alginato de cálcio**. AYA Editora, 2020.

KOYANI, R. D., DUHALT, R. V. (2016). Laccase encapsulation in chitosan nanoparticles enhances the protein stability against microbial degradation. **Environ Sci Pollut Res**.

KURADE, Mayur B. et al. Descoloração de efluente da indústria têxtil utilizando células consorciadas imobilizadas em reator de leito fixo de fluxo ascendente. **Revista de produção mais limpa**, v. 213, p. 884-891, 2019.

KURT, E., et al. 2012. Pilot-scale evaluation of nanofiltration and reverse osmosis for process reuse of segregated textile dyewash wastewater. **Desalination**. 24-32.

KUWAHARA, M., et al. Separation and characterisation of two extracellular H₂O₂-dependent oxidases from ligninolytic cultures of *Phanerochaete chrysosporium*. **FEBS Letters**, 169, 2, p. 247–250, 1984.

LALNUNHLIMI, S.; KRISNASWAMY, V. Decolorization of azo dyes (Direct Blue 151 and Direct Red 31) by moderately alkaliphilic bacterial consortium. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 47, n. 1, p. 39-46, 2016.

LELLIS, B. et al. Effects of textile dyes on health and the environment and bioremediation potential of living organisms. **Biotechnology Research and Innovation**, v. 3, n. 2, p. 275-290, 2019.

LI, Huixing et al. Manganese peroxidase production from cassava residue by *Phanerochaete chrysosporium* in solid state fermentation and its decolorization of indigo carmine. **Chinese Journal of Chemical Engineering**, v. 23, n. 1, p. 227-233, 2015.

LI, Q.; et al. Synergic effect of adsorption and biodegradation enhance cyanide removal by immobilized *Alcaligenes* sp. strain DN25. **Journal of Hazardous Materials**, v. 326, p. 367-375, 2019.

LIANG, C. Z., et al. 2014. Treatment of highly concentrated wastewater containing multiple synthetic dyes by a combined process of coagulation/flocculation and nanofiltration. **Journal of Membrane Science**. 306-315.

LIRA, Diana Duarte de. **Biodegradação de efluentes por fungos filamentosos**. 2019.

LIU, H., et al. 2012. Reutilization of immobilized fungus *Rhizopus* sp. LG04 to reduce toxic chromate. **Journal of Applied Microbiology**. 651-659.

LU, T., Zhang, Q., Yao, S., 2017. Efficient decolorization of dye-containing wastewater using mycelial pellets formed of marine-derived *Aspergillus niger*. **Chinese Journal of Chemical Engineering** 25, 330–337.

LYU, Jie et al. Testing the toxicity of metals, phenol, effluents, and receiving waters by root elongation in *Lactuca sativa* L. **Ecotoxicology and environmental safety**, v. 149, p. 225-232, 2018.

MANI S., Chowdhary P. & Bharagava R. N. (2019). Textile wastewater dyes: toxicity profile and treatment approaches. In: **Emerging and Eco-Friendly Approaches for Waste Management** (Bharagava, R. N. & Chowdhary, P., eds). Springer, Singapore.

MARTINS, Suzana Cláudia Silveira et al. Imobilização de células microbianas: Uma ferramenta promissora para tratamento de poluentes tóxicos em águas residuais industriais. **Revista Africana de Biotecnologia**, v. 12, n. 28, 2013.

MASARIN, Fernando et al. Polpação quimiomecânica de *Eucalyptus grandis* biotratado por *Phanerochaete chrysosporium*. 2018.

MEIRA, L. **Degradação de Corantes Indigoides com Reagente de Fenton para tratamento de efluentes na Indústria Têxtil**, Dissertação de Mestrado, Instituto Politécnico de Portalegre, Universidade de Porto Alegre, 2014.

MELLA, B., et al. Treatment of leather dyeing wastewater with associated process of coagulation-flocculation/adsorption/ozonation. **Ozone: Science and Engineering**. 40, 2, p. 133–140, 2017.

MENDES, A. A. **Seleção de suportes e protocolos de imobilização de lipases para síntese enzimática de biodiesel**. 2009. 194 f. Tese (Doutorado) - Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química, Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, 2009.

MENDES, Adriano A. et al. Aplicação de quitosana como suporte para a imobilização de enzimas de interesse industrial. **Química Nova**, São Paulo, v. 34, n. 5, p.831-840, 2011.

MOHAMAD, Nur R.; MARZUKI, Nur H. C.; BUANG, Nor A.; HUYOP, Fahrul; WAHAB, Roswanira A. An overview of technologies for immobilization of enzymes and surface analysis techniques for immobilized enzymes. **Biotechnology & Biotechnological Equipment**, v. 29, p. 205-220 2015.

MONROY-LICHT, Andrea. (2016). *Phanerochaete chrysosporium*, hongo ligninolítico, promisorio en biorremediación, una mirada global. Micro-Ciencia. Investigación, Desarrollo e Innovación.. 5. 11-25.

- MOREIRA, S.C. Efeitos ecotoxicológicos dos corantes índigo sintético e natural sobre a microalga *Raphidocelis subcapitata* e sobre o peixe *Danio rerio*. Dissertação (mestrado) Universidade Estadual Paulista, Instituto de Ciência e Tecnologia, 99, 2019
- NACIRI, N., et al. (2016). Effective photocatalytic decolorization of indigo carmine dye in Moroccan natural phosphate-TiO₂ aqueous suspensions. **Optical Materials**. 38- 43.
- NADAROGLU, H., CICEK, S., GUNGOR, A. A. 2017. Removing Trypan blue dye using nano- Zn modified Luffa sponge. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 172, 2-8.
- NOUREN, S., BHATTI, H. N. 2015. Mechanistic study of degradation of basic violet 3 by Citrus limon peroxidase and phytotoxicity assessment of its degradation products. **Biochemical Engineering Journal**, 95, 9-19.
- NOVOTNÝ, Č. et al. Removal of PCBs by various white rot fungi in liquid cultures. **Folia Microbiologica**, v. 42, p. 136-140, 1997.
- OBEROI, A. S.; PHILIP, L. Variation in toxicity during the biodegradation of various heterocyclic and homocyclic aromatic hydrocarbons in single and multi-substrate systems. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 135, p. 337-346, 2017.
- ONG, Y. K., et al. 2014. Nanofiltration hollow fiber membranes for textile wastewater treatment: Lab-scale and pilot-scale studies. **Chemical Engineering Science**. 51-57.
- ORTIZ-MONSALVE, Santiago. Microrremediação de efluentes de tingimento de couro usando cepas de fungos nativos. 2019.
- ORZECOWSKI, J.; RAMPINELLI, J. R.; SILVEIRA, M. L. L.; BONATTI-CHAVES, M.; FURLAN, S. A. Avaliação do potencial de descoloração e de detoxificação de corantes têxteis por lacase de *Pleurotus sajor-caju*. **Evidência**, v. 18, n. 1, p. 59–80, 2018.
- PANDEY K, SAHA P, RAO KB. a study on the utility of immobilized cells of indigenous bacteria for biodegradation of reactive azo dyes. **Prep Biochem Biotechnol**. 2020;50:317–29.
- PANDEY, Kritika et al. Application of microbial enzymes in industrial waste water treatment. **International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences**, v. 6, n. 8, p. 1243-1254, 2017.
- PAPIC, S., et al. 2004. Removal of some reactive dyes from synthetic wastewater by combined Al(III) coagulation/carbon adsorption process. **Dyes and Pigments**. 291-298.
- PARTOVINIA, Ali; RASEKH, Behnam. Revisão dos sistemas de células microbianas imobilizadas para biorremediação de ambientes poluídos por hidrocarbonetos de petróleo. **Revisões Críticas em Ciência e Tecnologia Ambiental**, v. 1, pág. 1-38, 2018.

PATEL, H., VASHI, R. T. 2010. Treatment of textile wastewater by adsorption and coagulation. E- **Journal of Chemistry**. 1468-1476.

PATTANAIK, Lopa et al. Life cycle cost analysis of natural indigo dye production from *Indigofera tinctoria* L. plant biomass: a case study of India. **Clean Technologies and Environmental Policy**, v. 22, p. 1639-1654, 2020.

PAZ, A. et al. Biological treatment of model dyes and textile wastewaters. **Chemosphere**, v. 181, p. 168–177, 2017.

PINTO, Felipe Justiniano; GONÇALVES, Caroline da Costa Silva. Avaliação das atividades de lipases de fungos isolados do Parque Nacional do Iguaçu. 2017.

PIRES, Josiane F. **Avaliação do potencial enzimático de fungos endofíticos de Coffea arabica (café), sob cultivo orgânico e convencional, na remediação de efluentes têxteis**. 2013. 119 f. Dissertação (Mestrado em Ecologia e Tecnologia Ambiental) - Universidade Federal de Alfenas, Alfenas, 2013.

PRIAC, Anne; BADOT, Pierre-Marie; CRINI, Grégorio. Treated wastewater phytotoxicity assessment using *Lactuca sativa*: focus on germination and root elongation test parameters. **Comptes rendus biologies**, v. 340, n. 3, p. 188-194, 2017.

PRZYSTAŚ, W.; ZABŁOCKA-GODLEWSKA, E.; GRABIŃSKA-SOTA, E. Efficiency of decolorization of different dyes using fungal biomass immobilized on different solid supports. **Brazilian journal of microbiology**, v. 49, p. 285-295, 2018.

PÜNTENER, A. Leather dyes. Em: FREEMAN, H.S.; PETERS, A.T. (Eds.). **Colourants for Non-Textile Applications** [s. 11]. First Edition. Amsterdam: Elsevier Science. p. 478–484, 2000.

QUINTERO, L.; CARDONA, S. (2010) Tecnologías para la decoloración de tintes índigo e índigo carmín. **Revista de la Facultad de Minas de la Universidad Nacional de Colombia**, v. 77, n. 162, p. 371-386.

RADHA, K. V. et al. Decolorization studies of synthetic dyes using *Phanerochaete chrysosporium* and their kinetics. **Process Biochemistry**, v. 40, n. 10, p. 3337-3345, 2005.

RAJASEKARAN, T.; ARAVINDAKUMAR, A. - Experimental study on the characteristics of surface treated luffa fiber composites. **Journal of Chemical and Pharmaceutical Sciences**, v. 9, p- 646-651, 2016.

RANI, B. et al. Bioremediation of dyes by fungi isolated from contaminated dye effluent sites for bio-usability. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 45, n. 3, p. 1055–1063, 2014.

RAUF, M, A.; HISAINDEE, S.; MEETANI, A. Application of LC-MS to the analysis of advanced oxidation process (AOP) degradation of dye products and reaction mechanisms. **Trends in Analytical Chemistry**. v. 49, p. 31 – 44, (2013).

REHMAN K, SHAHZAD T, SAHAR A et al. Effect of reactive black 5 azo dye on soil processes related to C and N cycling. **PeerJ** 2018b;6:e4802.

RICACZESKI, Cecília Claudete et al. **Produção de enzimas ligninolíticas a partir de um processo fermentativo em efluente têxtil por *Phanerochaete chrysosporium***. 2020. Dissertação de Mestrado. Universidade Tecnológica Federal do Paraná.

RISTEA, Madalina-Elena; ZARNESCU, Otilia. Indigo Carmine: entre a necessidade e a preocupação. **Revista de Xenobióticos**, v. 13, n. 3, pág. 509-528, 2023.

ROCHA, S. D. da. BIODEGRADAÇÃO DE HIDROCARBONETOS DE PETRÓLEO PELA ATUAÇÃO DE FUNGOS ENDOFÍTICOS ISOLADOS DA *Eichhornia crassipes* (Mart.) Solms DE AMBIENTE AQUÁTICO DA AMAZÔNIA. Programa de PósGraduação em Química, Universidade Federal do Amazonas, 2015.

RODRÍGUEZ-COUTO, S., et al. Production of laccase by *Trametes hirsuta* grown in an immersion bioreactor and its application in the decolourisation of dyes from a leather factory. **Eng. Life Sci.** 4, p. 233–238, 2004.

ROSA, Augusto Ferraz da Silva. **Imobilização de fungos filamentosos para o tratamento de efluente têxtil**. 2018. Dissertação de Mestrado. Universidade Federal de Pernambuco.

SAGGIORO, Enrico et al. Fotocatálise solar na remediação de corantes indigoides usados no tingimento de fios de algodão. 2012.

SAHINKAYA, S. 2013. COD and color removal from synthetic textile wastewater by ultrasound assisted electro-Fenton oxidation process. **Journal of Industrial and Engineering Chemistry**. 601-605.

SAMSAMI, S.; MOHAMADIZANIANI, M.; SARRAFZADEH, M. H.; RENE, E. R., FIROOZBAHR, M. Recent advances in the treatment of dye-containing wastewater from textile industries: overview and perspectives. **Process Saf. Environ. Prot.**, v.143, p.138–163, 2020.

SANTANA, Valéria Ferreira da Silva Costa. Descoloração do corante índigo carmim por agaricomycetes coletados no norte e nordeste do Brasil. 2022.

SANTELLO, Lara Cavalari. Biodegradação e destoxificação do corante têxtil preto reativo 5 pelo basidiomiceto de origem marinha *Peniophora* sp. CBMAI 1063. 2023.

SANTOS, Andreza Dnarla Oliveira et al. Degradação de índigo carmim em reator em bateladas sequenciais com *aspergillus niger* an 400 no tratamento de água residuária têxtil in natura. **Revista Aidis, Fortaleza**, v. 8, n. 3, p.328-343, dez. 2015.

SANTOS, K. C. G.; NEVES, A. G. D.; CRUZ, N. V. S.; PEQUENO, A. F. F.; SILVA, R. L. A.; NASCIMENTO, T. P.; NASCIMENTO, D. C. S.; COSTA, R. M. P. B.; SILVA, M. V.; PORTO, A. L. F. Descoloração de efluente de uma lavanderia de beneficiamento têxtil localizada em Toritama/PE por fungo filamentoso. **Brazilian Journal of Development**, v. 6, n. 1, p. 3338-3350, jan, 2020.

SANTOS, V. L. Avaliação do processo fenton solar no tratamento de efluente gerado por lavanderia de jeans de Pernambuco. Embrapa Semiárido - **Anais. Búzios: Associação Brasileira de Engenharia Química**, 2013.

SARATALE, G. D., et al. 2011. Fixed-bed decolorization of Reactive Blue 172 by *Proteus vulgaris* NCIM-2027 immobilized of *Luffa cylindrica* sponge. **International Biodeterioration & Biodegradation**. 494-503.

SARATALE, R. G.; SARATALE, G. D.; CHANG, J. S.; GOVINDWAR, S. P. Bacterial decolorization and degradation of azo dyes: A review. **Journal of the Taiwan institute of Chemical Engineers**, v. 42, p. 138-157, 2011.

SAROJ et al. Biodegradation of azo dyes acid red 183, direct blue 15 and direct red 75 by the isolate *Penicillium oxalicum* SAR-3. **Chemosphere**. 107, p. 240–248, 2014.

SEN, S.K., et al. Fungal decolouration and degradation of azo dyes: A review. **Fungal Biology Reviews**. 30, 3, p. 112–133, 2016.

SHARMA, Subed Chandra Dev et al. Descoloração do corante azo vermelho de metila por células bacterianas suspensas e co-imobilizadas com mediadores antraquinona-2, 6-dissulfonato e nanopartículas de Fe₃O₄. **Biodeterioração e Biodegradação Internacional**, v. 112, p. 88-97, 2016.

SILVA, Raphael Luiz Andrade. **Biorremediação de águas fluviais contaminadas com corantes da indústria têxtil por fungos filamentosos isolados do bioma Caatinga**. 2017. Dissertação de Mestrado. Universidade Federal de Pernambuco.

SINGH, A; WARD, O. Biotechnology and Bioremediation, An Overview. Em: SINGH, A.; WARD, O. P. (Eds.). **Biodegradation and Bioremediation** [s. 1]. First Edition. Berlin: Springer-Verlag. p. 1–17, 2004.

SINGH, L.; SINGH, V.P. Textile dyes degradation: A microbial approach for biodegradation of pollutants. Em: SINGH, A. (Ed.). **Microbial Degradation of Synthetic Dyes in Wastewaters**. Environmental Science and Engineering [s.9]. First Edition. Cham: Springer, p. 187–204, 2015.

TAN, L.; HE, M.; SONG, L.; FU, X.; SHI, S. Aerobic decolorization, degradation and detoxification of azo dyes by a newly isolated salt-tolerant yeast *Scheffersomyces spartinae* TLHS-SF1. **Bioresourse Technology**, v. 203, p. 287-294, 2016.

TEIXEIRA, R. S. S.; PEREIRA, P. M.; FERREIRA-LEITÃO, V. Extraction and Application of Laccases from Shimeji Mushrooms (*Pleurotus ostreatus*) Residues in Decolourisation of Reactive Dyes and a Comparative Study Using Commercial Laccase from *Aspergillus oryzae*. **Enzyme Research**, p. 1-8, 2010.

TIEN, M.; KIRK. T.K. Lignin-Degrading Enzyme from the Hymenomycete *Phanerochaete chrysosporium* Burds. **Science**, 221, p. 661–663, 1983.

TIENG, YP, SUN, G., 2000. Uso de álcool polivinílico como célula matriz de aprisionamento para biossorção de cobre por células de levedura. *J. Química. Tecnologia. Biotecnologia*. 75, 541–546.

TRIGUEROS, D.E.G. Avaliação da Cinética de Biodegradação dos Compostos Tóxicos: Benzeno, Tolueno, Etilbenzeno, Xileno (BTEX) e Fenol. (2008) Dissertação (Mestrado em Engenharia Química, área Desenvolvimento de Processos Químicos. Universidade Estadual do Oeste do Paraná), Curitiba.

VALLIM, Marcelo Afonso. ***Phanerochaete chrysosporium*: mapa genético, expressão heteróloga e padrão de transcrição de genes de celulase**. 1997. Tese de Doutorado. Universidade de São Paulo.

VARGAS-DE LA CRUZ C, LANDA-ACUÑA D. Microbial bioremediation of azo dye through microbiological approach. In: **Emerging Technologies in Environmental Bioremediation**, Amsterdam: Elsevier. 2020.

VARJANI, Sunita J.; UPASANI, Vivek N. Um novo olhar sobre os fatores que afetam a degradação microbiana de poluentes de hidrocarbonetos de petróleo. **Biodeterioração e Biodegradação Internacional**, v. 120, p. 71-83, 2017.

VIKRANT, K., et al. Recent advancements in bioremediation of dye: current status and challenges. **Bioresource Technology**. 253: p. 355–367, 2018.

VILELA, A.; SCHULLER, D.; MENDES-FARIA, A.; CÔRTEZ-REAL, M. Redução da acidez volátil de vinho por células de *Saccharomyces cerevisiae* imobilizadas em esferas de alginato-quitosano. **Revista Enologia**, São Paulo, p.38-42, 2012.

VOBĚRKOVÁ, Stanislava et al. Immobilization of ligninolytic enzymes from white-rot fungi in cross-linked aggregates. **Chemosphere**, v. 202, p. 694-707, 2018.

WILLAERT, Ronnie G. 12 Cell Immobilization. **Fermentation Microbiology and Biotechnology**, p. 313, 2011.

XIAO, P.; WU, D.; WANG, J. Bibliometric analysis of global research on white rot fungi biotechnology for environmental application. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 29, p. 1491-1507, 2022.

ZENG, Guangming et al. Study of the degradation of methylene blue by semi-solid-state fermentation of agricultural residues with *Phanerochaete chrysosporium* and reutilization of fermented residues. **Waste Management**, v. 38, p. 424-430, 2015.

ZHANG, Baoyu et al. Bead-immobilized *Pseudomonas stutzeri* Y2 prolongs functions to degrade s-triazine herbicides in industrial wastewater and maize fields. **Science of The Total Environment**, [s. l.], v. 731, p. 139183, 2020.

ZHANG, Y. H., LYU, S. S., LIU, S. T., CHEN, Y. X., QIN, W. L., YE, Y., CHEN, X. G. 2017. Thermal destruction of luffa sponge under air and nitrogen. **Journal of Thermal Analysis and Calorimetry**, 128(1), 53- 60.

ZHOU, Y. et al. Recent advances for dyes removal using novel adsorbents: A review. **Environmental Pollution**, v. 252, p. 352–365, 2019.

ZUCCA, Paolo et al. Lacases fúngicas como ferramentas para biodegradação de corantes industriais. **Biocatálise**, v. 1, n. 1, pág. 82-108, 2016.