



UNIVERSIDADE FEDERAL DE GOIÁS (UFG)
FACULDADE DE FARMÁCIA (FF)
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM INOVAÇÃO FARMACÊUTICAS -
PPGIF

ELAINE SOUSA NUNES

**Produção de lacases por *Pleurotus ostreatus* e o uso
da biorremediação e adsorção para tratamento de
poluentes via biomassa residual**

Goiânia
2022



UNIVERSIDADE FEDERAL DE GOIÁS
FACULDADE DE FARMÁCIA

TERMO DE CIÊNCIA E DE AUTORIZAÇÃO (TECA) PARA DISPONIBILIZAR VERSÕES ELETRÔNICAS DE TESES

E DISSERTAÇÕES NA BIBLIOTECA DIGITAL DA UFG

Na qualidade de titular dos direitos de autor, autorizo a Universidade Federal de Goiás (UFG) a disponibilizar, gratuitamente, por meio da Biblioteca Digital de Teses e Dissertações (BDTD/UFG), regulamentada pela Resolução CEPEC nº 832/2007, sem ressarcimento dos direitos autorais, de acordo com a [Lei 9.610/98](#), o documento conforme permissões assinaladas abaixo, para fins de leitura, impressão e/ou download, a título de divulgação da produção científica brasileira, a partir desta data.

O conteúdo das Teses e Dissertações disponibilizado na BDTD/UFG é de responsabilidade exclusiva do autor. Ao encaminhar o produto final, o autor(a) e o(a) orientador(a) firmam o compromisso de que o trabalho não contém nenhuma violação de quaisquer direitos autorais ou outro direito de terceiros.

1. Identificação do material bibliográfico

Dissertação Tese

2. Nome completo do autor

Elaine Sousa Nunes

3. Título do trabalho

PRODUÇÃO DE LACASES POR *Pleurotus ostreatus* E O USO DA BIORREMEDIAÇÃO E ADSORÇÃO PARA TRATAMENTO DE POLUENTES VIA BIOMASSA RESIDUAL

4. Informações de acesso ao documento (este campo deve ser preenchido pelo orientador)

Concorda com a liberação total do documento SIM NÃO¹

[1] Neste caso o documento será embargado por até um ano a partir da data de defesa. Após esse período, a possível disponibilização ocorrerá apenas mediante:

a) consulta ao(a) autor(a) e ao(a) orientador(a);

b) novo Termo de Ciência e de Autorização (TECA) assinado e inserido no arquivo da tese ou dissertação.

O documento não será disponibilizado durante o período de embargo.

Casos de embargo:

- Solicitação de registro de patente;
- Submissão de artigo em revista científica;
- Publicação como capítulo de livro;
- Publicação da dissertação/tese em livro.

Obs. Este termo deverá ser assinado no SEI pelo orientador e pelo autor.



Documento assinado eletronicamente por **ELAINE SOUSA NUNES, Usuário Externo**, em 08/04/2022, às 14:16, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no § 3º do art. 4º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).

Documento assinado eletronicamente por **Mariângela Fontes Santiago, Professor do Magistério Superior**, em 08/04/2022, às 17:53, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no § 3º do



art. 4º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



A autenticidade deste documento pode ser conferida no site https://sei.ufg.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0, informando o código verificador **2820246** e o código CRC **5F105C2B**.

Referência: Processo nº 23070.003754/2022-15

SEI nº 2820246

ELAINE SOUSA NUNES

Produção de lacases por *Pleurotus ostreatus* e o uso da biorremediação e adsorção para tratamento de poluentes via biomassa residual

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Inovação Farmacêutica da Universidade Federal de Goiás (UFG), como requisito para obtenção do título de Doutora em Inovação Farmacêutica. Área de concentração: Fármacos e medicamentos

Orientador(a): Prof^a. Dr^a. Mariângela Fontes Santiago

Goiânia
2022

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor, através do Programa de Geração Automática do Sistema de Bibliotecas da UFG.

Nunes, Elaine Sousa

Produção de lacases por *pleurotus ostreatus* e o uso da biorremediação e adsorção para tratamento de poluentes via biomassa residual [manuscrito] / Elaine Sousa Nunes. - 2022.

108, CVIII f.: il.

Orientador: Prof. Mariângela Fontes Santiago.

Tese (Doutorado) - Universidade Federal de Goiás, Faculdade Farmácia (FF), Programa de Pós-Graduação em Inovação Farmacêutica, Goiânia, 2022.

Bibliografia. Anexos.

Inclui siglas, fotografias, abreviaturas, símbolos, gráfico, tabelas, lista de figuras, lista de tabelas.

1. Biorremediação. 2. Adsorção. 3. Biomassa Vegetal, Açaí, Abacaxi, Pequi, Mixirica. 4. Bisfenol A, Corante, Vermelho Dimarem, Repelente Icaridina. 5. Biotecnologia. I. Santiago, Mariângela Fontes, orient. II. Título.

CDU 615.1



UNIVERSIDADE FEDERAL DE GOIÁS

FACULDADE DE FARMÁCIA

ATA DE DEFESA DE TESE

Ata Nº **29** da sessão de Defesa de Tese de **Elaine Sousa Nunes** que confere o título de Doutora em **Inovação Farmacêutica**, na área de concentração em **Fármacos e Medicamentos**.

Aos **vinte e quatro dias do mês de fevereiro de dois mil e vinte e dois**, a partir das **08:30 horas**, através de **videoconferência**, realizou-se a sessão pública de Defesa de Tese intitulada **“PRODUÇÃO ENZIMÁTICA DE LACASES POR *Pleurotus ostreatus* E O USO DA BIORREMEDIAÇÃO E ADSORÇÃO PARA O TRATAMENTO DE POLUENTES VIA RESÍDUOS AGROINDUSTRIAIS”**. Os trabalhos foram instalados pela Orientadora, Professora Doutora Mariângela Fontes Santiago (FF/UFG) - cuja participação ocorreu através de videoconferência, com a participação dos demais membros da Banca Examinadora: **Professor Doutor José Realino de Paula (FF/UFG) - cuja participação ocorreu através de videoconferência**, membro titular interno; **Professora Doutora Mariana Cristina de Moraes (Faculdade Estácio Goiás, FESGO) - cuja participação ocorreu através de videoconferência**, membro titular externo; **Professora Doutora Warde Antonieta da Fonseca Zang (IFG - Instituto Federal de Goiás) - cuja participação ocorreu através de videoconferência**, membro titular externo; **Professora Doutora Fabrícia Paula de Faria (ICB/UFG) - cuja participação ocorreu através de videoconferência**, membro titular externo. Durante a arguição os membros da banca fizeram sugestão de alteração do título do **trabalho**. A Banca Examinadora reuniu-se em sessão secreta a fim de concluir o julgamento da Tese tendo sido a candidata **aprovada** pelos seus membros. Proclamados os resultados pela **Professora Doutora Mariângela Fontes Santiago (FF/UFG) - cuja participação ocorreu através de videoconferência**, Presidente da Banca Examinadora, foram encerrados os trabalhos e, para constar, lavrou-se a presente ata que é assinada pelos Membros da Banca Examinadora, aos **vinte e quatro dias do mês de fevereiro de dois mil e vinte e dois**.

TÍTULO SUGERIDO PELA BANCA

PRODUÇÃO DE LACASES POR *Pleurotus ostreatus* E O USO DA BIORREMEDIAÇÃO E ADSORÇÃO PARA TRATAMENTO DE POLUENTES VIA BIOMASSA RESIDUAL



Documento assinado eletronicamente por **Mariângela Fontes Santiago, Professor do Magistério Superior**, em 24/02/2022, às 11:25, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no § 3º do art. 4º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **José Realino De Paula, Professor do Magistério Superior**, em 24/02/2022, às 11:25, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no § 3º do art. 4º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **MARIANA CRISTINA DE MORAIS, Usuário Externo**, em 24/02/2022, às 11:28, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no § 3º do art. 4º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **Fabricia Paula De Faria, Professor do Magistério Superior**, em 24/02/2022, às 11:30, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no § 3º do art. 4º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **Warde Antonieta da Fonseca Zang, Usuário Externo**, em 24/02/2022, às 11:33, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no § 3º do art. 4º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



A autenticidade deste documento pode ser conferida no site https://sei.ufg.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0, informando o código verificador **2716750** e o código CRC **155B7108**.

Referência: Processo nº 23070.003754/2022-15

SEI nº 2716750

Dedico este trabalho

***À Julia Nunes, minha filha que você cresça aprendendo
que o estudo e a educação é o bem mais valioso
do ser humano.***

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus por ter me dando força e coragem para vencer os desafios.

Ao apoio financeiro FAPEG/CAPES.

À Prof. Dr^a. Mariângela Fontes Santiago, pela orientação.

A todos os Mestres, colegas e profissionais dos laboratórios envolvidos durante esses anos de estudo.

A equipe da prof. Dr^a. Fabricia Paula de Faria do Instituto de Ciências Biológicas pelo auxílio na realização dos géis de eletroforese.

A equipe do prof. Dr. Luiz Carlos da Cunha pelo apoio na realização da cromatografia líquida de alta eficiência.

Ao Dr. Edemilson Cardoso da Conceição pela doação da matéria prima açaí.

Ao prof. Dr. José Realino de Paula por sua disposição em ajudar prontamente sempre.

Aos membros das bancas do exame de qualificação e da defesa pela atenção e disponibilidade nas correções.

A toda equipe do laboratório LenziBio, em especial o Thiago por sua contribuição nas análises.

À toda minha família, em especial aos meus irmãos, cunhados André, Ana Marta, Ivana e Casil pela compreensão nessa fase de transformação de vida.

Ao meu marido Anselmo, apoio e parceria.

Aos meus pais Janos e Neila por serem os exemplos da importância do estudo em minha trajetória, por ter proporcionado a oportunidade de seguir esse caminho e chegar até aqui, com amor e incentivo.

À Julia, minha filha linda, completa, amiga, companheira, meu maior amor, meu motivo para seguir...

“Nunca é alto o preço a se pagar pelo
privilegio de pertencer a si mesmo.”

Nietzsche

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	19
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	21
2.1. Contaminantes emergentes.....	21
2.2. Bisfenol A (BPA)	21
2.2.1. Efeitos do BPA na saúde humana e na saúde animal	23
2.2.2. Legislação e padrões quanto ao BPA.....	27
2.3. Icaridina	28
2.4. Indústria e corantes têxteis	32
2.5. Biomassa vegetal.....	34
2.6. Biomassa residual.....	35
2.6.1. Açaí.....	35
2.6.2. Mexerica	36
2.6.3. Abacaxi	37
2.6.4. Pequi.....	38
2.7. Adsorção.....	38
2.8. Microrganismos degradadores de biomassa residual.....	39
2.9. Enzima lacase	40
2.10. <i>Pleurotus</i>	44
3. OBJETIVOS.....	48
3.1. Objetivo geral.....	48
3.2. Objetivo Específico	48
4. MATERIAIS E MÉTODOS	49
4.1. Preparo de solução estoque	49
4.2. Corante têxtil.....	50
4.3. Biomassa Vegetal	50
4.4. Origem e manutenção do fungo	52
4.5. Produção da lacase	52
4.6. Determinação da atividade enzimática	54
4.7. Zimograma.....	55
4.8. Caracterização da Biomassa residual.....	55
4.9. Dosagem de proteínas totais e açúcares redutores.....	56
4.10. Ensaio com Catalase	56

4.11. Biorremediação do BPA e Icaridina	56
4.12. Teste de Adsorção.....	57
4.13. Metodologia analítica para a determinação do corante Drimaren Vermelho CL-5B .	58
4.14. Metodologia analítica para a determinação do BPA e icaridina.....	58
4.14.1. Cromatografia líquida de Alta Eficiência	58
4.14.2. Cromatografia líquida de Ultra Eficiência acoplada à espectrometria de massas em tandem.....	59
4.15. Análise Estatísticas.....	60
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO	61
5.1. Produção da lacase e atividade enzimática.....	61
5.2. Ensaio de proteínas totais e açúcares redutores.....	63
5.3. Zimograma.....	65
5.4. Ensaio de Catalase.....	67
5.5. Caracterização da biomassa vegetal	68
5.6. Biorremediação da icaridina e do BPA	70
5.6.1. Leitura em CLAE.....	70
5.7 Leitura da Cromatografia líquida de Ultra Eficiência acoplada à espectrometria de massas em tandem.....	74
5.8 Análise do corante Drimaren Vermelho CL-5B em UV-Visível	76
5.9 Teste de adsorção	76
6. CONCLUSÕES.....	82
7. REFERÊNCIAS	83
8.0 ANEXOS	100

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Estrutura molecular do BPA.....	21
Figura 2. Estrutura molecular.....	31
Figura 3. Estrutura do <i>Pleurotus ostreatus</i>	46
Figura 4. Secagem das biomassas	51
Figura 5. Moagem em triturador industrial ..	51
Figura 6. Resíduo do açaí	51
Figura 7. Resíduo de mexerica.....	51
Figura 8. Resíduo de abacaxi	51
Figura 9. Resíduo de pequi	51
Figura 10. Fungo <i>P.ostreatus</i> . Visão em planta no 8º dia de crescimento	52
Figura 11. Fungo <i>P. ostreatus</i> . Visão lateralizada no 8º dia de crescimento	52
Figura 12. Meios de cultivo enriquecido com os resíduos	53
Figura 13. Atividade máxima da lacase atingida em diferentes tipos de biomassa residual. Abx, resíduo de abacaxi; AbxS, resíduo de abacaxi sem dextrose; açaí, resíduo de açaí; AçaS, resíduo de açaí sem dextrose; Mex, resíduo de mexerica/tangerina; CP, controle positivo; CN controle negativo.	62
Figura 14. Perfil da atividade enzimática de lacase. A) Atividade enzimática ao longo de 8 dias de cultivo com o meio enriquecido com resíduo de abacaxi. B) Atividade enzimática ao longo de 10 dias de cultivo com o meio enriquecido com resíduo de açaí. c/, com; s/, sem.....	63
Figura 15. Representação gráfica da análise de proteínas totais e açúcares redutores do meio com abacaxi. A) proteínas totais do sobrenadante enriquecido com abacaxi, com e sem dextrose ao longo de 10 dias de cultivo. B) porcentagem de açúcares redutores do sobrenadante enriquecido com abacaxi, com e sem dextrose ao longo de 10 dias de cultivo. c/, com; s/, sem.....	65
Figura 16. Representação gráfica da análise de proteínas totais e açúcares redutores do meio com açaí. A) proteínas totais do sobrenadante enriquecido com açaí, com e sem dextrose ao longo de 10 dias de cultivo. B) porcentagem de açúcares redutores do	

sobrenadante enriquecido com açai, com e sem dextrose ao longo de 10 dias de cultivo. c/, com; s/, sem.....	65
Figura 17. Zimograma dos extratos enzimáticos induzidos com os resíduos. A) enzima induzida com abacaxi e glicose ao longo de 6 dias; B) enzima induzida com abacaxi sem glicose ao longo de 6 dias; C) enzima induzida com açai e glicose ao longo de 10 dias; D) enzima induzida com açai sem glicose ao longo de 10 dias. +, controle positivo.....	67
Figura 18. Atividade enzimática nos extratos brutos enzimáticos induzidos com Açai e Abacaxi, na presença e na ausência de catalase (controle). As barras com diferente número de asteriscos correspondem a grupos diferentes estatisticamente no teste de Tukey, com $p < 0,0001$	68
Figura 19. Concentração de BPA nos meios reacionais, após 2, 4, 6, 8, 10, 12 e 48 horas de reação com o extrato enzimático induzido com abacaxi. A) representação em gráfico de linha xy. B) representação em cromatograma. BPA, BPA; h, hora.....	71
Figura 20. Concentração de BPA nos meios reacionais com o extrato enzimático induzido com açai. A) representação em gráfico de linha xy após 2, 4, 6, 8, 12 e 24 horas de reação. B) representação em cromatograma após 2 e 4 horas de reação. BPA, BPA; h, hora.....	72
Figura 21. Espectro de massa e estrutura dos compostos detectados. A) 4,4'-(propano 2, 2 dieil) difenol. B) 4,4'-(2 hidroxipropano 1,2 diil) difenol. C) 3,3 bis (4-hidroxifenil) butanal. D) 2-(1-(4-hidroxifenil) vinil) pent-2-enal.....	75
Figura 22. Via de degradação proposta para a biorremediação do Bisfenol A pelo caldo enzimático de lacase enriquecido com abacaxi Fonte: Chhaya e Gupte, 2013 (adaptado).....	76
Figura 23. Concentração de icaridina nos meios reacionais, após 2, 5, 10, 20, 30, 40, 50, 60 e 70 minutos da reação de adsorção pelo resíduo de açai.....	77
Figura 24. Concentração de BPA nos meios reacionais, após 2, 5, 10, 20, 50, 60 e 70 minutos da reação de adsorção pelo resíduo de açai. BPA, Bisfenol A.....	78
Figura 25. Concentração do corante nos meios reacionais com a amostra sintética (AS), após 2, 5, 10, 20, 50, 60 e 70 minutos da reação de adsorção pelo resíduo de açai.....	79

LISTA DE TABELAS/QUADRO

Tabela 1. Porcentagem do teor de elementos-traço no resíduo de abacaxi.....	69
Tabela 2. Média dos valores obtidos em CLAE para a biorremediação de icaridina com o caldo enzimático produzido com resíduo de abacaxi.	70
Tabela 3. Média dos valores obtidos em CLAE para a biorremediação de BPA com o caldo enzimático produzido com resíduo de abacaxi.	71
Tabela 4. Média dos valores obtidos em CLAE para a biorremediação de BPA com o caldo enzimático produzido com resíduo de açaí.....	72
Quadro 1. Propriedades Físico-Químicas do BPA.....	23
Quadro 2. Solução para análise de atividade da Lacase.....	54
Quadro 3. Composição das soluções para a biorremediação de BPA e Icaridina.....	57
Quadro 4. Condições cromatográficas para a detecção de icaridina por CLAE.....	58
Quadro 5. Condições cromatográficas para a detecção de BPA por CLAE.....	59
Quadro 6. Média \pm Desvio padrão do teor de elementos-traço e fibras totais no resíduo de açaí.....	69

LISTA DE SIGLAS

AI	Amostra Industrial
ANVISA	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
AS	Amostra Sintética
BPA	Bisfenol A
BPAD	Bisfenol AD
BPAF	Bisfenol AF
BPB	Bisfenol B
BPS	Bisfenol S
CONAMA	Conselho Nacional do Meio Ambiente
Dag	Degacrama
DBO	Demanda bioquímica de oxigênio
DMBPA	Dimetilbisfenol A
DQO	Demanda química de oxigênio
ETA	Estação de tratamento de água
ETE	Estação de tratamento de esgoto
GMC	Grupo Mercado Comum
IE	Interferentes endócrinos
LME	limite de migração específica
OMS	Organização Mundial de Saúde
PMD	p-mentano 3,8-diol
RDC	Resolução da Diretoria Colegiada
TCBPA	Tetraclorobisfenol A
TMBPA	Tetrametilbisfenol A

RESUMO

NUNES, ES. Produção de lacases por *Pleurotus ostreatus* e o uso da biorremediação e adsorção para o tratamento de poluente via biomassa residual

A contaminação de efluentes proveniente de lançamentos domésticos e industriais tem sido comprovada em diversas regiões do planeta. O uso de repelentes cresceu significativamente, assim como, corantes sintéticos, amplamente utilizados na indústria têxtil e o bisfenol A, por ser encontrado em diferentes polímeros comerciais, são comumente encontrados presentes em águas de efluentes e industriais, gerando possíveis efeitos danosos. Os processos convencionais de tratamento de efluentes apresentam baixa eficiência de remoção de químicos e são de alto custo. Tendo isso em vista, o objetivo desse estudo foi o desenvolvimento de metodologias para o tratamento de efluentes contaminados com o princípio ativo de repelentes, icaridina, corante têxtil vermelho Drimaren CL-5B e o bisfenol A (BPA) por meio do emprego do resíduo de açaí como material adsorvente e/ou a biorremediação com a lacase produzida a partir do fungo de decomposição branca *Pleurotus ostreatus* usando como indutor enzimático os resíduos sólidos de açaí, abacaxi, mexerica e pequi. A produção enzimática com os resíduos de açaí e abacaxi obtiveram uma atividade de 1139 U mL^{-1} e 1031 U mL^{-1} respectivamente. A remediação foi eficiente para o BPA, sendo capaz de biorremediar até 100 % do composto, porém foi ineficaz para a icaridina. Entretanto o açaí revelou alta capacidade chegando a adsorver completamente o bisfenol A, mais de 50 % da icaridina e mais de 70 % do corante quando em uma amostra sintética e 40 % em uma amostra industrial. Concluindo, assim que as metodologias empregadas são eficientes para biorremediar ou adsorver Bisfenol A e icaridina utilizando lacase induzida por biomassa residual de vegetal.

Palavras-chave: Açaí, Abacaxi, Mexerica, Pequi, Bisfenol A, Repelente Icaridina, Corante Vermelho Drimaren, Biomassa, Biorremediação, Adsorção, Lacase.

ABSTRACT

NUNES, ES. Enzymatic production of lacases by *Pleurotus ostreatus* and the use of bioremediation and adsorption for the treatment of pollutants via agro-industrial waste. These (Doctorate) - Faculty of Pharmacy, Federal University of Goiás, Goiânia, 2020,

The contaminants of effluents from domestic and industrial releases have been proven in several regions of the planet. The use of repellents has grown significantly, as well as synthetic dyes, because they are widely used in the textile industry and bisphenol A, because it is found in different commercial polymers, are commonly found in pollutants keeping present in waters generating possible harmful effects. Conventional effluent treatment processes have low chemical removal efficiency and are expensive. In view of this, the objective of this study was the of methodologies for the treatment of effluents contaminated with the active ingredient of repellents, icairidina, red textile dye Drimaren CL-5B and bisphenol A (BPA) by using açai residue as adsorbent material and/or bioremediation with the lacase produced from the white decomposition fungus *Pleurotus ostreatus* using as enzymatic inducer the solid residues of acai, pineapple, mexerica and pequi. The enzymatic production with the residues of açai and pineapple obtained an activity of 1139 U_{mL}⁻¹ and 1031 U_{mL}⁻¹ respectively. Remediation was efficient for BPA, being able to bioremediate up to 100% of the compound, but it was ineffective for Icariride. However, açai revealed high adsorptive capacity, reaching to fully adsorb Bisphenol A, more than 50 % of iridin and more than 70 % of the dye when in a synthetic sample and 40 % in an industrial sample, demonstrating a promising methodology. In conclusion, the methodologies employed are efficient to bioremediate or adsorb Bisphenol A and Icaridin using laccase induced by residual plant biomass.

Keywords: Açai berry, Pineapple, Mexerica, Pequi, Bisphenol A, Repellent Picaridin, Dye Red Drimaren, Biomass, Bioremediation, Adsorption.

1. INTRODUÇÃO

Os recursos hídricos são cada vez mais poluídos por fontes antropogênicas, seja elas de origem domiciliar ou industrial, com isso a poluição das águas se tornou uma problemática, tendo em vista, que as técnicas de tratamento convencionais não são eficientes para remover diversos poluentes e são em sua maioria tecnologias de alto custo (DHOTE; INGOLE; CHAVHAN, 2012).

Corantes, compostos presentes em repelentes e desreguladores endócrinos, como o bisfenol A, representam parte desses poluentes que já possuem sua toxicidade comprovada ou representam um risco futuro (LIZAMA et al., 2002).

O bisfenol A (BPA) é um composto químico amplamente utilizado na produção de policarbonato e em vernizes epóxi, usado em polímeros, como garrafas retornáveis. Ele inibe atividade do receptor nuclear de estrógeno e outras atividades endócrinas, interferindo no metabolismo, na função tireoidiana, na diferenciação e função do sistema nervoso central, e desenvolvimento do sistema imune. (ANVISA, 2018; CETESB, 2017).

Já o princípio ativo, icaridina, presente em formulações de repelentes comerciais, são regulados pela ANVISA, como cosméticos. Devido a isso a avaliação não clínica de segurança é menos rigorosa do que para medicamentos e produtos de saúde (PAUMGARTTEN; DELGADO, 2016). Logo, se tem uma inadequação da regulação dos ingredientes ativos de repelentes, como a icaridina, que a princípio não possuía efeitos adversos, mas estudos recentes, como os realizados por Almeida et al. (2018) e Vieira et al. (2018), incitam que isso não é uma verdade absoluta.

Quando se trata de corantes, a indústria têxtil gera um grande volume de efluentes complexos que possuem corantes sintéticos em sua composição e que são despejados comumente de forma inadequada. Após o processo de tingimento cerca de 30% dos corantes não se aderem às fibras do tecido e são descartados na água residuária, dando a esse efluente aspecto colorido, mesmo quando em baixas concentrações, podendo haver o desenvolvimento de eutrofização quando descartado em corpos de água, fora outros efeitos tóxicos (LIZAMA et al., 2002).

Algumas partes dos produtos alimentares não são consumíveis e então se tornam parte do lixo corrente de indústrias. Essa parcela geralmente era queimada ou deixada no

campo para apodrecer, mas isso pode ser potencialmente perigoso para o meio Ambiente e ainda não há um descarte totalmente adequado (RAO; RATHOD, 2019).

Em termos globais, estima-se que rejeitos sólidos atinja a marca de 2,2 bilhões de toneladas por ano no mundo em 2020 (WORLD BANK, 2012). A gestão integrada dos resíduos urbanos biodegradáveis se apresenta como um dos grandes desafios contemporâneos. O uso de resíduos se apresenta como uma solução renovável, que inclui uma ampla variedade de materiais, tendo como exemplo, os restos de frutas e vegetais, a madeira e os resíduos da indústria de celulose e papel.

A indústria produtora de açaí, abacaxi, mexerica e pequi geram grandes quantidade de resíduos após o processamento desses frutos, tendo o acúmulo desses chamados, resíduos agroindustriais. No caso do açaí, por exemplo, somente a polpa, que corresponde a 5 a 15% de sua massa, é consumida no ramo alimentício, gerando um alto volume de resíduo sólido (AMADOR, 2018).

Essas biomassas residuais podem ser utilizadas como adsorventes de poluentes (MO et al., 2018) e como indutores de enzimas ligninolíticas por meio do fungo *Pleurotus ostreatus* (PARK, et al., 2014; WYMAN et al., 2018), podendo-se utilizar dessas enzimas no desenvolvimento de metodologias envolvendo a biorremediação em efluentes (GOLVEIA, et al., 2018).

Diante deste contexto, o presente trabalho teve como objetivo estudar a produção de lacase por *Pleurotus ostreatus* em cultivo submerso utilizando resíduos de açaí, abacaxi, pequi e mexerica no meio de cultivo e o desenvolvimento de uma metodologia de biorremediação e adsorção em efluentes para a descontaminação de icaridina, BPA, e o corante Drimaren Vermelho CL-5B, e identificar os metabólitos formados pela biorremediação do bisfenol A. Com os resultados obtidos propor a possibilidade do reuso e o despejo de uma água não contaminada.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1. Contaminantes emergentes

Com o desenvolvimento desordenado e o constante crescimento industrial e populacional, o número de poluentes gerados por aglomerações urbanas aumentou bastante, acarretando poluição do solo e dos lençóis freáticos (MUDHOO; GARG; WANG, 2012).

A crescente descarga de produtos químicos lançados no ambiente, mesmo em baixíssimas concentrações (μgL^{-1} e ngL^{-1}), são suspeitos de atuarem como interferentes tóxicos (FREITAS, 2018).

Produtos químicos tóxicos utilizados nos diversos setores de atividade antropogênica têm como destino, em caráter residual, o meio ambiente e em função das chuvas, curvas de níveis, lançamento de esgotos clandestinos e tratamento ineficientes (da remoção dos poluentes emergentes são apenas parcialmente removidos) das estações de tratamento de água (ETA) e esgoto (ETE), entre outros. Tudo acaba nas águas superficiais e subterrâneas, (COSTA et al., 2009; TONDERA et al., 2018). Dentre os poluentes emergentes destacam-se os interferentes endócrinos, visto serem compostos que mimetizam os hormônios naturais e ligam-se aos sítios receptores ativando ou bloqueando vias de sinalização celular que desencadeiam a função hormonal, (PALONINI, 2011) e os corantes sintéticos.

2.2. Bisfenol A (BPA)

Os polímeros, segundo os autores Da Silva e colaboradores (2018), são macromoléculas de origem natural ou sintética formados por monômeros que reagem quimicamente, podem ser classificados conforme suas características químicas e origem e aplicados conforme seu comportamento mecânico sendo, neste caso, definidos como: borracha, elastômero, plástico ou fibra, são materiais presentes em nosso cotidiano tendo grande versatilidade e aplicabilidade nos mais diversos segmentos: saúde, alimentação, construção civil, comunicação, na agricultura, a indústria automobilística, entre outros.

O BPA, também denominado 2,2-bis(4-hidroxifenil) propano, é um composto orgânico com dois grupos funcionais fenol. Sua fórmula molecular é $C_{15}H_{16}O_2$, e estrutura molecular pode ser observada na Figura 1 (CHEMSPIDER, 2019).

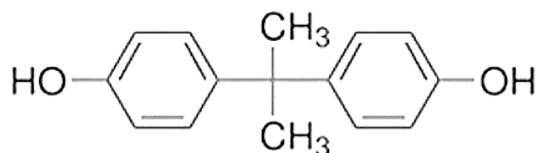


Figura 1. Estrutura Molecular do BPA.

Fonte: ChemSpider, 2019.

Nos dizeres de Billa e colaboradores (2007) o grupo de difenilalcanos é comumente empregado na produção de plásticos e é denominado genericamente de bisfenol. Tendo como fundamental representante desse grupo é o BPA, amplamente utilizado durante os processos industriais como monômero na produção de polímeros, policarbonatos, onde pode ser produzido de duas formas diferentes: o primeiro pela condensação do fenol com acetona em meio ácido, alta temperatura e em presença de catalisadores, posteriormente ele é purificado por destilação, filtração e secagem. Já o segundo método de produção é bastante similar ao primeiro, diferenciando nas tecnologias de catálise e purificação empregada, permitindo maior economia de reagentes (SOUZA, 2018). Matéria-prima industrial presente em vários itens, como: selantes dentários, latas de conserva revestidas internamente com filme de polímero, lentes de óculos, materiais automotivos, mamadeiras, garrafas de água mineral, encanamentos de água de abastecimento, adesivos, CDs e DVDs, impermeabilizantes de papéis, tintas e muitos outros, (SOUZA, 2018; HESS, 2018).

Em condições ambientais, o BPA é sólido de coloração branca, comercializado na forma de cristais, flocos ou pastilhas. As principais propriedades físico-químicas do BPA se encontram no Quadro 1.

Quadro 1. Propriedades Físico-Químicas do BPA

Propriedade	Valor
Massa molar	228,286 gmoL ⁻¹
Fórmula molecular	C ₁₅ H ₁₆ O ₂
Densidade	1,195 gcm ⁻³
Ponto de ebulição	398 °C (760mmHg ⁻¹)
Ponto de fusão	155°C
pKa	9,59 – 11,30
Solubilidade em água	120 - 300 mgL ⁻¹
Pressão de vapor	5,3x10 ⁻⁶ KPa (25°C)

Fonte: ChemSpider, 2019.

Do ponto de vista de Costa (2008) a solubilidade do BPA em água varia de 120 a 300 mgL⁻¹ a 25 °C, e da mesma forma, são citados diferentes valores para a pressão de vapor, densidade e pKa, todavia a maior variação entre os resultados pode ser observada na determinação da pressão de vapor, propriedade esta que classifica o BPA como um composto de baixa volatilidade.

2.2.1. Efeitos do BPA na saúde humana e na saúde animal

O BPA é categorizado como um desregulador endócrino. A preocupação com os Interferentes Endócrinos se justifica em função da elevada e crescente utilização desses compostos, (MARTINI, 2018).

Martín-Pozo et al. (2018) definem os desreguladores endócrinos ambientais como sendo qualquer agente exógeno que interfere com a síntese, secreção, transporte, ação, ligação ou eliminação dos hormônios naturais (HEALY, 2018).

Sales e colaboradores (2017) consideram que os efluentes de ETE são uma fonte de lançamento de substância estrogênica no meio aquático. Contaminando os corpos hídricos superficiais e subterrâneos, os quais podem ser contaminados pela infiltração de

substâncias químicas através do solo, dos praguicidas utilizados na agricultura e pecuária, de excretas de animais, ou através dos efluentes industriais e domésticos pois, essas substâncias não são removidas pelos processos convencionais das estações de tratamento de água (ETA) e de esgoto (ETE).

Foi examinado o comportamento sócio-sexual e exploratório de fêmeas de gerbos da Mongólia (*Meriones unguiculatus*), um roedor monogâmico, em resposta à exposição crônica ao desregulador endócrino estrogênico BPA. A molécula reduziu vários parâmetros exploratórios, indicando uma menor propensão exploratória das fêmeas. Estes resultados destacam a sensibilidade de gerbilos fêmeas adultas ao BPA durante o período hormonalmente sensível de formação de pares, considerando também que as doses de BPA testadas estão bem abaixo da ingestão diária tolerável sugerida para humanos (RAZZOLI et al., 2005).

Estudos do seu mecanismo de ação revelaram que o BPA pode estimular respostas celulares, causando efeitos nas células pituitárias, pancreáticas e da próstata de camundongos, bem como nas células de câncer de mama humanas, mesmo quando está presente em dosagens muito baixas, da ordem de partes por trilhão (ppt) (ngL^{-1}), atuando sobre receptores estrogênicos associados à membrana celular (WELSHONSE et al., 2006; VOM SAAL et al., 2007).

Embora numerosos estudos *in vitro* e *in vivo* tenham sido publicados sobre os efeitos do BPA em sistemas biológicos, há controvérsias sobre se níveis comuns de exposição podem ter efeitos adversos em humanos. No entanto, a incidência crescente de distúrbios do desenvolvimento é preocupante, e evidências acumuladas indicam que o BPA tem efeitos prejudiciais no desenvolvimento neurológico. Outros análogos de bisfenol, usados como substitutos do BPA, também são suspeitos de terem uma ampla gama de ações biológicas (RUBIN, 2011).

A exposição contínua (por 24 horas) de células de pâncreas a uma solução contendo BPA (10 ppb), também ocasionou a secreção de insulina acima do nível normal (ADACHI et al., 2005). Em estudos realizados com cobaias, foi observado que, após quatro dias, a administração de BPA (10 mg/kg/dia) fez com que ratos adultos desenvolvessem hiperinsulinemia, o que aumenta os riscos de desencadeamento de diabetes mellitus do tipo 2 e hipertensão (ALONSO-MAGDALENA et al., 2006).

Em experimentos realizados com ratos e camundongos, a exposição do feto (durante a gravidez) ao BPA ocasionou a alteração da morfologia de diversos órgãos do animal adulto, como útero e vagina (MARKEY et al., 2005), glândulas mamárias (MARKEY et al., 2001, DURANDO et al., 2007) e próstata (WELSHONS et al., 1999). A administração de BPA a ratas grávidas e seus filhotes recém-nascidos resultou em mudanças no comportamento dos animais expostos quando ficaram adultos e induziu-os à obesidade (FARABOLLINI et al., 1999, VOM SAAL et al., 2005). Dentre os efeitos sobre o comportamento, foi observado que o BPA ocasionou hiperatividade, aumento da agressividade, reação alterada para estímulos de dor ou medo, problemas de aprendizagem e alteração do comportamento sociosexual. Na dose de 30 mg/kg de massa corporal/dia, o BPA ocasionou reversão das diferenças normais de comportamento entre os sexos (NEGISHI et al., 2004; VOM SAAL et al., 2005).

O BPA também causou distúrbios no sistema imunológico de camundongos, podendo desencadear doenças autoimunes como lúpus eritematoso sistêmico, púrpura trombocitopenia idiopática, dermatomiosite e esclerodermia (YURINO et al., 2004; VOM SAAL et al., 2005). Em ensaios de laboratório, os derivados do BPA - TCBPA, BPAF, BPB, DMBPA, TMBPA e BPAD- apresentaram significativa atividade estrogênica frente a células de câncer de mama MCF-7, na ordem de concentração menor do que 1 micromolar. Também foi descrito que esses derivados na faixa de concentração de micromolares, foram capazes de interferir na atividade hormonal da tireoide (KITAMURA et al., 2005).

Em um estudo realizado com seres humanos, nos Estados Unidos, o BPA foi encontrado em 95% das amostras analisadas, em níveis superiores a 0,1 nanogramas de BPA por mililitro de urina (0,1 ppb), levando os pesquisadores a concluir que a frequente detecção do BPA sugere que os habitantes dos Estados Unidos estão amplamente expostos a esta substância (WELSHONS et al., 2006).

O BPA foi encontrado em fluídos corporais de seres humanos, em uma faixa de concentração mil vezes (ppb) maior que a concentração necessária (ppt) para que ocorram os efeitos celulares já descritos, levando estudiosos a concluir que as evidências científicas indicam que já devem estar ocorrendo amplos efeitos biológicos desta substância nos seres humanos (WELSHONS et al., 2006; VOM SAAL et al., 2007).

Particularmente preocupantes são os elevados níveis de BPA detectados no soro do cordão umbilical dos fetos, no soro materno durante a gravidez, e no fluido amniótico fetal, durante o período de maior sensibilidade do feto humano aos efeitos danosos dos interferentes endócrinos. Os níveis aferidos de BPA circulando livre no sangue de adultos ficaram na faixa de 0,2 a 20 ppb (microgramas/L), enquanto que, na placenta, estes valores ultrapassaram 100 ppb (WELSHONS et al., 2006).

Estudos epidemiológicos levaram à comprovação de que há correlação entre a concentração de BPA no sangue, com o desenvolvimento de doenças em seres humanos, como obesidade, síndrome dos ovários policísticos, hiperplasia do endométrio e abortos (HIROI et al., 2004; TAKEUCHI et al., 2004; OGASAWARA et al., 2005).

Em estudo divulgado em 2008, foi encontrada correlação entre os níveis de BPA presente na urina de pessoas adultas (18 a 74 anos de idade), com o desencadeamento de diabetes e mal funcionamento do fígado, entre outros efeitos (LANG et al., 2008). Em estudo publicado em 2014 (TARAPORE et al., 2014) foi descrito que homens jovens com diagnóstico histopatológico de câncer de próstata apresentavam níveis de BPA no sangue superiores àqueles de jovens saudáveis. Bebês do sexo masculino cujas mães estiveram expostas ao BPA durante a gravidez apresentaram má formação no trato reprodutivo (distância ano-genital menor do que a normal) (MIAO et al., 2011).

Em testes realizados em laboratórios, o BPA foi detectado: na saliva, em quantidades suficientes para estimular a proliferação de células de câncer de mama (MCF-7), uma hora após os pacientes terem sido tratados com selador dentário à base de resina derivada do BPA (OLEA et al., 1996); nos líquidos das latas de conservas de alimentos revestidas por resina contendo BPA, que também estimularam a proliferação das células MCF-7 (BROTONS et al., 1995); em amostras de leite (CASAJUANA; LACORTE, 2004); em galões de policarbonato utilizados como embalagens de água mineral (BILES, 1997); e em mamadeiras de policarbonato, sob condições semelhantes àquelas do uso normal (BREDE et al., 2003).

As alterações sexuais fisiológicas e comportamentais causadas pelos interferentes endócrinos (IE) levantam questões referentes ao tipo de exposição que os seres vivos estão submetidos, visto que exposição crônica em baixa dosagem são potencialmente perigosas (PATISAUL e ADEWALE, 2009). Desta forma, Soto e Sonnenschein (2010) apontam que as evidências científicas dos efeitos desses interferentes sobre a saúde

humana deveriam motivar mudanças nas políticas de saúde pública mundiais, protegendo da exposição, principalmente fetos e pessoas em idade reprodutiva. Além dos efeitos no sistema endócrino dos seres vivos, é atribuído ao IE's a capacidade de dispersão no meio ambiente em função de características como bioacumulação, lipofilicidade e baixa pressão de vapor (BILA et al., 2007).

Raimundo (2007) ao avaliar a presença de fármacos e IE nas águas superficiais da bacia do Rio Atibaia – São Paulo, detectou altas concentrações de bisfenol - A, chegando a concentração de 13.060 ngL^{-1} no Ribeirão Anhumas durante o período de estiagem. A autora considera a influência do aporte de esgoto doméstico como importante contribuinte para esse valor e ressalta a preocupação da presença de IE nas águas da região metropolitana de Campinas, já que tais substâncias estiveram presentes em 94% das amostras coletadas, sendo as mais frequentes, além do BPA, dietilftalato e 17-estradiol.

Bocchini (2011), repórter da Agência Brasil de Comunicação relatou em seu site que a Justiça Federal em São Paulo determinou que a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (Anvisa) regulamente a obrigatoriedade de informação “adequada e ostensiva” sobre a presença da substância BPA nas embalagens de alguns tipos de produtos. O BPA utilizado na fabricação de plásticos torna o produto final mais flexível, transparente e resistente. Em latas, é usado como revestimento interno para proteger a embalagem da ferrugem por meio de resina epóxi. No entanto, o bisfenol usado nesses produtos pode contaminar os alimentos e a água.

2.2.2. Legislação e padrões quanto ao BPA

A maior parte das legislações que tratam de padrões referentes ao BPA não se enquadra em contaminações de matrizes ambientais, como água, solo e ar.

Na legislação brasileira não estão contemplados os padrões para o BPA em água, existindo apenas um valor definido para os derivados fenólicos, o qual está estipulado em $0,5 \text{ mg L}^{-1}$ como a concentração máxima (PEREIRA et al., 2014).

Diversos países proibiram a produção de garrafas e embalagens que contenham BPA, principalmente para lactantes e crianças, devido à sua migração para os alimentos e bebidas. Este composto deve ser substituído por bisfenol S ou outros compostos

semelhantes, porém, estes também não possuem estudos que comprovem a sua segurança à saúde e ao meio ambiente (MICHAŁOWICZ, 2014).

Em 2006, a European Food Safety Authority estipulou o limite de migração específica (LME) de BPA em $0,05 \text{ mg.kg}^{-1}$ por peso corporal por dia. No Canadá, em 2008, foi proibido o uso de BPA na fabricação de mamadeiras, e em 2010, países como a Dinamarca e França também proibiram a fabricação e importação de mamadeiras e outras embalagens de alimentos para crianças de 0 a 3 anos que contenham BPA em sua composição (BERNARDO et al., 2015).

Em 2011, a Comissão Europeia, por meio do Regulamento nº 10/2011 autorizou o uso de BPA em embalagens plásticas para alimentos com um LME de BPA de $0,6 \text{ mgkg}^{-1}$ de alimento, e por meio da Diretiva nº 8/2011 proibiu o uso de policarbonato para a produção de mamadeiras.

No Brasil, a ANVISA, por meio da Resolução RDC nº 17/2008, que corresponde à Resolução GMC do MERCOSUL nº 32/2007, estabeleceu um LME de BPA de $0,6 \text{ mgkg}^{-1}$ de alimento, e por meio da Resolução RDC nº 41/2011 proibiu a produção e importação de mamadeiras que possuam BPA em sua composição. No ano seguinte, a ANVISA publicou a Resolução RDC nº 56/2012, que corresponde à Resolução GMC do MERCOSUL nº 02/2012, a qual manteve o LME de BPA em $0,6 \text{ mgkg}^{-1}$ de alimento, e não autorizou o uso do BPA na fabricação de mamadeiras e artigos similares destinados a alimentação de lactantes (BERNARDO et al., 2015).

2.3. Icaridina

O Brasil é um país de grandes dimensões, cujas características ambientais e climáticas favorecem a sobrevivência e a manutenção de diversas espécies de mosquitos vetores de doenças. (MARCONDES; XIMENES, 2016).

O *Aedes aegypti*, por exemplo, têm grande importância médica por ser vetor do vírus dengue, responsável por diversos surtos recorrentes no país, e da febre amarela em áreas urbanas, na transmissão de vírus como o Zika (ZIKV) e o Chikungunya, os quais foram introduzidos recentemente no território brasileiro e ocasionaram surtos epidêmicos em vários estados brasileiros, principalmente na região Nordeste, durante os anos de 2015 e 2016 (HEUKELBACH et al., 2016).

Dentre as arboviroses supracitadas, a infecção causada pelo ZIKV recebeu grande destaque, no ano de 2015, com repercussões mundiais, ao ser relacionada com o aumento significativo do número de casos de microcefalia no Nordeste do Brasil, especialmente em Pernambuco e na Paraíba (BRITO; CORDEIRO, 2016; FARIA et al., 2017; NUNES et al., 2016; SOARES DE ARAÚJO et al., 2016).

Inúmeras crianças gestadas de mães infectadas pelo ZIKV durante a gravidez apresentaram severas malformações congênitas, as quais comprometeram o seu desenvolvimento cognitivo e motor. A variedade de alterações associadas à infecção por este arbovírus passou a ser denominada de síndrome congênita de Zika (MIRANDA-FILHO et al., 2016).

A rápida expansão desta arbovirose pelo continente americano, entre os anos de 2015 e 2016, causando epidemias em diversos países juntamente com os riscos das malformações congênitas, ganhou notoriedade mundial (PAN AMERICAN HEALTH ORGANIZATION, 2015b; WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2016d) e ampla difusão pela mídia (RIBEIRO et al., 2018; SOUTHWELL et al., 2016).

Tamanha foi a importância desta situação que levou a Organização Mundial de Saúde (OMS) declarar que arbovirose Zika era uma emergência de saúde pública de interesse internacional naquele momento (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2016d).

Nesse contexto, as agências de saúde brasileiras em colaboração com instituições internacionais de saúde buscaram compreender a doença e orientar a população sobre os hábitos e outras medidas de proteção contra os mosquitos (BRASIL, 2017b; PAN AMERICAN HEALTH ORGANIZATION, 2015b).

Entre as medidas de proteção pessoal estavam incluídas: vestimentas que cobrissem a maior extensão corporal possível (por exemplo camisas de mangas longas, calças compridas, meias, sapatos fechados); o uso de mosquiteiros durante o período de repouso; o emprego de telas e redes antimosquitos nas janelas e portas das residências; e a adoção de repelentes tópicos, cuja aprovação de comercialização tivesse sido autorizada pelo órgão de saúde competente da localidade (BRASIL, 2016b; WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2016b).

Os repelentes, apesar de ser considerado seguro e eficaz, se utilizado conforme a recomendação dos fabricantes, merece uma atenção maior por ser uma medida química passível de absorção pela pele e possível contato com o feto (MCGREADY et al., 2001).

O emprego de repelentes tópicos para proteção individual exige cuidados específicos e conhecimento quanto ao produto ideal para cada situação, especialmente quando consideradas as questões de eficácia e de segurança (STEFANI et al., 2009).

No Brasil, são disponibilizados comercialmente três tipos principais de repelentes químicos sintéticos contra mosquitos para uso tópico, cujos princípios ativos são: DEET (dietiltoluamida), icaridina e IR3535 (etil butilacetilaminopropionato). Tais produtos tópicos possuem diversas formas de apresentação comercial como aerossol, gel, loção e spray (STEFANI et al., 2009). Entre os compostos ativos, o repelente à base de DEET é o mais antigo disponibilizado no mercado, desde a sua introdução nos anos 1950, além de ser o mais utilizado pela população humana (ANTWI; SHAMA; PETERSON, 2008).

Apesar de apresentar um histórico de ser seguro para o uso, alguns estudos mostraram que a alta exposição ao DEET, bem como seu uso tópico frequente e prolongado, podem resultar em riscos potenciais para a saúde (QIU; JUN; MCCALL, 1998; ROBBINS; CHERNIACK, 1986; VELTRI et al., 1994).

Robbins; Cherniack (1986) constataram a penetração de grandes quantidades de DEET na circulação sistêmica devido à extensa absorção pela pele. Adicionalmente, já foram relatados casos de convulsões e encefalopatias em crianças (BRIASSOULIS; NARLIOGLOU; HATZIS, 2001; LIPSCOMB; KRAMER; LEIKIN, 1992; MOODY, 1989; OSIMITZ; GROTHAUS, 1995; OSIMITZ; MURPHY, 1997; SUDAKIN; TREVATHAN, 2003).

Por outro lado, os repelentes mais novos como aqueles à base de icaridina, IR3535 e óleo de citronela ainda precisam ser melhor estudados nas populações no que se refere às suas toxicidades decorrentes do uso em altas concentrações (STEFANI et al., 2009).

Outra situação também importante é que não há controle e restrição para a aquisição de repelentes químicos pelos usuários, apesar de haver limites máximos para a concentração dos compostos ativos presentes nestes produtos (ANTWI; SHAMA; PETERSON, 2008).

Os repelentes tópicos são comercializados mundialmente na forma de quatro tipos de componentes ativos sintéticos (DEET, DEPA icaridina e IR3535); um composto natural (PMD) (DEBBOUN; FRANCES; STRICKMAN, 2015); e em menores proporções como alguns tipos de óleos vegetais, a exemplo da citronela (*Cymbopogon nardus*), andiroba (*Carapa guianensis*), eucalipto (*Eucalyptus citriodora*), neen (*Azadirarachta indica*), ou

outros (BROWN; HEBERT, 1997; STEFANI et al., 2009). Dentre os sintéticos, o DEET foi descoberto a partir do rastreamento de vários compostos candidatos; o DEPA como um derivado de uma estrutura química similar ao DEET; e o icaridina e o IR3535 foram desenvolvidos por modelagem molecular. Já o PMD é um composto botânico terpenóide derivado (DEBBOUN; FRANCES; STRICKMAN, 2015). A substância icaridina (picaridina ou KBR 3023) chegou ao mercado europeu em 2001 e aos Estados Unidos no ano de 2005. Este composto ativo apresenta excelente eficácia e atua sobre um espectro de insetos quase tão amplo como o DEET (DEBBOUN; FRANCES; STRICKMAN, 2015). Tamanha a relevância da icaridina que este composto é sugerido como a segunda opção de escolha após o DEET (PATEL et al., 2016).

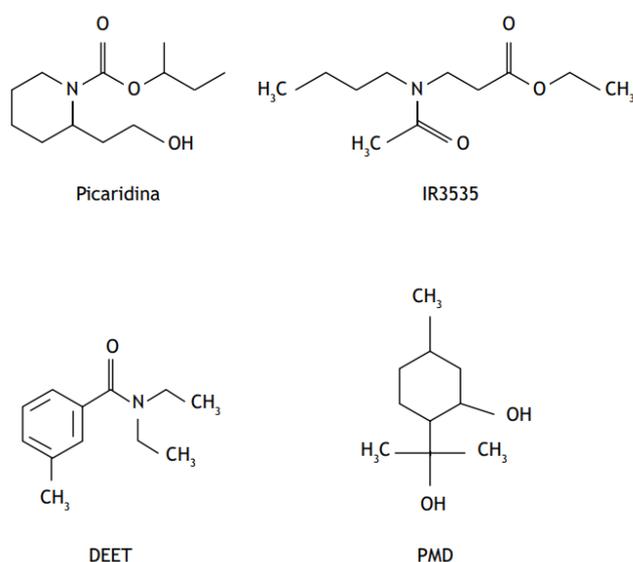


Figura 2. Estrutura molecular dos repelentes Icaridina, IR3535, DEET, PMD.

Fonte: ChemSpider, 2020.

Estudos toxicológicos com animais indicaram que o uso de icaridina é seguro, sendo que doses elevadas do composto, apesar de não resultarem em efeitos adversos ao sistema nervoso de animais, causam danos hepáticos e renais. Há apenas um único registro publicado apontando a alergia de contato como efeito adverso associado ao uso de repelentes à base de icaridina (CORAZZA et al., 2005). As margens de segurança para efeitos tóxicos agudos da *exposição* a repelentes com icaridina são maiores do que para os efeitos crônicos ou sub-crônicos (ANTWI; SHAMA; PETERSON, 2008).

As vantagens da icaridina são segurança, eficácia, odor menos desagradável do que os produtos com DEET, pouca oleosidade e não ter a capacidade de dissolver plásticos. As desvantagens são o alto custo (eles são os compostos ativos mais caros dentre os repelentes), há poucas evidências científicas sobre as experiências com a sua utilização, e são pouco eficazes contra maruins (*Ceratopogonídeos*), carrapatos e mosquitos *Anopheles* (DEBBOUN; FRANCES; STRICKMAN, 2015).

A icaridina foi aprovada recentemente (2001). Mesmo que por diversos estudos já realizados, aparentemente não possua efeitos danosos, devido seus riscos ainda serem pouco elucidados a possibilidade do surgimento de efeitos adversos não são inexistentes. Um exemplo é o estudo realizado por Almeida et al. (2018), onde se observou que a icaridina exerceu atividade tóxica em larvas de salamandra, que são predadores naturais de larvas de mosquitos a quais o composto não afeta, demonstrando que o aparente benefício do repelente pode ser sobreposto pela morte desses predadores aumentando o número de mosquitos adultos. Vieira et al. (2018) por meio do bioensaio com *Allium cepa* também observou alterações clastogênicas e aneugênicas por meio da ação da icaridina.

Como estudos relacionados a toxicidade ainda são bastante escassos. O pioneirismo nessa pesquisa envolvendo o tratamento de contaminações geradas por icaridina, tendo caráter preventivo contra os efeitos adversos que possam vir a surgir.

2.4. Indústria e corantes têxteis

Os corantes, compostos coloridos, adicionados em solução e que se fixam ao material ao qual são aplicados, são utilizados desde a antiguidade pelo homem, inicialmente em pinturas de cavernas e com o passar do tempo passaram a ter utilização para tingimento de roupas e alimentos. Corantes são substâncias coloridas, com capacidade de absorver e emitir radiação no espectro visível (400 a 700 nm), que conferem cor aos materiais aos quais são aplicados (FRANCISCON, 2010).

Atualmente os corantes são aplicados em diversos setores industriais e, portanto, são encontrados em grandes quantidades em efluentes líquidos, apresentando grande potencial poluidor (PIZATO, 2013).

São moléculas aromáticas que apresentam uma estrutura molecular não saturada, sendo solúveis em meio ácido, básico ou neutro. Sua estrutura molecular é bastante

complexa e apresenta uma cinética lenta de degradação, além de serem substâncias recalcitrantes, podendo ter muitas reações intermediárias. Os corantes podem ser classificados de acordo com seu grupo funcional, que depende de um grupo cromóforo (o qual é responsável em dar a cor característica dos corantes), ou através da sua forma de aplicação (ORTIZ-MONSALVE, 2015).

A persistência destes compostos em relação aos tratamentos convencionais existentes e a decomposição incompleta dos resíduos resultam em moléculas complexas com efeitos mutagênicos e prejudiciais aos seres vivos. Contudo, novas práticas para a remoção de corantes vêm chamando atenção (PIZATO, 2013).

O despejo de corantes em água, é um problema em estudo, pois esses materiais apresentam resistência ao tratamento químico e biológico podendo na sua decomposição química, produzir substâncias mais tóxicas que o corante em si (CRINI, 2005).

Mesmo com sua grande utilização, apenas atualmente tem-se dado a devida importância à toxicidade presente em muitos corantes, que possuem, por exemplo, potenciais mutagênicos e carcinogênicos (AGUIAR, 2006). Além destes potenciais danosos os corantes também possuem estruturas de difícil degradação, que produzem muitas reações intermediárias, com diversos subprodutos (PIZATO, 2013).

Estes corantes sintéticos, amplamente utilizados por diversas indústrias, geram grandes problemas no gerenciamento de efluentes, mesmo quando descartados em pequenas concentrações. Isso acontece, pois com a coloração da água, a solubilidade do oxigênio diminui, afetando o ecossistema aquático, além de liberar substâncias nocivas ao ambiente e aos seres vivos (FRANCISCON, 2010).

Todo esse efluente gerado deve ser disposto de maneira correta, a fim de promover a qualidade dos corpos receptores. Para garantir o controle e a disposição final adequada destes efluentes é importante estar de acordo com a legislação vigente. Segundo a Resolução Nº 430/2011 do Conselho Nacional do Meio Ambiente (CONAMA), que “dispõe sobre condições, parâmetros, padrões e diretrizes para gestão do lançamento de efluentes e que somente poderão ser lançados diretamente nos corpos receptores após o devido tratamento”. A Resolução CONAMA 357/2005 determina que “corantes provenientes de fontes antrópicas que não sejam removíveis por processo de coagulação, sedimentação e filtração convencionais devem estar ausentes em efluentes” (TEIXEIRA, 2011; SILVA, 2005).

Um dos maiores exemplos de indústria a se destacar é a indústria têxtil, a qual gera uma quantidade abundante de águas residuárias com grande potencial poluidor, rico em produtos complexos, principalmente corantes. Grande parte destes resíduos é proveniente das impurezas advindas da matéria prima, limpeza de máquinas e caldeiras, produtos utilizados nas etapas de produção e corantes liberados durante as etapas de tingimento e descoloração. A partir destes processos, são desencadeados diversos parâmetros que causam a poluição de efluentes (CERQUEIRA, 2006), tais como altas cargas de demanda química de oxigênio (DQO) e demanda bioquímica de oxigênio (DBO), além de outras substâncias de baixa biodegradabilidade (PIZATO, 2013).

Devido às estruturas altamente estáveis, os corantes sintéticos são dificilmente removidos de efluentes contaminados pelos métodos físico-químicos normalmente utilizados (AGUIAR, 2006). Com isso fez-se necessário estudar outros métodos para a mitigação dessa problemática, como o uso de adsorventes de baixo custo, por exemplo.

2.5. Biomassa vegetal

A biomassa vegetal é toda matéria orgânica renovável de origem biológica que armazena energia solar na forma química podendo ser utilizada para abastecer processos bioenergéticos (NOCERA, 2017).

Os processos industriais utilizam várias matérias primas para a produção de bens de consumo e conseqüentemente acabam produzindo os mais diversos resíduos industriais. As indústrias que trabalham com produtos derivados do consumo de açaí, mexerica e abacaxi normalmente descartam seus resíduos como casca, semente e bagaço (ABDELAZIZ, 2016).

A biomassa vegetal é constituída principalmente por três tipos de constituintes: celulose (30 a 60 %), hemiceluloses (20 a 40 %) e lignina (10 a 25 %), os quais estão unidos por ligações químicas covalentes e não covalentes (KUMAR; GAUTAM; DUTT, 2016).

Constitui uma fonte renovável de energia e de outros produtos químicos, que ainda não estão sendo aproveitados adequadamente, visto que a grande maioria destes resíduos tem sido queimados globalmente (CHEN et al., 2018, CHEN; WAN, 2017, GILLET et al., 2017, SANCHEZ; DEMAIN, 2017, XIE; RAGAUSKAS; YUAN, 2016,

ISIKGOR; BECER, 2015, PICART; DE MARÍA; SCHALLMEY, 2015, TEN; VERMERRIS, 2015, ZAKZESKI et al., 2010, JIA et al., 2010), ocasionando problemas ambientais. Mais da metade do carbono presente na biosfera encontra-se na forma de celulose, e, aproximadamente, 1 trilhão de toneladas são sintetizadas e degradadas a cada ano (MINTY; LIN, 2015).

Estes resíduos formam uma biomassa residual rica em lignina, constituindo uma fonte rica em compostos fenólicos. Esta matriz fenólica possui potencial de ser biotransformada em novos compostos aromáticos, o que abre uma oportunidade para o desenvolvimento de novos compostos de importância médica, alimentícia ou de materiais com benefícios socioeconômicos e ambientais sendo uma alternativa encontrada para a destinação destes resíduos. (BALLESTEROS; TEIXEIRA; MUSSATTO, 2017).

2.6. Biomassa residual

O Crescimento populacional e, conseqüentemente, o aumento pela demanda de alimentos tem impulsionado o setor agroindustrial, o qual representa uma das principais parcelas da economia brasileira. Nesse sentido, estima-se que a agroindústria represente 30% da economia brasileira e envolve grande parte dos setores econômicos em que o Brasil apresenta expressiva competitividade no cenário internacional. Dentre Os diversos setores que compõe o agronegócio brasileiro, destaca-se o da fruticultura devido à grande variedade de culturas produzidas em todo o país (NASCIMENTO, 2006).

Sendo assim, o Brasil tem contribuído significativamente na produção de biomassa residual de vegetal, subprodutos agroindústrias, especialmente de resíduos sólidos. Uma das conseqüências da produção excessiva desses resíduos consiste no descarte inapropriado, ocasionando problemas ambientais e perdas de biomassa e bioenergia.

2.6.1. Açaí

O fruto é proveniente do açaizeiro, sendo utilizado de inúmeras formas com vasta importância econômica, social e cultural centrada na produção de frutos e palmito. A produção de frutos é datada desde a época pré-colombiana, empregada na obtenção da bebida conhecida de “açaí”. O Estado do Pará é o principal produtor de açaí, seguido do

Amapá. O plantio de açazeiro em áreas de terra firme representa excelente alternativa para a recuperação de áreas desmatadas (DE FARIAS NETO et al., 2010).

É principalmente consumido na forma de refresco de consistência pastosa, obtido por extração mecânica (em máquinas despoldadoras) ou manual. Essa bebida é obtida com a adição de água durante o processamento dos frutos, o que facilita, sobremaneira, as operações de despoldamento e filtração. Os valores nutricionais 59,8 g de lipídios, 29,5 g de fibras alimentares totais, 10,7 g de proteínas, para um total de 100 g de massa. O açai é rico em minerais, principalmente potássio e cálcio e, dentre as vitaminas, pode ser destacada a vitamina E, um antioxidante natural que atua na eliminação dos radicais livres (CEDRIM et al., 2018).

Na cidade de Belém, PA, estima-se existam cerca de dez mil pontos de venda de açai, que produzem uma média diária de 200 quilos de resíduos (caroços) cada, com um volume total diário em torno de 1,6 a 2 toneladas, podendo chegar a 750 mil toneladas ao ano. Os caroços de açai são despejados em lixões a céu aberto por carroceiros ou nos canais da capital, causando assoreamento e alagamentos, essa marca cultural gera um enorme problema ambiental, os sacos de caroços poluem calçadas e canais (ALCANTARA et al., 2018).

2.6.2. Mexerica

A mexerica (tangerina) é uma fruta cítrica de coloração acentuado, sabor doce de grande importância comercial. O Brasil produziu mais de 23 milhões de toneladas de mexerica por ano e grande parte é dirigida para a produção de suco, geleias, doces e balas, com um descarte de grande quantidade de cascas para serem levadas aos lixões e aterros sanitários do país (ADUB, NARIN 2009).

No processamento da fruta há a geração de resíduos, subprodutos provenientes do esmagamento dos frutos para a extração do suco. Muitas vezes estes resíduos não são descartados adequadamente e geram inconvenientes para a indústria e a população em geral. Visto isto, é essencial para o setor industrial agregar valor econômico, tecnológico e científico a estes resíduos (SILVA et al., 2012).

Com bastante aceitação no mercado de frutas *in natura*, A mexerica é rica em vitaminas B1 e B2, as quais auxiliam na prevenção de doenças dos nervos, olhos, pele,

cabelos, fígado e boca. Ainda contém grande quantidade de fibras e sais minerais (CEASAES, 2013).

2.6.3. Abacaxi

Dentre as frutas que mais produzem resíduos, destaca-se o abacaxi por conta da posição do Brasil como segundo maior produtor mundial da fruta, conforme dados expostos pela Food and Agriculture Organization of the United Nations em 2013.

O abacaxi consiste em uma espécie oriunda da América Do Sul, sendo a mais relevante, no aspecto econômico, da família *Bromeliaceae*. Pertencente ao gênero *Ananas*, o abacaxi representa uma fruta de regiões tropicais e subtropicais, a qual apresenta características marcante o equilíbrio ente acidez e açúcar tornando-o muito apreciado para consumo *in natura*. O fruto e formado da união de 100 a 200 frutinhas (popularmente denominados de “olhos” ou “escamas”) dispostos no cilindro central, cujo formato pode ser cilíndrico ou cônico (SEBRAE, 2016).

A utilização industrial do abacaxi e direcionada para a produção de fruta em calda, geleias, sucos, licor e vinho. A elaboração desses produtos, por sua vez promove a geração de resíduos devido ao não aproveitamento integral do fruto, sendo esses resíduos considerados fontes alternativas de fibras e minerais (SEBRAE 2016).

O aproveitamento dos resíduos gerados durante o processamento do abacaxi diminui os danos ambientais causado pelo descarte inadequado dos resíduos, além de agregar valor ao material que até então tinha pouco ou nenhum valor econômico (VIGANO 2012).

Uma área promissora e a utilização das cascas de abacaxi no tratamento de efluentes contaminados por corantes sintéticos ou metais pesados Dacera, Barbel e Parkpian (2009) utilizaram cascas de abacaxi para produzir por meio da ação fermentativa do *Aspergillus niger*, um líquido rico em ácido cítrico o qual foi empregado na lixiviação de íons metálicos de cádmio, cobre, cromo, níquel e zinco. Por fim outros exemplos de utilização das cascas de abacaxi consistem na produção de hidrogel (Hu, Hu, Zeng, Zhao & Huang, 2010) e extração de bromelina (Ketnawa, Rawdkuen & Chaiwut, 2010).

2.6.4. Pequi

O pequi é uma das frutas mais importante do bioma cerrado, sendo muito consumido pela população principalmente do Centro-Oeste. O pequi é composto por casca, polpa e sementes, a casca do fruto maduro corresponde aproximadamente cerca de 84% do peso, e grande maioria é descartada como lixo causando impacto ambiental (PEREIRA; SEYE, 2015).

O pequi é um fruto encontrado em regiões tropicais, onde as plantas recebem alta incidência de raios solares, o que favorece a geração de radicais livres. Influenciadas pela alta quantidade de luz e calor, a síntese e atividade de enzimas antioxidantes dessas plantas, tendem a aumentar, a fim de sequestrar radicais livres, além disso, tanto a polpa quanto a amêndoa do pequi são ricas em lipídios. (LIMA et al., 2007).

O pequi possui altas taxas de carboidratos, fibra alimentar e compostos antioxidantes (KHOURI et al, 2007; LIMA et al., 2007; PAULA JR. et al., 2006; ROESLER et al., 2008). Seus teores de proteína também merecem destaque. O seu teor proteico só está abaixo do coco da Bahia (OLIVEIRA et al., 2006; SILVA et al., 1994), sendo um resíduo interessante para o enriquecimento de meio de cultivo.

2.7. Adsorção

Os processos de adsorção e troca iônica são os métodos mais utilizados e com maior eficiência em instalações industriais para o tratamento de efluentes. Entretanto, a aplicação de adsorventes sintéticos em larga escala tem sempre um problema de custos, pois são muito caros e de descarte final oneroso e impactante para o meio ambiente (SOUZA et al. 2012).

O carvão ativo é um dos principais adsorventes utilizados para a remoção de inúmeros compostos orgânicos (NASCIMENTO; OLIVEIRA, 2015). Porém, possui alto custo o que dificulta a sua implementação, principalmente em larga escala.

A procura por novos materiais de origem vegetal, como os resíduos utilizados nesse estudo, são denominados de biossorventes que possuam baixo custo ou adsorvente "low-cust" e está sendo incentivada para o processo adsorativo, sendo conseqüentemente intitulado de biossorção (KANG; KWON; SO, 2016). Os biossorventes

com elevada capacidade de bioadsorção apresentam diversos grupos funcionais presentes em sua área superficial (JAIN; MALIK; YADAY, 2016).

A contaminação química da água a partir de uma ampla gama de poluentes orgânicos e inorgânicos, tais como metais tóxicos, ânions, corantes, entre outros, desencadeou a necessidade de desenvolver tecnologias no intuito de remover esses poluentes encontrados em resíduos líquidos e gasosos (NASCIMENTO, et al., 2014).

A adsorção tornou-se então um dos métodos mais populares para este fim, ganhando importância como um processo de separação e purificação nas últimas décadas. A adsorção tem sido objeto de interesse dos cientistas desde o início do século, apresentando importância tecnológica, biológica, além de aplicações práticas na indústria e na proteção ambiental, tornando-se uma ferramenta útil em vários setores (GURGEL, 2007).

A adsorção é um dos processos mais eficientes de tratamento de águas e águas residuárias, sendo empregada nas indústrias a fim de reduzir dos seus efluentes os níveis de compostos tóxicos ao meio ambiente (MOREIRA, 2008).

2.8. Microrganismos degradadores de biomassa vegetal

Na natureza existem organismos que através de processos enzimáticos podem biodegradar a lignina encontrada na matéria lignocelulósica com o objetivo de obter nutrientes necessários para seu metabolismo como bactérias e principalmente fungos (BUGG et al., 2011).

A degradação da lignina tem sido estudada principalmente em basidiomicetos, classificados como fungos da podridão branca, devido à sua capacidade de degradar a lignina e hemicelulose, deixando apenas um material rico em celulose (que é de onde deriva o nome de podridão branca) e também existem os fungos basidiomicetos classificados como fungos da podridão marrom, que degradam parcialmente a lignina dando preferência aos polissacarídeos presentes na madeira (BRASIL, 2011, BUGG et al., 2011, FERNANDEZ-FUEYO et al., 2012)

Os fungos em geral são considerados eficientes produtores de enzimas degradadoras da lignina. Nestes organismos, três enzimas principais fazem parte de seu

acervo ligninolítico: lacases, manganês peroxidases e lignina peroxidase (SUKUMARAN; ABRAHAM; MATHEW, 2017).

Os fungos são organismos com capacidade para degradação de vários substratos devido ao seu grande acervo de enzimático que atua diretamente na celulose e hemicelulose, ramificações da hemicelulose e nas ligações entre a lignina e a celulose. Tal característica torna esses microrganismos, assim como suas enzimas alvo de estudos, devido a seu grande potencial em aplicações industriais (SWEENEY; XU, 2012).

As oxidases são frequentemente encontradas em microrganismos celulolíticos, em alguns casos em poucas quantidades, porém sua atuação é significativa juntamente com enzimas hidrolíticas participando do sistema oxidativo na degradação da lignocelulose (VANDEN WYMELENBERG et al., 2010). Como grande parte das enzimas oxidativas atuam na degradação de lignina, ela se torna um desafio para a conversão industrial da biomassa, pois ela não apenas aumentaria a acessibilidade da celulose e hemicelulose pelas enzimas, como também diminuiria a inibição enzimática causada por estas moléculas na etapa de hidrólise (JÖNSSON; MARTÍN, 2016).

A lignina peroxidase, manganês peroxidase e lacase são as três enzimas mais importantes nos sistemas enzimáticos ligninolíticos (CHEN; SARKANEN; WANG, 2012, ZÁMOCKÝ; OBINGER, 2010, AGAPITO, 2007). São enzimas extracelulares com alto poder oxidativo, que capturam elétrons das moléculas de lignina, causando uma oxidação direta, já as lacases são multicobre oxidases que oxidam compostos fenólicos da lignina (BEY et al., 2011). Enquanto a lacase oxida diretamente os grupos fenólicos da lignina e indiretamente partes não fenólicas por auxílio de mediadores, a lignina peroxidase e manganês peroxidase oxidam diretamente as partes não fenólicas da lignina sem necessidade do auxílio de mediadores (SWEENEY; XU, 2012).

2.9. Enzima lacase

A lacase tem sido estudada desde o século XIX. Elas foram descobertas pela primeira vez na resina (laca) da árvore japonesa *Toxicodendron vernicifluum* (anteriormente *Rhus venicifera*), de qual o nome lacase foi tirado, mais tarde, foi demonstrado que as enzimas lacase eram amplamente distribuídas na natureza. Assim, a

atividade desta enzima foi determinada em fungos, plantas superiores, bactérias e insetos (DWIVEDI et al., 2011; MESSERSCHMIDT; HUBER, 1990; KUNAMNENI, et al. 2007).

Ela pertence a um grupo de enzimas chamadas polifenóis oxidases que contêm átomos de cobre no seu sítio ativo e são usualmente chamadas de oxidases de multicobre ou oxidases azuis. A lacase possui quatro átomos de cobre, um dos quais é responsável pela sua característica cor azul. Tipicamente, a catálise mediada por lacase ocorre com a redução do oxigênio para a água, acompanhada pela oxidação do substrato. As lacases são, portanto, oxidases que oxidam polifenóis (CANNATELLI; RAGAUSKAS, 2017, SHRADDHA et al., 2011).

A primeira lacase bacteriana encontrada estava presente na *Azospirillum lipoferum* que vive nas raízes de plantas, em seguida as bactérias *Marinomonas mediterrânea*, *Mycobacterium tuberculosis* e *Bacillus sphaericus* também apresentaram esta enzima (GIVAUDAN et al., 1993, CLAUS, 2004).

A maioria das lacases bacterianas estudadas é intracelular, embora também existam lacases bacterianas extracelulares, Entre os fungos, lacases são particularmente abundantes nos fungos da podridão branca que são os únicos organismos capazes de decompor os componentes da madeira em sua totalidade (RODRÍGUEZ-COUTO, 2018; SINGH ARORA; KUMAR SHARMA, 2010).

Os fungos que produzem lacase estão distribuídos nos filos Ascomicetos e Basidiomicetos, sendo particularmente abundantes em fungos de podridão branca e marrom que estão envolvidos no metabolismo de lignina (BRIJWANI; RIGDON; VADLANI, 2010). Como as lacases fúngicas possuem maior potencial redox (+800 mV) em comparação com plantas ou lacases bacterianas, estas estão sendo estudadas em diversas aplicações biotecnológicas, especialmente na degradação da lignina (ROSALES; RODRÍGUEZ COUTO; SANROMÁN, 2007).

As lacases são codificadas por uma família de genes, cuja expressão pode ocorrer de forma constitutiva-normal ao metabolismo- ou indutiva-acentuada quando em condições apropriadas- (KLONOWSKA et al. 2002). Usualmente a enzima origina-se no citoplasma e a ação sobre a lignina depende de sua secreção, entretanto, pouca atenção tem sido dada a tal mecanismo (MAYER; STAPLES 2002).

Vale ressaltar que a produção da lacase por fungos é altamente afetada pelas condições do meio, como nutrientes, pH, temperatura e aeração (KAHRAMAN; GURDAL

2002). Estas enzimas oxidam somente fenóis, aminas aromáticas ou alifáticas com baixo potencial redox menor que elas mesmas ou pequenas o suficiente para entrar em seu sítio ativo (IFEANYI, 2016; ISLAM, 2017; RODRÍGUEZ-COUTO, 2018). Contudo, com a ajuda de mediadores, atuam como aceptores de elétrons entre a lacase e o substrato alvo (BRZONOVA, 2017a; BRZONOVA, 2017b), fazendo com que a lacase possua a capacidade de oxidar um grande número de compostos que não são capazes de entrar em seus sítios ativos, por vezes até mesmo compostos não fenólicos que não são substratos naturais da lacase (D'ACUNZO GALLI A CI, 2002; RODRÍGUEZ-COUTO, 2018).

Tal característica, somada ao fato de que a lacase apenas necessita de oxigênio molecular comoceptor final de elétrons, configura a ela uma capacidade de oxidar uma grande variedade de substratos, contudo são incapazes de oxidar compostos com maior potencial redox, uma vez que a oxidação do substrato depende da diferença entre o potencial redox do substrato e o sítio ativo com átomo de cobre (DOS SANTOS 2019; SINGH ARORA; KUMAR SHARMA, 2010).

Devido à sua generalidade de ação, as lacases fúngicas são estudadas para diversas aplicações biotecnológicas industriais, dentre elas a transformação e degradação de lignina, produção de etanol, modificação de fibras da madeira, processamento alimentício, indústria têxtil, descoloração de corantes, síntese de produtos químicos e medicinais e biorremediação de solos e águas contaminadas (CANNATELLI; RAGAUSKAS, 2017, RAIS; ZIBERK 2017; RINALDI 2016, MAYER; SCHIRMANN 2018).

A atividade de lacases pode ser determinada por espectrofotometria, pelo monitoramento da coloração dos produtos de oxidação (BARBOSA; DEKKER; HARDY, 1996, CHENTHAMARAKSHAN 2017). A maioria dos testes utiliza guaiacol, 2,6-dimetoxifenol, siringaldazina ou o substrato sintético não fenólico ácido 2,2'-azino-bis-(3-etilbenzotiazol-6-sulfônico) -ABTS- (ARO; FATEHI, 2017; KHATTAB; WATANABE, 2019).

Um exemplo do uso da lacase para a síntese orgânica de compostos é o trabalho da Schirmann et al. (2018) que realizou a síntese de três dímeros por acoplamento oxidativo via ligações C-C (dímeros I e II) e C-O (dímero III) a partir de 2,6-dimetoxifenol utilizando-se a lacase produzida pelo fungo *Botryosphaeria rhodina*.

As lacases são capazes de catalisar diversos substratos, entre eles a lignina presente na parede celular das plantas. Sobre a degradação de corantes os autores MA

et al. (2014) conseguiram degradar o corante reativo laranja 16 em um efluente simulado da indústria têxtil, utilizando a lacase extraída de um fungo do gênero *Ganoderma*. Levin et al. (2010) estudaram o efeito de diferentes fontes de nitrogênio e vitaminas na alteração da atividade enzimática e demonstraram como a lacase presente em alguns fungos estudados (*T. trogii*, *T. villosa* e *T. versicolor*) foi capaz de degradar o corante xylidine. Diorio et al. (2008) mostraram como o fungo, *Trametes versicolor*, foi capaz de degradar o corante verde.

A molécula desta enzima é uma glicoproteína que possui em sua estrutura um centro ativo composto de quatro átomos de cobre distribuídos em três diferentes sítios de ligação redox, classificados, segundo suas classes espectroscópicas. A lacase possui um cobre Tipo 1, um cobre Tipo 2 e dois cobres Tipo 3 28; 29; 30. A enzima catalisa a remoção de um elétron e um próton do substrato formando um radical livre. Durante a ação da enzima o elétron transferido para a enzima reduz o cobre Tipo 1 depois ocorre uma transferência interna de elétrons para os cobres dos Tipo 2 e 3 e, então o oxigênio é reduzido à água pela sua interação com os cobres Tipo 2 e 3, durante esse processo ocorre a oxidação de substratos orgânicos (especialmente aromáticos) ou inorgânicos (MOROZOVA et al., 2007).

A utilização de mediadores é interessante pelo fato de que muitas vezes o substrato de interesse não pode ser catalisado pela enzima por não conseguir adentrar em seu sítio ativo devido ao tamanho da molécula de substrato, uma vez que moléculas demasiadamente grandes não alcançam o centro ativo enzimático, ou, ainda, devido a ter um potencial de redução elevado (BETTIN, F. et. al. 2014).

Além da dependência em relação ao potencial da lacase, há também uma dependência em relação à diferença de potencial entre o substrato e a enzima, visto que para moléculas com potencial acima de 1,100 mV, ou seja, potenciais superiores ao da enzima, só podem ser utilizadas mediante o emprego de mediadores, formando sistemas conhecidos como lacase-mediador (CAÑAS, A. I.; CAMARERO, 2010). Estes mediadores são compostos altamente oxidáveis que atuam como substratos intermediários para a enzima, sendo capazes de interagir com moléculas volumosas ou de alto potencial de redução (RIVA 2006).

São conhecidos atualmente muitos mediadores, que podem ser tanto naturais como sintéticos, sendo que ambos atuam da mesma forma na transferência de elétrons

envolvidos nas reações de oxidação e redução. Este grande número de mediadores gera uma ampla variedade de possíveis aplicações para a transformação oxidativa de substratos, como deslignificação e branqueamento de fibras de papel e descoloração de corantes sintéticos (SOARES, 2000).

Com isso tem-se que as lacases realizam três tipos de reações: a oxidação direta de derivados fenólicos simples, a oxidação de substratos fenólicos e não fenólicos em presença de mediadores e o acoplamento de radicais reativos formados pela enzima, sendo importante destacar que estas reações podem ser utilizadas para a degradação ou para a síntese de compostos (POLAK, J.; JAROSZ-WILKOLAZKA, 2012).

Os fungos da podridão branca são considerados os organismos mais importantes na decomposição da lignina (PINKOSKI 1997). Isto acontece, pois estes apresentam conjuntos de enzimas com ação inespecífica em seus organismos, como a lacase, os quais podem decompor diversos compostos persistentes de estrutura complexa, semelhante à da lignina (SOUZA ROSADO 2009). Os tratamentos realizados com estes microrganismos possuem vantagens, como seletividade e eficiência, em relação aos tratamentos convencionais e cada vez mais se tem estudado formas de tratamentos utilizando enzimas fúngicas (FARIA 2010).

2.10. *Pleurotus*

Os fungos são conhecidos popularmente como mofos, bolores e cogumelos. Os Fungos do gênero *Pleurotus* podem ser cultivados em meio sólido ou líquido. O cultivo em meio sólido consiste no preparo da matriz (spawn), caracterizada pelo crescimento micelial por meio de divisão celular, que tem um tempo de duração de 20 a 30 dias. Também é necessário o preparo do substrato, que inclui os processos de pasteurização e semeadura. Eles crescem em uma ampla variedade de resíduos agroindustriais, tais como serragem de madeira (KUNIEDA DE ALONSO et al., 2007), papel (VILLELA et al., 2006), açaí, (GOLVEIA, 2016), pequi, (DE LIMA et al., 2010; GOLVEIA, 2016) palhas de cereais, milho, de cana de açúcar (MORIYA, 2007), resíduo de café, folhas de bananeira (RAMPINELLI et al., 2016), resíduo de agave, polpa de soja, sem a necessidade de uma fermentação prévia do substrato, sendo considerado um fungo degradador primário (BETTIN, 2014).

As células fúngicas agrupam-se em filamentos, podendo ou não apresentar septos entre elas, porém, mesmo quando presentes as funções metabólicas ocorrem sem impedimentos entre as células. Esses filamentos celulares são denominados hifas e o agrupamento intenso de hifas constituem o micélio. É importante salientar que micélios fúngicos nunca constituem tecidos. O crescimento das hifas é apical, porém, existem algumas regiões com extrema capacidade de crescimento, principalmente aquelas relacionadas às funções reprodutivas.

Um diminuto fragmento de hifa pode originar um novo indivíduo. As hifas interagem entre si mesmo quando originadas de micélios ou esporos diferentes e com isso, aumentam a superfície e relações que estabelecem com o ambiente. As células dos fungos não possuem plastídios e nem centríolo. As mitocôndrias são constituídas por cristas planas. Também estão presentes a estrutura de Golgi e os peroxissomos. Possuem parede celular constituída principalmente por quitina e β -glucanos. A membrana celular é constituída por ergosterol, um esteroide característico de fungos, também presente em algumas microalgas. Flagelos podem estar presentes somente nas estruturas de reprodução em alguns grupos.

Após a colonização do substrato pelo micélio e em função da presença de luz, maior aeração e às vezes choque térmico, ocorre a indução dos primórdios frutíferos, que são pequenas saliências de cerca de um milímetro, que em 3 a 4 dias geram os corpos frutíferos que podem ser colhidos. O cultivo sólido vem sendo utilizado para a produção de corpos frutíferos para fins alimentares, para a extração de substâncias terapêuticas e para a bioconversão de resíduos lignocelulósicos de um modo geral. Os resíduos lignocelulósicos são fontes de compostos como a celulose, hemicelulose e lignina, e vêm sendo utilizados como substratos no cultivo de basidiomicetos.

A região nordeste do estado de Santa Catarina produz grande quantidade de resíduos lignocelulósicos durante o cultivo e o processamento da banana, gerando grande quantidade de folhas de bananeira e de cascas de banana. O reaproveitamento destes resíduos como substrato no cultivo de *Pleurotus* contribui para o desenvolvimento de processos sustentáveis, permitindo agregar valor aos resíduos, além de removerem do ambiente material potencialmente poluente. A utilização desses resíduos ainda diminui os custos de produção de enzimas, considerado um dos principais obstáculos para sua produção em escala industrial (MENEZES e BARRETO, 2015).

Em comparação com o cultivo líquido, o cultivo em estado sólido apresenta dificuldades relacionadas, principalmente, ao controle do processo (temperatura, transferência de oxigênio), tempo relativamente longo para produção e contaminações frequentes pela manipulação do substrato. O cultivo em meio líquido é uma alternativa para evitar esses problemas quando pretende-se produzir compostos sintetizados por estes fungos, como enzimas, polissacarídeos, entre outros, pois permite maior controle das condições de cultivo, menor esforço e espaço para o cultivo, menor risco de contaminação, bem como produção de grandes quantidades de micélio num curto período de tempo, obtendo-se produtos de qualidade uniforme (MARQUEZROCHA et al., 1999; ROSADO et al., 2002; CUI e CHISTI, 2003; BETTIN et al., 2011; TINOCO-VALÊNCIA et al., 2014).

O processo de cultivo em meio líquido pode ser conduzido de forma descontínua, semi-contínua e contínua. Na maioria dos processos fermentativos industriais, o processo descontínuo é o mais utilizado. Este processo é constituído de duas etapas principais, o preparo do inóculo e a fermentação. A primeira etapa tem por finalidade preparar o micro-organismo em condições apropriadas, de modo a garantir o desenvolvimento adequado da segunda etapa, a fermentação (BORZANI et al., 2001). O cultivo submerso de fungos filamentosos tem sido empregado industrialmente para a produção de uma grande variedade de metabólitos de importância econômica e social tais como os antibióticos, enzimas, micotoxinas, vitaminas, polissacarídeos com atividade terapêutica, entre outros (CAVAZONI; ADAMI, 1992).

É comercializado para diferentes fins, para a indústria farmacêutica, o desenvolvimento de antibióticos, destacando-se a penicilina sintetizada a partir de metabólitos do fungo *Penicillium chrysogenum* o uso da ação fermentativa de fungos na síntese de álcool etílico e dióxido de carbono, os quais são imprescindíveis na produção de bebidas como vinho e cerveja, alimentos como pães e massas em geral, propiciar sabor e aroma distintos em diferentes tipos de queijos. Processos biotecnológicos como a fermentação de soja, arroz, trigo e outros cereais, como alimento proteico. Cogumelos comestíveis, como é o caso do *P. ostreatus* (Figura 3) comumente conhecido como shimeji que secreta enzimas especializadas que degradam materiais ricos em lignina e celulose capaz de transformar esses compostos em uma fonte de nutrição para o seu desenvolvimento.



Figura 3. Estrutura do *Pleurotus ostreatus*.

Fonte: henosismushrooms.com. acessado em 18/01/2020.

3. OBJETIVOS

3.1. Objetivo geral

Biorremediar e adsorver os poluentes aquáticos bisfenol A, icaridina e corante vermelho utilizando resíduos de biomassa vegetal.

3.2. Objetivo Específico

- Determinar o potencial indutor dos resíduos de açaí, mexerica, abacaxi e pequi para a produção de lacases pelo fungo *Pleurotus ostreatus*;
- Selecionar o extrato enzimático com melhora atividade enzimática e aplicá-lo na biorremediação de bisfenol A e icaridina, avaliando as remoções por cromatografia de alta eficiência;
- Identificar, por espectrometria de massas, os possíveis produtos gerados no processo de biorremediação do BPA;
- Avaliar o potencial do resíduo de açaí como material adsorvente de bisfenol A, icaridina e corante vermelho Drimaren CL-5B em amostra de água sintética e na industrial coletada;

4. MATERIAIS E MÉTODOS

Os experimentos foram realizados no Laboratório de Enzimologia e Materiais Bioativos (LENZIBIO) da Faculdade de Farmácia (FF) da Universidade Federal de Goiás (UFG).

Os equipamentos utilizados foram: estufa (TE-391, Tecnal), Incubadora Refrigerada com agitação (Te-421 Tecnal.), Balança (Celtac FA-210 4N), Autoclave vertical linha av Phoenix AV-30, Peltier SPG 1A-Air cooled single w/ peltier (Thermo Scientific), Espectrofotômetro Genesys 105 Uv-vis (Thermo Scientific), Bomba a Vácuo (Tecnal Te-0581), Capela de fluxo contínuo, BOD-Biochemical Oxygen Demand-TE-391 (Tecnal).

Os materiais utilizados para a produção e crescimento fúngico foram: Meio de cultivo sólido Batata Dextrose Ágar (Potato Dextrose Agar), Meio de cultivo líquido Caldo de Batata Dextrose (Potato Dextrose Broth), 2,5-xilidina (2,5-dimetilanilina 99%, Sigma Aldrich) e os resíduos agroindustriais.

4.1. Preparo de solução estoque

A solução estoque para uso nos ensaios microbiológicos com o BPA, foi feita com o da marca Sigma Aldrich® Lote MKBX9458V referência 239658-50G. A solução foi preparada inicialmente em uma concentração de 100 mgL^{-1} , na qual foram preparadas com a adição de 0,1 g de BPA em 100 mL de acetonitrila sobre agitação para uma diluição inicial e completada com 900 mL de água destilada autoclavada e armazenada em frasco âmbar estéril em temperatura ambiente, constituindo a solução mãe.

A solução para os ensaios com a icaridina adquirida da marca Sigma Aldrich® Lote JVED8346A referência 867432-12L, foi preparada inicialmente na concentração de 50 mgL^{-1} em 500 mL água destilada autoclavada e armazenada em frasco âmbar estéril em temperatura ambiente, constituindo a solução mãe da icaridina.

As concentrações posteriores foram diluídas a partir das soluções mães.

Para a leitura da atividade enzimática foi utilizada a siringaldazina 1 mmol/L da marca Sigma Aldrich® Lote S44162-279 Referência 177539-1G em álcool absoluto e foram armazenadas em frascos âmbar na geladeira à 4 °C no escuro.

As soluções de BPA e icaridina foram submetidas ao teste de recuperação do analito pela análise cromatográfica da modalidade Cromatografia Líquida de Alta Eficiência – CLAE com o objetivo de verificar as concentrações dos mesmos, bem como esclarecer sobre seu processo de degradação e sobre os procedimentos analíticos que envolveram os ensaios. As soluções estoque e a solução com a concentração do ensaio foram também testadas em conjunto.

4.2. Corante têxtil

Para a análise de adsorção de corantes, foi utilizado o corante Drimaren vermelho CL-5B, comumente utilizado para a pigmentação de roupas. A amostra foi coleada em uma empresa de vestuário, localizada em Goiânia-GO, com coordenadas 16°40'37.7"S 49°13'41.9"W, na qual é feita a confecção, tingimento e lavagem de peças jeans. Foi cedido a água residual pós-lavagem de jeans tingidos com o corante Drimaren vermelho CL-5B, a água pré-lavagem pra constituir o branco da amostra, assim como o corante puro. Foram utilizados recipientes estéreis para a coleta do conteúdo da lavagem, denominado aqui como amostra industrial (AI) e do corante que foi posteriormente diluído em água destilada a uma concentração de 50 mgL⁻¹ denominada como amostra sintética (AS).

4.3. Biomassa Vegetal

A Biomassa vegetal de escolha para a indução natural foram os resíduos de açaí (*Euterpe oleracea*), abacaxi (*Ananas comosus*), tangerina/mexerica (*Citrus deliciosa*) e Pequi (*Caryocar brasiliense*).

- a) Açaí - O material foi obtido a partir da doação de pequenos produtores de polpa de suco, em Belém, Pará.
- b) Abacaxi - O material foi adquirido em feira livre na região de Goiânia-GO.
- c) Mexerica - O material foi obtido em feira livre na região de Goiânia-GO.
- d) Pequi - O material foi obtido em feira livre na região de Goiânia-GO.

As biomassas foram dispostas em prateleiras de uma estufa de ar forçado, disponível no Laboratório de Produtos Naturais da Faculdade de Farmácia-UFG, em que foram forradas com papel kraft conforme a Figura 4, e colocadas à temperatura de 30 °C por 72 h, com o objetivo de retirar toda a umidade presente em sua composição. Com as fibras secas, foram trituradas com o uso de um liquidificador industrial (Figura 5). A granulometria foi padronizada para 60 mesh por meio de tamis. O resíduo seco e triturado (Figura 6,7,8 e 9) foi armazenado em dessecador com sílica à temperatura ambiente para evitar umidade.



Figura 4. Secagem das Biomassas em estufa à 30°C *



Figura 5. Moagem em triturador industrial *



Figura 6. Resíduo do Açai *



Figura 7. Resíduo de Mexerica*



Figura 8. Resíduo de Abacaxi *



Figura 9. Resíduo de Pequi *

* As imagens fazem parte do acervo pessoal do pesquisador.

4.4. Origem e manutenção do fungo

O fungo utilizado no estudo é o do filo Basidiomycota causador de decomposição branca do gênero *P. ostreatus* CCIBT - 2347, mantido na coleção de cultura existente no Laboratório de Enzimologia da Faculdade de Farmácia – Lenzibio - UFG.

A linhagem de *P. ostreatus* foi obtida junto à Fundação André Tosello em Campinas-SP. O fungo foi mantido em meio BDA (Batata Dextrose Ágar), no escuro, à 28 °C, armazenados a 4 °C e repicados mensalmente para a manutenção das culturas.

O meio de cultura utilizado para repique do fungo foi o BDA (Batata Dextrose Ágar). Foram utilizados 5,0 g de dextrose, 3,750 g de ágar, 50 mL do caldo batata e água destilada quantidade suficiente para 250 mL. O caldo da batata foi obtido a partir do cozimento de 1 kg de batata em 1 litro de água mineral (Não foi filtrado e utilizado todo o conteúdo). Procedeu-se a autoclavagem do meio a 1 atm 120 °C por 20 min e em seguida distribuído cerca de 20 mL nas placas de Petri (10 cm de diâmetro). Depois da solidificação do meio, foi adicionado 5 mm de diâmetro do fungo. A placa com o fungo foi incubada e em estufa DBO a 28 °C em torno de 8° dias até a completa colonização do meio (Figuras 10 e 11).



Figura 10. Fungo *P.ostreatus*. Visão em planta no 8° dia de crescimento. (acervo pessoal)



Figura 11. Fungo *P. ostreatus*. Visão lateralizada no 8° dia de crescimento. (acervo pessoal)

4.5. Produção da lacase

Com o objetivo de induzir a produção de lacase pelo fungo *Pleurotus ostreatus*, o mesmo foi cultivado na presença de 1% do resíduo vegetal, assim como em outros trabalhos realizados por Golveia (2016) e Brissac et al. (2018).

Para a produção, quantidades iguais de cada resíduo vegetal (1 % p/v) foram acrescentadas em erlenmeyers de 250 mL contendo 120 mL do meio de cultura CBD (Caldo de Batata Dextrose 0,5 %). Procedeu-se à autoclavagem a 1 atm, 120 °C, por 20 minutos. Foram inoculados 10 discos de 6 mm, retirados do fungo crescido em meio sólido, sendo mantidos incubados à temperatura de 28 °C (Figura 12).

Foram feitos controles negativos (microrganismo crescido na ausência da biomassa residual e meios sem a presença do microrganismo) e controles positivos (microrganismo crescido na presença de indutor sintético). Para os controles positivos, seguiu-se a metodologia de Garcia (2006), no qual o fungo foi crescido em meio de cultura acrescido com 0,0005% de $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ (sulfato de cobre) e $0,4 \text{ mmolL}^{-1}$ de 2,5-xilidina (conhecidos indutores de lacase).



Figura 12. Meios de cultivo enriquecido com os resíduos (acervo pessoal do pesquisador).

Com a hipótese de que o resíduo já possuísse fonte de carboidrato suficiente para a produção enzimática em sua própria composição, outro grupo foi desenvolvido com o meio de cultura sem a presença de dextrose.

Todos os grupos foram realizados em triplicata com os erlenmeyers mantidos sob agitação de 150 rpm, até que fosse observado o pico da produção enzimática ou sua queda.

4.6. Determinação da atividade enzimática

Uma Unidade Internacional (UI) de atividade enzimática considera a definição tradicional de um μmol de produto produzido por minuto de reação. Para a determinação das atividades enzimáticas utilizou-se um espectrofotômetro. A atividade da lacase foi determinada a cada 24 horas. Utilizou-se a siringaldazina como substrato. A metodologia utilizada para determinação da enzima lacase foi a descrita por Szklarz et al. (1989 - modificado).

Foram utilizados 10 μL de extrato bruto, 890 μL de tampão acetato de sódio 50 molL^{-1} (pH 5,0) e 100 μL de siringaldazina. A reação iniciou-se pela adição da siringaldazina e foi acompanhada a cada minuto por 5 minutos a 525 nm em espectrofotômetro à temperatura ambiente como mostra o quadro 2.

O branco constitui-se de 10 μL do extrato bruto e 990 μL do tampão acetato de sódio 50 molL^{-1} pH 5,0, sem adição de siringaldazina. A atividade enzimática foi determinada em triplicata.

Quadro 2. Solução para análise de atividade da Lacase

SOLUÇÃO	VOLUME (μL)
Tampão fosfato 50 mmL^{-1}	890
Solução siringaldazina	100
Caldo enzimático	10

Para determinação do cálculo de atividade enzimática foi utilizada a equação representada logo abaixo descrita por Leonowicz e Grzywnowicz (1981) com modificações:

$$U = 10^6 x \frac{I}{\epsilon x R x t}$$

Na qual:

Abs = Absorbância no comprimento de onda específico (nm);

ϵ = Coeficiente de extinção molar para cada substrato ($\text{Lmol}^{-1}\text{cm}^{-1}$);

R = Quantidade de extrato bruto (mL);

t = Tempo de reação (min).

Sendo o Coeficiente de extinção molar em 525 nm = $65000 \text{ molL}^{-1}\text{cm}^{-1}$. Uma unidade U é definida como a quantidade de enzima necessária para oxidar $1 \mu\text{molL}^{-1}$ de substrato por minuto.

O resultado é expresso em UmL^{-1} .

4.7. Zimograma

Para realizar a análise da atividade enzimática da lacase em gel se utilizou o gel de poliacrilamida 12 %. No preparo das amostras antes da adição nos poços um volume de 900 μL da amostra enzimática foi precipitada na presença de 100 μL de TCA 100 % em seguida foi homogeneizada e incubada em banho de gelo e água por 1 hora. Após a amostra foi submetida a centrifugação a 10.000 g a 4 °C por 15 min. O sedimento resultante da centrifugação foi lavado duas vezes com 500 μL de acetona gelada, sendo repetida a centrifugação nas mesmas condições citadas anteriormente. O sedimento resultante foi ressuspensionado em 15 μL de tampão de amostra (200 mM de Tris-HCl, pH 6,8; 4,0 % de SDS; 0,1 % de azul de bromofenol; 20 % de glicerol e 4,0% de β -mercaptoetanol) e adicionado aos poços do gel logo em seguida. A corrida foi realizada num sistema de eletroforese, sendo conduzida à temperatura ambiente com voltagem inicial de 90 V durante a corrida no gel concentrador e de 120 V até o final do procedimento.

Após o término da corrida procedeu-se à renaturação da enzima incubando-se o gel em tampão acetato 50 mmolL^{-1} nos pHs 4, 5 e 6, por 45 minutos (15 minutos em cada pH). O gel foi então corado com solução de ABTS $0,5 \text{ mmolL}^{-1}$ em tampão acetato 50 mM pH 5 por 5 minutos (GONÇALVES e STEINER, 1996, modificado).

O controle positivo foi representado por uma enzima que possuía atividade enzimática, tendo sua atividade quantificada com siringaldazina no mesmo dia da realização do experimento.

4.8. Caracterização da Biomassa residual

Com objetivo de avaliar a presença de metais e outros elementos-traço, os resíduos vegetais que levaram à produção de elevados níveis de lacase foram estudados com base na literatura ou analisados no laboratório da unidade Aparecida de Goiânia de FURNAS (Divisão de Tecnologia de Engenharia Civil), utilizando o Espectrômetro de

Fluorescência de Raios-X, Marca Thermo, modelo ARL Perform'x, seguindo metodologia dos parâmetros fundamentais quantitativos, definido pelo fabricante Thermo, para a quantificação do teor dos elementos em amostras gerais.

4.9. Dosagem de proteínas totais e açúcares redutores

Os teores de proteínas nas amostras foram determinados a cada 24 horas, de acordo com o método colorimétrico descrito por Bradford (1976) Amostras de 100 µL foram misturadas a 1 mL da solução de Bradford. Após 15 minutos de incubação à temperatura ambiente, a absorbância foi lida em espectrofotômetro, a 595 nm. Os ensaios foram feitos em triplicata.

A quantidade de açúcares redutores do meio líquido foi determinada a cada 24 horas, com o reagente DNS (ácido dinitrossalicílico) utilizando o método colorimétrico descrito por Miller (1959). A mistura reacional foi 50 µL de amostra e 1 mL do reagente DNS. A mistura foi fervida por 5 minutos e posteriormente adicionados 4 mL de água destilada. A absorbância foi lida a 545 nm.

4.10. Ensaio com Catalase

Seguiu-se a metodologia desenvolvida por Mayer e Staples (2002). Foram adicionados 5 µL extrato bruto enzimático com 50 µL de catalase (5U) por 30 minutos, na presença de 845 µL de tampão. A atividade enzimática residual foi determinada, tendo como substrato a siringaldazina. Os ensaios foram realizados em triplicata.

4.11. Biorremediação do BPA e Icaridina

A biorremediação foi realizada adicionando um volume referente a 500 U de atividade enzimática do extrato bruto induzido com um dos resíduos separadamente a frascos erlenmeyer de 150 mL, contendo 5 mL de tampão acetato 50 mmolL⁻¹ pH 5,0 e 5 mL de solução de icaridina (Sigma Chemical Company) 10 mgL⁻¹ (concentração final de 5 mgL⁻¹) ou 5 mL de solução de BPA (Sigma Chemical Company) 2 mgL⁻¹ (concentração final de 1 mgL⁻¹). Os frascos foram colocados sob agitação de 150 rpm a 28 °C. Ao fim de cada tempo foram adicionados 100 µL de solução de NaOH 1 molL⁻¹ para paralisar a

reação. Foram feitos controles contendo somente a enzima e o tampão, para analisar se o caldo enzimático não teria nenhum interferente na leitura dos resultados, outro com a enzima inativada (caldo enzimático foi fervido) para garantir que qualquer biorremediação que pudesse ocorrer, seria devido as lacases e não outro composto do caldo e por último um sem a adição da enzima para garantir que o resto dos compostos da solução fora o caldo enzimático não estaria gerando alguma degradação (Quadro 3).

Todos os grupos foram realizados em triplicata e amostras foram analisadas no tempo 2, 4, 6, 8, 10, 12, 24, 36 e 48 horas (T2, T4, T6, T8, T10, T12, T24, T36 e T48).

Quadro 3. Composição das soluções para a biorremediação de BPA e Icaridina

Soluções	Biorremediação			
	BPA	Icaridina	Controle (-) Enzima Inativa	Controle (-) S/Enzima
Tampão Acetato (50 mmolL ⁻¹)	5 mL	5 mL	5 mL	5 mL
BPA (2 mgL ⁻¹)	5 mL	X	5 mL	5 mL
Icaridina (10 mgL ⁻¹)	X	5 mL	5 mL	5 mL
Extrato Enzimático	500 U	500 U	500 U (inativado)	X

U, unidade de atividade enzimática por mL, S/, sem.

4.12. Teste de Adsorção

O teste de adsorção foi realizado para o BPA, icaridina e as amostras com o corante.

Foi utilizado 5 % (p/v) do resíduo de açaí 60 mesh em 10 mL da solução contendo icaridina 5 mgL⁻¹ ou BPA 1 mgL⁻¹ ou a AI ou a AS em erlenmeyers de 120 mL, submetidos a agitação de 150 rpm em 28 °C.

Todos os grupos foram realizados em triplicata e amostras foram analisadas no tempo 2, 5, 10, 20, 30, 40, 50, 60 e 70 minutos (T2, T5, T10, T20, T30, T40, T50, T60 e T70). O controle negativo consistiu em resíduo com água destilada.

4.13. Metodologia analítica para a determinação do corante Drimaren Vermelho CL-5B

As análises quantitativas de adsorção dos corantes foram realizadas através da espectrofotometria UV-Visível (Genesys 105 Uv-vis, Thermo Scientific). Foi realizado uma varredura do espectro UV-visível com o comprimento de onda entre 350-700 nm para validar a metodologia e analisar qual o melhor comprimento para a análise das amostras.

4.14. Metodologia analítica para a determinação do BPA e icaridina

4.14.1. Cromatografia líquida de Alta Eficiência

As análises quantitativas de degradação ou adsorção do composto foram realizadas no Núcleo de Estudos e Pesquisas Tóxico-Farmacológicas - NEPET da UFG, tendo como base a metodologia validada por Chen et al. (2010) para a icaridina e a validade por Tanaka et al. (2000) para o BPA. Utilizou-se Cromatografia Líquida de Alta Eficiência - CLAE / HPLC (LC-20A; Shimadzu; Série Prominence, Quioto, Japão), com detector Photodiode Array Detector (PDA) SPD-M20A, nas condições expressas no Quadro 4 para icaridina e as do Quadro 5 para BPA.

Quadro 4. Condições cromatográficas para a detecção de icaridina por HPLC

Dados
Coluna: Shimadzu C18 (100 mm x 4,6 mm d.i., 5 µm)
Fase móvel: Metanol: Ácido fórmico 0,2 %: Acetonitrila (55:35:10, v/v)
Fluxo: 1,0 mLmin ⁻¹
Temperatura: 35 °C
Volume de injeção: 50 µL
Comprimento de onda: 210 nm

Fonte: Chen et al. (2010) adaptado

Quadro 5. Condições cromatográficas para a detecção de BPA por HPLC

Dados
Coluna: Shimadzu C18 (100 mm x 4,6 mm d.i., 5 µm)
Fase móvel: Ácido fórmico 0,2%: Acetonitrila (50:50, v/v)
Fluxo: 1,0 mLmin ⁻¹
Temperatura: 35 °C
Volume de injeção: 50 µL
Comprimento de onda: 278 nm

Fonte: Tanaka et al. (2000) adaptado

Antes da injeção das amostras no cromatógrafo, todas em triplicata, realizou-se a centrifugação das mesmas. Através do software do cromatógrafo, as áreas dos picos foram calculadas e determinou-se assim a concentração do BPA e da icaridina nas amostras com base na curva padrão anteriormente estabelecida.

4.14.2. Cromatografia líquida de Ultra Eficiência acoplada à espectrometria de massas em tandem

Utilizou-se para a Cromatografia Líquida de Ultra Eficiência acoplada à espectrometria de massas (UHPLC MS/MS), os equipamentos Cromatógrafo Líquido Ultimate 3000, Thermo Scientific, com coluna Agilent - C18 (4,6 x 100 mm; 3 µm), acoplado ao espectrômetro de Massas de Alta Resolução Q-Exactive, Thermo Scientific, com fonte H-ESI, operando no modo positivo, utilizando voltagem do spray 3,5 kV, gás de bainha 15, gás auxiliar 10, temperatura do capilar 350 °C, temperatura de gás auxiliar 300 °C, tube lens 50 e faixa de massas m/z 90-300; no modo negativo, utilizando voltagem do spray 3,0 kV, gás de bainha 30, gás auxiliar 15, temperatura do capilar 300 °C, temperatura de gás auxiliar 300 °C, tube lens 50 e faixa de massas m/z 90-300.

A análise por CLAE foi realizada com água deionizada (Fase móvel A) e acetonitrila (Fase móvel B) no modo negativo. No modo positivo as análises foram realizadas com água deionizada acidificada com 0,1 % de ácido fórmico (Fase móvel A, v/v) e acetonitrila acidificada com 0,1 % ácido fórmico (Fase móvel B – v/v). A programação isocrática foi realizada com fase móvel nas proporções de 35 % fase móvel A e 65 % de fase móvel B durante 20 minutos com fluxo de 0,4 mL/min, volume injeção 10 µL e temperatura da

coluna 20 °C. A programação gradiente realizada iniciou com 90:10 (A:B %), 100 (B %) em 10 minutos, permanecendo por 5 minutos. O tempo de corrida foi 15 minutos com fluxo de 0,4 mL/min, volume injeção 10 uL e temperatura da coluna 20 °C.

4.15. Análise Estatísticas

Os resultados foram avaliados empregando-se o software GraphPad Prism 6 e Origin 2018. Realizou-se análises de variâncias (ANOVA) e teste de Tukey.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1. Produção da lacase e atividade enzimática

O fungo apresentou inibição de crescimento no caldo enriquecido com o pequi, devido a isso, não se tem dados com esse resíduo. A mexerica não apresentou um bom desempenho como indutor da lacase 300 UmL^{-1} , porem (ANOVA e Tukey, $p < 0,05$) todos os outros grupos com a presença do resíduo, abacaxi 600 UmL^{-1} e açaí 900 UmL^{-1} , tiveram uma produção maior que a do controle negativo 150 UmL^{-1} e melhor ou igual ao controle positivo 750 UmL^{-1} . O comparativo entre as atividades máximas atingidas com cada resíduo e os controles pode ser observado na Figura 13.

Além do mais, os grupos sem a presença de glicose tiveram produção enzimática semelhante ou maior, havendo inibição por substrato (repressão catabólica) ao adicionar mais açúcares no meio (GALHAUP et al., 2002), logo, excluindo a necessidade do uso da mesma, aumentado o valor agregado da metodologia. Isso pode ser melhor visualizado na Figura 14, onde o perfil da atividade da lacase é comparando ao controle negativo a cada 24 horas. Os valores da atividade enzimática atingiram aproximadamente 1031 UmL^{-1} , no 6º dia e 1139 UmL^{-1} , no 10º dia nos meios sem a adição de açúcares quando se utilizou o resíduo de abacaxi e açaí respectivamente.

De acordo com Elisashvili e Kachlishvili (2009) o rendimento enzimático é dependente da espécie e cepa do fungo selecionado, da fonte de carbono e o substrato lignocelulósico. Assim como no presente trabalho, há na literatura o uso de uma variedade de resíduos como substrato para a produção de lacase, que se mostraram eficazes na indução da enzima, tais como palha de trigo (GUPTA; JANA, 2019), resíduo de cupuaçu (GOLVEIA et al., 2018), cascas de arroz e de sementes de girassol (POSTEMSKY et al., 2017), resíduos de damasco e romã (AKPINAR; UREK, 2014), de maçã e laranja (ROSALES; COUTO; SANROMÁN, 2002) entre muitos outros.

Os resíduos agrícolas vêm sendo usado como indutores da lacase por poder atuar como suporte para os microrganismos produtores da enzima ao mesmo tempo que são excelentes substratos podendo conter nutrientes e indutores em sua composição (WANG et al., 2019; Elisashvili; Kachlishvili, 2009).

Fungos de podridão branca têm muito bem estabelecido como um de seus mecanismos a rápida degradação de um dos principais componentes dos resíduos agroindustriais, a lignocelulose, a partir da secreção de enzimas extracelulares, como as peroxidases e lacases (BALDRIAN et al., 2005). Diversos estudos demonstram que a lignina e a celulose estimulam a produção da lacase (WANG et al., 2019). Além da lignocelulose, alguns resíduos podem conter em sua composição outras substâncias que podem contribuir com a produção enzimática, como, açúcares, proteína bruta e íons metálicos (WANG et al., 2019; OSMA; HERREIRA; COUTO, 2006), o que explica os valores encontrados nos caldos complementados com os resíduos.

Alguns resíduos lignocelulósicos podem também conter algumas substâncias indutivas naturais, além da lignina, que podem favorecer ainda mais a produção enzimática, como os flavonóides que fazem parte da composição do açaí e do abacaxi (WANG et al., 2019; CEDRIM et al., 2018; SILVA et al., 2013).

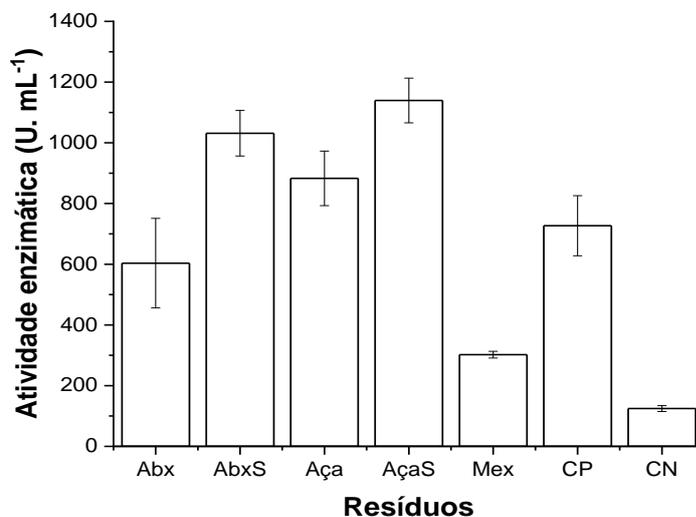


Figura 13. Atividade máxima da lacase atingida em diferentes tipos de biomassa vegetal. Abx, resíduo de abacaxi; AbxS, resíduo de abacaxi sem dextrose; Aça, resíduo de açaí; AçaS, resíduo de açaí sem dextrose; Mex, resíduo de mexerica/tangerina; CP, controle positivo; CN controle negativo.

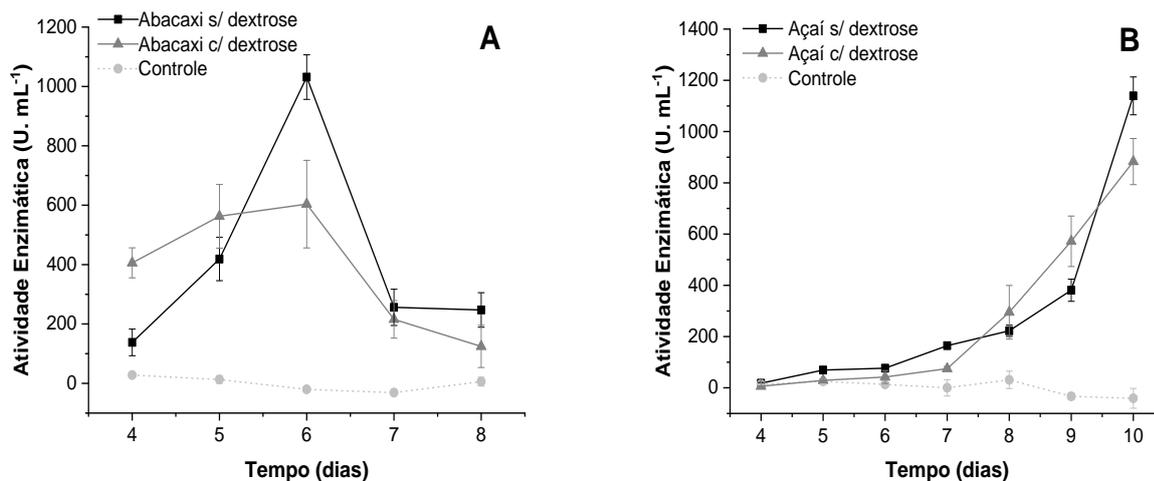


Figura 14. Perfil da atividade enzimática de lacase. A) Atividade enzimática ao longo de 8 dias de cultivo com o meio enriquecido com resíduo de abacaxi. B) Atividade enzimática ao longo de 10 dias de cultivo com o meio enriquecido com resíduo de açai. c/, com; s/, sem.

Logo, os resultados mostram que é viável a produção de lacase sem a adição de indutores sintéticos, mesmo em meio de cultura pobre em nutrientes. Além disso é uma alternativa ecológica e de baixo custo adicionar resíduos lignocelulósicos.

Todos os procedimentos posteriores foram realizados somente com os caldos enzimáticos de açai e abacaxi sem a adição do açúcar, pois se mostraram mais eficazes na indução de grandes quantidades de lacase.

5.2. Ensaio de proteínas totais e açúcares redutores

Quando olhamos para os resultados obtidos com o ensaio de proteínas totais (Figura 15A e Figura 16A), observamos que em todos os casos já haviam concentrações consideráveis de proteínas no início do teste. Isso pode ser explicado devido aos resíduos apresentarem teor de proteínas em sua constituição como demonstra os dados obtidos.

Pode se observar no quadro 6 que o resíduo de açai tem 6,9 g/kg de nitrogênio. Lima et al. (2017) observaram 0,84 g100g⁻¹ de proteína bruta na casca de abacaxi, Santos (2016) também observou um teor de nitrogênio em bagaço de cana e Satiro (2012) em casca de coco verde. Logo, a existência de proteínas na composição do resíduo vegetal impossibilitou o cálculo real de proteínas totais tendo em vista que os valores das proteínas foram superestimados.

Também pode-se observar a queda da porcentagem dos açúcares na análise com o resíduo de abacaxi com o passar do tempo (Figura 15B). É geralmente relatado que a produção de lacase é regulada pela disponibilidade de nutrientes, sendo mais expressada na falta deles, como a da glicose, observando normalmente uma maior atividade quando os níveis de açúcares chegam próximo de zero, como observado no caso em questão, em que no 6º dia, quando se inicia a queda dos açúcares, se tem o pico de atividade enzimática (GALHAUP et al., 2002).

Porém o mesmo não pode ser observado com o resíduo de açaí (Figura 16B), no qual a porcentagem de açúcares se manteve estável ou aumentou. Foi relatado por Giacobbe et al. (2018) que uso da lacase na degradação de lignina de alguns resíduos agroalimentares tornaram disponíveis um alto teor de açúcar.

Neves et al. (2015) encontraram valores de 1,72 mg 100 g⁻¹ e Santos et al. (2008) encontraram valores entre 0,50 e 26,65 mg100 g⁻¹ de glicose na polpa de açaí, levando a hipótese de que o resíduo possui em sua composição alta carga de açúcares, presente em macromoléculas, que vão se tornando disponíveis gradualmente ao meio conforme ocorre a degradação do material pelo fungo, a lacase e outras enzimas, como pectinases (RASHAD et al., 2009) e celulasas (KHALIL et al., 2011).

Mesmo não havendo a queda dos açúcares, os valores se mantiveram em baixas porcentagens, principalmente na amostra do açaí sem dextrose. Em um experimento onde houve a produção de lacase em um biorreator de batelada alimentada (fed-batch), Galhaup et al. (2002) observaram que, quando em concentrações baixas e não repressoras, a glicose pode ser mantida no meio por prazos mais longos, aumentando em até 2 vezes a produção da enzima, o que nos leva a deduzir que as porcentagens de açúcares mantidas nas amostras enriquecidas com o açaí se encontravam nessa faixa não repressora e de certa forma mimetizaram essas condições de um processo descontínuo alimentado devido a possível disponibilidade gradual dos açúcares presentes no resíduo de açaí ao meio, tendo em vista a alta atividade enzimática obtida.

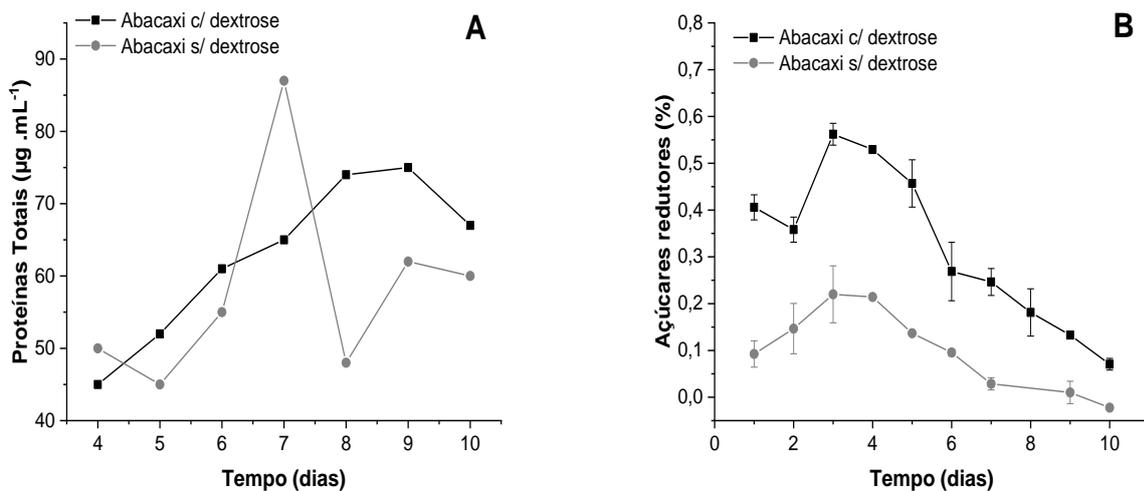


Figura 15. Representação gráfica da análise de proteínas totais e açúcares redutores do meio com abacaxi. A) proteínas totais do sobrenadante enriquecido com abacaxi, com e sem dextrose ao longo de 10 dias de cultivo. B) porcentagem de açúcares redutores do sobrenadante enriquecido com abacaxi, com e sem dextrose ao longo de 10 dias de cultivo. c/, com; s/, sem.

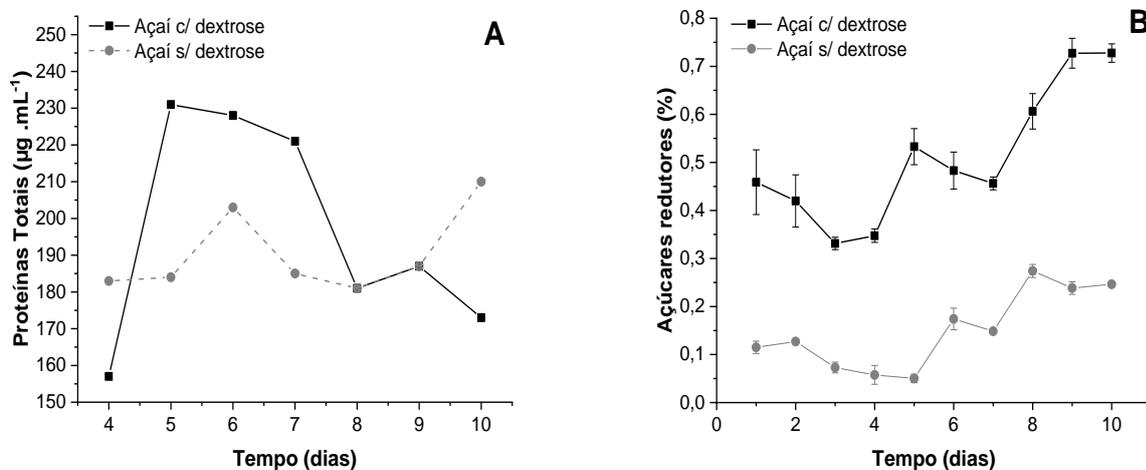


Figura 16. Representação gráfica da análise de proteínas totais e açúcares redutores do meio com açai. A) proteínas totais do sobrenadante enriquecido com açai, com e sem dextrose ao longo de 10 dias de cultivo. B) porcentagem de açúcares redutores do sobrenadante enriquecido com açai, com e sem dextrose ao longo de 10 dias de cultivo. c/, com; s/, sem.

5.3. Zimograma

O zimograma nos permite estimar, em gel, a cinética da produção enzimática em confirmação da atividade anteriormente visualizada (Figura 14) assim, como permite

analisar a existência de isoformas da enzima através da formação de diferentes bandas e a intensidade de suas colorações.

Nos géis é possível observar o mesmo padrão cinético da Figura 14, no qual o caldo enzimático enriquecido com abacaxi, quando com dextrose apresentava atividade desde o 1º dia do experimento (Figura 17A) e sem dextrose começou a ter valores mais significativos de atividade no 3º dia (Figura 17B). Já o caldo enzimático enriquecido com açaí segue o mesmo modelo, onde uma atividade mais expressiva se iniciou em ambos os ensaios (com e sem dextrose) a partir do 8º dia, atingindo o pico no 10º dia onde se tem uma banda mais espessa (Figura 17C e 17D).

Os fungos produtores da lacase, em sua maioria, produzem mais de uma isoforma da enzima. A expressão de diferentes isoenzimas pode ser regulada dependendo das condições impostas no cultivo, a presença de indutores e ao estado fisiológico do microrganismo (PEZZELLA et al., 2009). Até o momento foram identificados em torno de 12 genes da lacase produzida pelo fungo *P. ostreatus* (JIAO et al., 2018).

Nos géis não foi possível identificar a formação de diferentes bandas, sendo um indicativo que a produção nas condições impostas, neste trabalho, induziu a produção de uma única forma da enzima, entretanto, vale ressaltar que a enzima submetida ao experimento não foi previamente purificada. Dessa forma, estudos complementares mais específicos devem ser realizados para confirmação deste dado e a identificação refinada da enzima.

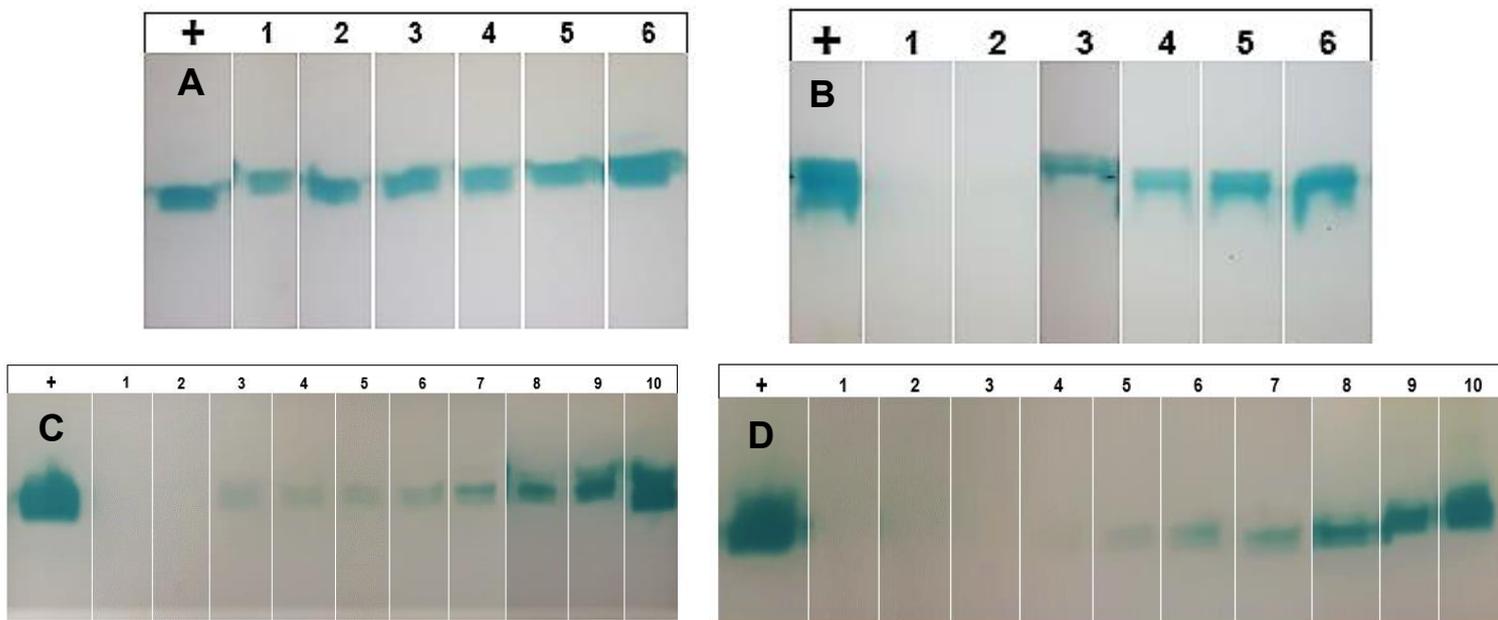


Figura 17. Zimograma dos extratos enzimáticos induzidos com os resíduos. A) enzima induzida com abacaxi e glicose ao longo de 6 dias; B) enzima induzida com abacaxi sem glicose ao longo de 6 dias; C) enzima induzida com açaí e glicose ao longo de 10 dias; D) enzima induzida com açaí sem glicose ao longo de 10 dias. +, controle positivo.

5.4. Ensaio de Catalase

Além da lacase, os fungos de podridão branca podem produzir outras enzimas extracelulares, como o grupo das peroxidases (lignina peroxidase, manganês peroxidase e peroxidase versátil). As peroxidases necessitam do peróxido de hidrogênio (H_2O_2) para catalisar a oxidação, sendo necessário como substrato na reação enzimática (DATTA et al., 2017).

A catalase é uma enzima capaz de decompor o H_2O_2 rapidamente, catalisando-o em água (H_2O) e oxigênio (O_2) (JIA et al., 2017). Com o intuito de não contabilizar a atividade de peroxidases, incubou-se o extrato enzimático com a catalase, logo, toda a atividade posterior identificada com o uso da siringaldazina será devido a oxidação do substrato pela lacase.

Tanto o caldo enzimático enriquecido com açaí, como com abacaxi, não apresentou redução na atividade enzimática após a incubação com catalase, logo, pode-se inferir que o caldo enzimático adquirido nesse estudo é composto exclusivamente pela lacase (Figura 18).

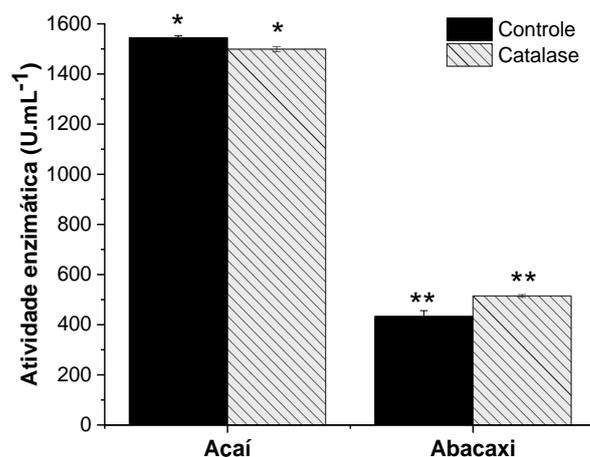


Figura 18. Atividade enzimática nos extratos brutos enzimáticos induzidos com Açai e Abacaxi, na presença e na ausência de catalase (controle). As barras com diferente número de asteriscos correspondem a grupos diferentes estatisticamente no teste de Tukey, com $p < 0,0001$.

5.5. Caracterização da biomassa vegetal

Tendo em vista que o resíduo de açai e do abacaxi foram os melhores indutores, foi feito o estudo aprofundado somente dos mesmos. As informações sobre o resíduo de açai foram encontradas em um trabalho anteriormente realizado por um dos integrantes do laboratório (Quadro 6) e os resultados do resíduo de abacaxi podem ser observados abaixo (Tabela 1).

Ambos os resíduos apresentam uma diversidade de elementos em sua composição. Elementos minerais (fósforo, enxofre, potássio, cálcio, magnésio, ferro e cloro) e elementos traços (manganês, cobre, zinco), como os encontrados nos resíduos, contribuem no desenvolvimento fúngico e podem atuar como co-fatores enzimáticos desempenhando um papel na regulação de atividades enzimáticas extracelulares (JENNINGS, 1988). Baldrian et al. (2005), observaram que metais como chumbo, cobre, zinco e manganês aumentaram a atividade da lacase em *P. ostreatus*, sendo que o último também aumentou a taxa de degradação do resíduo utilizado.

O cobre é essencial na síntese do sítio ativo da enzima lacase. Como pode ser observado, há 7,33 mg/kg de cobre no resíduo de açai. Bassani et al. (2008) encontraram 7 mg/kg de cobre no bagaço de abacaxi. Fabrini et al. (2016) teve um aumento da atividade da lacase em 112 % com *Pycnoporus sanguineus* após a adição de cobre ao

meio de cultivo, sendo esse um dos indutores da lacase mais bem estabelecidos na literatura.

Deste modo, o teor desses elementos analisados pode explicar a elevada produção da enzima, assim como agrega valor aos resíduos como potencial indutor enzimático.

Tabela 1. Porcentagem do teor de elementos-traço no resíduo de abacaxi.

Analito	Resultado (%)	Resultado (mg/g)	Proc-Calc	Line	Net Int.	BG Int.
Cl	48,21	482	Quant.-FP	ClKa	11,50	0,43
Ca	27,46	275	Quant.-FP	CaKa	16,17	0,34
Si	7,80	78	Quant.-FP	SiKa	4,54	0,03
S	5,80	58	Quant.-FP	Ska	6,04	0,14
P	5,01	50	Quant.-FP	Pka	5,35	0,17
Mg	2,41	24	Quant.-FP	MgKa	0,31	0,04
Fe	1,57	16	Quant.-FP	FeKa	1,39	0,48
Mn	0,87	9	Quant.-FP	MnKa	0,54	0,32
Rb	0,67	7	Quant.-FP	RbKa	2,56	6,50
Al	0,21	2	Quant.-FP	AlKa	0,10	0,01

Cl, cloro; Ca, cálcio; Si, silício; S, enxofre; P, fósforo; Mg, magnésio; Fe, ferro; Mn, manganês; Rb, rubídio; Al, alumínio; Net int: intensidade do sinal total, BG int: intensidade do sinal de background, Linha: linha espectral utilizada na análise.

Quadro 6. Média ± Desvio padrão do teor de elementos-traço e fibras totais no resíduo de açaí.

	Açaí
N (g/kg)	6,9±0,173
P (g/kg)	1,91±0,168
K (g/kg)	4,80±0,693
Ca (g/kg)	1,33±0,058
Mg (g/kg)	0,40±0,00
Cu (mg/kg)	7,33±0,5774
Fe (mg/kg)	66,66±8,5049
Mn (mg/kg)	172,6±12,055
Zn (mg/kg)	16,0±8,2146
Fibras (%)	25,18

N, nitrogénio; P, fósforo; K, Potássio; Ca, cálcio; Mg, magnésio; Cu, cobre; Fe, ferro; Mn, manganês; Zn, zinco. Fonte: Golveia (2016) adaptado.

5.6. Biorremediação da icaridina e do BPA

5.6.1. Leitura em CLAE

Os resultados obtidos com o CLAE, para a icaridina, demonstraram que nenhum dos testes, tanto no qual foi utilizado a lacase induzida com açaí como no com abacaxi, foram capazes de biorremediar o composto, seguindo o mesmo modelo da Tabela 2 para todas as análises.

Não houve diferença estatística nas 3 repetições realizadas do ensaio, todas obtiveram o mesmo resultado. Ainda não há na literatura a realização de biorremediação deste composto, sendo esse um dos primeiros trabalhos realizados, levando à hipótese de que a lacase não é capaz de biorremediar a icaridina.

Tabela 2. Média dos valores obtidos em CLAE para a biorremediação de icaridina com o caldo enzimático produzido com resíduo de abacaxi.

	Área (AU)	Conc. \pm DP (mgL ⁻¹)	Remoção (%)
C ₀	84797	5,79 \pm 1,00	-
T ₂	70709	4,87 \pm 0,31	0
T ₄	78207	5,36 \pm 0,22	0
T ₆	84723	5,79 \pm 0,38	0
T ₈	77147	5,29 \pm 0,21	0
T ₁₀	76386	5,24 \pm 0,10	0
T ₁₂	73391	5,04 \pm 0,43	0
T ₂₄	78686	5,39 \pm 0,50	0
T ₃₆	73714	5,06 \pm 0,10	0
T ₄₈	79858	5,47 \pm 0,19	0

C₀, controle sem adição da enzima; T 2 h de reação; T 4 h de reação; T 6 de reação; T 8 h de reação; T 10 h de reação; T 12 h de reação; T 24 h de reação; T 36 h de reação; T 48 h de reação; DP, desvio padrão. Valores estatisticamente semelhantes no teste de Tukey com $p > 0,05$.

Já para os testes realizados com BPA, com o extrato enzimático induzido com o abacaxi, se obteve uma biorremediação de até 100 % entre 10 a 48 horas e em torno de 70 % entre 2 e 4 horas (Tabela 3 e Figura 19).

Tabela 3. Média dos valores obtidos em CLAE para a biorremediação de BPA com o caldo enzimático produzido com resíduo de abacaxi.

	Área (AU)	Conc. \pm DP (mg L ⁻¹)	Remoção (%)
C ₀	44558	1,07 \pm 0,01	–
T2	14850	0,35 \pm 0,04	64,87 ^a
T4	12686	0,30 \pm 0,05	70,00 ^a
T6	14289	0,34 \pm 0,04	66,20 ^a
T8	15154	0,36 \pm 0,03	64,15 ^a
T10	4778	0,11 \pm 0,10	88,70 ^b
T12	4383	0,10 \pm 0,02	89,60 ^b
T48	0	0,00	100,00 ^b

C₀, controle sem adição da enzima; T 2 h de reação; T 4 h de reação; T 6 h de reação; T 8 h de reação; T 10 h de reação; T 12 h de reação; T 48 h de reação; DP, desvio padrão. Os valores com diferentes letras, correspondem a grupos que diferem entre si estatisticamente no teste ANOVA e Tukey, com $p < 0,01$.

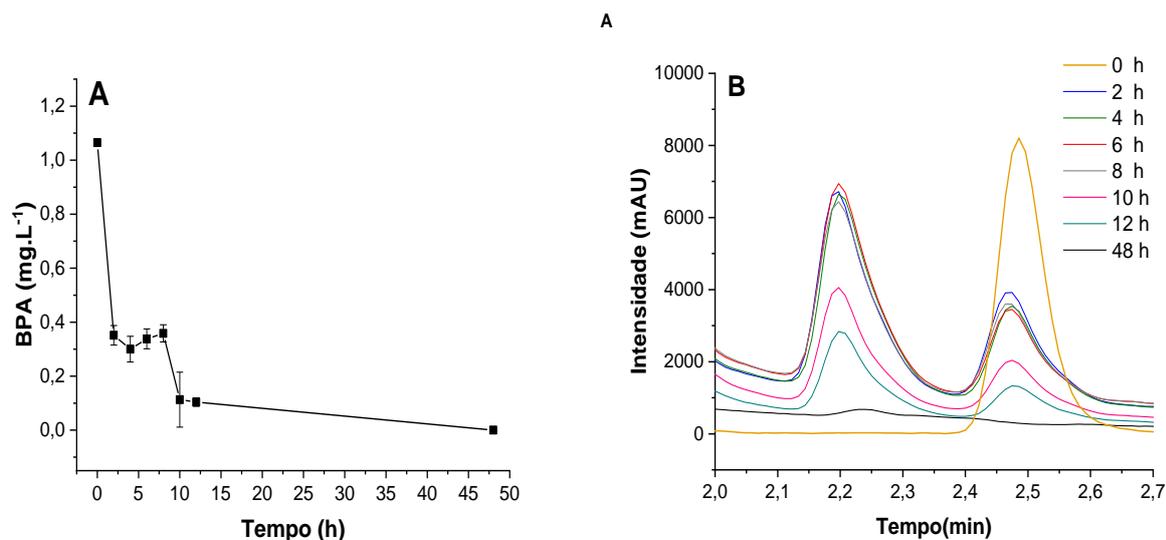


Figura 19. Concentração de BPA nos meios reacionais, após 2,4,6,8,10,12 e 48 de reação com o extrato enzimático induzido com abacaxi. A) representação em gráfico de linha xy. B) representação em cromatograma. BPA, BPA; h, hora.

O ensaio realizado com BPA junto do caldo enzimático feito com o açaí obteve resultados melhores ainda. Foi realizado uma biorremediação de até 100 % já nas primeiras horas analisadas (Tabela 4 e Figura 20).

Tabela 4. Média dos valores obtidos em CLAE para a biorremediação de BPA com o caldo enzimático produzido com resíduo de açaí

	Área (AU)	Conc. \pm DP (mg. L ⁻¹)	Remoção (%)
C ₀	42416	1,01 \pm 0,10	—
T2	8132	0,20 \pm 0,05	80,20
T4	0	0,00 \pm 0,00	100,00
T6	0	0,00 \pm 0,00	100,00
T8	0	0,00 \pm 0,00	100,00
T12	2050	0,06 \pm 0,04	94,06
T24	0	0,00 \pm 0,00	100,00

C₀, controle sem adição da enzima; T 2 h de reação; T 4 h de reação; T 6 h de reação; T 8 h de reação; T 12 h de reação; T 24 h de reação; DP, desvio padrão. Todos os grupos, fora o C₀, são estatisticamente semelhantes de acordo com o teste Tukey, com $p > 0,01$.

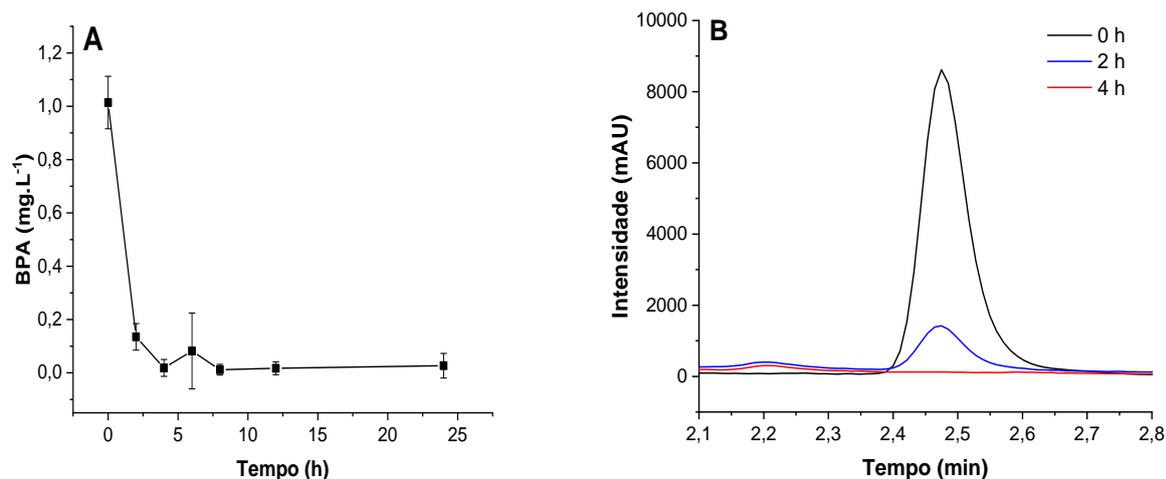


Figura 20. Concentração de BPA nos meios reacionais com o extrato enzimático induzido com açaí. A) representação em gráfico de linha xy após 2,4,6,8,12 e 24 horas de reação. B) representação em cromatograma após 2 e 4 horas de reação. BPA, BPA; h, hora.

Mesmo que a concentração utilizada no experimento seja relativamente baixa, o experimento ainda se encontra em concentrações relativamente superiores as condições reais encontradas em ambientes contaminados, podendo ser encontradas no máximo em concentrações de aproximadamente 150 $\mu\text{g.L}^{-1}$ (BRUGNAR et al., 2018).

Após o tempo máximo de cada experimento não houve redução na quantidade de BPA nos controles que continham apenas o composto e tampão (C₀), logo, sabe-se que não ocorreu a degradação espontânea da molécula.

Hongyan et al. (2019) constataram a degradação completa de 5 e 10 mg/L do mesmo composto após 24 horas com a lacase de *T. versicolor* com mesmo volume reacional do nosso trabalho, 10 mL.

Olajuyigbe, Adetuyi, Fatokun (2019) e Brugnari et al. (2018) observaram, respectivamente, a degradação de 48,2 % de 100 µM BPA com a lacase de *Cyberlindnera fabianni* após 24 horas de reação e quase a degradação total de 100 mg/L com a lacase de *P. ostreatus* em 60 minutos. Ambos também relataram que a enzima na forma imobilizada, apresentaram taxas semelhantes de degradação da enzima livre mesmo que ligeiramente mais eficiente, porém por períodos experimentais mais longos, as enzimas imobilizadas oferecem mais vantagens na estabilidade térmica e de armazenamento da enzima, assim como oferece a possibilidade do reuso da mesma, que chegou a 15 ciclos pelo segundo grupo supramencionado.

A lacase já tem bem definido como um de seus mecanismos a capacidade de catalisar reações de oxidação de compostos fenólicos o que pode explicar a alta degradabilidade do BPA. Como o composto possui em sua molécula duas estruturas fenólicas, pode-se supor que a lacase atua biotransformando ou biodegradando este composto por oxidação de seus anéis aromáticos.

Como exemplificado acima por meio de outros trabalhos, essa enzima tem uma boa perspectiva em relação ao seu uso para o tratamento do BPA, inclusive já se tem relatos do seu uso na forma imobilizada que pode ser um dos próximos passos para a nossa pesquisa, aumentando sua aplicabilidade.

Vale ainda ressaltar, que os procedimentos foram feitos com a utilização do extrato bruto, não da enzima purificada. Dessa maneira não foi necessário o uso de etapas dispendiosas de separação e purificação da enzima e ainda dispensa a adição de mediadores ao meio reacional, uma vez que extrato bruto contém mediadores naturais produzidos pelo fungo (NGUYEN et al., 2016).

Logo, a utilização da lacase produzida pelo fungo *P. ostreatus* apresenta alto potencial de remoção do contaminante emergente BPA. Além de ser um processo mais ecológico e viável, se obteve uma remoção de 100 % do ativo em ambos os ensaios de

tratamento enzimático em curtos prazos de tempo, principalmente no extrato bruto induzido com o resíduo de açaí, sendo um processo que pode contribuir com o tratamento de águas residuais contaminadas com esse composto.

5.7 Leitura da Cromatografia líquida de Ultra Eficiência acoplada à espectrometria de massas em tandem.

Os produtos de degradação da BPA analisados na espectrometria de massa de tandem de cromatografia de alto desempenho (UHPLC MS/MS) foram as amostras referentes ao tempo de reação após 2, 6 e 12 horas foram analisadas. O Cromatógrafo Líquido Ultimate 3000 (Thermo Scientific, San Jose, CA, EUA) foi utilizado com uma coluna Agilent - C18 (4,6 x 100 mm; 3 µm), acoplada ao espectrômetro de alta resolução Q-Exactive, Termóstato Científico, com H-ESI gás auxiliar 15, temperatura capilar 300 °C, temperatura do gás auxiliar 300 °C, lente de tubo 50 e gama de massa m/z 90-300. A análise por UHPLC foi realizada com água desionizada (fase móvel A) e acetonitrilo (fase móvel B). A programação do gradiente começou com 90:10 (A:B %), 100 (B %) em 10 min, permanecendo por 5 min. O tempo de funcionamento foi de 15 min com um fluxo de 0,4 mL/min, volume de injeção 10 µL e temperatura da coluna 20 °C.

Foi identificada a via de degradação proposta por Chhaya e Gupte (2013) figura 22. O nome do composto, a fórmula molecular, o peso molecular detectado, o tempo de retenção e o erro no ppm podem ser vistos na Tabela 4 e no espectro referindo-se às moléculas na Figura 5. Na amostra de 2 horas, já era possível encontrar todas as moléculas. Segundo os autores, a degradação do BPA parte da oxidação do metil ao grupo hidroximetila da porção de propano para formar um difenol de 4,4'-(propano 2,2 dieyl) que é então oxidado para 3,3 o pent-2-enal bis (4-hidroxilfenil) e, finalmente, o pent-4-hidroxyfenil) pent-2-enal é gerado devido à abertura do anel aromático pela clivagem da ligação CC

Tabela 5. Características dos produtos de degradação do BPA.

Compostos	Molecular formula	[M-H] ⁻ (m/z)	^t R (min)	Error (ppm)
4,4'-(propane 2,2 dieyl) difenol	C ₁₅ H ₁₆ O ₂	227.10759	11.26	3.76
4,4'-(2 hydroxy propane 1,2 diyl) diphenol	C ₁₅ H ₁₆ O ₃	243.10275	10.89	4.85
3,3 bis (4-hydroxylphenyl) butanal	C ₁₆ H ₁₆ O ₃	255.10281	12.57	4.74
2-(1-(4-hydroxyphenyl) vinyl) pent-2-enal	C ₁₃ H ₁₄ O ₂	201.09192	6.45	4.55

^tR, retention time

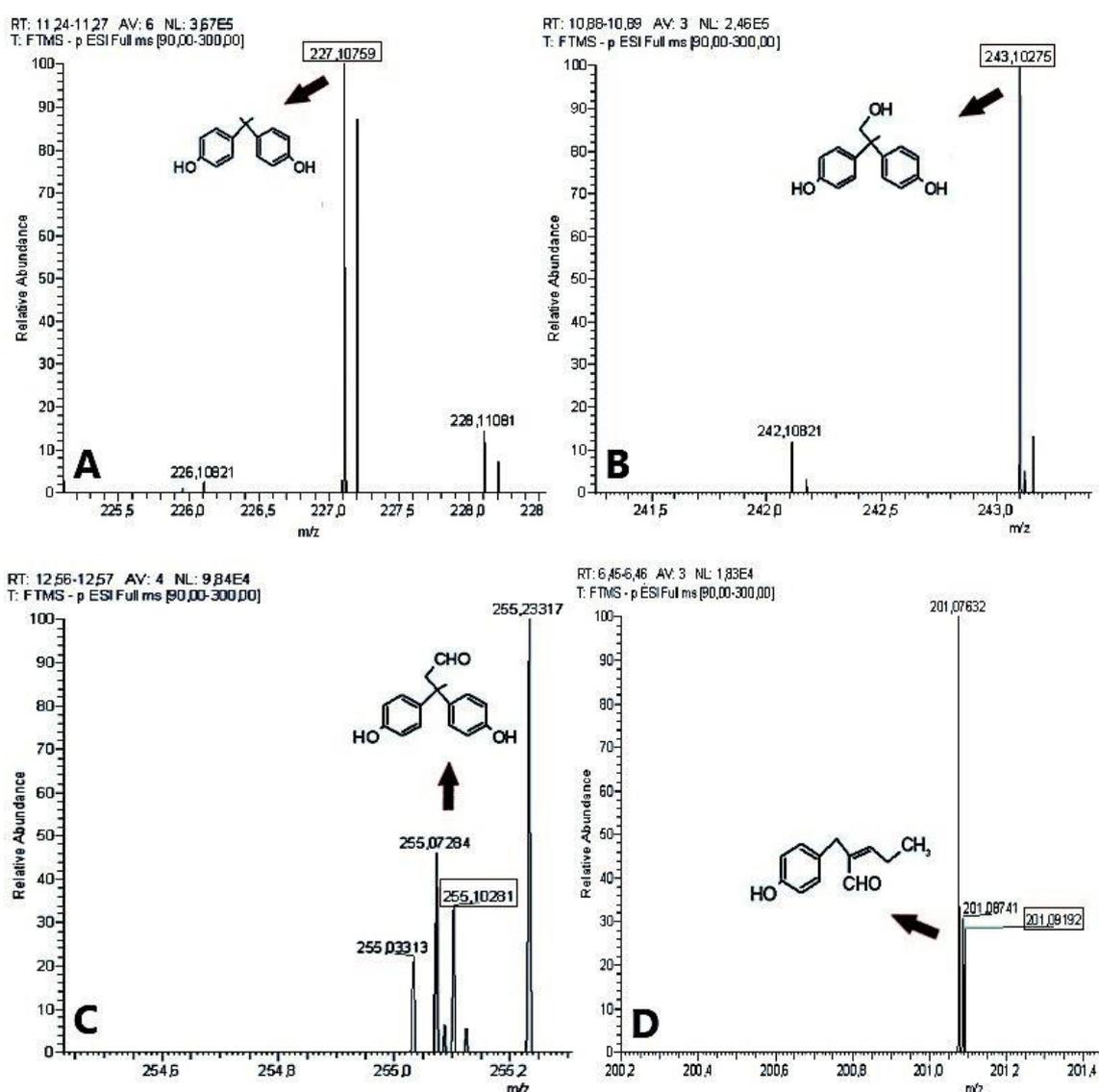


Figura 21. Espectro de massa e estrutura dos compostos detectados. A) 4,4'-(propano 2, 2 dieil) difenol. B) 4,4'-(2 hidroxipropano 1,2 diil) difenol. C) 3,3 bis (4-hidroxifenil) butanal. D) 2-(1-(4-hidroxifenil) vinil) pent-2-enal.

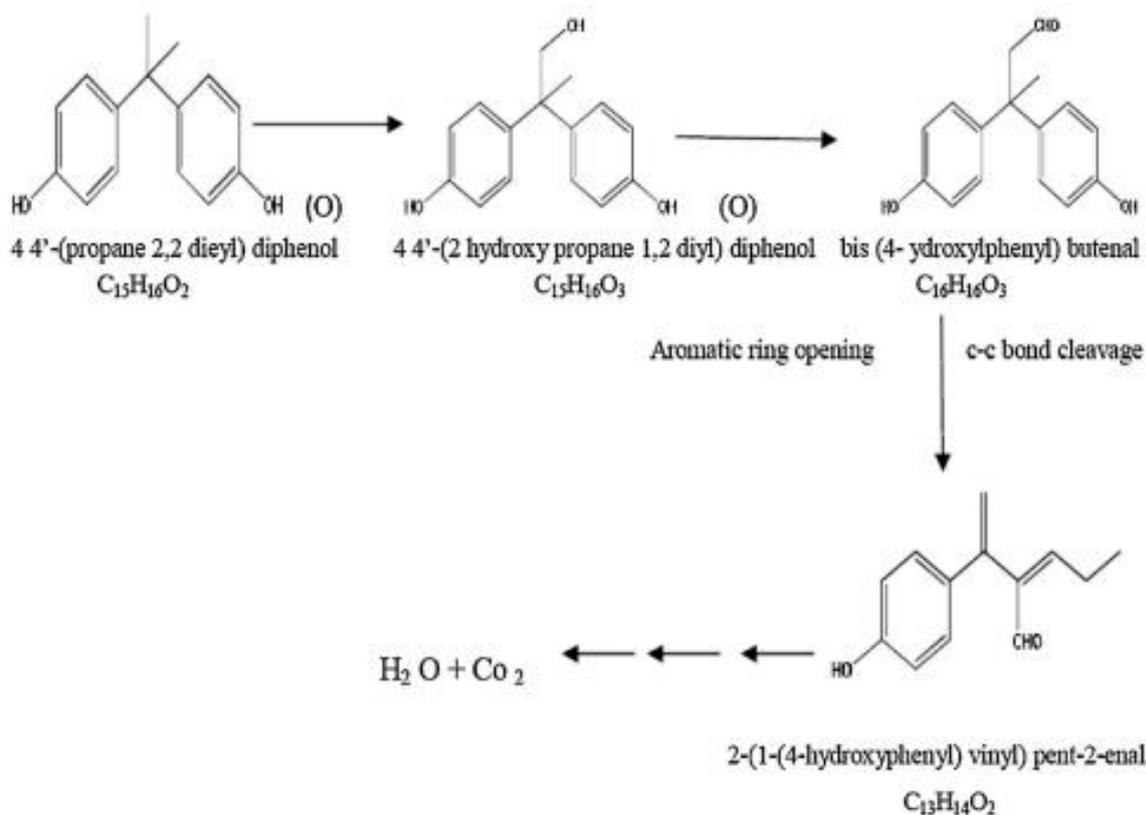


Figura 22. Via de degradação proposta para a biorremediação do Bisfenol A pelo caldo enzimático de lacase enriquecido com abacaxi Fonte: Chhaya e Gupte, 2013 (adaptado).

5.8 Análise do corante Drimaren Vermelho CL-5B em UV-Visível

Observou-se um pico entre 456-590 nm sendo o máximo na faixa entre 530-570 nm, semelhante a outros trabalhos, como o realizado por Cavalcante et al. (2018). O ponto mais alto ficou localizado em 542 nm sendo então, esse o comprimento de onda utilizado para a análise da metodologia de adsorção dos corantes.

5.9 Teste de adsorção

Tendo em vista que o processo enzimático não foi capaz de biorremediar o composto icaridina, foi analisada a capacidade do resíduo de açaí como possível matéria-prima em processo de separação por adsorção. Para tal, foi feito o estudo simplificado da cinética de adsorção do resíduo utilizado, aproveitando tanto para os químicos anteriormente já estudados como também para o corante Drimaren vermelho CL-5B.

O resíduo teve capacidade de exercer mais de 50% de adsorção da icaridina nos primeiros minutos, e manteve a adsorção estável até o final do tempo analisado (Tabela 6 e Figura 23).

Tabela 6. Média dos valores obtidos em CLAE para o ensaio de adsorção de icaridina utilizando do resíduo de açaí

	Área (AU)	Conc. \pm DP (mg. L ⁻¹)	Remoção (%)
T ₂	43927	2,95 \pm 0,10	41,04
T ₅	39491	2,67 \pm 0,39	46,65
T ₁₀	34632	2,36 \pm 0,25	52,79
T ₂₀	41692	2,81 \pm 0,29	43,87
T ₃₀	47785	3,19 \pm 0,51	36,16
T ₄₀	41273	2,78 \pm 0,50	44,39
T ₅₀	41776	2,81 \pm 0,23	43,77
T ₆₀	41677	2,81 \pm 0,15	43,89
T ₇₀	42096	2,83 \pm 0,06	43,36

T 2 min. de reação; T 5 min. de reação; T 10 min. de reação; T 20 min. de reação; T 30 min. de reação; T, 40 min. de reação; T 50 min. de reação; T 60 min. de reação; T 70 min. de reação; DP, desvio padrão. Todos os valores de remoção são estatisticamente semelhantes no teste de ANOVA e Tukey, com $p > 0,001$

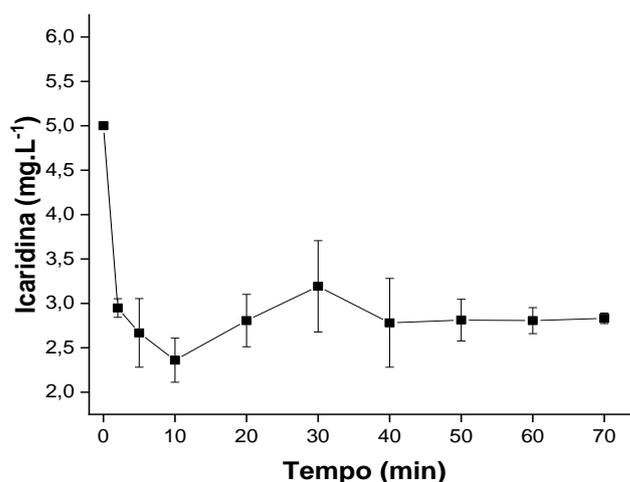


Figura 23. Concentração de icaridina nos meios reacionais, após 2, 5, 10, 20, 30, 40, 50, 60 e 70 minutos da reação de adsorção pelo resíduo de açaí.

Já em relação ao BPA, o resíduo conseguiu adsorver mais de 70 % do BPA nos primeiros minutos, realizando total adsorção do composto em 50 minutos e manteve a adsorção estável até o final do experimento (Tabela 7 e Figura 24).

Tabela 7. Média dos valores obtidos em HPLC para o ensaio de adsorção de BPA utilizando do resíduo de açaí.

	Área (AU)	Conc. \pm DP (mg. L ⁻¹)	Remoção (%)
T ₂	37408	0,91 \pm 0,02	8,90
T ₅	9701	0,26 \pm 0,02	74,00 ^a
T ₁₀	8336	0,23 \pm 0,02	77,20 ^a
T ₂₀	7529	0,21 \pm 0,03	79,10 ^a
T ₅₀	0	0,00 \pm 0,00	100,00 ^b
T ₆₀	0	0,00 \pm 0,00	100,00 ^b
T ₇₀	0	0,00 \pm 0,00	100,00 ^b

T 2 min. de reação; T 5 min. de reação; T 10 min. de reação; T 20 min. de reação; T 50 min. de reação; T 60 min. de reação; T 70 min. de reação; DP, desvio padrão. Os valores com diferentes letras, correspondem a grupos que diferem entre si estatisticamente no teste ANOVA e Tukey, com $p < 0,001$.

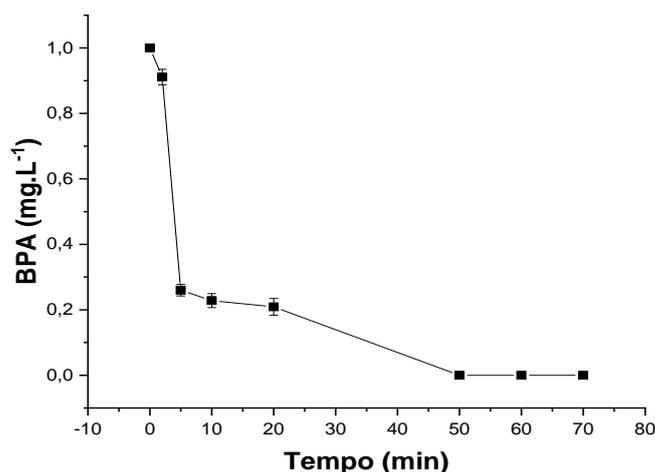


Figura 24. Concentração de BPA nos meios reacionais, após 2, 5, 10, 20, 50, 60 e 70 minutos da reação de adsorção pelo resíduo de açaí. BPA, Bisfenol A.

Quando se trata da adsorção dos corantes, mais de 70 % da AS foi adsorvida (Tabela 8 e Figura 25) e pouco mais de 40 % da AI (Tabela 9 e Figura 26), ambos desde

os 2 minutos do procedimento, mantendo, assim como com BPA e icaridina, a adsorção estável até o final do experimento. Essa queda de adsorção na AI era esperada, tendo em vista que na água utilizada havia outros compostos resultantes do processo de tingimento da indústria onde amostra foi adquirida.

Tabela 8. Média dos valores obtidos em UV-Visível para o ensaio de adsorção da amostra sintética (AS) do corante utilizando do resíduo de açaí.

	Conc. \pm DP (mgL ⁻¹)	Remoção (%)
T ₀	57,21 \pm 0,07	-
T ₂	15,29 \pm 3,37	73,27
T ₅	15,73 \pm 1,58	72,50
T ₁₀	15,63 \pm 0,70	72,68
T ₂₀	14,62 \pm 0,66	74,45
T ₃₀	15,96 \pm 1,25	72,09
T ₄₀	14,51 \pm 0,15	74,63
T ₅₀	15,60 \pm 0,37	72,73
T ₆₀	14,69 \pm 0,11	74,31
T ₇₀	14,95 \pm 0,55	73,86

T₀, amostra sintética sem passar pela adsorção; T 2 min. de reação; T 5 min. de reação; T 10 min. de reação; T 20 min. de reação; T 30 min. de reação; T 40 min. de reação; T 50 min. de reação; T 60 min. de reação; T 70 min. de reação; DP, desvio padrão. Todos os valores de remoção, fora o do T₀, são estatisticamente semelhantes no teste de ANOVA e Tukey, com $p > 0,001$.

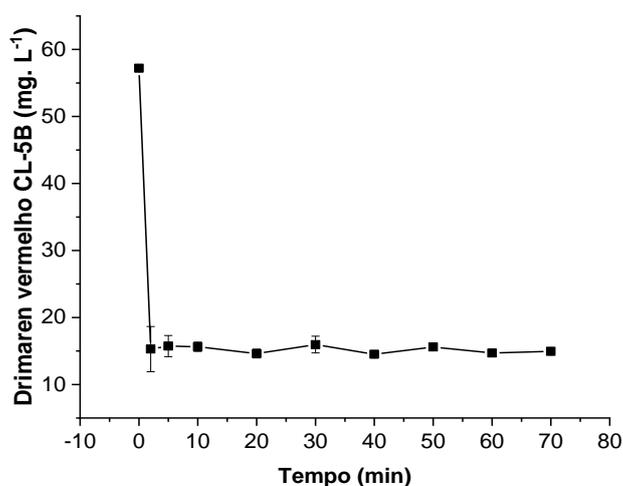


Figura 25. Concentração do corante nos meios reacionais com a amostra sintética (AS), após 2, 5, 10, 20, 50, 60 e 70 minutos da reação de adsorção pelo resíduo de açaí.

Tabela 9. Média dos valores obtidos em UV-Visível para o ensaio de adsorção da amostra industrial (AI) do corante utilizando do resíduo de açai.

	Conc. \pm DP (mg. L ⁻¹)	Remoção (%)
T ₀	1399,54 \pm 0,03	-
T ₂	894,59 \pm 1,47	36,08
T ₅	925,26 \pm 0,95	33,89
T ₁₀	927,75 \pm 4,25	33,71
T ₂₀	942,26 \pm 0,33	32,67
T ₃₀	904,95 \pm 0,48	35,34
T ₄₀	914,90 \pm 1,43	34,63
T ₅₀	803,81 \pm 13,01	42,57
T ₆₀	834,49 \pm 4,43	40,37
T ₇₀	874,28 \pm 2,23	37,53

T₀, amostra industrial sem passar pela adsorção; DP, desvio padrão. Todos os valores de remoção, fora o do T₀, são estatisticamente semelhantes no teste de ANOVA e Tukey, com $p > 0,001$.

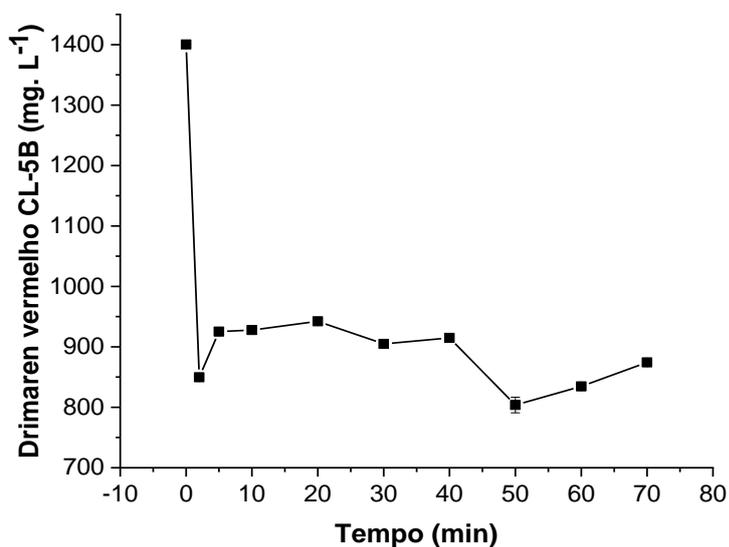


Figura 26. Concentração do corante nos meios reacionais com a amostra industrial (AI), após 2, 5, 10, 20, 50, 60 e 70 minutos da reação de adsorção pelo resíduo de açai.

Uma infinidade de resíduos já fora estudada como adsorventes, como cascas e caroços de frutas, resíduos de chás e café, sementes e caules de produtos agrícolas e muitos outros (BHATNAGAR; SILLANPÄÄ, 2010).

Mesmo com a presença de alguns adsorventes comerciais no mercado, o carvão ativado principalmente, ainda é feita a procura por adsorventes alternativos de baixo custo, tendo em vista que o uso generalizado dos comerciais muitas vezes é restrito devido ao seu custo mais elevado. Uma das matérias-primas mais buscadas pra isso, quando em grande disponibilidade, são os materiais residuais, já que contribui com a redução dos custos, ao mesmo tempo que colabora com a eliminação dos resíduos e consequentemente à proteção ambiental (BHATNAGAR; SILLANPÄÄ, 2010).

Como os possíveis efeitos tóxicos da icaridina ainda estão sendo elucidados, não se tem estudos voltado para a adsorção desse químico, sendo esse um dos primeiros trabalhos com esse caráter.

A princípio, também não há estudos utilizando resíduos de açaí como adsorvente de BPA ou do vermelho Drimaren. A grande maioria relata o uso de carvão ativado, nanomateriais ou então carvão ativado e materiais porosos formados a partir de alguns resíduos quando com BPA (YAN et al., 2016; VIDOVIĆ et al., 2019; EL OUAHEDY et al., 2020; MAHMOUD, 2020) e argila branca, resíduos sólidos de curtumes e resíduos gerados no processo de laminação de alumínio quando com o corante (DALLAGO; SMANIOTTO; OLIVEIRA, 2005; CASTRO; FRANCO; CIDADE, 2018; FRAGA et al., 2020).

Existem relatos do uso do resíduo de açaí como adsorvente de íons metálicos (GONÇALVES et al., 2018; QUEIROZ et al., 2020), porém o presente estudo é um dos primeiros a relacionar o resíduo com os compostos icaridina, BPA e o corante Drimaren vermelho CL-5B. Como pode ser observado, os resultados obtidos trazem o resíduo de açaí como potencial adsorvente de químicos, entretanto o teste realizado não é suficiente para calcular todas as variáveis de adsorção. Para tal são necessários mais estudos pra definir o equilíbrio da adsorção e obter gráficos de isoterma da adsorção, podendo então ser feito o cálculo da capacidade máxima de adsorção dos adsorventes experimentalmente.

6. CONCLUSÕES

Os resultados obtidos com o resíduo de açaí e abacaxi para a produção de lacases, demonstram que a produção da enzima é eficiente mesmo em caldo pobre de nutrientes quando se tem a adição de biomassa residual ao meio, bem como essas lacases podem ser utilizadas na remediação de bisfenol A, tendo em vista que apresentaram alto potencial de remoção.

O resíduo de açaí, demonstrou capacidade adsorptiva, trazendo então, um novo insumo que pode ser utilizado como ferramenta pela indústria e qualquer outro produtor de poluentes para a purificação de efluentes residuais, já que se encaixa como um material adsorptivo de baixo custo e é uma metodologia de fácil aplicabilidade, não necessitando de mão de obra especializada.

A tecnologia desenvolvida trouxe ao panorama do tratamento de efluentes duas novas metodologias (biorremediação e adsorção) utilizando de insumos oriundos de rejeitos da agroindústria (açaí e abacaxi) dando valor agregado a esses resíduos e trazendo uma alternativa aos tratamentos químicos e físicos já existentes que nem sempre são tão eficientes e podem causar danos ao meio ambiente, ao contrário do que foi desenvolvido por se tratar de um controle biológico (biorremediação) e físico (adsorção) utilizando de componentes já encontrado na natureza, contribuindo com a redução da poluição e a limpeza de águas.

Os processos aqui desenvolvidos, possuem a probabilidade de serem utilizados para o tratamento dos poluentes testados, e até mesmo pode ser estudada a viabilidade de um tratamento integrado, utilizando das metodologias acopladas a outros processos físicos ou químicos já existentes para reduzir o tempo necessário de tratamento, tendo em vista que em poucos minutos foi capaz de absorver grande parte da substância analisada, reduzindo, assim, o tempo necessário de uma reação física de custo subsequente ao uso do resíduo ou da lacase, por exemplo, seria reduzido.

7. REFERÊNCIAS

- ABDELAZIZ, O. Y. et al. Biological valorization of low molecular weight lignin. **Biotechnology Advances**, v. 34, n. 8, p. 1318–1346. Acesso em 3 de maio de 2016.
- ADNEY, B.; BAKER, J. Measurement of cellulase activities. **Laboratory Analytical Procedure**, v. 6, n. 465, p. 1996, 1996.
- AFONSO, S.R. **A política pública de incentivo à estruturação da cadeia produtiva do pequi (*Caryocar brasiliense*)**. [Distrito Federal]. Tese de Doutorado em Ciências Florestais, Publicação PPGEFL. TD – 024/2012, Departamento de Engenharia Florestal, Universidade de Brasília, Brasília, DF. 162 p. 2012.
- AGAPITO, M.S.M. **Tratamento de efluente de produção de pasta kraft por *Trametes versicolor***. 120 f. Dissertação (Mestrado em Gestão Ambiental) – Departamento de Ambiente e Ordenamento, Universidade de Aveiro, Aveiro, 2007.
- AGUIAR, A. P. **Seleção de espécies de basidiomicetos produtoras de ligninases para caracterização e aplicação das enzimas sobre corantes aromáticos**. 137 p. Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista, Área de concentração Ciência e Tecnologia de Alimentos, São José do Rio Preto, SP. 2006.
- AHMAD, R.; KHARE, S. K. Immobilization of *Aspergillus niger* cellulase on multiwall carbon nanotubes for cellulose hydrolysis. **Bioresource Technology**, v. 252, p. 72-75, 2018.
- AHMED, I.; IQBAL, HMN; DHAMA, K. Enzyme-based biodegradation of hazardous pollutants—An overview. **J. Exp. Biol. Agric. Sci**, v. 5, n. 4, p. 402-411, 2017.
- AKPINAR, M.; UREK, R. O. Extracellular ligninolytic enzymes production by *Pleurotus eryngii* on agroindustrial wastes. **Preparative Biochemistry and Biotechnology**, v. 44, n. 8, p. 772-781, 2014.
- ALCANTARA, E. R.; PEREIRA, S. C. C. Dinâmica organizacional de empreendimentos que comercializam produtos amazônicos na capital do estado do Pará. **Revista Gestão Industrial**, v. 14, n. 2, 2018.
- ALMEIDA, A. D. S. **Avaliação da associação de processos oxidativos avançados e adsorção em carvão ativado na remoção de corante reativo em meio aquoso**. 92 p. Dissertação (mestrado)- Universidade Federal de Alagoas, Programa de Pós- Graduação em Recursos Hídricos e Saneamento, Maceió, 2013.
- ALMEIDA, R. M. et al. High mortality in aquatic predators of mosquito larvae caused by exposure to insect repellent. **Biology Letters**, v. 14, n. 10, p. 20180526, 2018.
- ALMIN, K. E.; ERIKSSON, K.; JANSSON, C. Enzymic degradation of polymers: II. viscometric determination of cellulase activity in absolute terms. **Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Enzymology**, v. 139, n. 2, p. 248-253, 1967.
- AMADOR, M. S. **Um modelo para o planejamento de estruturas de beneficiamento e armazenagem de biomassa proveniente de cadeias de suprimento verdes**. Monografia (Graduação). Universidade Federal de Ouro Preto. Instituto de Ciências Exatas e Aplicadas. Departamento de Engenharia de Produção. 52f, 2018.
- ANTWI, F.B.; SHAMA, L.M.; PETERSON, R.K.D. Risk assessments for the insect repellents DEET and picaridin. **Regulatory Toxicology and Pharmacology**, v. 51, n. 1, p. 31-36, 2008.

ANVISA – AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. **Bisfenol A**. Disponível em: <<http://portal.anvisa.gov.br/alimentos/embalagens/bisfenol-a>> Acesso em: 01 Ago. 2019.

ARO, T.; FATEHI, P. Production and application of lignosulfonates and sulfonated lignin. **ChemSusChem**, v. 10, n. 9, p. 1861–1877, 2017.

BALDRIAN, Petr et al. Degradation of lignocellulose by *Pleurotus ostreatus* in the presence of copper, manganese, lead and zinc. **Research in Microbiology**, v. 156, n. 5-6, p. 670-676, 2005.

BALLESTEROS, L. F. et al. Encapsulation of antioxidant phenolic compounds extracted from spent coffee grounds by freeze-drying and spray-drying using different coating materials. **Food Chemistry**, v. 237, p. 623-631, 2017.

BASSANI, E. B. et al. Produção artesanal de alimentos a partir do resíduo do despulpamento (bagaço) de frutos do abacaxizeiro em agroindústria no município de Marataízes - ES. **Anais eletrônico do XX Congresso Brasileiro de Fruticultura**. 54 p. 2008. Disponível em: [https:// biblioteca.incaper.es.gov.br /digital/bitstream/ item/198/1/ PRODUCAO-ARTESANAL-DE-ALIMENTOS-A-PARTIR-DO-RESIDUO-CD-ANAIS.pdf](https://biblioteca.incaper.es.gov.br/digital/bitstream/item/198/1/PRODUCAO-ARTESANAL-DE-ALIMENTOS-A-PARTIR-DO-RESIDUO-CD-ANAIS.pdf). Acesso em: 12 ago. 2020.

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

BETTIN, F. Cinética de crescimento e produção de lacases do fungo *Pleurotus sajor-caju* PS-2001 (Fr.) Singer em processo submerso em biorreator com agitação mecânica. 2014.

BEY, M. et al. Heterologous expression of *Pycnoporus cinnabarinus* cellobiose dehydrogenase in *Pichia pastoris* and involvement in saccharification processes. **Microbial Cell Factories**, v. 10, n. 1, p. 113, 2011.

BHATNAGAR, A.; SILLANPÄÄ, M. Utilization of agro-industrial and municipal waste materials as potential adsorbents for water treatment—a review. **Chemical Engineering Journal**, v. 157, n. 2-3, p. 277-296, 2010.

BILA, D.M. et al. Desreguladores endócrinos no meio ambiente: efeitos e consequências. **Química Nova**, v. 30, n.3, p.19, 2007.

BILAL, M. et al. Bio-based degradation of emerging endocrine-disrupting and dye-based pollutants using cross-linked enzyme aggregates. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 24, n. 8, p. 7035-7041, 2017.

BOCCHINI, B. **Fabricantes devem informar presença de bisfenol na composição de produtos**. Disponível em: <http://memoria.ebc.com.br/agenciabrasil/noticia/2011-04-07/fabricantes-devem-informar-presenca-de-bisfenol-na-composicao-de-produtos>. Acesso em: 06 de abr. de 2019.

BORGES, R. de S. et al. Avaliação de genótipos de bananeira no norte do estado do Paraná. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 33, n. 1, p. 291-296, 2011.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. Publicações - enzimas oxidativas microbianas envolvidas na biodegradação da lignocelulose: produção, características bioquímicas e importância biotecnológica, 2011.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Vírus Zika no Brasil: a resposta do SUS Brasília, 2017. 136 p. Disponível em: <http://bvsmms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/virus_zika_brasil_resposta_sus.pdf>. Acesso em: 01 jul. 2018.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Atenção à Saúde. Protocolo de atenção à saúde e resposta à ocorrência de microcefalia relacionada à infecção pelo vírus Zika. Brasília, 2016. Disponível em: <http://bvsmms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/protocolo_resposta_microcefalia_relacionada_infeccao_virus_zika.pdf>. Acesso em: 10 maio 2018.

BRASIL. Senado Federal. **Projeto de lei - PL 5461/2016**. 01 de junho de 2016. Altera a Lei nº 8.069, de 13 de julho de 1990, que dispõe sobre o Estatuto da Criança e do Adolescente e dá outras providências, para assegurar o direito de as gestantes receberem gratuitamente repelente contra o mosquito *Aedes aegypti*. Disponível em: <<http://www.camara.gov.br/proposicoesWeb/fichadetramitacao?idProposicao=2086476>>. Acesso em: 01 jun. 2016.

BRIASSOULIS, G.; NARLIOGLOU, M.; HATZIS, T. Toxic encephalopathy associated with use of DEET insect repellents: a case analysis of its toxicity in children. **Human and Experimental Toxicology**, v. 20, n. 1, p. 8-14, 2001.

BRIJWANI, K.; RIGDON, A.; VADLANI, P. V. Fungal laccases: production, function, and applications in food processing. **Enzyme Research**, v. 2010, p. 1–10, 2010.

BRISSAC, D. C. O. et al. Delignification of banana pseudostem by the enzymatic culture broth of *Pleurotus sajor-caju*. **Matéria (Rio de Janeiro)**, v. 23, n. 4, 2018.

BRITO, C.A.A.; CORDEIRO, M.T. One year after the Zika virus outbreak in Brazil: from hypotheses to evidence. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, Uberaba, v. 49, n. 5, p. 537-543, 2016.

BRUGNARI, T. et al. A highly reusable MANAE-agarose-immobilized *Pleurotus ostreatus* laccase for degradation of bisphenol A. **Science of The Total Environment**, v. 634, p. 1346-1351, 2018.

BRZONOVA, I. et al. Fungal biotransformation of insoluble kraft lignin into a water soluble polymer. **Industrial & Engineering Chemistry Research**, v. 56, n. 21, p. 6103–6113, 2017.

BRZONOVA, I. et al. Production of lignin based insoluble polymers (anionic hydrogels) by *C. versicolor*. **Scientific Reports**, v. 7, n. 1, 2017.

BUGG, T. D. H. et al. Pathways for degradation of lignin in bacteria and fungi. **Natural Product Reports**, v. 28, n. 12, p. 1883, 2011.

CANNATELLI, M. D.; RAGAUSKAS, A. J. Two decades of laccases: advancing sustainability in the chemical industry. **The Chemical Record**, v. 17, n. 1, p. 122–140, 2017.

CAÑAS, A. I.; CAMARERO, S. Laccases and their natural mediators: biotechnological tools for sustainable eco-friendly processes. **Biotechnology Advances**, v. 28, p. 694-705, 2010.

CASTRO, A. D.; FRANCO, C. R.; CIDADE, M. J. Adsorção de corantes azul indosol, laranja indosol e vermelho drimaren em solução aquosa por argila branca. **Revista Virtual de Química**, v. 10, p. 1-14, 2018.

CAVALCANTE, M. K. B. et al. Tratamento do corante da indústria têxtil drimaren vermelho cl 5b através do processo oxidativo avançado fenton, XXII Congresso Brasileiro de Engenharia Química, **Blucher Chemical Engineering Proceedings**, v.1, p. 492-499, 2018.

CEDRIM, P. C. A. S.; BARROS, E. M. A.; NASCIMENTO, TG do. Propriedades antioxidantes do açaí (*Euterpe oleracea*) na síndrome metabólica. **Brazilian Journal of Food Technology**, v. 21, p. 1-7, 2018.

CEDRIM, P. C. A. S.; BARROS, E. M. A.; NASCIMENTO, T. G. Antioxidant properties of acai (*Euterpe oleracea*) in the metabolic syndrome. **Brazilian Journal of Food Technology**, v. 21, 2018.

CERQUEIRA, A. A. **Aplicação da técnica de eletrofloculação no tratamento de efluentes têxteis**. 114 p. Dissertação (mestrado)- Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Programa de Pós-Graduação em Química, Rio de Janeiro, 2006.

CETESB- Companhia ambiental do Estado de São Paulo. Bisfenol A divisão de toxicologia humana e saúde ambiental, São Paulo, 2017.

CHANG, J. et al. Engineered yeast for production of enzymes. U.S. patent application n. 10/087,450, 2 out. 2018.

CHEN, J. et al. Production of flocculants, adsorbents, and dispersants from lignin. **Molecules**, v. 23, n. 4, p. 868, 10. 2018.

CHEN, Y.; SARKANEN, S.; WANG, Y.-Y. Lignin-degrading enzyme activities. In: HIMMEL, M. E. (Ed.). **Biomass Conversion**. Totowa, NJ: Humana Press, p. 251–268. 2012.

CHEN, Z.; WAN, C. Biological valorization strategies for converting lignin into fuels and chemicals. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 73, p. 610–621, 2017.

CHENTHAMARAKSHAN, A. et al. Optimization of laccase production from *Marasmiellus palmivorus* LA1 by Taguchi method of design of experiments. **BMC Biotechnology**, v. 17, n. 1, 2017.

CLAPAUCH, R. et al. Fitoestrogênios: Posicionamento do departamento de endocrinologia feminina da sociedade brasileira de endocrinologia e metabologia (SBEM). Arquivos brasileiros de endocrinologia & metabologia= **Brazilian archives of endocrinology and metabolism**. São Paulo. v. 46, n. 6, p. 679-695, 2002.

CLAUS, H. Laccases: structure, reactions, distribution. **Micron**, v. 35, n. 1–2, p. 93–96, 2004.

CORAZZA, M. et al. Allergic contact dermatitis due to an insect repellent: double sensitization to picaridin and methyl glucose dioleate. **Acta Dermato-Venereologica**, Uppsala, v. 85, n. 3, p. 264-265, 2005.

COSTA, L. A. **Desenvolvimento e validação de metodologia de análise de Bisfenol A em amostras de águas naturais por CG/EM**. P. 65. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de Mato Grosso do Sul. Campo Grande, 2008.

COSTA, W. et al. Avaliação preliminar da qualidade da água do arroio Madureira e afluentes. **Publicatio UEPG: Ciências Exatas e da Terra, Agrárias e Engenharias**, v. 12, n. 01, 2009.

CRINI, G. Recent developments in polysaccharide-based materials used as adsorbents in wastewater treatment. **Progress in Polymer Science**, v. 30, p. 38-70, 2005.

- D'ACUNZO, F.; GALLI, C.; MASCI, B. Oxidation of phenols by laccase and laccase-mediator systems: Solubility and Steric Issues. **European Journal of Biochemistry**, v. 269, n. 21, p. 5330–5335, 2002.
- DA SILVA, L. R. R. et al. Desenvolvimento de novos polímeros de alto desempenho a partir de resíduos agroindustriais. **Encontros Universitários da UFC**, v. 3, n. 1, p. 2216, 2018.
- DALLAGO, R. M.; SMANIOTTO, A.; OLIVEIRA, L. C. A. Resíduos sólidos de curtumes como adsorventes para a remoção de corantes em meio aquoso. **Química Nova**, v. 28, n. 3, p. 433-437, 2005.
- DATTA, R. et al. Enzymatic degradation of lignin in soil: a review. **Sustainability**, v. 9, n. 7, p. 1163, 2017.
- DE FARIAS NETO, J. T.; VASCONCELOS, M. A. M.; DA SILVA, F. C. F. Cultivo, processamento, padronização e comercialização do açaí na Amazônia. **CEP**, v. 60120, p. 002, 2010.
- DEBBOUN, M.; FRANCES, S.P.; STRICKMAN, D.A. **Insect repellent handbook**. 2. ed. Boca Raton: CRC Press Taylor & Francis Group, 2015.
- DHOTE, J.; INGOLE, S.; CHAVHAN, A. Review on wastewater treatment technologies. **Int. J. Eng. Res. Technol**, v. 1, p. 1-10, 2012.
- DORIYA, K. et al. Solid-state fermentation vs submerged fermentation for the production of L-Asparaginase. In: **Advances in Food and Nutrition Research**. [s.l.] Elsevier, 78p. 115–135, 2016.
- DOS ANJOS, J. F. V. *Lymnaea stagnalis*: ensaios de toxicidade e técnicas experimentais de manuseamento. Porto, 2018.
- DRUZHININA, Irina S.; KUBICEK, Christian P. Genetic engineering of *Trichoderma reesei* cellulases and their production. **Microbial biotechnology**, v. 10, n. 6, p. 1485-1499, 2017.
- DWIVEDI, U. N. et al. Structure function relationship among bacterial, fungal and plant laccases. **Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic**, v. 68, n. 2, p. 117–128, 2011.
- EL OUAHEDY, N. et al. Porous carbon materials derived from olive kernels: application in adsorption of organic pollutants. **Environmental Science and Pollution Research**, p. 1-16, 2020.
- ELISASHVILI, V.; KACHLISHVILI, E. Physiological regulation of laccase and manganese peroxidase production by white-rot Basidiomycetes. **Journal of Biotechnology**, v. 144, n. 1, p. 37-42, 2009.
- ERGUN, S. O.; UREK, R. O. Production of ligninolytic enzymes by solid state fermentation using *Pleurotus ostreatus*. **Annals of Agrarian Science**, v. 15, n. 2, p. 273-277, 2017.
- FABRINI, F. F. et al. Produção de lacase de *Pycnoporus sanguineus* em meio de cultivo à base de melaço soja. **Arquivos de Ciências Veterinárias e Zoologia da UNIPAR**, v. 19, n. 3, 2016.
- FARIA, N.R. et al. Establishment and cryptic transmission of Zika virus in Brazil and the Americas. **Nature**, v. 546, n. 7658, p. 406-410, 2017.

- FARIA, R. A. **Estudo da produção de enzimas ligninolíticas por *Ceriporiopsis subvermispora***. 102 p. Dissertação (mestrado) - Universidade de São Paulo, Escola de Engenharia de Lorena, Lorena, SP. 2010.
- FERNANDEZ-FUEYO, E. et al. Comparative genomics of *Ceriporiopsis subvermispora* and *Phanerochaete chrysosporium* provide insight into selective ligninolysis. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 109, n. 14, p. 5458–5463, 2012.
- FERREIRA, G. A. et al. Produção de frutos de populações naturais de pequi no estado de Goiás. **Rev. Bras. Frutic.**, Jaboticabal - SP, v. 37, n. 1, p. 121-129, 2015. Doi: <http://dx.doi.org/10.1590/0100-2945-404/13>.
- FERRI, M. G. Botânica: Morfologia externa das plantas: organografia. **NBL Editora**, São Paulo, 1981.
- FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION** – FAOSTAT. (2013). Disponível em: <<http://faostat.fao.org>>. Acesso em: 13 fev. 2020.
- FRAGA, T. J. M. et al. Treated residue from aluminium lamination as adsorbent of toxic reactive dyes—a kinetic, equilibrium and thermodynamic study. **Environmental Technology**, v. 41, n. 6, p. 669-681, 2020.
- FRANCISCON, E. **Descoloração e degradação de azocorantes por bactérias**. 164 p. Tese (doutorado)- Universidade Estadual de Campinas, Departamento de Ciências de Alimentos, Campinas, SP. 2010.
- GALHAUP, C. et al. Increased production of laccase by the wood-degrading basidiomycete *Trametes pubescens*. **Enzyme and Microbial Technology**, 30, 529–536, 2002.
- GIACOBBE, S. et al. Laccase pretreatment for agrofood wastes valorization. **Bioresource Technology**, v. 265, p. 59-65, 2018.
- GILLET, S. et al. Lignin transformations for high value applications: towards targeted modifications using green chemistry. **Green Chemistry**, v. 19, n. 18, p. 4200–4233, 2017.
- GIVAUDAN, A. et al. Polyphenol oxidase in *Azospirillum lipoferum* isolated from rice rhizosphere: Evidence for laccase activity in non-motile strains of *Azospirillum lipoferum*. **FEMS Microbiology Letters**, v. 108, n. 2, p. 205–210, 1993.
- GOLVEIA, J. C. S. **Indução de lacase de *Pycnoporus sanguineus* CCT 4518 induzida por resíduos agroindustriais e ensaio de biorremediação de estrogênio sintético (EE2)**. 83 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) - Universidade Federal de Goiás, Goiânia, 2016.
- GOLVEIA, J. C. S. et al. Cupuaçu (*Theobroma grandiflorum*) residue and its potential application in the bioremediation of 17-A-ethinylestradiol as a *Pycnoporus sanguineus* laccase inducer. **Preparative Biochemistry and Biotechnology**, v. 48, n. 6, p. 541-548, 2018.
- GOMES, P. C. S. Utilização da fibra de bananeira para produção de compósito com espuma de poliuretano – Goiânia: Instituto Federal de Educação, **Ciência e Tecnologia de Goiás**, 61f, 2018.
- GONÇALVES, A. C. et al. Removal of toxic metals using endocarp of açai berry as biosorbent. **Water Science and Technology**, v. 77, n. 6, p. 1547-1557, 2018.

- GONÇALVES, M.L.F.C.; STEINER, W. Detection laccase activity in polyacrylamide gels after electrophoresis under denaturing conditions. **Biotechnology Techniques**, 10, 667-668, 1996.
- GUPTA, A.; JANA, A. K. Production of laccase by repeated batch semi-solid fermentation using wheat straw as substrate and support for fungal growth. **Bioprocess and Biosystems Engineering**, v. 42, n. 3, p. 499-512, 2019.
- GURGEL, L. V. A. **Mercerização e modificação química de celulose e bagaço de cana-de-açúcar com anidrido succínico e trietanolamina: preparação de novos materiais quelantes para a adsorção de Pb (II), Cd (II), Cr (VI) e Cu (II)**. 203 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Ambiental) - Universidade Federal de Ouro Preto, Ouro Preto, 2007.
- HARUTA, S. et al. Construction of a stable microbial community with high cellulose-degradation ability. **Applied microbiology and biotechnology**, v. 59, n. 4-5, p. 529-534, 2002.
- HEALY, M. G. Presence of emerging contaminants in treated sludges and their potential impacts on the environment. In: **European Biosolids and Organic Resources Conference**. NUI Galway, 2018.
- HESS, S.C. Hormônios sexuais artificiais no ambiente. In: HESS, S. C. (org.). Ensaio sobre a poluição e doenças no Brasil. São Paulo: **Outras Expressões** p. 237-255. 2018.
- HEUKELBACH, J. et al. Zika virus outbreak in Brazil. **The Journal of Infection in Developing Countries**, Sassari, v. 10, n. 2, p. 116-120, 2016.
- HIMMEL, M. E. et al. Cellulases: structure, function, and applications. In: **Handbook on Bioethanol**. Routledge, 2018. p. 143-161. Disponível em: <https://www.researchgate.net/publication/326128632>. Acesso em: 16 mar 2019.
- HONGYAN, L. et al. Study on transformation and degradation of bisphenol A by *Trametes versicolor* laccase and simulation of molecular docking. **Chemosphere**, v. 224, p. 743-750, 2019.
- Hu, X., Hu, K., Zeng, L., Zhao, M., & Huang, H. Hydrogels prepared from pineapple peel cellulose using ionic liquid and their characterization and primary sodium salicylate release study. **Carbohydrate Polymers**, 82(1), 62-68, 2010.
- HU, Xue et al. Optimization of microwave-assisted fluidized-bed drying of carrot slices. **Drying Technology**, v. 35, n. 10, p. 1234-1248, 2017.
- IFEANYI, N. et al. Bioconversion of agricultural and food processing wastes to value-added products using solid state fermentation technology. A Review. **IOSR Journal of Pharmacy and Biological Sciences**, v. 11, n. 05, p. 68–71, 2016.
- INÁCIO, T. R. **Bisfenóis (A, B, F, E, S, AF e Z) em alimentos embalados em plástico e enlatados: análise, ocorrência e toxicidade**. Dissertação (Mestrado em Tecnologia Ambiental) – Universidade de Santa Cruz do Sul, Santa Cruz do Sul, 2020.
- ISIKGOR, F. H.; BECER, C. R. Lignocellulosic biomass: a sustainable platform for the production of bio-based chemicals and polymers. **Polymer Chemistry**, v. 6, n. 25, p. 4497–4559, 2015.
- ISLAM, M. R. et al. Morphology and mechanics of fungal mycelium. **Scientific Reports**, v. 7, n. 1, p. 13070, 2017.

- JAIN, C. K.; MALIK, D. S.; YADAV, A. K. Applicability of plants based biosorbents in the removal of heavy metals: a review. **Environmental Processes**, 3, 495. 2016.
- JENNINGS, D. H. Inorganic nutrition. In: BERRY, D. R. (Ed.). **Physiology of industrial fungi**. Oxford: Blackwell Scientific Publication, p. 76-96. 1988.
- Jl, C. et al. Direct immobilization of laccase on titania nanoparticles from crude enzyme extracts of *P. ostreatus* culture for micro-pollutant degradation. **Separation and Purification Technology**, v. 178, p. 215-223, 2017.
- JIA, S. et al. Cleaving the BO₄ bonds of lignin model compounds in an acidic ionic liquid, 1-H-3-Methylimidazolium chloride: An optional strategy for the degradation of lignin, **The National Center for Biotechnology Information** v. 3, n. 9, p. 1078–1084, 2010.
- JIA, X. et al. Enhanced alkaline catalase production by *Serratia marcescens* FZSF01: Enzyme purification, characterization, and recombinant expression. **Electronic Journal of Biotechnology**, v. 30, p. 110-117, 2017.
- JIAO, X. et al. Análise sistemática da família do gene da lacase *Pleurotus ostreatus* (PoLac) e caracterização funcional da PoLac2 envolvida na degradação da lignina da palha do algodão. **Molecules**, v. 23, n. 4, p. 880, 2018.
- JÖNSSON, L. J.; MARTÍN, C. Pretreatment of lignocellulose: formation of inhibitory by-products and strategies for minimizing their effects. **Bioresource Technology**, v. 199, p. 103–112, 2016.
- KADAM, K. L. Cellulase production. In: **Handbook on Bioethanol**. Routledge, p. 213-252. 2018.
- KANG C. H.; KWON, Y. J.; SO, J. S. Bioremediation of heavy metals by using bacterial mixtures. **Ecological Engineering**, 89, 64. 2016.
- KHALIL, M. I. et al. Production of cellulase by *Pleurotus ostreatus* and *Pleurotus sajor-caju* in solid state fermentation of lignocellulosic biomass. **Turkish Journal of Agriculture and Forestry**, v. 35, n. 4, p. 333-341, 2011.
- KHATTAB, S. M. R.; WATANABE, T. Bioethanol from sugarcane bagasse: status and perspectives. In: **Bioethanol Production from Food Crops**. Elsevier, 2019.
- KHOURI, J.; RESCK, I.S.; POÇAS-FONSECA, M.; SOUSA, T. M. M.; PEREIRA, L. O.; OLIVEIRA, A. B. B.; GRISOLIA, C. K. Anticlastogenic potential and antioxidant effects of an aqueous extract of pulp from pequi tree (*Caryocar brasiliense Camb*). **Genetics and Molecular Biology**, v. 30, p. 442-448, 2007.
- KÖNIG, J. et al. Determination of xylanase, β -glucanase, and cellulase activity. **Analytical and Bioanalytical Chemistry**, v. 374, n. 1, p. 80-87, 2002.
- KŘESINOVÁ, Z. et al. Biodegradation of endocrine disruptors in urban wastewater using *Pleurotus ostreatus* bioreactor. **New Biotechnology**, v. 43, p. 53-61, 2018.
- KUMAR, A.; GAUTAM, A.; DUTT, D. Biotechnological transformation of lignocellulosic biomass in to industrial products: An Overview. **Advances in Bioscience and Biotechnology**, v. 07, n. 03, p. 149–168, 2016.
- KUNIEDA DE ALONSO, S. et al. Isolamento e seleção de fungos causadores da podridão branca da madeira em florestas de Eucalyptus spp. com potencial de degradação de cepas e raízes. **Revista Árvore**, v. 31, n. 1, 2007.

- LANCEFIELD, C. S. et al. Identification of a diagnostic structural motif reveals a new reaction intermediate and condensation pathway in kraft lignin formation. **Chemical Science**, v. 9, n. 30, p. 6348–6360, 2018.
- LANS, C.; HARPER, T.; GEORGES, K.; BRIDGEWATER, E. Medicinal plants used for dogs in trinidad and tobago. **Preventive Veterinary Medicine, Elsevier**, v. 45, p. 201-220, 2000.
- LEONOWICZ, A, GRZYWNOWICZ K Quantitative estimation of laccase forms in some white-rot fungi using syringaldazine as a substrate. **Enzyme. Microbial Technol** 3, 55-58, 1981.
- LEVIN, L.; MELIGNANI, E.; RAMOS, A. M. Effect of nitrogen sources and vitamins on ligninolytic enzyme production by some white-rot fungi. Dye decolorization by selected culture filtrates. **Bioresource Technology**, v. 101, n. 12, p. 4554–4563, 2010.
- LIMA, A.; SILVA, A. M. O.; TRINDADE, R. A.; TORRES, R. P; MANCINIFILHO, J. Composição química e compostos bioativos presentes na polpa e na amêndoa do pequi (*Caryocar brasiliense*, Camb.). **Revista Brasileira de Fruticultura**. Jaboticabal, v. 29, n. 3, 2007.
- LIMA, M. B et al. Banana: o produtor pergunta, a Embrapa responde. 2 ed. rev. e ampl. – Brasília, DF: **Embrapa** 214 p. 2012.
- LIMA, P. C. C.; SOUZA, B. S.; SANTINI, A. T.; OLIVEIRA, D. C. Aproveitamento agroindustrial de resíduos provenientes do abacaxi 'Pérola' minimamente processado. **Holos**, v. 2, p. 122-136, 2017.
- LIPSCOMB, J.W.; KRAMER, J.E.; LEIKIN, J.B. Seizure following brief exposure to the insect repellent N, N-diethyl-m-toluamide. **Annals of Emergency Medicine**, Irving, v. 21, n. 3, p. 315-317, 1992.
- LIU, Q. et al. Development of a genome-editing CRISPR/Cas9 system in thermophilic fungal *Myceliophthora species* and its application to hyper-cellulase production strain engineering. **Biotechnology for biofuels**, v. 10, n. 1, p. 1, 2017.
- LIZAMA, C. et al. Optimized photodegradation of Reactive Blue 19 on TiO₂ and ZnO suspensions. **Catalysis Today**, v. 76, n. 2-4, p. 235-246, 2002.
- LU, Y. et al. Structural characterization of lignin and its degradation products with spectroscopic methods. **Journal of Spectroscopy**, v. 2017, p. 1–15, 2017.
- MA, J. et al. Prediction of textural changes in grass carp fillets as affected by vacuum freeze drying using hyperspectral imaging based on integrated group wavelengths. **LWT-Food Science and Technology**, v. 82, p. 377-385, 2017.
- MA, L. et al. Efficient decolorization and detoxification of the sulfonated azo dye Reactive Orange 16 and simulated textile wastewater containing Reactive Orange 16 by the white-rot fungus *Ganoderma* sp. En3 isolated from the forest of Tzu-chin Mountain in China. **Biochemical Engineering Journal**, v. 82, p. 1–9, 2014.
- MAHMOUD, A. E. D. Graphene-based nanomaterials for the removal of organic pollutants: Insights into linear versus nonlinear mathematical models. **Journal of Environmental Management**, v. 270, p. 110911, 2020.
- MARCONDES, C.B.; XIMENES, M.F.F.M. Zika virus in Brazil and the danger of infestation by *Aedes stegomyia* mosquitoes. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, Uberaba, v. 49, n. 1, p. 4-10, 2016.

MARTINI, G. A. **Investigação da atividade estrogênica e de interferentes endócrinos em águas superficiais do Estado de São Paulo**. 2018. Tese de Doutorado. Universidade de São Paulo. 2018.

MARTÍN-POZO, L. et al. Analytical methods for the determination of emerging contaminants in sewage sludge samples. A review **Talanta**, v 192, p.508-533, 2019.

MATHEW, J. J. et al. Comparative study of the activity of amylase produced by *Aspergillus niger* through solid state fermentation (ssf) using various starchy materials. **Indian Journal of Plant Sciences**, v. 5, n. 3, p. 79–90, 2016.

MAYER, A. M., STAPLES, R. C. LACCASE: new functions for an old enzyme. **Phytochemistry**, v. 60, p. 551–565, 2002.

MCGREADY, R. et al. Safety of the insect repellent n, n- diethyl- m -toluamide (DEET) in pregnancy. **The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, Cleveland, v. 65, n. 4, p. 285-289, 2001.

MESSERSCHMIDT, A.; HUBER, R. the blue oxidases, ascorbate oxidase, laccase and ceruloplasmin modelling and structural relationships. **European Journal of Biochemistry**, v. 187, n. 2, p. 341–352, 1990.

MINTY, J. J.; LIN, X. N. Engineering synthetic microbial consortia for consolidated bioprocessing of lignocellulosic biomass into valuable fuels and chemicals. In: Direct microbial conversion of biomass to advanced biofuels. [s.l.] **Elsevier**, p. 365–381, 2015.

MIRANDA-FILHO, D.B. et al. Initial description of the presumed congenital zika syndrome. **American Journal of Public Health**, Washington, v. 106, n. 4, p. 598-600, 2016.

MO, J. et al. A review on agro-industrial waste (AIW) derived adsorbents for water and wastewater treatment. **Journal of Environmental Management**, v. 227, p. 395-405, 2018.

MONTAGNER, C. C.; VIDAL, C.; ACAYABA, R.D. Contaminantes emergentes em matrizes aquáticas do Brasil. **Quim. Nova**. Vol. 40, No. 9, 1094-1110, 2017. Disponível em: < quimicanova.sbq.org.br/detalhe_artigo.asp?id=6640 > Acesso em: 10.10.2018.

MOODY, R.P. The safety of diethyltoluamide insect repellents. **Journal of the American Medical Association**, Chicago, v. 262, n. 1, p. 28–29, 1989.

MOREDO, N. et. al. Enhanced ligninolytic enzyme production and degrading capability of *Phanerochaete chrysosporium* and *Trametes versicolor*. **World Journal of Microbiology & Biotechnology**. v. 19. p. 665-669. 2003.

MOREIRA, S. A. **Adsorção de íons metálicos de efluente aquoso usando bagaço do pedúnculo de caju: estudo de batelada e coluna de leito fixo**. 133 f. Dissertação Mestrado em Saneamento Ambiental – Pós - graduação em Engenharia Civil da Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2008.

MORIYA, R. Y. **Uso de xilanases e lacases de microrganismos no branqueamento de polpas organosolv de palha de cana-de-açúcar e estudo dos derivados celulósicos obtidos**. Tese de doutorado em Biotecnologia Industrial, Lorena São Paulo, 2007.

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

MUDHOO, A.; GARG, V. K.; WANG, S. Removal of heavy metals by biosorption. **Environmental Chemistry Letters** 10, 109, 2012.

NASCIMENTO, C. S. M. D. **Resíduos gerados nas agroindústrias da microrregião de propriá e as práticas de gestão ambiental adotadas**. 167 f. Tese (Doutorado em Desenvolvimento e Meio Ambiente) - Universidade Federal de Sergipe, São Cristóvão, 2006.

NASCIMENTO, R. F. et al. Adsorção: aspectos teóricos e aplicações ambientais, Fortaleza: **Imprensa Universitária**, 2014.

NEVES, L. T. B. C. et al. Qualidade de frutos processados artesanalmente de açaí (*Euterpe oleracea* MART.) E BACABA (*Oenocarpus bacaba* MART.). **Revista Brasileira de Floricultura**, v. 37, n. 3, 2015.

NGUYEN, L.N. et al. Laccase syringaldehyde -mediated degradation of trace organic contaminants in an enzymatic membrane reactor: Removal efficiency and effluent toxicity. **Bioresource Technology**, v. 200, p.477-484, 2016.

NOCERA, D. G. Solar Fuels and Solar Chemicals Industry. **Accounts of Chemical Research**, v. 50, n. 3, p. 616–619, 2017.

NUNES, M.L. et al. Microcephaly and Zika virus: a clinical and epidemiological analysis of the current outbreak in Brazil. **Jornal de Pediatria**, Rio de Janeiro, v. 92, n. 3, p. 230-240, 2016.

OLAJUYIGBE, F. M.; ADETUYI, O. Y.; FATOKUN, C. O. Characterization of free and immobilized laccase from *Cyberlindnera fabianii* and application in degradation of bisphenol A. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 125, p. 856-864, 2019.

OLIVO, A. M.; ISHIKI, H. M. O reuso da água sob aspectos da aplicabilidade e determinações legais. **Fórum Ambiental da Alta Paulista**. Tupã, V. 8, nº 2 15 fevereiro de 2012. Disponível em:<http://amigosdanatureza.org.br/publicacoes/index.php/forum_ambiental/article/view/239/237>. Acesso em: 03/03/2019.

ONU. FAO. Food and agriculture organization of the united nations. <https://nacoesunidas.org/fao-cria-guia-para-reduzir-pegada-de-carbono-do-cultivo-de-bananas>. Publicado em 22/02/2018. Acesso em: 29.03.2019.

ORGANIZAÇÃO DAS NAÇÕES UNIDAS – ONU. UN - **Water Statement on Water Quality**. Paris, 2010. Disponível em: <http://www.unwater.org/downloads/unw_wwd_statement1.pdf>. Acesso em: 08/03/2019.

ORTIZ-MONSALVE, S. **Estudos de descoloração de corantes para couro pelo isolado nativo *Trametes villosa* SC10**. 171 p. Dissertação (mestrado) - Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Faculdade de Engenharia Química, Porto Alegre, RS. 2015.

OSIMITZ, T.G.; GROTHAUS, R.H. The present safety assessment of DEET. **Journal of the American Mosquito Control Association**, Sacramento, v. 11, n. 2, p. 274-278, 1995.

OSIMITZ, T.G.; MURPHY, J.V. Neurological effects associated with use of the insect repellent N,N-diethyl-m-toluamide (DEET). **Journal of Toxicology: Clinical Toxicology**, London, v. 35, n. 5, p. 435-441, 1997.

OSMA, J. F.; HERRERA, J. L. T.; COUTO, S. R. Banana skin: a novel waste for laccase production by *Trametes pubescens* under solid-state conditions. Application to synthetic dye decolouration. **Dyes and Pigments**, v. 75, n. 1, p. 32-37, 2007.

PAN AMERICAN HEALTH ORGANIZATION. Epidemiological alert: neurological syndrome, congenital malformations, and Zika virus infection. **Implications for Public Health in the Americas**. 01 de dezembro de 2015b. Disponível em: <<https://www.paho.org/hq/dmdocuments/2015/2015-dec-1-cha-epi-alert-zika-neuro-syndrome.pdf>>. Acesso em: 02 mar. 2018.

PARK, Y. et al. Overproduction of laccase by the white-rot fungus *Pleurotus ostreatus* using apple pomace as inducer. **Mycobiology**, v. 42, n. 2, p. 193-197, 2014.

PATEL, R.V. et al. EPA-registered repellents for mosquitoes transmitting emerging viral disease. **Pharmacotherapy**, Lenexa, v. 36, n. 12, p. 1272-1280, 2016.

PAULA-JUNIOR, W.; ROCHA, F. H.; DONATTI, L.; FADEL-PICHETH, C. M. T.; WEFFORT-SANTOS, A. M. Atividades leishmanicida, bactericida e antioxidante do extrato hidroetanólico das folhas de *Caryocar brasiliense* Cambess. **Revista Brasileira de Farmacognosia**. João Pessoa, vol.16, 2006.

PAUMGARTTEN, F. J. R. & DELGADO, I. F. Repelentes de mosquitos, eficácia para prevenção de doenças e segurança do uso na gravidez. **Vigil. Sanit. Debate**, 2016.

PEREIRA, T. V., SEYE, O. Caracterização física térmica de biomassa, São Carlos, SP, **Anais 67ª Reunião Anual da SBPC**, 2015.

PEZZELLA, C. et al. The *Pleurotus ostreatus* laccase multi-gene family: isolation and heterologous expression of new family members. **Current Genetics**, v. 55, n. 1, p. 45-57, 2009.

PICART, P.; DE MARÍA, P. D.; SCHALLMEY, A. From gene to biorefinery: microbial β -etherases as promising biocatalysts for lignin valorization. **Frontiers in Microbiology**, v. 6, 4, 2015.

PINKOSKI, P. I. **Produção de lacase e descoramento do vermelho congo e verde malaquita pelo *Pycnoporus sanguineus* e *Trametes versicolor***. 190 p. Tese (doutorado) – Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Programa de Pós-Graduação em Agronomia, Porto Alegre, RS. 1977.

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

PLAZZOTTA, S.; CALLIGARIS, S.; MANZOCCO, L. Application of different drying techniques to fresh-cut salad waste to obtain food ingredients rich in antioxidants and with high solvent loading capacity. **LWT**, v. 89, p. 276-283, 2018.

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

POLONINI, H. C.; BRANDÃO, M. A. F.; RAPOSO, N. R. B. A terapia de reposição hormonal e a saúde da mulher no climatério: riscos e benefícios. **Revista de APS**, v. 14, n. 3, 2011.

- POSTEMSKY, P. D. et al. Pilot-scale bioconversion of rice and sunflower agro-residues into medicinal mushrooms and laccase enzymes through solid-state fermentation with *Ganoderma lucidum*. **Bioresource technology**, v. 231, p. 85-93, 2017.
- PROSAPIO, V.; NORTON, I. Influence of osmotic dehydration pre-treatment on oven drying and freeze drying performance. **LWT**, v. 80, p. 401-408, 2017.
- QIU, H.; JUN, H.W.; MCCALL, J.W. Pharmacokinetics, formulation, and safety of insect repellent N,N-diethyl-3-methyl benzamide (DEET): a review. **Journal of American Mosquito Control Association**, Sacramento, v. 14, n. 1, p. 12-27, 1998.
- QUEIROZ, L. S. et al. Activated carbon obtained from amazonian biomass tailings (acai seed): Modification, characterization, and use for removal of metal ions from water. **Journal of Environmental Management**, v. 270, p. 110868, 2020.
- RAIS, D.; ZIBEK, S. **Biotechnological and biochemical utilization of lignin**. in: berlin, heidelberg: springer berlin heidelberg, 2017.
- RAMOS, F. M.; MOREIRA, R. S. Composição química inorgânica da bananeira musa *Acuminata simmonds*, cultivar nanicão. **Ciência e Cultura**, v. 24, p. 70, 1972.
- RAMPINELLI, J. R. **Utilização da casca de banana para a produção de lacase por *Pleurotus sajor-caju* CCB 019** -Florianópolis, SC, p. 132, doutorado 2016.
- RAO, P.; RATHOD, V. Valorization of food and agricultural waste: a step towards greener future. **The Chemical Record**, v. 19, n. 9, p. 1858-1871, 2019.
- RASHAD, M. M. et al. Utilization of some food processing wastes for production of *Pleurotus ostreatus* pectinases. **Advances in Food Sciences**, v. 31, n. 3, p. 151-157, 2009.
- RAZZOLI, M., VALSECCHI, P., PALANZA, P. Chronic exposure to low doses bisphenol A interferes with pair-bonding and exploration in female Mongolian gerbils. **Brain Research Bulletin**, 65(3), 249–254.doi:10.1016/j.brainresbull. 2004.11.013
- RIBEIRO, B. et al. Media coverage of the Zika crisis in Brazil: the construction of a ‘war’ frame that masked social and gender inequalities. **Social Science & Medicine**, v. 200, p. 137-144, 2018.
- RINALDI, R. et al. Paving the way for lignin valorisation: recent advances in bioengineering, biorefining and catalysis. **Angewandte Chemie International Edition**, v. 55, n. 29, p. 8164–8215, 2016.
- RIVA, S. Laccases: blue enzymes for green chemistry. **Trends in Biotechnology**, v. 24, n. 5, 2006.
- ROBBINS, P.J.; CHERNIACK, M.G. Review of the biodistribution and toxicity of the insect repellent N,N-diethyl-m-toluamide (DEET). **Journal of Toxicology Environmental Health. Journal of Toxicology Environmental Health**, London, v. 18, n. 4, p. 503-525, 1986.
- RODRÍGUEZ-COUTO, S. Solid-state fermentation for laccases production and their applications. in: current developments in Biotechnology and Bioengineering. **[s.l.] Elsevier**, p. 211–234, 2018.
- ROESLER, R.; CATHARINO, R. R., MALTA, L. G., EBERLIN, M. N., PASTORE, G. Antioxidant activity of *Caryocar brasiliense* (pequi) and characterization of components by

- electrospray ionization mass spectrometry. **Food Chemistry**. Londres, v. 110, p. 711–717, 2008.
- ROESLER, R. et al. Atividade antioxidante de frutas do cerrado. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 27, n. 1, p. 53-60, 2007.
- ROSALES, E.; COUTO, S. Rodríguez; SANROMÁN, A. New uses of food waste: application to laccase production by *Trametes hirsuta*. **Biotechnology Letters**, v. 24, n. 9, p. 701-704, 2002.
- ROSALES, E.; RODRÍGUEZ COUTO, S.; SANROMÁN, M. A. Increased Laccase Production by *Trametes Hirsuta* grown on ground orange peelings. **Enzyme and Microbial Technology**, v. 40, n. 5, p. 1286–1290, abr. 2007.
- RUBIN, B. S. Bisphenol A: an endocrine disruptor with widespread exposure and multiple effects. **The Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology**, v. 127, n. 1-2, p. 27-34, 2011.
- SALES, L. A.; DE FREITAS, H. L. G.; DE LIMA, J. E. S. Contaminação por disruptores endócrinos em água potável. **Encontros Universitários da UFC**, v. 2, n. 1, p. 2577, 2017.
- SANCHEZ, S.; DEMAIN, A. L. Useful Microbial Enzymes—An Introduction. In: *Biotechnology of Microbial Enzymes*. [s.l.] Elsevier, p. 1–11. 2017.
- SÁNCHEZ-RAMÍREZ, J. et al. Cellulases immobilization on chitosan-coated magnetic nanoparticles: application for *Agave atrovirens* lignocellulosic biomass hydrolysis. **Bioprocess and Biosystems Engineering**, v. 40, n. 1, p. 9-22, 2017.
- SANTAMARTA, J. A ameaça dos disruptores endócrinos. **Revista Agroecologia e Desenvolvimento Rural Sustentável**, v. 2, n. 3, p. 368-378, 2001.
- SANTOS, E. C. S; JUNIOR, L. D. Caracterização química de resíduos agroindustriais e de extrativismo na Amazônia. **Congresso Técnico Científico da Engenharia e da Agronomia**, Foz do Iguaçu, 2016.
- SANTOS, G. M. et al. Correlação entre atividade antioxidante e compostos bioativos de polpas comerciais de açaí (*Euterpe oleracea* Mart). **Archivos Latinoamericanos de Nutrición**, v. 58, n. 2, p. 187-192, 2008.
- SATIRO, J. R. et al. Estudo potencial da casca de coco verde para obtenção de etanol lignocelulósico. **Anais do Congresso Norte Nordeste de Pesquisa e Inovação**. Palmas, 2012.
- SCHIRMANN, J. G. et al. Selective control for the laccase-catalyzed synthesis of dimers from 2,6-D yp Op z f ,5,5'-Tetramethoxy-Biphenyl-4,4'-Diol synthesis using factorial design, and evaluation of its antioxidant action in biodiesel. **Applied Catalysis A: General**. v. 555, p. 88–97. 2018.
- SCHUTYSER, W. et al. Chemicals from lignin: An interplay of lignocellulose fractionation, depolymerisation, and upgrading. **Chemical Society Reviews**, v. 47, n. 3, p. 852–908, 2018.
- SEBRAE. O cultivo e Mercado do abacaxi. disponível em 07/01/2016<
<http://www.sebrae.com.br>>
- SHIRAISHI, I. S. Análise do perfil de metabólitos resultante da modificação enzimática da lignina Kraft pelos isolados fúngicos Br-274 e JUMAD002, **Repositório UTFPR**, Londrina, 2017.

- SHISHIR, M. R. I.; CHEN, W. Trends of spray drying: A critical review on drying of fruit and vegetable juices. **Trends in Food Science & Technology**, v. 65, p. 49-67, 2017.
- SILVA, D. I. S. et al. Alterações dos constituintes antioxidantes no resíduo de abacaxi (*Ananas comosus*) durante o processo de secagem. **Culturas e Produtos Industriais**, v. 50, p. 557-562, 2013.
- SILVA, M. Resolução N° 357. 057. CONAMA. DOU 357: 58-63 p. 2005.
- SINGH ARORA, D.; KUMAR SHARMA, R. Ligninolytic fungal laccases and their biotechnological applications. **Applied Biochemistry and Biotechnology**, v. 160, n. 6, p. 1760–1788, 2010.
- SOARES DE ARAÚJO, J. S. et al. Microcephaly in north-east Brazil: a retrospective study on neonates born between 2012 and 2015. **Bulletin of the World Health Organization**, Geneva, v. 94, n. 11, p. 835-840, 2016.
- SOARES, G. M. B. **Aplicação de sistemas enzimáticos a degradação de corantes têxteis**. 173 p. Tese (Doutorado) - Universidade do Minho, Departamento de Engenharia Têxtil, Braga, Portugal. 2000.
- SOUSA DE SÁ, P. G.; GUIMARÃES, A. L.; OLIVEIRA, A. P.; FONTANA, A. P.; DAMASCENO, P. K. F.; BRANCO, C.R. C.; BRANCO, A.; ALMEIDA, J. R. G.S. (2012), Fenóis totais, flavonoides totais e atividade antioxidante de *Selaginella convoluta* (Arn.) Spring (*Selaginellaceae*). **Rev. Ciênc Farm Básica Apl.** 33(4):561-566, 2012.
- SOUTHWELL, B.G. et al. Zika virus-related news coverage and online behavior, United States, Guatemala, and Brazil. **Emerging Infectious Diseases**, Atlanta, v. 22, n. 7, p. 1320-1321, 2016.
- SOUZA, A. F.; ROSADO, F. R. Utilização de fungos basidiomicetos em biodegradação de efluentes têxteis. **Revista em Agronegócios e Meio Ambiente**. v. 2. p. 121-139. 2009.
- SOUZA, A. V.S. B. **Otimização da produção de lacase pelo fungo *Trametes sp.* para a biorremediação de bisfenol A em meio aquoso**. Teses hdl.handle.net/1884/53037. Curitiba 2017.
- SRIVASTAVA, N. et al. Applications of fungal cellulases in biofuel production: advances and limitations. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 82, p. 2379-2386, 2018.
- STEFANI, G.P. et al. Repelentes de insetos: recomendações para uso em crianças. **Revista Paulista de Pediatria**, São Paulo, v. 27, n. 1, p. 81-89, 2009.
- STICKNEY, R. R.; SHUMWAY, S. E. Occurrence of cellulase activity in the stomachs of fishes. **Journal of Fish Biology**, v. 6, n. 6, p. 779-790, 1974.
- STRASSBERGER, Z.; TANASE, S.; ROTHENBERG, G. The pros and cons of lignin valorisation in an integrated biorefinery. **RSC Adv.**, v. 4, n. 48, p. 25310–25318, 2014.
- SUDAKIN, D.L.; TREVATHAN, W.R. DEET: a review and update of safety and risk in the general population. **Journal of Toxicology: Clinical Toxicology**, London, v. 41, n. 6, p. 831-839, 2003.
- SUKUMARAN, R. K.; ABRAHAM, A.; MATHEW, A. K. Enzymes for Bioenergy. In: SUGATHAN, S.; PRADEEP, N. S.; ABDULHAMEED, S. (Ed.). **Bioresources and Bioprocess in Biotechnology**. Singapore: springer Singapore, p. 3–43 2017.

- SUN, Z. et al. A double-film screening card for rapid detection of organophosphate and carbamate pesticide residues by one step in vegetables and fruits. **Food Control**, v. 81, p. 23-29, 2017.
- SWEENEY, M. D.; XU, F. Biomass converting enzymes as industrial biocatalysts for fuels and chemicals: Recent Developments. **Catalysts**, v. 2, n. 2, p. 244–263, 12 abr. 2012.
- TEIXEIRA, I. **Resolução N° 430**. 430. CONAMA, 2011.
- TEN, E.; VERMERRIS, W. Recent developments in polymers derived from industrial lignin. **Journal of Applied Polymer Science**, v. 132, n. 24, 2015.
- TONDERA, Katharina et al. Emerging contaminants: occurrence, treatment efficiency and accumulation under varying flows. In: **Ecotechnologies for the Treatment of Variable Stormwater and Wastewater Flows**. Springer, Cham. p. 93-109, 2018.
- VANDEN WYMELENBERG, A. et al. Comparative transcriptome and secretome analysis of wood decay fungi *Postia placenta* and *Phanerochaete chrysosporium*. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 76, n. 11, p. 3599–3610, 2010.
- VELTRI, J.C. et al. Retrospective analysis of calls to poison control centers resulting from exposure to the insect repellent N,N-diethyl-m-toluamide (DEET) from 1985-1989. **Journal of Toxicology: Clinical Toxicology**, London, v. 32, n. 1, p. 1-16, 1994.
- VERA, R. et al. Caracterização física de frutos do pequi (*Caryocar brasiliense* Camb.) no Estado de Goiás. **Pesquisa Agropecuária Tropical (Agricultural Research in the Tropics)**, p. 71-79, 2005.
- VIDOVIX, T. B. et al. Bisfenol A adsorption using a low-cost adsorbent prepared from residues of babassu coconut peels. **Environmental Technology**, p. 1-13, 2019.
- VIEIRA, B. C. R. et al. Citogenotoxicidade de repelente comercial para insetos contendo icaridina em células meristemáticas de *Allium cepa* como bioensaio. In: Congresso Brasileiro de Ecotoxicologia, 15. **Anais Eletrônico**, Aracaju, SE, 2018. Disponível em: <http://www.ecotox2018.com.br/wp-content/uploads/2018/12/Anais-Ecotox-2018.pdf>. Acesso em: 17 ago. 2020.
- VIGANO, J. Propriedades termodinâmicas de adsorção de água e cinética de secagem de subprodutos da industrialização do abacaxi *Ananas comusus* L. casca e cilindro central. **Holos**. DOI: <https://doi.org/10.15628/holos.2018.5334>. 2012.
- VILLELA, S. M. et al. Imobilização de lacase e seu uso no tratamento de efluentes de indústrias papeleiras PubliSBQ On-line version ISSN 1678-7064 Printed version ISSN 0100-4042 **Química Nova**. 2006.
- VOBĚRKOVÁ, S. et al. Effect of inoculation with white-rot fungi and fungal consortium on the composting efficiency of municipal solid waste. **Waste Management**, v. 61, p. 157-164, 2017.
- WANG, F. et al. Fungal laccase production from lignocellulosic agricultural wastes by solid-state fermentation: A Review. **Microorganisms**, v. 7, n. 12, p. 665, 2019.
- WOOD, T. M.; BHAT, K. M. Methods for measuring cellulase activities. In: Methods in enzymology. **Academic Press**, p. 87-112.1988.
- WORLD BANK. What a waste. A global review of solid waste management. Disponível em:<<http://web.worldbank.org/WBSITE/EXTERNAL>> Acesso em: 16.03.2019. 2012.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. Pregnancy management in the context of Zika virus infection. **Interim Guidance**. Geneva, 2016. Disponível em: <https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/204520/WHO_ZIKV_MOC_16.2_eng.pdf;jsessionid=B567884ADDB3D2EB61CC09153080CA08?sequence=1>. Acesso em: 01 out. 2018.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. WHO Director-General summarizes the outcome of the emergency committee regarding clusters of microcephaly and Guillain-Barré syndrome. 1 february 2016. Geneva, 2016. Disponível em: <<http://www.who.int/en/news-room/detail/01-02-2016-who-director-general-summarizes-the-outcome-of-the-emergency-committee-regarding-clusters-of-microcephaly-and-guillain-barr%C3%A9-syndrome>>. Acesso em: 20 mar. 2018.

WYMAN, V. et al. Lignocellulosic waste valorisation strategy through enzyme and biogas production. **Bioresource Technology**, v. 247, p. 402-411, 2018.

XIE, S.; RAGAUSKAS, A. J.; YUAN, J. S. Lignin conversion: opportunities and challenges for the integrated biorefinery. **Industrial Biotechnology**, v. 12, n. 3, p. 161–167, 2016.

YAN, L. et al. Adsorption characteristics of bisphenol-A on tailored activated carbon in aqueous solutions. **Water Science and Technology**, v. 74, n. 7, p. 1744-1751, 2016.

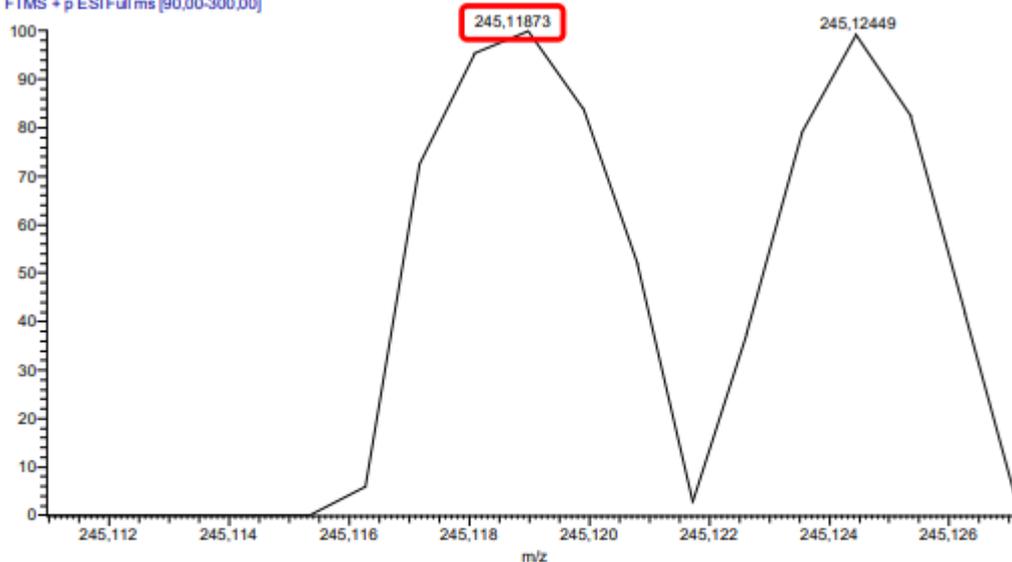
ZHUO, R. et al. Induction of laccase by metal ions and aromatic compounds in *Pleurotus ostreatus* HAUCC 162 and decolorization of different synthetic dyes by the extracellular laccase. **Biochemical Engineering Journal**, v. 117, p. 62-72, 2017.

8.0 ANEXOS

C15H16O3 (modo positivo)

Branco BPA

Branco Bisfenol iso pos 010819 #1-3367 RT: 0,01-15,01 AV: 3367 NL: 7,70
T: FTMS + p ESI Full ms [90,00-300,00]



Idx	Formula	RDB	Delta ppm	
1	C2 H15 O5 N9	0,0	-1,371	
2	C18 H19N	12,0	-4,777	
3	C16 H17 O3	7,5	6,157	
4	C4 H17 O6 N6	-0,5	-6,849	
5	C13 H15 O2 N3	8,0	11,634	
6	C5 H13 O2 N10	4,5	-12,305	
7	C6 H19 O7 N3	-1,0	-12,326	
8	C11 H13 O N6	8,5	17,112	

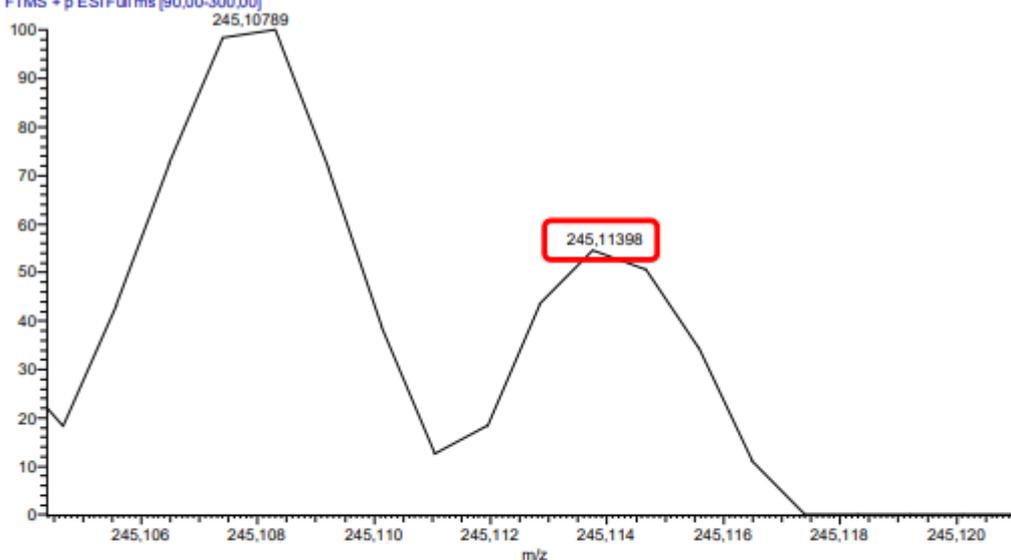
File...

List

Simulate

Branco da amostra

Branco_T12_abacaxi_iso_310719 #1-3367 RT: 0,01-15,01 AV: 3367 NL: 9,90
T: FTMS + p ESIFull.ms [90,00-300,00]



Idx	Formula	RDB	Delta ppm	^
1	C ₁₁ H ₁₃ O ₆ N ₆	8,5	-2,267	
2	C ₁₀ H ₁₇ O ₆ N ₂	3,5	3,190	
3	C ₉ H ₁₁ N ₉	9,0	3,211	
4	C ₁₃ H ₁₆ O ₂ N ₃	8,0	-7,744	
5	C ₈ H ₁₅ O ₄ N ₅	4,0	8,668	
6	C ₁₆ H ₁₇ O ₃	7,5	-13,222	
7	C ₇ H ₁₉ O ₈ N	-1,0	14,124	
8	C ₆ H ₁₃ O ₃ N ₈	4,5	14,145	^

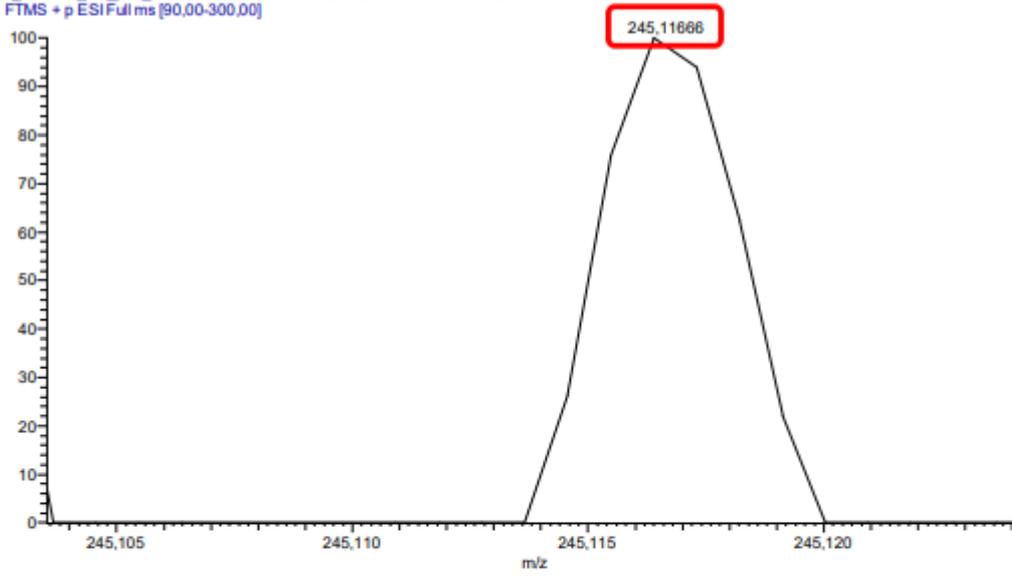
File...

List

Simulate

Amostra:

T12 abacaci_iso_pos_310719 #743-786 RT: 3,31-3,50 AV: 44 NL: 5,31E2
T: FTMS + p ESI Fullms [90,00-300,00]



Idx	Formula	RDB	Delta ppm	
1	C15 H17 O3	7,5	-2,288	^
2	C13 H15 O2 N3	8,0	3,189	
3	C11 H13 O N6	8,5	8,667	
4	C2 H15 O6 N9	0,0	-9,816	
5	C18 H19N	12,0	-13,222	
6	C10 H17 O5 N2	3,5	14,123	
7	C9 H11 N9	9,0	14,145	
8	C4 H17 O6 N6	-0,5	-15,294	v

File...

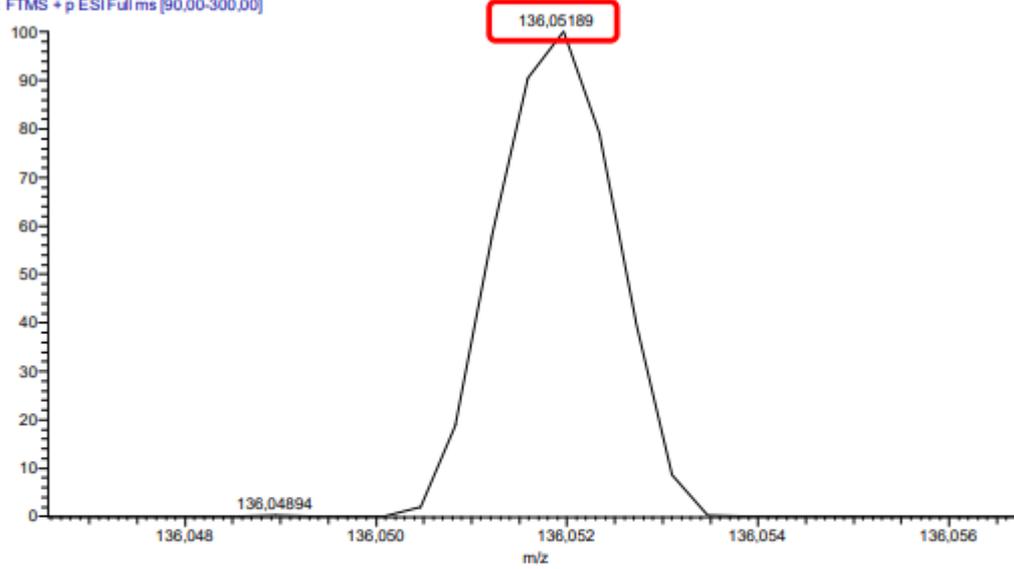
List

Simulate

C6H5ON3 (modo positivo)

Branco BPA

Branco Bisfenol iso pos 010819 #1-3367 RT: 0,01-15,01 AV: 3367 NL: 3,28E3
T: FTMS + p ESI Full ms [90,00-300,00]



Idx	Formula	RDB	Delta ppm	
1	C ₉ H ₈ O ₂	5,0	0,066	^
2	C ₈ H ₆ O ₃ N ₃	5,5	9,935	
3	C ₄ H ₄ N ₆	6,0	19,803	
4	C ₃ H ₈ O ₄ N ₂	1,0	29,634	
5	C ₈ H ₆ O ₃ N ₆	1,5	39,503	
6	H ₆ O ₂ N ₇	1,5	-43,064	
7	C ₂ H ₈ O ₃ N ₄	1,0	-52,933	
8	C ₄ H ₁₀ O ₄ N	0,5	-62,802	∨

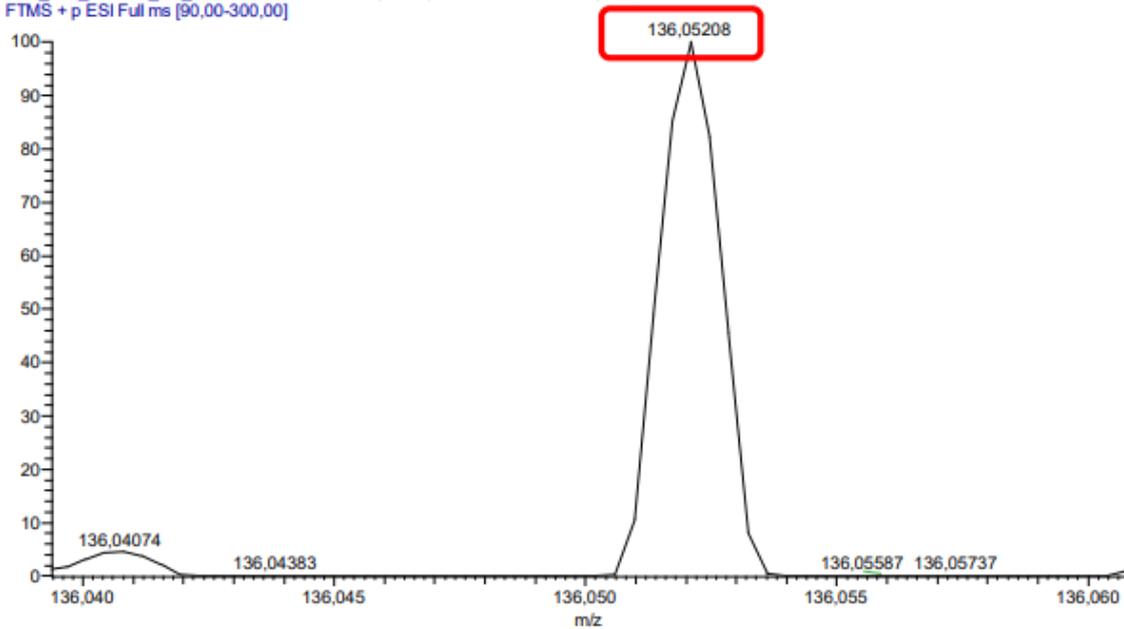
File...

List

Simulate

Branco da amostra:

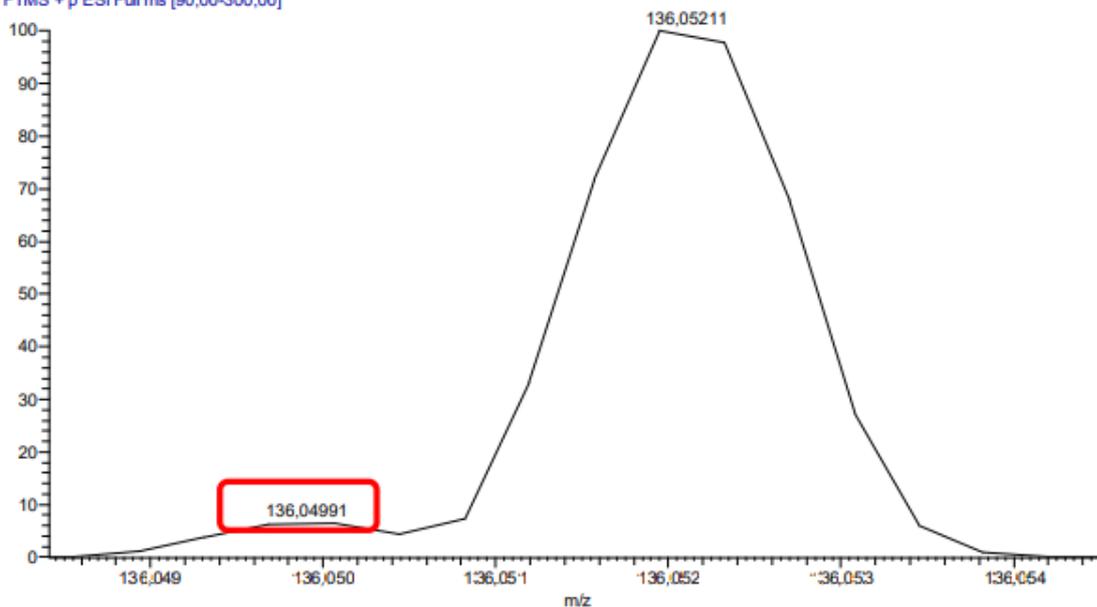
Branco_T12_abacaxi_iso_310719 #1-3367 RT: 0,01-15,01 AV: 3367 NL: 4,24E3
T: FTMS + p ESI Full ms [90,00-300,00]



Idx	Formula	RDB	Delta ppm
1	C ₉ H ₈ O ₂	5,0	1,462
2	C ₈ H ₆ O ₃ N ₃	5,5	11,331
3	C ₄ H ₄ N ₆	6,0	21,200
4	C ₃ H ₈ O ₄ N ₂	1,0	31,030
5	C ₈ H ₆ O ₃ N ₅	1,5	40,899
6	H ₆ O ₂ N ₇	1,5	-41,668
7	C ₂ H ₈ O ₃ N ₄	1,0	-51,536
8	C ₄ H ₁₀ O ₄ N	0,5	-61,405

Amostra:

T12_abacaci_iso_pos_310719 #3010-3060 RT: 13,42-13,64 AV: 51 NL: 5,51E3
T: FTMS + p ESI Full ms [90,00-300,00]

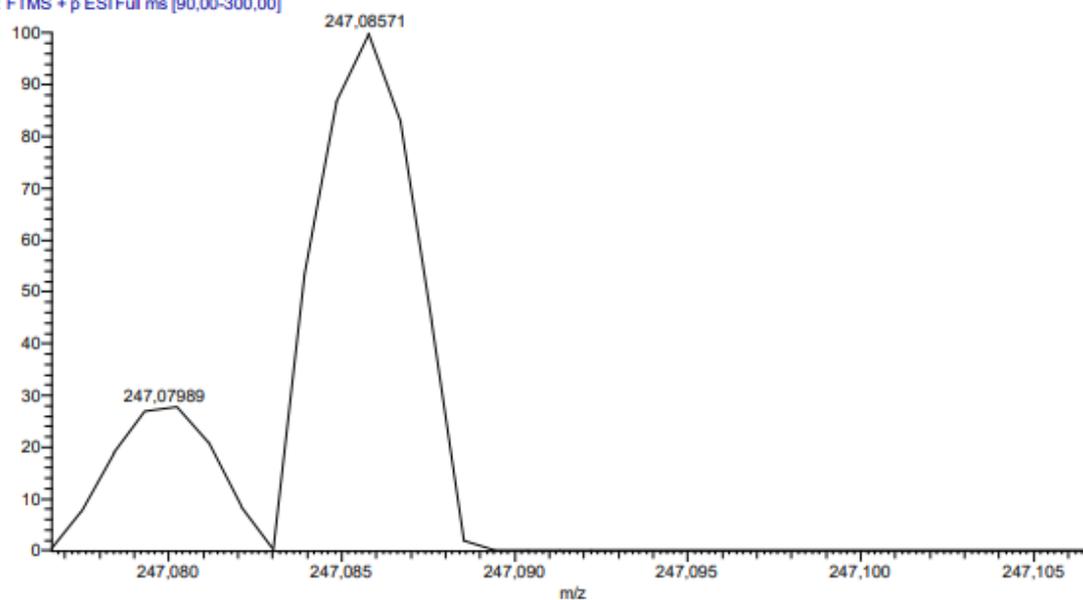


Idx	Formula	RDB	Delta ppm	
1	C ₆ H ₆ O N ₃	5,5	-4,619	^
2	C ₄ H ₄ N ₆	6,0	5,250	
3	C ₈ H ₈ O ₂	5,0	-14,488	
4	C ₃ H ₈ O ₄ N ₂	1,0	15,081	
5	C H ₆ O ₃ N ₆	1,5	24,950	
6	H ₆ O ₂ N ₇	1,5	-57,618	
7	C ₂ H ₈ O ₃ N ₄	1,0	-67,487	
8	C ₄ H ₁₀ O ₄ N	0,5	-77,356	v

C14H14O4 (modo positivo)

Branco do BPA (não tem a molécula)

Branco_bisfenol_grad_pos_010819 #1-3366 RT: 0,01-15,00 AV: 3366 NL: 7,03E1
T: FTMS + p ESI Full ms [90,00-300,00]

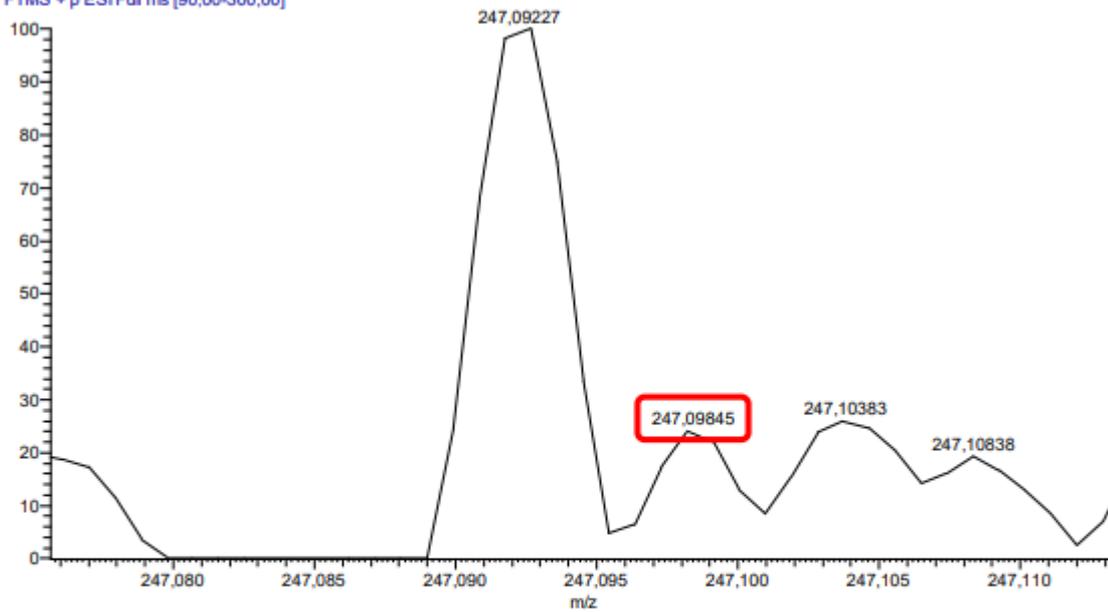


Idx	Formula	RDB	Delta ppm	
1	H11 O6 N10	0,5	-0,180	^
2	C14 H9 N6	13,0	1,874	
3	C16 H11 O N2	12,5	-3,560	
4	C2 H13 O7 N7	0,0	-5,614	
5	C13 H13 O4 N	8,0	7,287	
6	C4 H15 O8 N4	-0,5	-11,048	
7	C11 H11 O3 N4	8,5	12,721	
8	C5 H11 O4 N8	4,5	-16,461	v

CL... L... S...

Branco da amostra

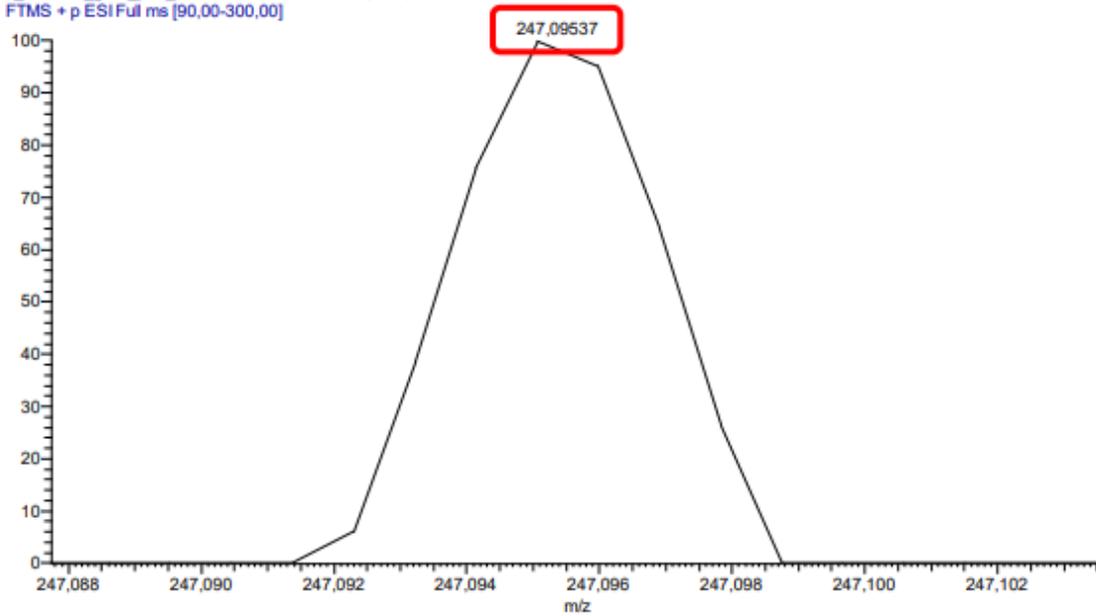
Branco T12_abacaxi_grad_pos_310719 #1-3366 RT: 0,01-15,00 AV: 3366 NL: 5,69E1
T: FTMS + p ESI Full ms [90,00-300,00]



Idx	Formula	RDB	Delta ppm
1	C H13 O6 N9	0,0	0,483
2	C15 H11 N4	12,5	2,538
3	C17 H13 ON	12,0	-2,896
4	C3 H15 O7 N6	-0,5	-4,950
5	C14 H15 O4	7,5	7,950
6	C4 H11 O3 N10	4,5	-10,363
7	C5 H17 O8 N3	-1,0	-10,384
8	C12 H13 O3 N3	8,0	13,384

Amostra:

T12_abacaci_grad_pos_310719 #171-497 RT: 0,76-2,22 AV: 327 NL: 1,26E2
T: FTMS + p ESI Full ms [90,00-300,00]



Idx	Formula	RDB	Delta ppm	
1	C ₁₂ H ₁₃ O ₃ N ₃	8,0	0,920	^
2	C ₁₄ H ₁₅ O ₄	7,5	-4,514	
3	C ₁₀ H ₁₁ O ₂ N ₆	8,5	6,353	
4	C ₁₅ H ₁₁ N ₄	12,5	-9,927	
5	C ₉ H ₁₅ O ₆ N ₂	3,5	11,766	
6	C ₈ H ₉ O ₉ N ₉	9,0	11,787	
7	C ₈ H ₁₃ O ₆ N ₉	0,0	-11,982	
8	C ₁₇ H ₁₃ ON	12,0	-15,361	^