



**SELEÇÃO DE FUNGOS DE SEDIMENTO DO RIO CAPIBARIBE  
CONTAMINADO COM EFLUENTES TÊXTEIS QUANTO À CAPACIDADE DE  
PRODUZIR ENZIMAS DO COMPLEXO FENOLOXIDASE E DE DESCOLORIR  
CORANTES**

**DIANNY CAROLYNE VASCONCELOS DA SILVA**

**RECIFE  
FEVEREIRO/2012**



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO  
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS  
DEPARTAMENTO DE MICOLOGIA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOLOGIA DE FUNGOS**

**SELEÇÃO DE FUNGOS DE SEDIMENTO DO RIO CAPIBARIBE  
CONTAMINADO COM EFLUENTES TÊXTEIS QUANTO À CAPACIDADE DE  
PRODUZIR ENZIMAS DO COMPLEXO FENOLOXIDASE E DE DESCOLORIR  
CORANTES**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biologia de Fungos do Departamento de Micologia do Centro de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Pernambuco, como parte dos requisitos para a obtenção do título de Mestre em Biologia de Fungos.

**Área de Concentração:** Micologia aplicada

**Nome**

Dianny Carolyne Vasconcelos da Silva

**Orientador**

Dra. Cristina Maria de Souza Motta

**Co-orientador**

Dra. Keila Aparecida Moreira

**RECIFE**

**FEVEREIRO/2012**

**Silva, Dianny Carolyne Vasconcelos da**

**Seleção de fungos de sedimento do rio Capibaribe contaminado com efluentes têxteis quanto à capacidade de produzir enzimas do complexo fenoloxidase e de descolorir corantes/ Dianny Carolyne Vasconcelos da Silva– Recife: O Autor, 2012.**

**65 folhas : il., fig., tab.**

**Orientadora: Cristina Maria de Souza Motta**

**Coorientadora: Keila Aparecida Moreira**

**Dissertação (mestrado) – Universidade Federal de Pernambuco, Centro de Ciências Biológicas. Biologia de Fungos, 2012.**

**Inclui bibliografia**

- 1. Fungos 2. Corantes 3. Peroxidase I. Motta, Cristina Maria de Souza (orientadora) II. Moreira, Keila Aparecida (coorientadora) III. Título**

**579.5**

**CDD (22.ed.)**

**UFPE/CCB- 2012- 192**

**SELEÇÃO DE FUNGOS DE SEDIMENTO DO RIO CAPIBARIBE  
CONTAMINADO COM EFLUENTES TÊXTEIS QUANTO À CAPACIDADE DE  
PRODUZIR ENZIMAS DO COMPLEXO FENOLOXIDASE E DE DESCOLORIR  
CORANTES**

**DIANNY CAROLYNE VASCONCELOS DA SILVA**

Data da defesa: 07/03/2012

**COMISSÃO EXAMINADORA**

---

Dra. Cristina Maria de Souza Motta (Orientador)  
Universidade Federal de Pernambuco

---

Dra. Rita de Cássia Mendonça de Miranda – Examinador Externo  
Universidade Federal de Sergipe

---

Dra. Norma Buarque Gusmão – Examinador Interno  
Universidade Federal de Pernambuco

---

Dra. Patricia Vieira Tiago – Suplente Externo  
Universidade Federal de Pernambuco

---

Dr. Bruno Severo Gomes – Suplente Interno  
Universidade Federal de Pernambuco

*Aos meus avós Erivaldo, Ivonete e Iracema (in memoriam)  
e aos meus pais Robson e Edneusa, dedico.*

## Agradecimentos

Agradeço a Deus que sempre esteve presente em todos os momentos da minha vida, me concedendo a oportunidade de aprender com meus erros, me ajudando a levantar nas quedas, iluminando meu caminho e dando-me força e coragem para conquistar meus objetivos.

Aos meus queridos avós Erivaldo Araújo de Vasconcelos, Ivonete Freitas de Vasconcelos e Iracema Rodrigues (*in memoriam*) e Augusto Henrique pelo carinho e amor com que acompanharam todo meu desenvolvimento, contribuindo para minha formação pessoal e intelectual.

Aos meus pais Robson Henrique da Silva e Edneusa Conceição Freitas de Vasconcelos Silva, que sempre estiveram presentes em todos os momentos, acreditando em mim e concedendo-me a oportunidade de estar realizando um sonho.

À minha irmã Juliana Lenice e seu noivo Bruno Rafael e meu primo Sócrates Tagore que torcem por mim, estando sempre ao meu lado, e me dando a mão sempre que preciso de ajuda.

Ao meu namorado Kleyton Lisboa que sempre me dá todo apoio que preciso e me ampara nas horas difíceis com todo amor, carinho e atenção.

À minha família pelo carinho e apoio nos momentos difíceis.

À Universidade Federal de Pernambuco pela oportunidade oferecida na realização do Mestrado em Biologia de Fungos.

À Fundação de Amparo à Ciência e Tecnologia do Estado de Pernambuco (FACEPE), pela bolsa de mestrado concedida para a realização deste trabalho.

Ao Departamento de Micologia da Universidade Federal de Pernambuco e a Chefe do departamento Profa. Dra. Rejane Pereira Neves, pela disponibilização de materiais e das instalações do Laboratório da Micoteca URM e do Laboratório de Citologia e Genética para a realização deste trabalho.

À Universidade Federal Rural de Pernambuco, Unidade Acadêmica de Garanhuns, pela disponibilização de equipamentos e das instalações da Central de Laboratórios de Garanhuns (CENLAG).

À Profa. Cristina Maria de Souza Motta e a Profa. Keila Aparecida Moreira, pelo estímulo, críticas e sugestões, sobretudo pela confiança depositada em meu trabalho.

À Profa. Laura Mesquita Paiva pelo acolhimento no Laboratório de Citologia e Genética e apoio na realização deste trabalho.

A todos os amigos da turma 2010 do Mestrado em Biologia de Fungos, do Laboratório de Citologia e Genética e do Laboratório da Micoteca URM pelos bons momentos e pela amizade.

Em especial à Mona Lisa Venâncio, pela amizade e parceria na realização deste trabalho e na vida.

A todos os amigos que de alguma forma contribuíram para a realização deste trabalho.

## RESUMO GERAL

Os efluentes têxteis contêm grandes quantidades de corantes, que quando lançados no ambiente representam riscos ecológico e de saúde pública, pois são tóxicos à vida aquática e são agentes mutagênicos, carcinogênicos e/ou teratogênicos. Os objetivos deste trabalho foram isolar e identificar fungos filamentosos de sedimento do Rio Capibaribe contaminado com efluentes de lavanderias industriais têxteis e selecionar fungos eficientes na produção de enzimas lignolíticas (manganês peroxidase, lignina peroxidase e lacase) e na descoloração de corantes sintéticos. As coletas do sedimento contaminado com efluentes das indústrias têxteis foram realizadas no município de Toritama-PE. Os fungos filamentosos foram isolados, identificados e selecionados em meio sólido quanto à produção de fenoloxidase. Os fungos selecionados foram analisados quanto à descoloração dos corantes têxteis Índigo Carmine, Azul Brilhante de Remazol e Vermelho Congo e a produção de manganês peroxidase, lignina peroxidase e lacase. Foram isoladas 31 espécies de fungos filamentosos. Os gêneros predominantes foram respectivamente: *Aspergillus*, *Trichoderma* e *Penicillium*. Quanto à seleção dos fungos filamentosos produtores de fenoloxidasas, dos 49 isolados testados 18 demonstraram potencial para a produção da enzima. *Fusarium redolens*, *Westerdykella dispersa*, *Aspergillus terreus* I foram as espécies que demonstraram os maiores valores para a atividade de manganês peroxidase. Para a produção de lignina peroxidase o melhor produtor foi *Aspergillus terreus* II. Entre os produtores de lacase, *Aspergillus terreus* I e *Aspergillus terreus* III demonstraram os melhores resultados. Quanto à descoloração dos corantes têxteis, *Trichoderma hamatum* II e *Aspergillus terreus* II apresentaram absorvância igual a zero ao longo de todo o espectro. Os resultados constataram que fungos filamentosos isolados de sedimento contaminado são eficientes na descoloração de corantes industriais têxteis e na produção de enzimas lignolíticas.

**Palavras-chave:** Fungos filamentosos, corantes têxteis, manganês peroxidase, lignina peroxidase e lacase.

## ABSTRACT

The effluent contains large amounts of textile dyes, and when released into the environment threatening ecological and public health, because they are toxic to aquatic life and are potential mutagens, carcinogens and / or teratogenic. The objectives of this study were to isolate and identify filamentous fungi of the Capibaribe river sediment contaminated with effluents from textile industrial laundries and select efficient production of fungal ligninolytic enzymes (manganese peroxidase, lignin peroxidase and laccase) and decolorization of synthetic dyes. The samples of sediment contaminated with effluents from textile industries were collected in the city of Toritama-PE. The fungi were isolated, identified and selected on solid medium for the production of phenoloxidase. The selected fungi were analyzed for decolorization of textile dye Indigo carmine, Remazol Brilliant Blue and Congo red and the production of manganese peroxidase, lignin peroxidase and laccase. Thirty-one species of filamentous fungi were isolated. The predominant genera were: *Aspergillus*, *Penicillium* and *Trichoderma*. Concerning the selection of filamentous fungi producing phenoloxidases, among 49 isolates, 18 were producers of this enzyme. *Fusarium redolens*, *Westerdykella dispersa*, *Aspergillus terreus* I were the species that showed the highest values for the activity of manganese peroxidase. For the production of lignin peroxidase the best producer was *Aspergillus terreus* II. Among the producers of laccase, *Aspergillus terreus* I and *Aspergillus terreus* III demonstrated the best results. As for discoloration of textile dyes, *Trichoderma hamatum* II and *Aspergillus terreus* II presented absorbance equals zero throughout the spectrum. The results found that filamentous fungi isolated from contaminated sediment are efficient in the decolorization of industrial textiles dyes and in the production of ligninolytic enzymes.

**Key-words:** Filamentous fungi, textile dyes, manganese peroxidase, lignin peroxidase and laccase.

## Lista de figuras

	Pág.
Figura 1 – Municípios pertencentes ao polo têxtil e de confecções do Estado de Pernambuco.....	16
Figura 2 – Fórmula estrutural do corante Índigo Carmine.....	19
Figura 3 – Fórmula estrutural do corante Azul Brilhante de Remazol R.....	20
Figura 4 – Fórmula estrutural do corante Vermelho Congo.....	20
Figura 5 – Diagrama em fita da lacase de <i>T. versicolor</i> .....	29
Figura 6 – Mecanismo de ação da lacase para substrato fenólico e não fenólico.....	30
Figura 7 – A estrutura geral de manganês peroxidase.....	31
Figura 8 – Ciclo catalítico da enzima manganês peroxidase.....	32
Figura 9 – Estrutura geral de lignina peroxidase.....	33
Figura 10 – Ponto de coleta do sedimento no município de Toritama – PE.....	34
Figura 11 – Colônias fúngicas isoladas de sedimento do rio Capibaribe contaminado com efluentes têxteis.....	41
Figura 12 – Macroscopia e microscopia eletrônica de varredura de espécies de <i>Trichoderma</i> sp. isoladas de sedimentos do rio Capibaribe contaminados com efluentes têxteis no município de Toritama - PE. <i>T. hamatum</i> (A-B), <i>T. aureoviride</i> (C-D), <i>T. viride</i> (E-F) e <i>T. virens</i> (G-H).....	42
Figura 13 – Espécies isoladas do sedimento do rio Capibaribe contaminado com efluente têxtil. <i>A. tamaritii</i> (A); <i>A. terreus</i> (B); <i>T. harzianum</i> (C); <i>A. niger</i> (D); <i>A. clavato-nanica</i> (E); <i>P. chrysogenum</i> (F).....	43
Figura 14 – Halo de produção de fenoxidase de <i>Talaromyces</i> sp.....	44
Figura 15 – Atividade total de manganês peroxidase (U.L <sup>-1</sup> ) na descoloração de Índigo Carmine, Azul Brilhante de Remazol e Vermelho Congo, em condição estática (A) e sob agitação (B).....	47
Figura 16 – Atividade total de lignina peroxidase (U.L <sup>-1</sup> ) na descoloração de Índigo Carmine, Azul Brilhante de Remazol e Vermelho Congo, em condição estática (A) e sob agitação (B).....	49
Figura 17 – Atividade total de lacase (U.L <sup>-1</sup> ) na descoloração de Índigo Carmine, Azul Brilhante de Remazol e Vermelho Congo, em condição estática (A) e sob agitação (B).....	51

Figura 18 – Espectro de absorção dos corantes Indigo Carmine (A), Azul Brillante de Remazol (B) e Vermelho Congo (C) antes e depois do tratamento, em condição estática.....	52
Figura 19 – Espectro de absorção dos corantes Indigo Carmine (A), Azul Brillante de Remazol (B) e Vermelho Congo (C) antes e depois do tratamento, sob agitação (130rpm).....	54
Figura 20 – Descoloração do corante Índigo Carmine por <i>T. harzianum</i> I (A), <i>T. hamatum</i> I (B), <i>T. harzianum</i> II (C), <i>T. viride</i> (D), <i>T. koningii</i> (E), <i>A. terreus</i> I (F), após 8 dias de incubação.....	55

## Lista de tabelas

	<b>Pág.</b>
Tabela 1 – Propriedades químicas do sedimento em diferentes pontos de coleta no Município de Toritama – PE.....	35
Tabela 2 – Corantes sintéticos utilizados nas indústrias têxteis.....	37
Tabela 3 – Temperatura e umidade do sedimento do rio Capibaribe coletado no município de Toritama-PE.....	39
Tabela 4 – Número de isolados de fungos do sedimento do rio Capibaribe contaminado com efluentes de indústrias têxteis do município de Toritama-PE, Brasil.....	40
Tabela 5 – Produção de fenoloxidase em meio sólido por fungos filamentosos isolados de sedimentos contaminados com efluentes têxteis no município de Toritama – PE.....	45

## SUMÁRIO

	<b>Pág.</b>
1. INTRODUÇÃO.....	13
2. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA.....	15
2.1. Industriais têxteis.....	15
2.1.1. Polo têxtil e de confecções do Agreste Pernambucano.....	15
2.2. Corantes têxteis.....	17
2.2.1. Indigo Carmine.....	19
2.2.2. Azul Brilhante de Remazol.....	19
2.2.3. Vermelho Congo.....	20
2.3. Efluentes têxteis.....	20
2.4. Tratamento de efluentes.....	21
2.4.1. Tratamento físico.....	22
2.4.2. Tratamento químico.....	23
2.4.3. Tratamento biológico.....	24
2.5. Fungos.....	25
2.5.1. Fungos na descoloração de corantes e no tratamento de efluentes têxteis.....	26
2.6. Produção de enzimas por fungos.....	27
2.6.1. Enzimas lignolíticas.....	28
2.6.1.1. Lacase.....	29
2.6.1.2. Manganês peroxidase.....	31
2.6.1.3. Lignina peroxidase.....	32
3. MATERIAIS E MÉTODOS.....	34
3.1. Área de coleta.....	34
3.2. Coleta do sedimento.....	34
3.3. Análise físico-química do sedimento.....	35
3.4. Isolamento dos fungos.....	35
3.5. Identificação dos fungos isolados.....	36
3.6. Seleção dos fungos filamentosos produtores de fenoloxidasas.....	36
3.7. Avaliação quanto à capacidade de descolorir corantes têxteis.....	36
3.8. Quantificação da produção das enzimas do complexo fenoloxidase.....	37
3.8.1. Lignina peroxidase.....	37
3.8.2. Manganês peroxidase.....	37

3.8.3. Lacase.....	38
3.9. Obtenção do espectro de absorção ultravioleta e visível.....	38
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	39
4.1. Análises do sedimento.....	39
4.2. Fungos filamentosos isolados de sedimento contaminado.....	40
4.3. Fungos produtores de fenoloxidase.....	44
4.4. Atividade enzimática de fungos filamentosos produtores de fenoloxidases em meio líquido.....	46
4.5. Descoloração de corantes têxteis por fungos filamentosos.....	51
5. CONCLUSÕES.....	56
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	57

## 1. INTRODUÇÃO

O crescimento da atividade industrial e o aumento populacional têm frequentemente causado inúmeros problemas ambientais (Barreto *et al.*, 2011). A indústria, depois da agricultura, é o setor produtivo que mais utiliza a água para seus mais diversos processos, sendo considerada grande consumidora e ao mesmo tempo responsável pelo lançamento, muitas vezes direto, dos seus efluentes nos cursos d'água (Dullius, 2004).

Ao considerar que a indústria têxtil é responsável por grande parte da economia dos países desenvolvidos e em desenvolvimento, avalia-se que, pelo grande volume de produção, também é significativa a quantidade de resíduos (sólidos, líquidos e gasosos) por ela produzidos. Estes resíduos, oriundos das operações de limpeza, tingimento e acabamento do produto, são responsáveis pela geração de uma grande quantidade de efluentes contendo elevada carga orgânica, cor acentuada e compostos químicos tóxicos ao homem e ao meio ambiente (Hassemer; Sens, 2002; Kamida *et al.*, 2005).

A contaminação da água dos rios e o conseqüente comprometimento destes têm levado à realização de pesquisas para desenvolver novas tecnologias capazes de degradar ou imobilizar estes compostos, minimizando o volume e a toxicidade dos efluentes industriais têxteis (Kunz *et al.*, 2002). Existem basicamente três tipos de tratamento para estes efluentes: físicos, químicos e biológicos (Kamida *et al.*, 2005). No entanto, apesar do desenvolvimento de várias técnicas físico-químicas de descoloração, nos últimos anos, poucas têm sido eficazes, devido ao seu alto custo, baixa eficiência e inaplicabilidade em uma grande variedade de corantes (Machado *et al.*, 2006).

Quanto ao tratamento biológico de efluentes têxteis, estes apresentam grande potencial por ser uma alternativa de baixo custo e que pode gerar produtos que não agredem o meio ambiente (Machado *et al.*, 2006; Barreto *et al.*, 2011). No tratamento biológico podem ser empregados diferentes micro-organismos, incluindo fungos, devido à facilidade de manipulação, por apresentarem crescimento rápido e alta capacidade adaptativa (Shedbalkar *et al.*, 2008).

A utilização de micro-organismos nativos ou introduzidos no ambiente alterado, ou mesmo a captação e disposição do resíduo nocivo em locais de tratamento é realizada com sucesso em refinarias de petróleo, indústrias têxteis, de celulose, farmacêutica, dentre outras. No entanto, para que a biodegradação ocorra com eficiência se faz necessário procurar no ambiente micro-organismos que possuam os dispositivos metabólicos

apropriados para mineralizar, iniciar a degradação ou diminuir o efeito tóxico de determinados compostos (Conceição *et al.*, 2005).

Em estudos realizados, os fungos têm apresentado a capacidade de mineralizar, pelo menos parcialmente e em alguns casos completamente, uma variedade de poluentes resistentes à degradação, pois estes secretam uma grande diversidade de eficientes enzimas no ambiente, entre estas as enzimas lignolíticas. Estas são utilizadas para auxiliar sua nutrição, sendo responsáveis pela deterioração de vários materiais naturais, refinados ou processados (Kunz *et al.*, 2002; Conceição *et al.*, 2005).

As enzimas lignolíticas, incluindo algumas fenoloxidasas (lignina peroxidase, manganês peroxidase e lacase), têm assumido papel importante na biorremediação devido à capacidade em degradar materiais lignocelulolíticos, compostos fenólicos e xenobióticos, podendo ser utilizadas no tratamento de efluentes provenientes de indústrias têxteis, de papéis, cosméticos, tintas, solventes e farmacêuticas (Bon *et al.*, 2008).

Os objetivos deste trabalho foram isolar e identificar fungos filamentosos de sedimento do Rio Capibaribe contaminado com efluentes de lavanderias industriais têxteis e selecionar fungos eficientes na produção de enzimas lignolíticas (manganês peroxidase, lignina peroxidase e lacase) e na descoloração de corantes sintéticos.

## **2. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA**

### **2.1. Industriais têxteis**

O setor têxtil é um dos segmentos de maior tradição entre os setores industriais, tendo destaque na economia de diversos países. No Brasil, o processo de industrialização têxtil teve início no final do século XIX e constitui um fator de significativa importância para a economia, tendo desempenhado um papel de grande relevância no processo de desenvolvimento do país (Hassemer, 2006; Costa, 2008).

Segundo a Associação Brasileira da Indústria Têxtil e de Confecção (ABIT), o setor têxtil e de confecção nacional compreende mais de 30 mil empresas e gera 1,65 milhão de empregos em toda a sua extensa cadeia, que inclui fios, fibras, tecelagens e confecções. Neste contexto, o país tem sido destaque no panorama mundial, sendo o quinto maior produtor têxtil e o quarto maior parque produtivo de confecção, ainda destacando-se na produção e consumo de denim. Este é utilizado como matéria-prima na confecção do jeans, produzindo cerca de 320 milhões de peças jeans por ano, com isto o país se tornou o segundo maior produtor de jeans do mundo.

O Brasil possui vários polos têxteis e de confecções, entre estes os principais são Rio Grande do Sul (Serra Gaúcha), Santa Catarina (Vale do Itajaí), São Paulo (Americana e região, Serra Negra, Águas de Lindóia), Minas Gerais (Belo Horizonte, Divinópolis, Cataguases e Juiz de Fora) e Pernambuco (Caruaru, Riacho das Almas, Toritama e Santa Cruz do Capibaribe) (ABIT, 2011).

#### **2.1.1. Polo têxtil e de confecções do Agreste Pernambucano**

Os municípios de Caruaru, Riacho das Almas, Toritama e Santa Cruz do Capibaribe estão localizados no Agreste Pernambucano (Figura 1) e fazem parte do polo têxtil e de confecções do Estado de Pernambuco, concentrando cerca de 60% dos estabelecimentos industriais do setor no Estado e elevando os níveis de empregabilidade, demonstrando significativa importância para a economia da região (Lucena, 2004).

O polo de confecções se instalou na região na década de 1960, a partir da utilização de sobras de malhas e de tecido jeans trazidos de indústrias do Sul e Sudeste do país. Esta atividade proporcionou para os microempresários da região, matéria-prima de baixo custo

que eram vendidas a preços populares estimulando o crescimento do setor na região, tornando-o nacionalmente conhecido por suas feiras (Costa, 2008).

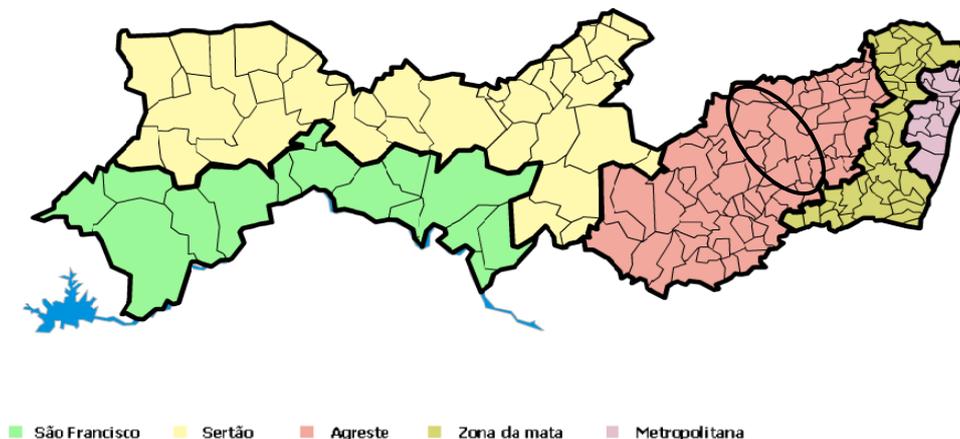


Figura 1. Municípios pertencentes ao polo têxtil e de confecções do Estado de Pernambuco (Fonte: Costa, 2008).

O município de Toritama, conhecido como a capital do jeans, possui 34.825 habitantes (IBGE, 2010) e uma área de 34,8 km<sup>2</sup>. Situada no Agreste Setentrional de Pernambuco, a cidade localiza-se a 167 km do Recife e 36 km de Caruaru. Apesar da reduzida extensão territorial, o município é o maior produtor das regiões Norte e Nordeste, e responsável por 14% da produção nacional de jeans, com cerca de 2 milhões de peças/ano, perfazendo um montante de 6 milhões de reais/ano (CPRH, 2005).

O polo de lavanderias de jeans em Toritama tem grande destaque por reunir mais de 80 indústrias e tinturarias industriais, onde são realizados os processos de beneficiamento do jeans. O processo de beneficiamento proporciona ao jeans o aspecto envelhecido, leve e confortável. As etapas deste processo são lavagem, estonagem, amaciamento, tingimento e branqueamento (Costa, 2008).

Em termos de poluição ambiental causada pelo setor têxtil, o beneficiamento é considerado o mais crítico por empregar, em suas etapas, a maior quantidade de substâncias químicas de alto risco ambiental, sendo potenciais poluidores dos rios, do solo e do ar (Bastian, 2009). A maior fonte poluidora deste processo são os efluentes gerados que apresentam características variadas, possuindo elevadas concentrações de compostos orgânicos, como gomas, sabão, detergente, álcoois, corantes entre outras substâncias (Dellamatrice, 2005; De Souza; Peralta-Zamora, 2005).

## 2.2. Corantes têxteis

Os corantes sintéticos são frequentemente utilizados na indústria têxtil, gráfica, fotográfica e como aditivos em derivados de petróleo. Aproximadamente 10.000 diferentes corantes e pigmentos são usados industrialmente (Kunz *et al.*, 2002)

Os corantes têxteis são compostos orgânicos que conferem coloração a um determinado substrato (fibra sintética ou natural) e têm a capacidade de absorver seletivamente a luz visível, devido à presença de grupos funcionais cromóforos, tais como nitro, nitroso, azo e grupos carbonila. São caracterizados por dois grupamentos principais: grupo cromóforo que confere a cor e o grupo funcional que permite a fixação nas fibras do tecido (Costa, 2008; Miquelante, 2011).

Mais de 700 mil toneladas de corantes e pigmentos são produzidos mundialmente, com aproximadamente 10.000 diferentes tipos, sendo o Brasil responsável por 2,6% dessa demanda (Lyra *et al.*, 2009).

Segundo Guaratini e Zanoni (2000) os corantes podem ser classificados por sua natureza química ou em termos de sua aplicação ao tipo de fibra. Quanto às propriedades químicas podem ser classificados em diferentes tipos: azo, antraquinona, nitrofenol, trifenilmetano, indigóide e triazina. Entre estes, os corantes azo (-N=N-) representam a classe mais versátil de corantes, e são responsáveis por mais da metade dos corantes sintéticos produzidos anualmente equivalendo a cerca de 60% dos corantes utilizados em indústrias têxteis (Diwaniyan *et al.*, 2010; Barreto *et al.*, 2011). De acordo com Souza e Rosado (2009) através do processo de aplicação os corantes têxteis podem ser classificados em:

- Corantes reativos: são compostos que contém um ou mais grupos reativos capazes de formarem ligações covalentes com um átomo de oxigênio, nitrogênio ou enxofre. Podem ser aplicados em substratos como fibras celulósicas, fibras proteicas e poliamidas. Os principais corantes reativos possuem as funções azo e antraquinona. Apresentam como característica alta solubilidade em água e maior estabilidade da cor no tecido tingido. Exemplo: corante Remazol Vermelho RB , Remazol Brillante Blue R e Turqueza Remazol G.
- Corantes diretos: são constituídos principalmente por corantes azo-compostos (diazo e triazo), possuem a característica de alta solubilidade em água e são aplicados em fibras celulósicas, viscose e polinósica. Exemplos: Violeta direto 51, Azul direto 71, Vermelho direto 80.

- Corantes azóicos: são corantes que apresentam alta afinidade com a celulose, são solúveis em água e podem ser aplicados em fibras celulósicas, seda, viscose e poliamida. O Vermelho Congo é um exemplo deste tipo de corante.
- Corantes ácidos: também chamados de corantes aniônicos, são corantes solúveis em água e com grande importância para tingimento de fibras proteicas e poliamida sintética. Quimicamente são classificados em azo, antraquinona, trimetilmetano, xanteno, nitro, quinolina e ftalocianinas, possuindo ampla coloração e grau de fixação. Exemplo: Telson Blue RR e Metil Orange.
- Corantes de cuba: são um tipo de corante intensamente utilizado em fibras de algodão. São insolúveis em água, porém no processo de coloração são reduzidos em solução alcalina, transformando-se em composto solúvel. Exemplo: Amarelo Cibanon G, o Vermelho Cibanon 2B e Azul Cibanon RSJ.
- Corantes de enxofre: conferem coloração preta, verde-oliva, azul-marinho e marrom a fibras celulósicas. São insolúveis em água e apresentam resíduos altamente tóxicos. Exemplo: Preto enxofre.
- Corantes dispersivos: denominados corantes não iônicos, são utilizados em tintura de fibras sintéticas. São formados por corantes insolúveis em água e aplicados por meio de suspensão. Podem ser aplicados em fibras sintéticas, como poliéster, nylon e fibras acrílicas. Exemplo: Azul dispersivo e Preto dispersivo.

Nas indústrias têxteis os processos existentes são grandes consumidores de água e corantes sintéticos, gerando elevado volume de efluentes corados devido à fixação incompleta dos corantes às fibras. Deste modo cerca de 10-15% do corante utilizado é despejado no ambiente (Mancilha, 2006; Barreto *et al.*, 2011).

Estes efluentes coloridos não são somente desagradáveis esteticamente, mas também representam risco ecológico e de saúde pública, pois são tóxicos à vida aquática, diminuem o oxigênio dissolvido e impedem a penetração da luz solar na água interferindo na fotossíntese. Além disso, muitos dos corantes liberados no ambiente são potenciais agentes mutagênicos, carcinogênicos e/ou teratogênicos (Zhang *et al.*, 2006; Bafana *et al.*, 2008).

### 2.2.1. Índigo Carmine

O índigo é um dos mais antigos corantes industriais e é amplamente utilizado em tingimento de fibras celulósicas, como o jeans. Por apresentar baixa solubilidade com a água, precisa ser transformado em um produto mais solúvel antes de ser aplicado industrialmente, por exemplo, a reação do índigo com o ácido solúvel produzindo o corante Índigo Carmine, também denominado Acid Blue 74 (Bolzon, 2007).

O corante Índigo Carmine (Figura 2) apresenta coloração azul e além de atuar na indústria têxtil, também é utilizado para fins de diagnósticos médicos e nas indústrias farmacêutica e alimentícia (Ammar *et al.*, 2006). É considerado altamente tóxico, podendo causar irritação na pele e mucosas e apresenta alta resistência a tratamentos biológicos convencionais, sendo de difícil remoção de efluentes aquosos (Barka *et al.* 2008).

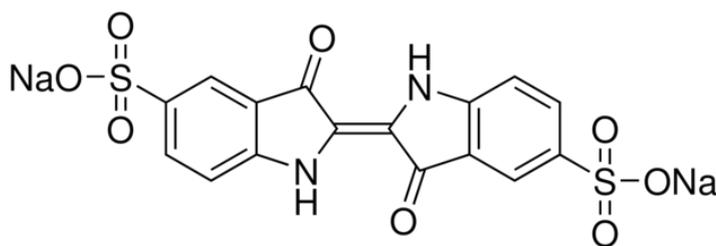


Figura 2. Fórmula estrutural do corante Indigo Carmine (Fonte: Sigma-Aldrich, 2011).

### 2.2.2. Azul Brilhante de Remazol

Azul Brilhante de Remazol R representa uma importante classe de substâncias tóxicas e de organopoluentes ambientais recalcitrantes (Figura 3). Corante reativo é frequentemente usado como matéria-prima na produção de corantes poliméricos, que consistem de um grupo cromóforo e um grupo funcional que liga o corante à fibra, o grupo funcional também se liga a água que causa hidrólise, desta forma 10 a 50% do corante permanece na água residual de tintura, e são altamente resistentes aos processos de tratamento de águas residuais convencionais (Sathishkumar *et al.*, 2012).

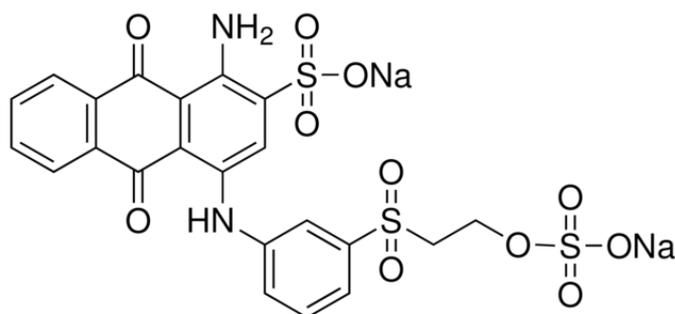


Figura 3. Fórmula estrutural do corante Azul Brilhante de Remazol R (Fonte: Sigma-Aldrich, 2011).

### 2.2.3. Vermelho Congo

O corante azo Vermelho Congo (sal dissódico do ácido benzidinodiazobis-1-nafilamina-4-sulfônico), também denominado Direct Red 28 (DR28), classificado como diazo sulfonato. Este corante apresenta uma estrutura química complexa (Figura 4), alto peso molecular, grande solubilidade em água e persistência quando descarregado em ambientes naturais. Apresentam alto potencial carcinogênico, até mesmo em seus produtos de oxidação, como as aminas aromáticas (Salgado, 2009).

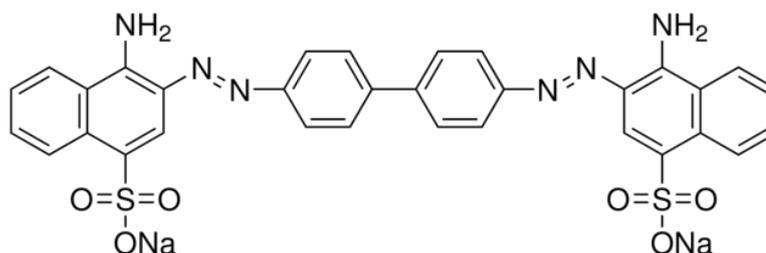


Figura 4. Fórmula estrutural do corante Vermelho Congo (Fonte: Sigma-Aldrich, 2011).

## 2.3. Efluentes têxteis

Nas lavanderias e tinturarias, a água é utilizada como veículo para os produtos químicos que participam do processo de lavagem, tingimento e acabamento dos tecidos e também para remover o excesso de produtos utilizados (Immich, 2006). Para o processo de tingimento de tecidos de algodão é necessário considerável quantidade de água, como consequência são gerados grandes volumes de efluentes contaminados (Costa, 2008).

Os efluentes têxteis são altamente coloridos, devido à presença de corantes que não se fixaram na fibra durante o processo de tingimento. Além dos corantes, os efluentes têxteis apresentam grandes quantidades de sólidos suspensos, altos valores de Demanda Química de Oxigênio (DQO) e de Demanda Bioquímica de Oxigênio (DBO), elevadas temperaturas, acidez ou alcalinidade e outras substâncias que estão presentes como os metais, amido, surfactantes, dispersantes, óleos, emulsificantes, soda cáustica, solventes, sais orgânicos e inorgânicos (Dellamatrice; Monteiro, 2006; Liu *et al.*, 2007).

As indústrias têxteis apresentam grande dificuldade em tratar eficientemente as águas residuárias geradas em seus processos de produção, principalmente em relação à remoção de corantes desses efluentes que, mesmo em pequenas quantidades, conferem cor intensa, constituindo um dos efluentes mais complexos e problemáticos a serem tratados (Vasques *et al.*, 2011).

Estes efluentes quando são lançados no ambiente, sem tratamento adequado, geram problemas estéticos e ambientais ao absorver luz, interferindo significativamente na atividade de fotossíntese e nos processos biológicos próprios do corpo hídrico, causando desequilíbrio no ambiente (Pereira *et al.*, 2010).

Além dos danos ambientais, os efluentes têxteis são considerados substâncias potencialmente tóxicas, por apresentarem corantes sintéticos da família dos azocorantes, os quais possuem caráter carcinogênico e mutagênico, além de elevada resistência à degradação natural (Barreto *et al.*, 2011).

## **2.4. Tratamento de efluentes**

Segundo a Resolução nº 430 de maio/2011, do Conselho Nacional do Meio Ambiente (CONAMA), os efluentes de qualquer fonte poluidora somente poderão ser lançados diretamente no corpo receptor se obedecerem as condições e padrões previstos na resolução, como por exemplo, pH entre 5 e 9, temperatura acima de 3°C e abaixo de 40°C, ausência de material flutuante e remover no mínimo 60% da Demanda Bioquímica de Oxigênio (DBO).

Para cumprir as normas exigidas pela Resolução do CONAMA, existem diversos tipos de tratamentos para os efluentes têxteis, que têm levado à realização de pesquisas para desenvolver novas tecnologias capazes de degradar ou imobilizar estes compostos, minimizando o volume e a toxicidade dos efluentes industriais têxteis (Kunz *et al.*, 2002).

Existem basicamente três tipos de tratamento para os efluentes têxteis: físicos, químicos e biológicos. De um modo geral, o tratamento de efluentes contendo corantes pode ser fundamentado em dois processos: remoção por técnicas que permitam eliminar os compostos por transferência, sem degradar os componentes, ou por utilização de métodos que permitam a degradação parcial ou total (mineralização) dos componentes do efluente têxtil (Kamida *et al.*, 2005).

Os processos de tratamento utilizados em geral pelas indústrias têxteis consistem em sistemas físico-químicos, seguidos de tratamento biológico através do sistema de lodo ativado, embora estes apresentem alta eficiência na remoção da cor do efluente, apresentam um contraponto que é a geração do lodo, que é considerado preocupante do ponto de vista ambiental, pela quantidade de corantes e outras substâncias adsorvidas. Por tudo acima relatado torna-se importante a busca por melhores alternativas de tratamento dos efluentes têxteis (Oliveira *et al.*, 2010; Pereira *et al.*, 2010; Santos *et al.*, 2011).

#### **2.4.1. Tratamento físico**

Tratamentos físicos são baseados em processos de separação de fases (sedimentação, flotação, centrifugação), transição (destilação, evaporação e cristalização), transferência (adsorção) e de separação molecular utilizando membranas seletivas (microfiltração, ultrafiltração, osmose reversa e diálise). Vários métodos têm sido empregados para a degradação de efluentes contendo corantes, e em geral estes métodos fazem parte da primeira etapa do tratamento dos efluentes (Villen, 2001; Srinivasan; Viraraghavan, 2010).

O processo de adsorção é considerado uma das melhores tecnologias no tratamento de efluentes têxteis, apresentando grande aplicabilidade (Forgacs *et al.*, 2004). A descoloração por adsorção pode ser influenciada por alguns fatores como tamanho da partícula do corante, temperatura e tempo de contato (Quintero; Cardona, 2010).

O carvão ativado é considerado como um adsorvente universal para a remoção de poluentes, tais como corantes e metais pesados de águas residuárias, devido às suas áreas de superfície, elevada capacidade de adsorção, rápida adsorção e relativa facilidade de regeneração. No entanto, outros materiais podem ser utilizados como adsorventes alternativos, como o carvão ativado de coco, bambu, casca de eucalipto, quitosana, farelo de trigo, farelo de arroz (Kunz, 2002; Suzuki *et al.*, 2007; Hasan *et al.*, 2010; Sathishkumar *et al.*, 2012).

De modo geral, os processos citados são eficientes na remoção do material particulado, no entanto, as substâncias como os corantes e compostos orgânicos não são degradados ou eliminados, persistindo o problema, pois os poluentes estão concentrados, sem serem efetivamente degradados. Apesar disto, a utilização dos métodos físicos como etapas iniciais de um tratamento possui extrema importância em um tratamento eficaz (Freire *et al.*, 2000).

#### **2.4.2. Tratamento químico**

Os tratamentos químicos vêm apresentando uma enorme aplicabilidade em sistemas ambientais como purificação de ar, desinfecção e no tratamento de água e de efluentes têxteis, em geral estão associados a outro tipo de tratamento, físico ou biológico (Freire *et al.*, 2000).

São considerados como processos químicos, os métodos que utilizam produtos químicos, tais como: agentes de coagulação, floculação, neutralização de pH, oxidação, redução e desinfecção em diferentes etapas do tratamento. Os principais processos são ozonização, clarificação, eletrocoagulação, cloração, oxidação, precipitação, oxidação eletroquímica (Anjaneyulu *et al.*, 2005).

O processo oxidativo é um dos métodos químicos mais usados para o tratamento de efluentes coloridos, principalmente pela aplicação simples. A oxidação ocorre pela remoção do corante do efluente através da quebra de anéis aromáticos existentes nas moléculas dos corantes. Em geral, o agente oxidante utilizado é o peróxido de hidrogênio ( $H_2O_2$ ), variando apenas o processo de ativação, por utilização de íons metálicos ou óxidos semicondutores, tendo como alternativa a utilização de irradiação com luz ultravioleta (Salgado *et al.*, 2009; Ho *et al.*, 2010). Um exemplo é o Reagente de Fenton, onde o peróxido de hidrogênio é ativado por Fe (II), esta é uma técnica utilizada no tratamento de efluentes que são resistentes aos processos biológicos e tem se mostrado eficiente na descoloração de corantes, no entanto gera lodo através dos processos (Mancilha, 2006).

A técnica que utiliza ozônio foi pioneira no início da década de 1970, pois é um bom agente, devido a sua alta instabilidade quando comparado com o  $H_2O_2$ . A oxidação utilizando ozônio pode auxiliar na degradação de diversos compostos fenólicos, hidrocarbonetos clorados ou aromáticos, pesticidas. A vantagem da técnica com ozônio é que este pode ser aplicado na forma gasosa, não aumentando o volume do efluente e do

lodo, já a desvantagem é o tempo de meia vida curto sendo necessária aplicação frequente aumentando os custos do processo (Anjaneyulu *et al.*, 2005).

### 2.4.3. Tratamento biológico

O tratamento biológico recentemente ganhou importância devido à sua eficiência, por apresentar menores custos na aplicação e por poderem gerar produtos que não agredem o meio ambiente. Os métodos biológicos de tratamento de efluentes coloridos possuem várias vantagens sob outros métodos, tais como a mineralização, conversão de compostos tóxicos recalcitrantes em compostos químicos simples, como CO<sub>2</sub> e H<sub>2</sub>O (Gaylarde *et al.*, 2005; Bafana *et al.*, 2008).

Os métodos biológicos de tratamento de efluentes podem ser classificados em aeróbios e anaeróbios. No tratamento aeróbio, os micro-organismos que atuam na degradação dos compostos existentes nos efluentes utilizam a molécula de oxigênio livre comoceptor final de hidrogênio. O tratamento anaeróbio utiliza a molécula de oxigênio ligado aos compostos químicos como receptor final de hidrogênio (Villen, 2001; Barreto *et al.*, 2011).

Os principais processos aeróbios aplicáveis ao tratamento de efluentes são lodo ativado, filtros biológicos e lagoas aeróbias. O sistema de lodo ativado é o processo biológico mais utilizado no tratamento dos efluentes de modo geral e consiste na utilização de micro-organismos que estão em suspensão num meio líquido (efluente) e que são constantemente misturados pelo próprio sistema de aeração, sem necessitar de agitação. Este processo apresenta várias vantagens, como a obtenção de um efluente de excelente qualidade, é um método estável, onde há possibilidade de alterar o tempo de contato entre o efluente e o micro-organismo e possui capacidade de absorver compostos tóxicos. Quanto às desvantagens deste processo está a formação de grande volume de lodo além de um grande consumo de energia (Villen, 2001; Anjaneyulu *et al.*, 2005).

Outra forma de tratamento biológico dos efluentes são as lagoas, que podem ser subdivididas em lagoas de estabilização e de aeração. As lagoas de estabilização são grandes tanques de pequena profundidade, onde as águas residuárias (efluentes) são tratadas naturalmente por processos biológicos. As lagoas aeradas são sistemas semelhantes às lagoas de estabilização, exceto, por existir fornecimento de oxigênio através de aeradores mecânicos (Freire *et al.*, 2000; Campos *et al.*, 2006).

O tratamento anaeróbio ou digestão anaeróbia de substâncias é realizado por fermentação microbiana que ocorre em ambientes que não apresentam oxigênio livre (molecular), é através deste processo de digestão que é formado o biogás (metano e gás carbônico). Os processos anaeróbios são, em geral, mais lentos que os aeróbios, exigindo maior tempo de retenção, no entanto, apresentam uma grande vantagem, além do tratamento do efluente, que é a produção de biogás que pode ser reutilizado para produzir calor e pode reduzir os custos de energia (Robinson *et al.*, 2001; Anjaneyulu *et al.*, 2005).

Nos processos biológicos podem ser empregados diferentes micro-organismos, incluindo os fungos, pois eles são fáceis de manipular, têm velocidade de crescimento rápida e alta capacidade de adaptação (Kamida *et al.*, 2005; Shedbalkar *et al.*, 2008; Yang *et al.*, 2009).

## 2.5. Fungos

Os fungos são organismos eucarióticos, heterotróficos, cuja nutrição ocorre por absorção e sua principal substância de reserva é o glicogênio. São constituídos basicamente por hifas, que agrupadas formam o micélio. As hifas podem ser asseptadas ou cenocíticas, ou podem possuir septos (septadas) que são produzidos em intervalos relativamente regulares ao longo de todo o comprimento da hifa, dividindo-a em compartimentos que possuem um ou mais núcleos. No entanto, nem todos os fungos possuem micélios compostos por hifas, muitas formas são referidas como leveduras, existindo como células únicas que são capazes de se reproduzir rapidamente por gemação ou fissão binária. Os fungos são produtores de esporos e se reproduzem de forma sexuada e assexuada. Estes esporos, devido a sua morfologia e tamanho, podem ser transportados pela água, vento, plantas, subprodutos das plantas e animais, sendo resistentes a oscilações ambientais de temperatura. Outra característica importante é que os fungos possuem parede celular composta principalmente por quitina (Alexopoulos *et al.*, 1996).

São cosmopolitas, vivendo numa ampla variedade de habitats, dentre os quais água, plantas, folhedos, matéria orgânica em decomposição, animais, no homem, outros animais e no solo sendo este considerado um dos principais habitats para população de fungos (Cavalcanti *et al.*, 2006). Muitos fungos são sapróbios degradando matéria orgânica em decomposição, por outro lado um número considerado de espécies tem hábitos parasitas, podendo ser parasita obrigatório (crescendo apenas em tecidos vivos) ou parasita facultativo (crescendo em tecido vivo ou matéria orgânica morta). Os fungos podem ainda

ser simbioses (micorrizas e líquens) ou micoparasitas utilizando outros fungos como alimento (Morceli, 2006).

A disponibilidade de uma fonte de alimento apropriada, umidade, temperatura, pH, luminosidade e quantidade de oxigênio são os principais fatores que influenciam o crescimento fúngico (Alves; Campos, 2003; Guerra *et al.*, 2009). Existem fungos que sobrevivem a condições extremas de pH e temperatura, como os fungos psicrófilos que são capazes de crescer em temperaturas abaixo do ponto de congelamento da água e os termofílicos que têm seu ótimo de crescimento a 40°C e outros suportam temperaturas ainda mais altas (Gomes, 2007).

### **2.5.1. Fungos na descoloração de corantes e no tratamento de efluentes têxteis**

Os fungos são responsáveis pela maior parte das transformações que caracterizam as ciclagens de matéria orgânica no ambiente, possuem grande capacidade de adaptar rapidamente o seu metabolismo a diferentes fontes de carbono e energia, o que é um fator essencial para a sua sobrevivência. Esta característica se deve à produção de uma grande quantidade de enzimas, não específicas, capazes de degradar polímeros de origem vegetal, assim como uma grande variedade de outras moléculas orgânicas (Silva; Esposito, 2004).

Uma grande variedade de fungos são capazes de descolorir corantes têxteis, pois estes secretam enzimas extracelulares capazes de degradar substâncias recalcitrantes, para auxiliar na absorção de nutrientes sendo estas importantes não apenas a sua sobrevivência em ambientes extremos, como também para a manutenção das demais comunidades existente no ambiente (Srinivasan *et al.*, 2010; Perovano Filho *et al.*, 2011).

O mecanismo utilizado pelos fungos para a descoloração de corantes é complexo e envolve as enzimas lignolíticas, lignina peroxidase (LiPs), manganês peroxidase (MnPs) e lacase que são proteínas que agem como catalisadores biológicos e diminuem a energia de ativação das reações. Os fungos, no entanto, diferem entre si na capacidade de degradar os corantes devido às diferenças qualitativas e quantitativas de produção dessas enzimas (Kamida *et al.*, 2005; Barreto *et al.*, 2011).

Fungos ligninolíticos são aqueles que produzem as enzimas ligninolíticas e que geralmente são Basidiomycetes. Este grupo de fungos têm sido amplamente estudados quanto ao seu potencial de degradar uma diversidade de compostos tóxicos, incluindo corantes empregados na indústria têxtil e efluentes têxteis, como *Phanerochaete chrysosporium* na descoloração de corantes azo e indigóide (Diwaniyan *et al.*, 2010;

Enayatzamir *et al.*, 2010; Singh; Pakshirajan, 2010), *Trametes* sp. capaz de descolorir uma variedade de corantes sintéticos incluindo azo, trifenilmetano e antraquinona (Yang *et al.*, 2009; Grassi *et al.*, 2011), *Pleurotus sajor-caju* e *Pleurotus ostreatus* na degradação de efluentes têxteis ( Kamida *et al.*, 2005; Ali; El-Mohamedy, 2011).

Muitos pesquisadores também têm obtido resultados satisfatórios com espécies fúngicas pertencentes a outras classes, confirmando a eficiência dos fungos em degradar corantes e efluentes têxteis, são eles: *Aspergillus niger*, *Aspergillus fumigatus* e *Penicillium* spp. atuando na degradação do efluente têxtil (Jin *et al.*, 2007; Ali; El-Mohamedy, 2011), *Aspergillus flavus* descolorindo o corante azo vermelho reativo 198 (Esmaeili; Kalantari, 2011), *Trichoderma harzianum*, *Aspergillus flavus* var. *flavus*, *Aspergillus ochraceus*, *Cladosporium cladosporioides*, *Penicillium glabrum* e *Penicillium verrucosum* atuando na descoloração de diferentes corantes têxteis (Anastasi *et al.*, 2009; Sadhasivam *et al.*, 2009a).

## 2.6. Produção de enzimas por fungos

As enzimas são proteínas globulares e como toda proteína são heteropolímeros formados por aminoácidos unidos covalentemente por ligações peptídicas (Torres, 2001). Sendo biomoléculas protéicas, as enzimas são altamente especializadas e essenciais para realização dos processos bioquímicos, catalisando reações nos sistemas biológicos apresentando alto grau de especificidade por seu substrato (Nelson *et al.*, 2002; Soares *et al.*, 2010). Sua nomenclatura foi estabelecida pela União Internacional de Bioquímica, através de uma comissão de especialistas (Enzyme Commission – EC), onde os nomes sistemáticos incluem substrato, a reação catalisada e a terminação ase, exemplo: oxidorreduções, transferases, hidrolase, ligases (Sant’Anna Jr., 2001; Tavares, 2006).

As enzimas são amplamente utilizadas, apresentando grande importância na pesquisa científica, nos diagnósticos clínicos, na indústria e nos processos biotecnológicos em geral. Podem ser obtidas a partir dos vegetais superiores (papaína do mamão, bromelina do abacaxi, ficina do *ficus*), animais superiores (pancreatina, tripsina, pepsina, catalase, renina) e micro-organismos (amilases, proteases, pectinases, celulases, entre outras) de origem fúngica ou bacteriana, para as mais diversas finalidades (Lima *et al.*, 2001).

O significativo desenvolvimento dos processos biotecnológicos aumentou a importância das enzimas produzidas por micro-organismos, pois estas enzimas podem

substituir as de origem animal e vegetal por apresentarem vantagens, como: o curto tempo de produção, a contínua produção, o processo fermentativo não demanda muito espaço e a possibilidade de utilização de substratos de baixo custo (Maciel, 2010).

Os fungos têm sido bastante utilizados como produtores de diferentes substâncias de interesse econômico, como: enzimas, antibióticos, vitaminas, aminoácidos e esteróides. As enzimas podem ser aplicadas, em grande escala, na industrialização de detergentes, amido, bebidas, alimentos, têxtil, alimentação animal, polpa, papel, produtos químicos, couro, produtos biomédicos, na degradação de xenobióticos e na biorremediação (Guimarães *et al.*, 2006; Souza *et al.*, 2008).

Fungos que produzem enzimas ligninolíticas têm potencial de degradar uma diversidade de compostos tóxicos e são bastante utilizados no tratamento de poluentes, isto ocorre especialmente por apresentarem mecanismos não específicos na degradação de lignina, um polímero natural que apresenta estrutura aromática complexa de difícil degradação, pela produção de enzimas oxidativas (complexo fenoloxidase) como lacase, manganês peroxidase e lignina peroxidase (Bennet *et al.*, 2002).

### **2.6.1 Enzimas lignolíticas**

A lignina é o segundo polímero aromático mais abundante na natureza com estrutura tridimensional composta por unidades aromáticas de fenilpropano (Praveen *et al.*, 2011) A lignina tem um importante papel no transporte de água, nutrientes e metabólitos, sendo responsável pela resistência mecânica de vegetais, além de proteger os tecidos contra o ataque de micro-organismos. Apresenta estrutura complexa e sua degradação requer processo oxidativo mediado por enzimas lignolíticas (Carvalho *et al.*, 2009).

Enzimas lignolíticas são oxidoredutases e estão inseridas no sistema enzimático fenoloxidase. Estas enzimas são produzidas por um grande número de células vivas (micro-organismos, plantas e animais), no entanto, os principais produtores destas enzimas são fungos da podridão branca que são atuantes na degradação da lignina através da ação destas enzimas, pela presença de sideróforos, quelantes específicos com alta afinidade por metais, os quais formam complexos altamente estáveis e por citocromo P-450 monoxigenase (Silva; Esposito, 2004; Maciel *et al.*, 2010).

O sistema enzimático fenoloxidase inclui as lacases e tirosinases que necessitam de oxigênio molecular para a atividade e as enzimas lignina peroxidase e manganês peroxidase que utilizam o peróxido de hidrogênio em suas reações (Gianfreda; Bollag,

2002). Estas enzimas atuam sob compostos poluentes recalcitrantes, removendo-os ou transformando-os em outros produtos menos tóxicos, pois nestas enzimas faltam à especificidade pelo substrato e, com isso, são capazes de degradar uma ampla faixa de xenobióticos incluindo efluentes corados (De Souza; Peralta, 2003; Conceição *et al.*, 2005).

### 2.6.1.1. Lacase

Lacases são polifenoloxidasas com massa molecular de aproximadamente 70 kDa, que pertencem à família de proteínas globulares multi-cobres que incluem ascorbato oxidase, ceruplasmina e bilirrubina oxidases (Figura 5). Contêm em sua estrutura 10 a 25% de carboidrato *n*-ligado, podendo ainda apresentar estruturas monoméricas, diméricas ou multiméricas, dependendo da espécie ou da isoforma. São enzimas que reduzem o oxigênio molecular à água e, simultaneamente, realizam oxidação de elétrons de vários substratos, como polifenóis, diaminas e alguns compostos inorgânicos (Thurston, 1994; Piontek *et al.*, 2002).

São enzimas produzidas por fungos, plantas superiores, insetos e bactérias. Foi observada pela primeira vez no exsudato da árvore japonesa *Rhus vernicifera* e alguns anos mais tarde foi também observada em fungos (Baldrian, 2006). Nas plantas, lacases são encontradas em repolhos, nabo, batatas, pêras, maçãs e outros vegetais. Em fungos foram isoladas de Ascomycetes, Deuteromycetes e Basidiomycetes (Shraddha *et al.*, 2011), entre eles *Trametes versicolor* (Cordi *et al.*, 2007), *Pleurotus ostreatus* (Mansur *et al.*, 2003), *Tricholoma mongolicum* (Miao *et al.*, 2010), *Xylaria polymorpha* (Chaparro *et al.*, 2009), *Trichoderma atroviride*, *T. longibrachiatum* e *T. viride* (Gochev & Krastanov, 2007), *Aspergillus sclerotiorum* e *Cladosporium cladosporioide* (Bonugli-Santos *et al.*, 2010).

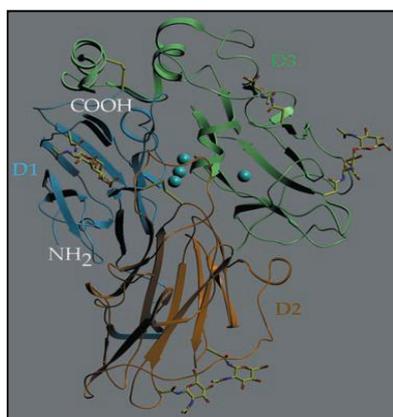


Figura 5. Diagrama em fita da lacase de *T. versicolor* (Fonte: Piontek *et al.*, 2002).

A ação da lacase é garantida pela presença de diferentes sítios de cobre presentes na enzima. Usualmente as lacases de fungos contêm quatro átomos de cobre distribuídos em três sítios de ligação diferentes, que são identificados por densidade eletrônica (Baldrian, 2006). A catálise realizada pela lacase ocorre em três etapas: (1) sítio I redução do cobre pelo substrato; (2) transferência de elétrons do sítio de cobre I para sítio II e sítio III; (3) redução do oxigênio para a água no conjunto trinuclear (Kudanga *et al.*, 2011)

A lacase também pode atuar em substratos não fenólicos através da inclusão de mediadores. Mediadores é um grupo de compostos orgânicos de baixo peso molecular que pode ser oxidado pela lacase primeiro formando cátion altamente ativo capaz de oxidar compostos não fenólicos que a lacase naturalmente não poderia oxidar (Figura 6). Os mediadores sintéticos mais comuns são HBT (1-hidroxibenzotriazol), ABTS (2,2'-azido-bis ácido-3-etilbeniltioazolina-6-sulfônico), VLA (Ácido violúrico) e TEMPO (tetrametil-piperidina-óxido) (Tavares, 2006; Brijwani *et al.*, 2010).

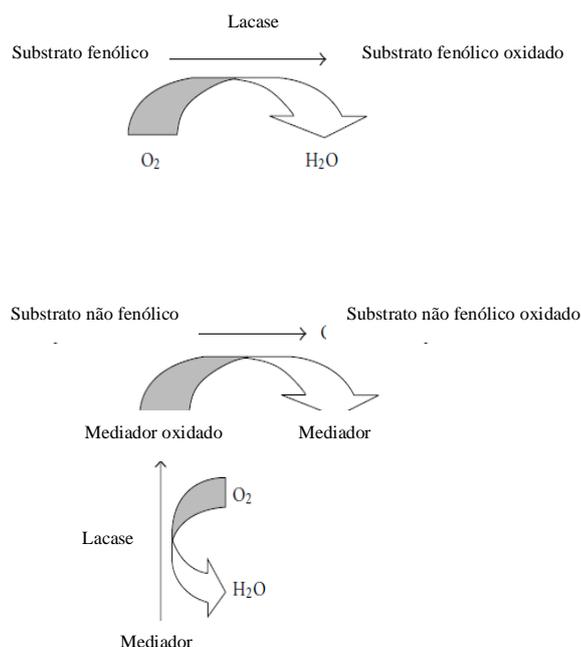


Figura 6. Mecanismo de ação da lacase para substrato fenólico e não fenólico (Brijwani *et al.*, 2010).

A capacidade das lacases fúngicas de catalizar diferentes substratos aromáticos resultou em um grande número de aplicações biotecnológicas. Estas incluem a descoloração e detoxificação de corantes têxteis e efluentes, deslignificação de celulose, produção de etanol, na remoção de compostos fenólicos de vinhos e outras bebidas,

transformação de antibióticos, esteróides e muitos compostos aromáticos (D'Souza-Ticlo *et al.*, 2009).

### 2.6.1.2. Manganês peroxidase

Manganês peroxidase (MnP) é uma enzima extracelular do tipo glicoproteína, que depende de peróxido de hidrogênio e da disponibilidade de íons manganês para sua atividade (Figura 7). Foi observada a primeira vez em *Phanerochaete chrysosporium* (Martinez *et al.*, 1996). As enzimas manganês peroxidases são encontradas na natureza (em micro-organismos, plantas e animais) e catalisam a oxidação de uma grande variedade de substratos naturais e sintéticos (Gianfreda; Bollag, 2002).

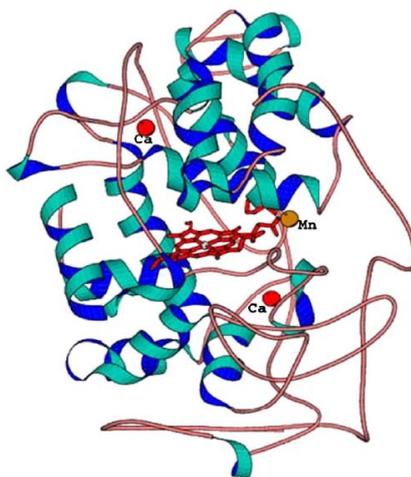


Figura 7. A estrutura geral de manganês peroxidase (Fonte: Sundaramoorthy *et al.*, 2010).

O mecanismo de ação desta enzima inicia com a ligação do peróxido de hidrogênio com ferro nativo da enzima (complexo ferro-peróxido) (Figura 8). Em seguida, ocorre a ruptura da ligação O-O do peróxido, que necessita da transferência de dois elétrons do grupo heme da enzima. Esta quebra resulta na formação do radical  $\text{Fe}^{4+}$ -oso porfirina (MnP-I). A quebra da ligação entre os oxigênios do peróxido libera uma molécula de água. Em seguida ocorre uma redução formando MnP-II. Um elétron é doado ( $\text{Mn}^{2+}$ ) a este complexo intermediário e ocorre a oxidação à  $\text{Mn}^{3+}$  e nova liberação de uma molécula de água. Esta molécula formada é estabilizada por ácidos orgânicos e age como um agente oxidante difuso que ataca as moléculas orgânicas subtraindo um elétron (Hofrichter, 2002).

O extraordinário potencial de degradação da manganês peroxidase não é limitado a lignina, a MnP também pode atuar em substâncias derivadas da lignina, tais como

substâncias húmicas, como organopoluentes diversos, incluindo xenobióticos persistente. A MnP está entre as enzimas mais comuns que apresentam o maior potencial para aplicações industriais, pois nestas enzimas, assim como, na lacase e lignina peroxidase falta especificidade por um substrato (De Souza; Peralta, 2003).

A MnP é uma enzima bastante produzida pelos fungos lignolíticos, agindo conjuntamente com lignina peroxidase e com lacase na biodegradação da lignina ou de compostos relacionados. Dentre os fungos produtores de MnP, são citados: *Pleurotus eryngii* (Martinez *et al.*, 1996), *Phanerochaete chrysosporium* (Wariishi *et al.*, 1992), *Ceriporiopsis subvermispora* (Canales *et al.*, 1998), *Aspergillus terreus* (Kanayama *et al.*, 2002), *Aspergillus niger* (Conesa *et al.*, 2002).

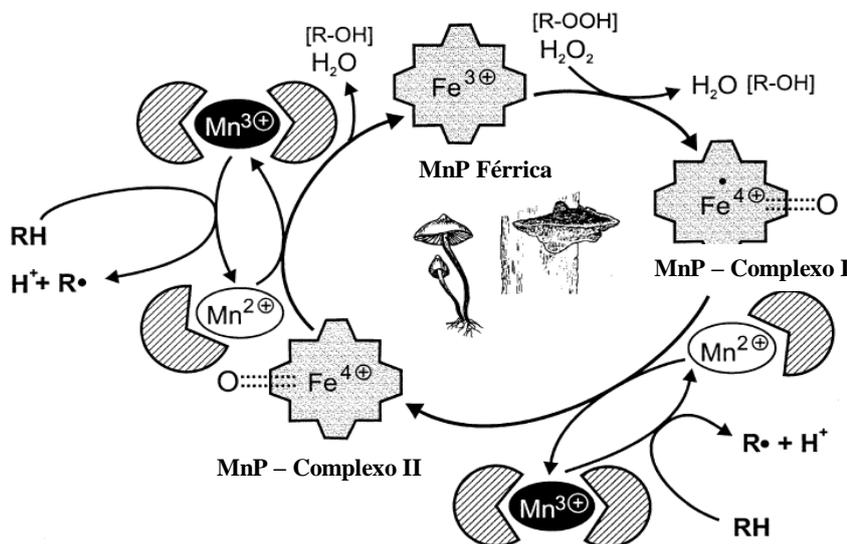


Figura 8. Ciclo catalítico da enzima manganês peroxidase (Fonte: Hofrichter, 2002).

### 2.6.1.3. Lignina peroxidase

A lignina peroxidase é uma glicoproteína dependente de peróxido de hidrogênio. As LiPs são proteínas heme clássicas em que férrico protoporfirina IX é o grupo prostético, podendo apresentar muitas vezes Ca<sup>2+</sup> (Figura 9). Outra característica deste grupo de enzimas é a sua ocorrência como uma grande família de isoenzimas, que catalisam uma variedade de compostos fenólicos, não fenólicos e outros compostos resistentes à degradação microbiana, este processo catalítico ocorre pela oxidação de elétrons seguida de reações não enzimáticas (Gianfreda; Bollag, 2002).

A descoberta da lignina peroxidase foi um grande avanço na compreensão do mecanismo de degradação da lignina e são consideradas como alternativa biológica

promissora para a remoção de compostos tóxicos do ambiente. O principal exemplo é a atuação da LiP na indústria têxtil, onde ocorre um grande consumo de água e de componentes químicos durante os processos de tingimento, gerando efluentes altamente complexos e recalcitrantes, que muitas vezes contêm corantes considerados carcinogênicos e mutagênicos e que podem ser degradados por estas enzimas (Kunz *et al.*, 2002).

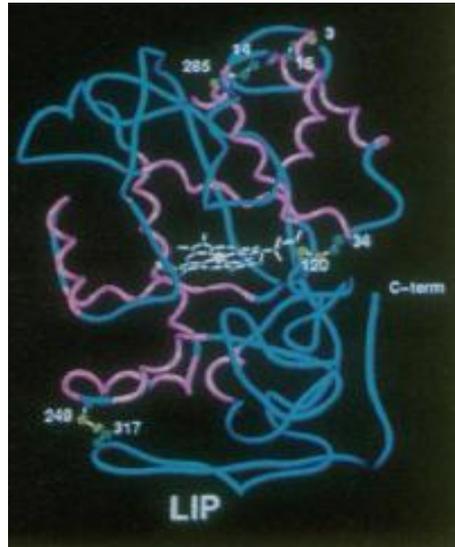


Figura 9. Estrutura geral da lignina peroxidase (Fonte: Edwards *et al.*, 1993).

A lignina peroxidase é comumente isolada de fungos da podridão branca e da podridão parda. Entre as espécies fúngicas produtoras de LiPs, pode-se citar: *T. versicolor*, *Daedalea flavida*, *Irpex flavus*, *Phanerochaete chrysosporium*, *Polyporus sanguineus* (Arora; Gill, 2001).

### 3. MATERIAIS E MÉTODOS

#### 3.1. Área de coleta

As coletas do sedimento do Rio Capibaribe contaminado com efluentes das indústrias têxteis foram realizadas no município de Toritama localizado na mesorregião do Agreste de Pernambuco, Brasil. Apresenta como atividades principais a indústria de confecções e lavanderias industriais têxteis. O município de Toritama apresenta clima semi-árido com regime de chuvas irregulares, variando de 180mm a 900mm e temperaturas médias anuais de aproximadamente 23°C (CPRM, 2005).

#### 3.2. Coleta do sedimento

Foram realizadas duas coletas, em período chuvoso (agosto/2010) e em período de estiagem (dezembro/2010). Em cada período, as amostras do sedimento foram coletadas em seis pontos aleatórios a 20 cm de profundidade (Figura 10), os pontos foram os mesmos para as duas coletas. As coordenadas geográficas dos pontos de amostragem foram determinadas com G.P.S. (Global Positioning System) Garmin e denominados TO1 (8°0'24.18"S e 36°2'37.88"W), TO2 (8°0'24.26"S e 36°2'38.75"W), TO3 (8°0'24.37"S e 36°2'39.36"W), TO4 (8°0'32.97"S e 36°3'2.07"W), TO5 (8°0'33.45"S e 36°3'1.95"W) e TO6 (8°0'45.28"S e 36°3'39.48"W).

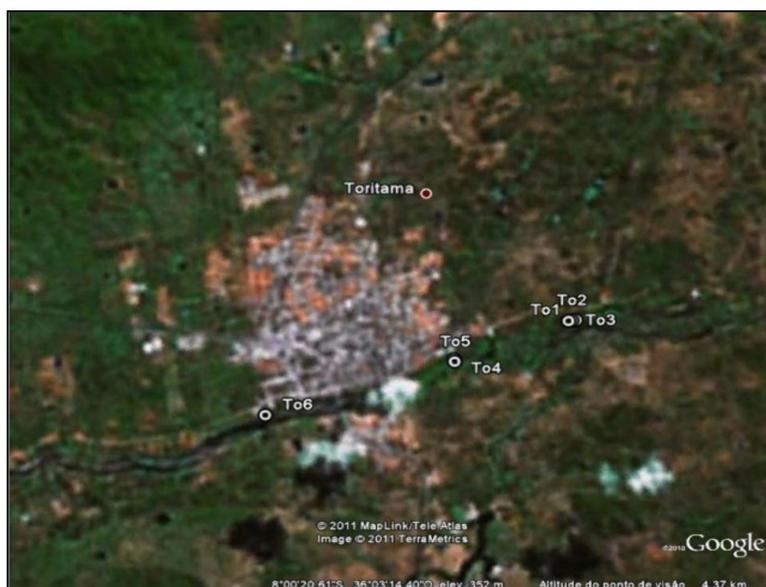


Figura 10. Pontos de coleta do sedimento no município de Toritama- PE (Google Maps, 2010).

### 3.3. Análise físico-química do sedimento

A temperatura do sedimento foi aferida em cada um dos pontos de coleta com termômetro de solo e as amostras foram levadas para o Laboratório de pesquisa da Micoteca URM, no Departamento de Micologia, da Universidade Federal de Pernambuco (UFPE) para realização dos experimentos. Amostras de 10g de sedimento de cada ponto de coleta foram secas em estufa a temperatura de 105°C por 24 horas. A umidade foi determinada, em porcentagem, pela diferença dos pesos dos sedimentos antes e após a secagem em estufa.

Amostras do sedimento coletado foram encaminhadas para o Laboratório de solos e Geologia da Unidade Acadêmica de Garanhuns da Universidade Federal Rural de Pernambuco (UAG/UFRPE) para realização da análise das propriedades químicas (Tabela 1).

Tabela 1. Propriedades químicas do sedimento em diferentes pontos de coleta no Município de Toritama – PE

Área	pH	P mg kg <sup>-1</sup>	K -----	Na	Ca	Mg cmol <sub>c</sub> kg <sup>-1</sup>	Al -----	H+Al	SB	CTC	V1 %
TO1	6,72	0,57	0,09	0,44	3,40	1,60	0,05	1,48	5,53	7,01	78,8
TO2	8,32	2,27	0,04	0,31	2,20	1,40	0,05	0,49	3,95	4,44	88,9
TO3	7,64	84,10	0,14	2,20	13,20	7,50	0,05	0,66	23,05	23,71	97,2
TO4	6,73	173,00	0,09	0,69	4,30	3,90	0,05	2,80	8,99	11,79	76,2
TO5	5,81	2,27	0,02	0,44	4,10	2,60	0,05	2,15	7,15	9,30	76,9
TO6	6,71	31,80	0,07	0,48	6,40	1,60	0,15	1,48	8,54	10,03	85,2

SB (Soma de Bases), CTC (Capacidade de Troca de Cátions), V1% (Saturação por Bases).

### 3.4. Isolamento dos fungos

Para o isolamento dos fungos, foi utilizado o método de Clark (1965), modificado de acordo com o seguinte procedimento: 25g de cada amostra foram suspensos em 225 ml de água destilada esterilizada (diluição 1:10), agitando-se manualmente o sistema durante alguns segundos. Desta suspensão, foram realizadas diluições até 1:1000 da qual 1 ml foi espalhado na superfície do meio de cultura Ágar Sabouraud com Rosa de Bengala acrescido de cloranfenicol (150 mg/L) contido em placas de Petri (Lacaz *et al.*, 1991). As placas permaneceram a 28°C ± 1°C por cinco dias.

Em seguida, foram realizadas a quantificação total das colônias fúngicas e as consideradas distintas (características macroscópicas) foram purificadas através da técnica

de esgotamento por estrias (Ribeiro; Soares, 2002) em Ágar Sabouraud adicionado de cloranfenicol ( $100 \text{ mg L}^{-1}$ ) e incubadas a  $28^\circ\text{C}$  durante três dias.

### **3.5. Identificação dos fungos isolados**

Para a identificação dos fungos foram observadas características macroscópicas (coloração, aspecto e diâmetro das colônias) e microscópicas (microestruturas somáticas e reprodutivas), por microscopia de luz e microscopia eletrônica de varredura, utilizando os meios de cultura ágar Czapek, BDA e ágar Extrato de Malte, segundo Raper e Fenell (1965), Rifai (1969), Pitt (1988), Klich (2002), Samson e Frisvad (2004), Leslie e Summerell (2006), Domsch *et al.* (2007), dentre outros. Esta etapa foi realizada no laboratório da Micoteca URM e no Centro de Tecnologias Estratégicas do Nordeste (CETENE).

### **3.6. Seleção dos fungos filamentosos produtores de fenoloxidasas**

Para seleção dos fungos filamentosos produtores de fenoloxidasas blocos de 6mm de cultura fúngica, com sete dias de crescimento em BDA ou Ágar Czapeck, foram transferidos para placas de Petri contendo Ágar-Malte acrescido de ácido gálico a 0,5% (p/v) e incubados a  $28 \pm 2^\circ\text{C}$  por sete dias. A avaliação da atividade enzimática foi realizada por meio da visualização do halo de degradação do substrato. Foram consideradas positivas as amostras que apresentaram halo de coloração marrom ao redor das colônias, indicando oxidação do ácido e a presença de oxidase (Davidson *et al.*, 1938). Os isolados testados foram selecionados para a realização do experimento de acordo com a presença da espécie em mais de uma área de coleta. O experimento foi realizado em delineamento inteiramente casualizado, com 49 tratamentos (isolados fúngicos), com três repetições. Os fungos considerados produtores de fenoloxidasas foram avaliados quanto à capacidade de descolorir corantes.

### **3.7. Avaliação quanto à capacidade de descolorir corantes têxteis**

Para a avaliação da capacidade de descolorir corantes, discos de 6 mm de culturas dos fungos selecionados foram inoculados em frascos de Erlenmayer (125 mL) contendo 50 mL do meio Extrato de Malte acrescido de 0,05% (m/v) de cada corante avaliado

(Tabela 2). Após a inoculação, os frascos foram incubados em agitador orbital (130 rpm) e em condição estática, no escuro, a 30°C por oito dias. Ao término deste período, a biomassa foi separada por filtração em membrana Millipore (0,45 µm) e o filtrado foi utilizado para a determinação da redução da cor em espectrofotômetro (Silva *et al.*, 2003). O experimento foi realizado em delineamento inteiramente casualizado, com 18 tratamentos (isolados fúngicos) para cada corante estudado com três repetições.

Tabela 2. Corantes sintéticos utilizados nas indústrias têxteis

Corantes	Classe química
Azul Brilhante de Remazol	Antraquinona
Índigo Carmine	Índigo
Vermelho Congo	Diazo

### 3.8. Quantificação da produção das enzimas do complexo fenoloxidade

#### 3.8.1. Lignina peroxidase

A quantificação da lignina peroxidase foi avaliada por espectrofotometria (310 nm) a partir do aldeído veratrílico produzido na oxidação do álcool veratrílico usado como substrato, a mistura reacional continha 1mL de tampão tartarato de sódio 125 mM pH 3,0; 500 µL de álcool veratrílico 10 mM; 500 µL de peróxido de hidrogênio 2 mM; 500 µL de extrato enzimático (Bonugli-Santos *et al.*, 2010).

#### 3.8.2. Manganês peroxidase

A quantificação de manganês peroxidase foi medida a 610 nm utilizando a metodologia descrita por Kuwahara *et al.* (1984). A mistura reacional (1 mL) continha extrato enzimático (500 µL); vermelho de fenol (100 µL); lactato de sódio 250 mM (100 µL); albumina bovina 0,5% p/v (200 µL); sulfato de manganês 2 mM (50 µL) e peróxido de hidrogênio 2 mM (50µL) preparado em tampão succinato de sódio 20 mM, pH 4,0. As reações ocorreram a 30°C, durante 5 minutos e foram interrompidas pela adição de NaOH 2 N (40µL).

### **3.8.3. Lacase**

A atividade de lacase foi quantificada por espectrofotômetro, a partir da oxidação do 2,2-azino-bis-ethylbenthiazolina (ABTS), pelo monitoramento do aumento da absorbância a 420 nm. Utilizou-se 0,8 mL de ABTS (0,03% v/v), 0,1 mL de tampão acetato de sódio (0,1M/ pH 5,0) e 0,1 mL do extrato enzimático (Arora; Gil, 2002).

### **3.9. Obtenção do espectro de absorção ultravioleta e visível**

Para a obtenção do espectro de absorção foram utilizados os extratos enzimáticos dos fungos que apresentaram atividade enzimática para os três corantes utilizados. O espectro de absorção na faixa de 300-700 nm, obtido em escala laboratorial foram registrados à temperatura ambiente, utilizando cubeta de quartzo. Os resultados foram avaliados em comparação com o espectro do controle que apresentava o meio de cultura e corante antes da descoloração (Lyra *et al.*, 2009).

## 4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 4.1. Análises do sedimento

A habilidade de sobrevivência, adaptabilidade e estabelecimento de micro-organismos em um habitat específico é determinada pelo ambiente. A sobrevivência da microbiota é influenciada isoladamente ou em combinação por fatores abióticos. A temperatura e a umidade são alguns dos fatores abióticos que influenciam na capacidade de crescimento e na composição dos fungos de determinado ambiente (Gomes, 2007).

Durante os períodos de coleta de sedimento do rio Capibaribe contaminado com efluentes de lavanderias industriais têxteis, as variáveis abióticas foram medidas em campo. Observou-se que a temperatura média nos pontos de coleta do sedimento foi de 23,5°C no período chuvoso e de 27,5°C no período de estiagem. Os valores médios da umidade do sedimento foram de 35,15% na 1ª coleta e de 35,61% na 2ª coleta (Tabela 3). Pode-se considerar que as variações abióticas características desta região situam-se na faixa de tolerância que geralmente os fungos apresentam diante das condições do ambiente terrestre (Domsch *et al.*, 1993), não havendo, portanto, nenhuma limitação expressiva quanto a esses aspectos, que possa eventualmente comprometer o crescimento dos fungos.

Schoenlein *et al.* (2008) em isolamento de fungos anamorfos de solo da região dos lagos, no município de Santa Gertrudes no Estado de São Paulo, analisaram o teor de umidade e a temperatura do solo coletado. Estes autores observaram que a temperatura do solo foi de 21°C e 24°C na 1ª e 2ª coletas (época chuvosa) e de 25°C e 24°C na 3ª e 4ª coletas (época seca) e os valores médios da umidade do solo variaram em torno de 17% (1ª coleta), 15% (2ª e 3ª coletas) e 7% (4ª coleta).

Tabela 3. Temperatura e umidade do sedimento do rio Capibaribe coletado no município de Toritama-PE

Pontos de coleta	Agosto/2010		Dezembro/2010	
	Temperatura	Umidade	Temperatura	Umidade
TO1	24°C	57,6%	27°C	22,6%
TO2	24°C	24,2%	27°C	20,7%
TO3	22°C	52%	27°C	44,2%
TO4	23°C	42,4%	27°C	57,5%
TO5	24°C	5,6%	28°C	31,7%
TO6	24°C	29,1%	29°C	37%

## 4.2. Fungos filamentosos isolados de sedimento contaminado

A partir das amostras de sedimento do rio Capibaribe contaminado com efluentes de lavanderias industriais têxteis coletadas no município de Toritama/PE, foram isoladas 628 Unidades Formadoras de Colônia (UFC) (Figura 11), pertencendo a 31 espécies de fungos filamentosos (Tabela 4).

Tabela 4. Número de isolados de fungos do sedimento do rio Capibaribe contaminado com efluentes de indústrias têxteis do município de Toritama - PE, Brasil

Espécies	Períodos/Áreas												Total		
	Chuvoso (Ch)						Seco (Se)								
	1	2	3	4	5	6	Total	1	2	3	4	5		6	Total
<i>Acremonium strictum</i> W. Gams	0	0	1	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	1
<i>Acremonium terricola</i> (J.H. Miller, Giddens & A.A. Foster) W. Gams	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	1	1
<i>Aspergillus aculeatus</i> Iizuka	0	0	0	1	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	1
<i>Aspergillus clavato-nanica</i> Bat., H. Maia & Alecrim	0	0	0	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	1
<i>Aspergillus flavipes</i> (Bainier & R. Sartory) Thom & Church	0	0	0	0	8	0	8	0	0	0	0	0	0	0	8
<i>Aspergillus niger</i> van Tieghem	0	0	1	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	1
<i>Aspergillus ochraceus</i> G. Wilh	0	1	0	0	0	0	1	0	223	44	5	0	0	272	273
<i>Aspergillus tamaritii</i> Kita	0	0	1	0	0	0	1	0	0	3	0	0	0	3	4
<i>Aspergillus terreus</i> Thom	1	0	1	5	7	3	17	5	0	1	1	5	1	13	30
<i>Fusarium lateritium</i> Nees	0	0	0	0	0	0	0	0	0	3	0	0	0	3	3
<i>Fusarium oxysporum</i> Schlecht. emend. Snyd. & Hans.	1	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	1
<i>Fusarium redolens</i> Wollenw	0	0	0	0	0	0	0	1	2	1	11	10	0	25	25
<i>Fusarium solani</i> (Mart.) Appel & Wollenw. emend. Snyd. & Hans.	0	3	0	0	0	0	3	19	0	13	0	0	0	32	35
<i>Lichtheimia corymbifera</i> (Cohn) Vuill	0	0	0	2	0	0	2	0	0	0	0	0	0	0	2
<i>Mucor luteus</i> Linnem. ex Wrzosek	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	12	0	12	12
<i>Penicillium chrysogenum</i> Thom	0	0	5	0	0	1	6	0	0	0	0	0	0	0	6
<i>Penicillium commune</i> Thom	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	10	0	0	10	10
<i>Penicillium duclauxii</i> Delacr.	0	0	1	0	4	0	5	0	0	0	0	0	0	0	5
<i>Penicillium purpurogenum</i> Fleroff	0	0	0	0	0	5	5	0	0	0	0	0	0	0	5
<i>Penicillium verruculosum</i> Peyronel	0	0	0	51	0	0	51	0	0	0	0	0	0	0	51
<i>Phoma tropica</i> R. Schneid. & Boerema	0	0	0	0	0	6	6	0	0	0	0	0	0	0	6
<i>Rhizopus arrhizus</i> var. <i>arrhizus</i> A. Fisch.	0	0	0	0	0	0	0	3	0	3	0	0	1	7	7
<i>Scedosporium apiospermum</i> Sacc. ex Castell. & Chalm.	0	0	0	0	0	1	1	1	0	2	0	0	0	3	4
<i>Talaromyces</i> sp. C.R. Benj.	0	0	0	5	0	0	5	0	0	0	10	0	0	10	15
<i>Trichoderma aureoviride</i> Rifai	0	0	2	2	1	0	5	0	0	0	0	0	0	0	5
<i>Trichoderma hamatum</i> (Bonord.) Bainier	0	1	22	0	0	0	23	0	0	0	0	0	4	4	27
<i>Trichoderma harzianum</i> Rifai	0	6	0	17	0	0	23	1	2	1	18	18	12	52	75
<i>Trichoderma koningii</i> Oudem.	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	7	3	10	10
<i>Trichoderma virens</i> (J.H. Mill., Giddens & A.A. Foster) Arx	0	0	0	1	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	1
<i>Trichoderma viride</i> Pers.	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	0	0	2	2
<i>Westerdykella dispersa</i> (Clum) Cejp & Milko	0	0	1	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	1
<b>Total por coleta</b>	<b>2</b>	<b>11</b>	<b>35</b>	<b>84</b>	<b>20</b>	<b>17</b>		<b>31</b>	<b>227</b>	<b>71</b>	<b>57</b>	<b>52</b>	<b>21</b>		
<b>Total por período</b>							<b>169</b>							<b>459</b>	<b>628</b>

Números 1,2,3,4,5 e 6 correspondem aos pontos de coleta TO1, TO2, TO3, TO4, TO5 e TO6, respectivamente.

De acordo com Domsch *et al.* (2007), o isolamento e identificação de fungos do solo são comuns, pois estes podem ocorrer em diferentes tipos de solo, como: no solo das florestas e campos, solos arenosos e de áreas cultivadas. No entanto, a distribuição da comunidade de fungos no solo está relacionada com o clima, a vegetação e a qualidade da matéria orgânica.



Figura 11. Colônias fúngicas isoladas de sedimento do rio Capibaribe contaminado com efluentes têxteis.

Dos fungos identificados, 28 espécies são do filo Ascomycota, sendo 26 anamorfos e 2 teleomorfos (*Talaromyces* sp. e *Westerdykella dispersa*) e três espécies do filo Zygomycota, *Lichtheimia corymbifera*, *Mucor luteus* e *Rhizopus arrhizus* var. *arrhizus*. Os gêneros predominantes foram *Aspergillus*, *Trichoderma* e *Penicillium*, com sete, seis e cinco espécies de cada gênero, respectivamente (Figura 12 e 13).

A maioria dos fungos encontrados no sedimento do rio contaminado com efluentes têxteis foram registrados em sedimento e solo em diferentes condições, no Brasil e em outros países. Em estudos realizados por Iskandar *et al.*(2011), foram obtidos 41 isolados de fungos filamentosos do sedimento do rio Langat contaminado com resíduos urbanos e industriais, em Selangor na Malásia, e os fungos isolados foram dos gêneros *Aspergillus*, *Trichoderma* e *Penicillium*. Resultados semelhantes foram encontrados por Colla *et al.* (2008) que isolaram fungos filamentosos de solos contaminados com herbicidas triazínicos.

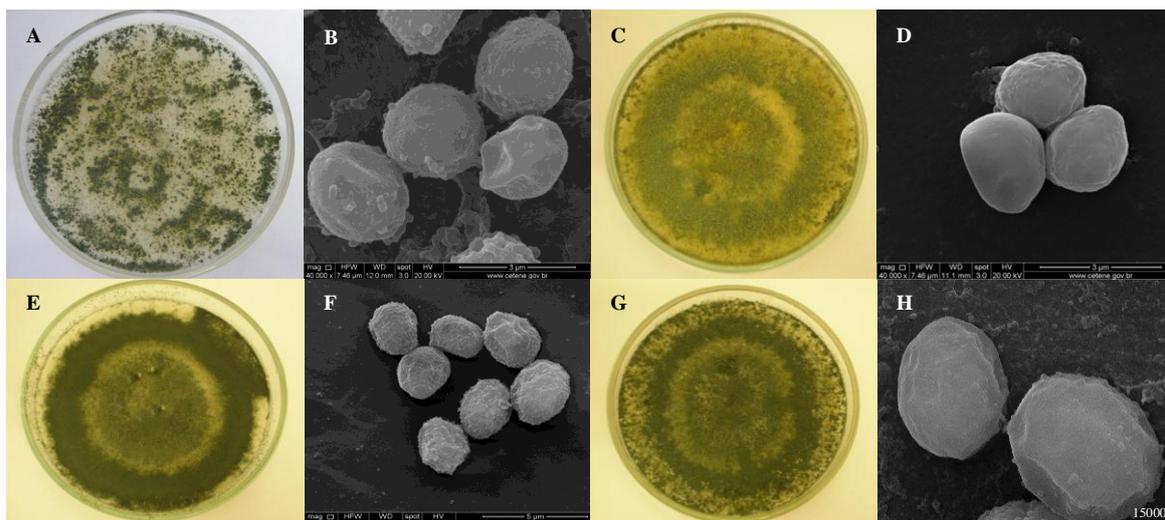


Figura 12. Macroscopia e microscopia eletrônica de varredura de espécies de *Trichoderma* sp. isoladas de sedimentos do rio Capibaribe contaminados com efluentes têxteis no município de Toritama - PE. *T. hamatum* (A-B), *T. aureoviride* (C-D), *T. viride* (E-F) e *T. virens* (G-H).

Tosi *et al.* (2010) isolaram 109 amostras de fungos filamentosos de solo na Ilha Livingston (Ilhas Shetland do Sul, Antártica) e obtiveram espécies dos gêneros *Aspergillus*, *Penicillium*, *Cladosporium* e *Alternaria*. Resultados semelhantes foram obtidos por Cantrell *et al.* (2006) analisando amostras de sedimento de lagoas de sal das salinas de Cabo Rojo, na costa sudoeste de Porto Rico. Observaram que os gêneros *Aspergillus* e *Penicillium* estavam presentes em sedimento salino.

A prevalência de *Aspergillus*, *Penicillium* e *Trichoderma* em determinados ambientes ocorre, provavelmente, porque esses gêneros têm um elevado número de espécies e são capazes de sobreviver em ambientes desfavoráveis por produzirem estruturas, como conídios, clamidósporos e/ou esclerócios, que auxiliam na dispersão e na sobrevivência nestes ambientes (Coutinho *et al.*, 2010; Costa *et al.*, 2011).

Dentre as espécies de *Aspergillus*, *A. ochraceus* seguida por *A. terreus* foram as espécies com maior número de isolados, sendo que *A. terreus* esteve presente em um maior número de coletas, tanto no período seco quanto chuvoso. *Aspergillus ochraceus* já é citada na literatura quanto à capacidade de descoloração e degradação do corante têxtil Azul-Reactive 25 (Parshetti *et al.*, 2007).

Dentre as espécies de *Penicillium*, *P. verruculosum* e *P. commune* foram as espécies com maior número de isolados, porém só estiveram presentes em uma das coletas.

El-Rahim (2006) relatou em sua pesquisa que *P. commune* removeu 96% do corante têxtil Violeta direto em duas horas de incubação.

Dentre as espécies de *Trichoderma*, *T. harzianum* foi a espécie com maior número de isolados e a que esteve presente em um maior número de coletas, sendo a única que esteve presente em todas as coletas realizadas no período seco. Isto sugere que esta espécie está mais adaptada às condições adversas do ambiente contaminado com efluentes da indústria têxtil, como comprovado por Anastasi *et al.* (2009) e Sadhasivam *et al.* (2009a).

Raju *et al.* (2007) avaliando a descoloração de corantes têxteis por diferentes espécies de fungos de solo, entre estas *T. harzianum* observou sua eficiência em descolorir todos os corantes testados: Laranja 3R, Azul 3R, Amarelo GR, Preto RL e Azul T.

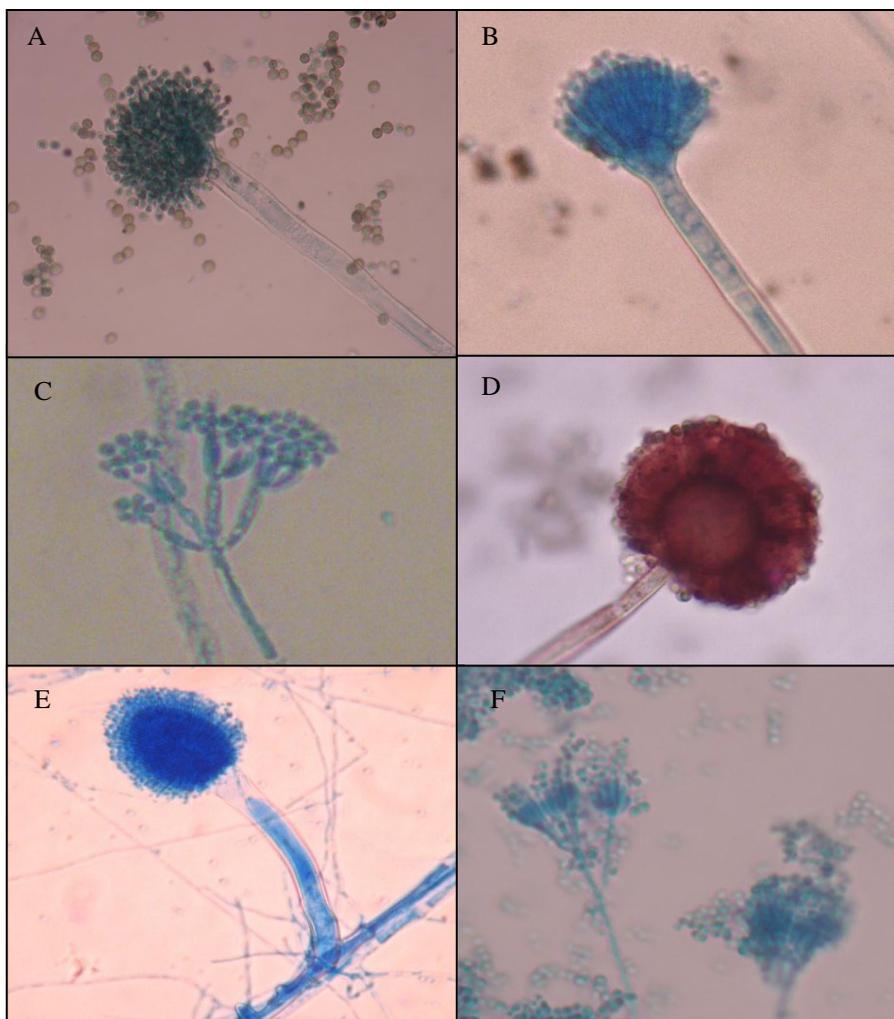


Figura 13. Espécies isoladas de sedimentos do rio Capibaribe contaminados com efluentes têxteis no município de Toritama - PE. A. *tamaritii* (A); *A. terreus* (B); *T. harzianum* (C); *A. niger* (D); *A. clavato-nanica* (E); *P. chrysogenum* (F).

## 4.2. Fungos produtores de fenoloxidase

Quanto à seleção em meio sólido dos fungos filamentosos produtores de fenoloxidases, dos 49 isolados testados, 18 apresentaram reação positiva, visualizado através do aparecimento de uma zona de difusão acastanhada (âmbar) ao redor da colônia (Figura 13). Esta zona de difusão indicou a oxidação do ácido gálico e os fungos selecionados foram utilizados nos ensaios subsequentes de descoloração de corantes têxteis e de quantificação das enzimas (Tabela 5).

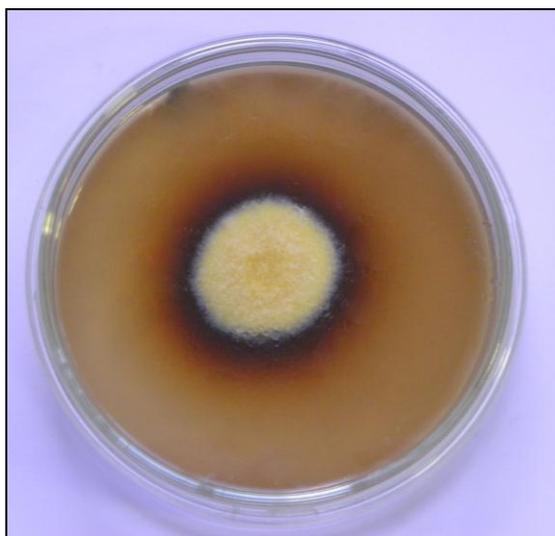


Figura 14. Halo de produção de fenoloxidase de *Talaromyces* sp.

As espécies selecionadas para os ensaios de descoloração de corantes foram *A. terricola*, *A. terreus*, *F. solani*, *S. apiospermum*, *T. aureoviride*, *T. hamatum*, *T. harzianum*, *T. koningii*, *T. viride*, *T. virens*, *W. dispersa* e de *Talaromyces* sp. (Tabela 5). Estas espécies foram indicadas por serem capazes de produzir enzimas do complexo fenoloxidase.

Maciel *et al.* (2010) analisado a produção de fenoloxidase em meio sólido por fungos filamentosos isolados de ambiente contaminado por petroderivados no Nordeste do Brasil, observaram que dentre os 34 fungos testados, 12 estirpes foram capazes de expressar halos indicativos da produção de fenoloxidases. Conceição *et al.* (2005) em estudos realizados com fungos filamentosos isolados no rio Atibaia e de refinarias de petróleo em São Paulo, observaram que os gêneros *Aspergillus*, *Acremomyium*, *Penicillium* e *Phoma* apresentaram a formação do halo, indicando a presença de fenoloxidases.

Os fungos possuem grande capacidade de adaptar o seu metabolismo a diferentes fontes de carbono e energia, esta característica se deve à produção de uma grande quantidade de enzimas, não específicas, capazes de degradar polímeros de origem vegetal, assim como uma grande variedade de outras moléculas orgânicas e substâncias recalcitrantes (Srinivasan *et al.*, 2010).

Tabela 5. Produção de fenoloxidase em meio sólido por fungos filamentosos isolados de sedimentos contaminados com efluentes têxteis no município de Toritama – PE

Isolados	Fenoloxidase	Isolados	Fenoloxidase
<i>Acremonium strictum</i>	-	<i>Penicillium purpurogenum</i>	-
<i>Acremonium terricola</i>	+	<i>Penicillium verrucosum</i>	-
<i>Aspergillus aculeatus</i>	-	<i>Phoma tropica</i>	-
<i>Aspergillus clavato-nanica</i>	-	<i>Rhizopus arrhizus</i> var. <i>arrhizus</i> I	-
<i>Aspergillus flavipes</i>	-	<i>Rhizopus arrhizus</i> var. <i>arrhizus</i> II	-
<i>Aspergillus niger</i>	-	<i>Rhizopus arrhizus</i> var. <i>arrhizus</i> III	-
<i>Aspergillus ochraceus</i> I	-	<i>Scedosporium apiospermum</i> I	-
<i>Aspergillus ochraceus</i> II	-	<i>Scedosporium apiospermum</i> II	+
<i>Aspergillus ochraceus</i> III	-	<i>Talaromyces</i> sp.	+
<i>Aspergillus tamarii</i> I	-	<i>Trichoderma aureoviride</i> I	+
<i>Aspergillus tamarii</i> II	-	<i>Trichoderma aureoviride</i> II	-
<i>Aspergillus terreus</i> I	+	<i>Trichoderma hamatum</i> I	+
<i>Aspergillus terreus</i> II	+	<i>Trichoderma hamatum</i> II	+
<i>Aspergillus terreus</i> III	+	<i>Trichoderma hamatum</i> III	-
<i>Aspergillus terreus</i> IV	-	<i>Trichoderma harzianum</i> I	+
<i>Aspergillus terreus</i> V	-	<i>Trichoderma harzianum</i> II	+
<i>Fusarium oxysporum</i>	-	<i>Trichoderma harzianum</i> III	+
<i>Fusarium redolens</i> I	+	<i>Trichoderma harzianum</i> IV	-
<i>Fusarium redolens</i> II	-	<i>Trichoderma harzianum</i> V	-
<i>Fusarium redolens</i> III	-	<i>Trichoderma koningii</i> I	+
<i>Fusarium solani</i> I	+	<i>Trichoderma koningii</i> II	-
<i>Fusarium solani</i> II	-	<i>Trichoderma viride</i>	+
<i>Fusarium solani</i> III	-	<i>Trichoderma virens</i>	+
<i>Lichtheimia corymbifera</i>	-	<i>Westerdykella dispersa</i>	+
<i>Penicillium duclauxii</i>	-		

(-) ausência de halo (+) presença de halo.

Os micro-organismos podem se adaptar a um substrato por indução ou liberação de enzimas específicas não presentes anteriormente ou presentes em baixos níveis e por seleção de novas capacidades metabólicas produzidas por alterações genéticas. Muitas vezes o sucesso do processo da biorremediação de ambientes contaminados depende da resistência do fungo ao composto alvo e às condições ambientais presentes (Conceição *et al.*, 2005). No presente trabalho, isolados diferentes de uma mesma espécie de fungos

variaram quanto à capacidade de produção de fenoloxidasas, como pode ser observado na Tabela 5.

### 4.3. Atividade enzimática de fungos filamentosos produtores de fenoloxidasas em meio líquido

A produção de manganês peroxidase, lignina peroxidase e lacase foi analisada em meio líquido. Sob condição estática, entre os fungos testados, cinco isolados apresentaram atividade para manganês peroxidase nos três corantes estudados, *Aspergillus terreus* I, *Fusarium redolens*, *Trichoderma harzianum* I, *Trichoderma koningii*, *Trichoderma viride*. Quanto a maior atividade da enzima, os isolados que tiveram destaque foram *Westerdykella dispersa* (1.846 U.L<sup>-1</sup>) em meio contendo o corante Vermelho Congo e *Aspergillus terreus* I (1.806 U.L<sup>-1</sup>) em meio contendo o corante Índigo Carmine (Figura 15A).

A produção de manganês peroxidase por fungos tem sido relatada por diversos autores: *A. terreus* (Kanayama *et al.*, 2002), *F. solani* (Saparrat *et al.*, 2000), *A. niger* (Conesa *et al.*, 2002), *Pleurotus sajor-caju*, *Pleurotus ostreatus* e *Trichoderma reesei* (Aguiar *et al.*, 2010), *Irpex lacteus* (Shin *et al.*, 2005). Este trabalho apresenta o primeiro relato de produção de manganês peroxidase por *Westerdykella dispersa*.

Yang *et al.* (2011), avaliando a degradação de lignina por *Aspergillus* sp., observaram a atividade de manganês peroxidase após sete dias de incubação. Pant e Adholeya (2007) estudando isolados de diferentes substratos constataram que as espécies *Aspergillus flavus*, *Fusarium verticilioides* e *A. niger* produziram manganês peroxidase, sendo a última espécie a melhor produtora.

Entre os produtores de manganês peroxidase sob agitação, *F. redolens* e *T. viride* se destacaram por apresentar atividade nos três corantes testados. *Fusarium redolens* foi a espécie que demonstrou os maiores valores de atividade para a enzima, tendo destaque para a produção no meio contendo corante Azul Brilhante de Remazol (4.462 U.L<sup>-1</sup>), como apresentado na Figura 15B.

Exceto *Trichoderma aureoviride*, *T. hamatum* I e *T. virens*, todos os fungos analisados demonstraram atividade de manganês peroxidase para um ou mais corantes na condição estática (Figura 15A). Sob agitação apenas quatro isolados (*A. terreus* II, *Talaromyces* sp., *T. hamatum* II e *W. dispersa*) não apresentaram atividade para manganês peroxidase (Figura 15 B).

Bonugli-Santos *et al.* (2010), estudando a produção de manganês peroxidase por fungos filamentosos isolados de cnidários coletados no litoral norte de São Paulo, observaram que os fungos *Mucor racemosus*, *Aspergillus sclerotiorum*, *Cladosporium cladosporioides* produziram eficientemente a enzima, com destaque para *M. racemosus*. Estes fungos foram selecionados a partir da capacidade de descolorir o corante Azul Brilhante de Remazol.

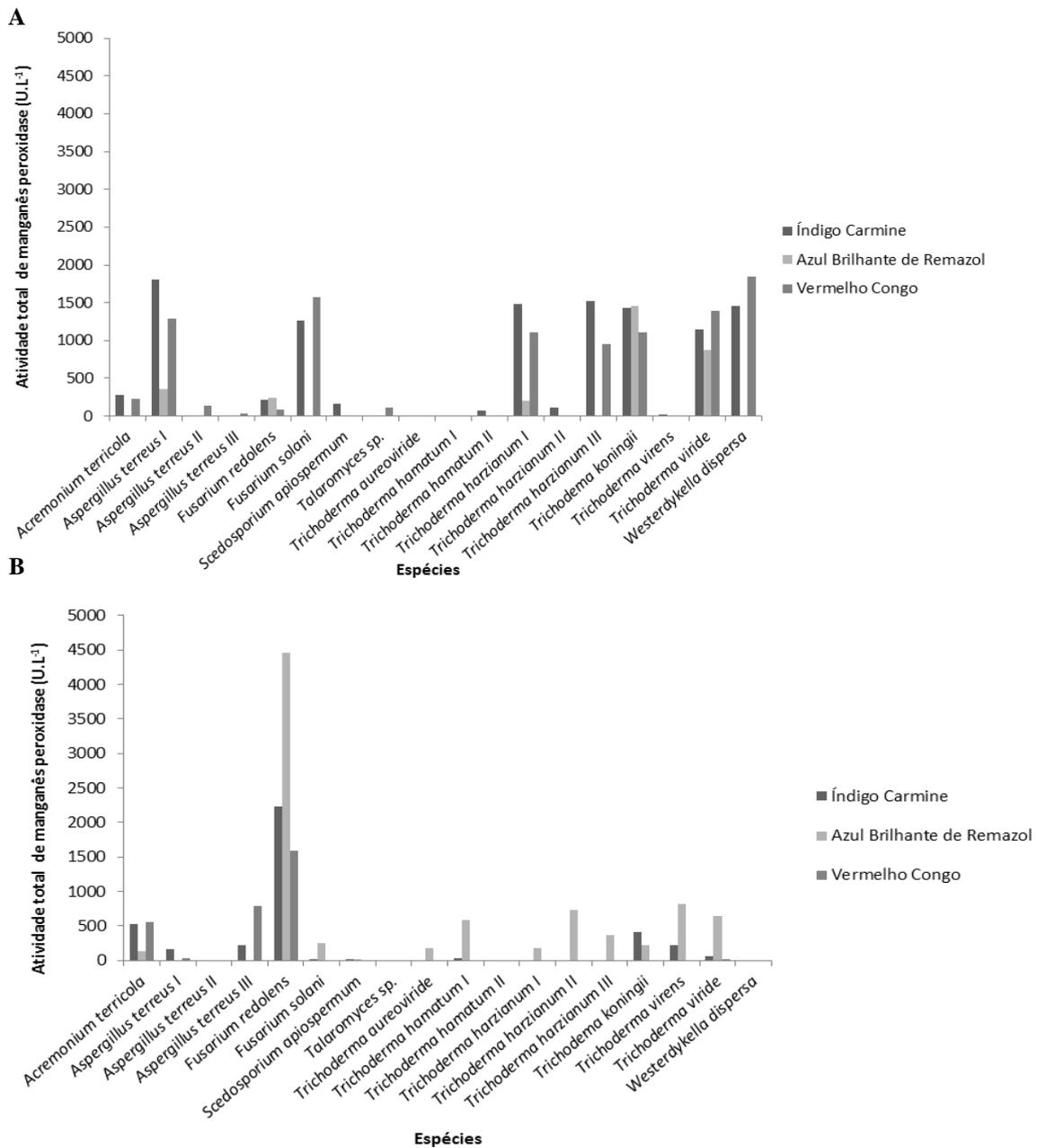


Figura 15. Atividade total de manganês peroxidase (U.L<sup>-1</sup>) na descoloração de Índigo Carmine, Azul Brilhante de Remazol e Vermelho Congo, em condição estática (A) e sob agitação (B).

Em estudos realizados com fungos isolados de folhas de bambu em decomposição na água, Afolabi *et al.* (2010) observaram que *Aspergillus* sp. e *Rizhopus stolonifer* obtiveram os melhores resultados para manganês peroxidase, enquanto *Fusarium* sp. e *Mucor* sp. apresentaram os valores mais baixos.

No que se refere à produção de lignina peroxidase, os isolados produtores que apresentaram atividade nos três corantes testados foram *T. hamatum* II, *T. harzianum* I e *W. dispersa* em condição estática, *T. harzianum* II e *T. koningii* sob agitação.

A maior produção de lignina peroxidase foi por *Aspergillus terreus* II (5.984 U.L<sup>-1</sup>) no meio contendo o corante Azul Brilhante de Remazol, em condição estática (Figura 16A). Este mesmo isolado se destacou na produção de lignina peroxidase no meio de cultura contendo Índigo Carmine (5.924 U.L<sup>-1</sup>) sob agitação (Figura 16B). Gomes (2007) estudando a produção de fenoloxidasas por fungos filamentosos isolados do manguezal Barra das Jangadas (Jaboatão dos Guararapes-PE), observou que várias espécies apresentaram atividade para lignina peroxidase, destacando *A. terreus*.

Maciel *et al.* (2010), analisando a produção de lignina peroxidase por fungos isolados de ambiente contaminado com petroderivados, constataram que os melhores produtores da enzima foram isolados dos gêneros *Penicillium*, *Aspergillus* e *Paecilmyces*. Silva *et al.* (2011), utilizando fungos isolados do solo da margem do Rio Beberibe (Recife-PE), observaram que todos os isolados apresentaram atividade de lignina peroxidase.

A lignina peroxidase é comumente isolada de fungos da podridão branca e da podridão parda. Entre as espécies fúngicas produtoras de LiPs, pode-se citar: *T. versicolor*, *Daedalea flavida*, *Irpex flavus*, *Phanerochaete chrysosporium*, *Polyporus sanguineus* (Arora; Gill, 2001).

*Acremonium terricola* não apresentou atividade de lignina peroxidase para os corantes testados em condição estática (Figura 16A). Sob agitação os isolados que não produziram a enzima foram *A. terreus* III e *T. aureoviride* (Figura 16B). Saparrat *et al.* (2000) analisando a produção de enzimas lignolíticas por cinco isolados de *Fusarium solani* observaram que nenhum isolado apresentou atividade para esta enzima.

Ahammed e Prema (2002) em estudo de produção de lignina peroxidase por *Aspergillus* sp. concluíram que a disponibilidade de fontes de carbono e nitrogênio interferem diretamente na atividade da enzima e observou que o aumento na concentração de glicose e sulfato de amônio influenciaram na melhor atividade de lignina peroxidase.

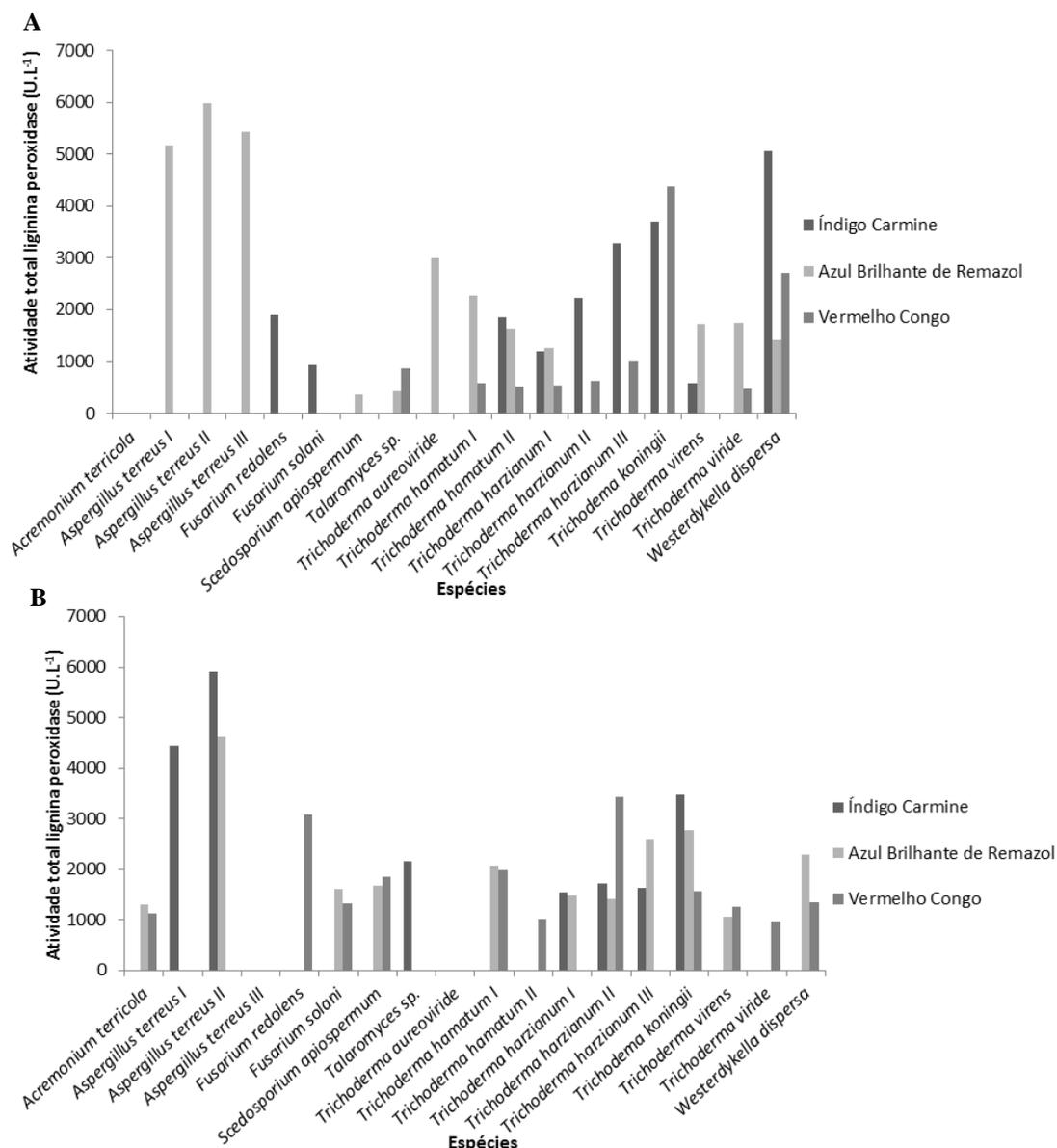


Figura 16. Atividade total de lignina peroxidase (U.L<sup>-1</sup>) na descoloração de Índigo Carmine, Azul Brillhante de Remazol e Vermelho Congo, em condição estática (A) e sob agitação (B).

Entre os produtores de lacase, a melhor produção foi observada em *A. terreus I* (2.430 U.L<sup>-1</sup>) em meio contendo o corante Índigo Carmine e em condição estática (Figura 16A) e *A. terreus III* (2.620 U.L<sup>-1</sup>) em meio de cultura contendo o corante Vermelho Congo e sob agitação (Figura 16B). Em condição estática, cinco isolados demonstraram atividade com os três corantes testados, *A. terricola*, *A. terreus I*, *A. terreus III*, *F. redolens* e *Trichoderma koningii* e sob agitação apenas um isolado produziu, *A. terreus II*.

Silva *et al.* (2010) em estudos realizados com fungos de solo, observaram que o gênero *Aspergillus* apresentou os melhores valores para a produção de lacase. Com fungos

isolados de arroz irrigado também foi observada a atividade de lacase (Silva *et al.*, 2003)

A produção da enzima lacase pode ser aumentada através da variação de diferentes parâmetros físico-químicos tais como na presença de meio rico como o extrato de malte ou extrato levedura e a presença de substrato específicos (por exemplo, compostos fenólicos) Estudos sobre a produção de lacase por diferentes fungos têm mostrado que os níveis de lacase são substancialmente mais elevados em meios contendo nitrogênio, e diferentes trabalhos também têm mostrado que o extrato de malte e de levedura são bastante eficazes para dar maior rendimento de lacase (Arora; Sharma, 2010).

Doze espécies de fungos isoladas de diferentes áreas da floresta atlântica (Brasil) foram capazes de descolorir o corante Azul Brilhante de Remazol e quando testados todos apresentaram atividade para lacase, entre eles: *Lentinus velutinus*, *T. versicolor*, *T. villos*, *Psilocybe castanella* (Machado *et al.*, 2005).

Lacases são um grupo diversificado de enzimas que catalisam a oxidação de uma variedade de compostos aromáticos, incluindo corantes (Balan; Monterio, 2001). Atividade de lacase tem sido demonstrada em várias espécies de fungos, além dos Basidiomycetes a produção de lacase também foi relatada para algumas espécies de Ascomycetes de solo do gêneros *Aspergillus*, *Curvularia* e *Penicillium*. No entanto, não deve ser generalizada, pois há vários grupos de fungos que, aparentemente, não produzem lacase (Brijwani *et al.*, 2010).

No presente trabalho os isolados que não demonstraram atividade para lacase foram: *T. harzianum* I, *T. harzianum* II e *W. dispersa* para a condição estática e *A. terricola*, *Talaromyces* sp., *T. hamatum* I, *T. harzianum* III e *T. virens* sob agitação. Resultados semelhantes foram obtidos por Baldrian *et al.* (2011) avaliando a produção de lacase por fungos filamentosos isolados de um carvalho (*Quercus petraea*), onde todos os isolados testados não apresentaram atividade detectável da enzima.

Diferente do resultado obtido neste trabalho, Sadhasivam *et al.* (2009a) em estudo realizado com *T. harzianum* observaram que a lacase purificada que foi produzida por esta espécie foi eficiente na descoloração de corantes têxteis. Holker *et al.* (2002) em estudos com *T. harzianum* e *T. atroviride* observaram a presença de lacase em esporos destas espécies e correlacionaram a atividade da enzima a produção do pigmento verde nos esporos.

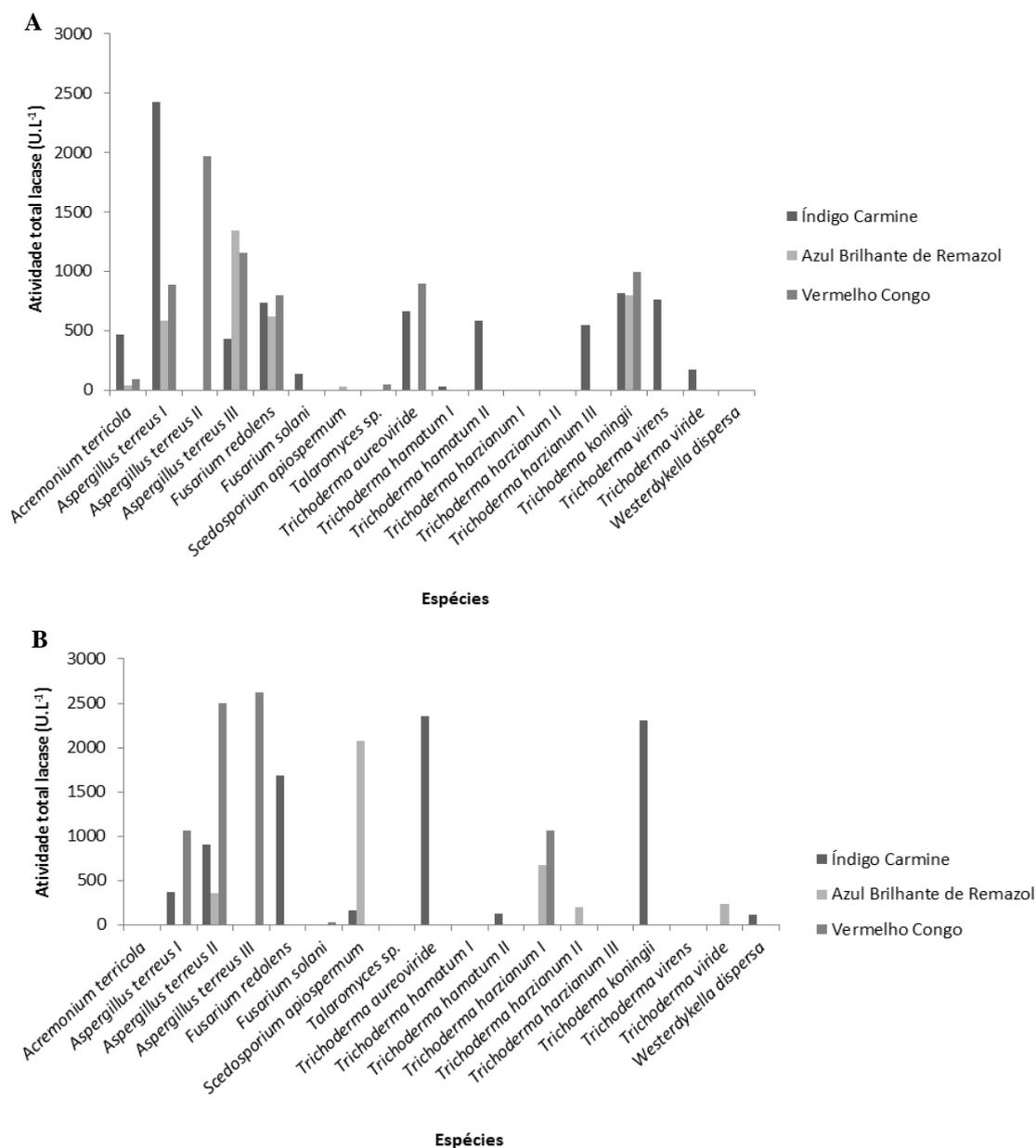


Figura 17. Atividade total de lacase (U.L<sup>-1</sup>) na descoloração de Índigo Carmine, Azul Brillhante de Remazol e Vermelho Congo, em condição estática (A) e sob agitação (B).

#### 4.4. Descoloração de corantes têxteis por fungos filamentosos

Os espectros de absorção UV-Vis obtidos para os corantes têxteis Índigo Carmine, Azul Brillhante de Remazol e Vermelho Congo antes e após tratamento com fungos, em condição estática, são apresentados na Figura 18 e os espectro de absorção dos corantes têxteis acima citados, antes e após tratamento sob agitação são observados na Figura 19. O isolados utilizados para a preparação do espectro foram selecionados por apresentar atividade enzimática nos três corantes estudados.

O corante Índigo Carmine antes do tratamento com os fungos (controle) demonstrou máxima absorbância em 300 a 340 nm, 580 nm, 600 nm e 640 nm, o corante Remazol Brilliant Blue apresentou máxima absorbância a 300 e 320nm e o Vermelho Congo obtiveram máxima absorbância em 300 a 380 nm e 440 a 540 nm.

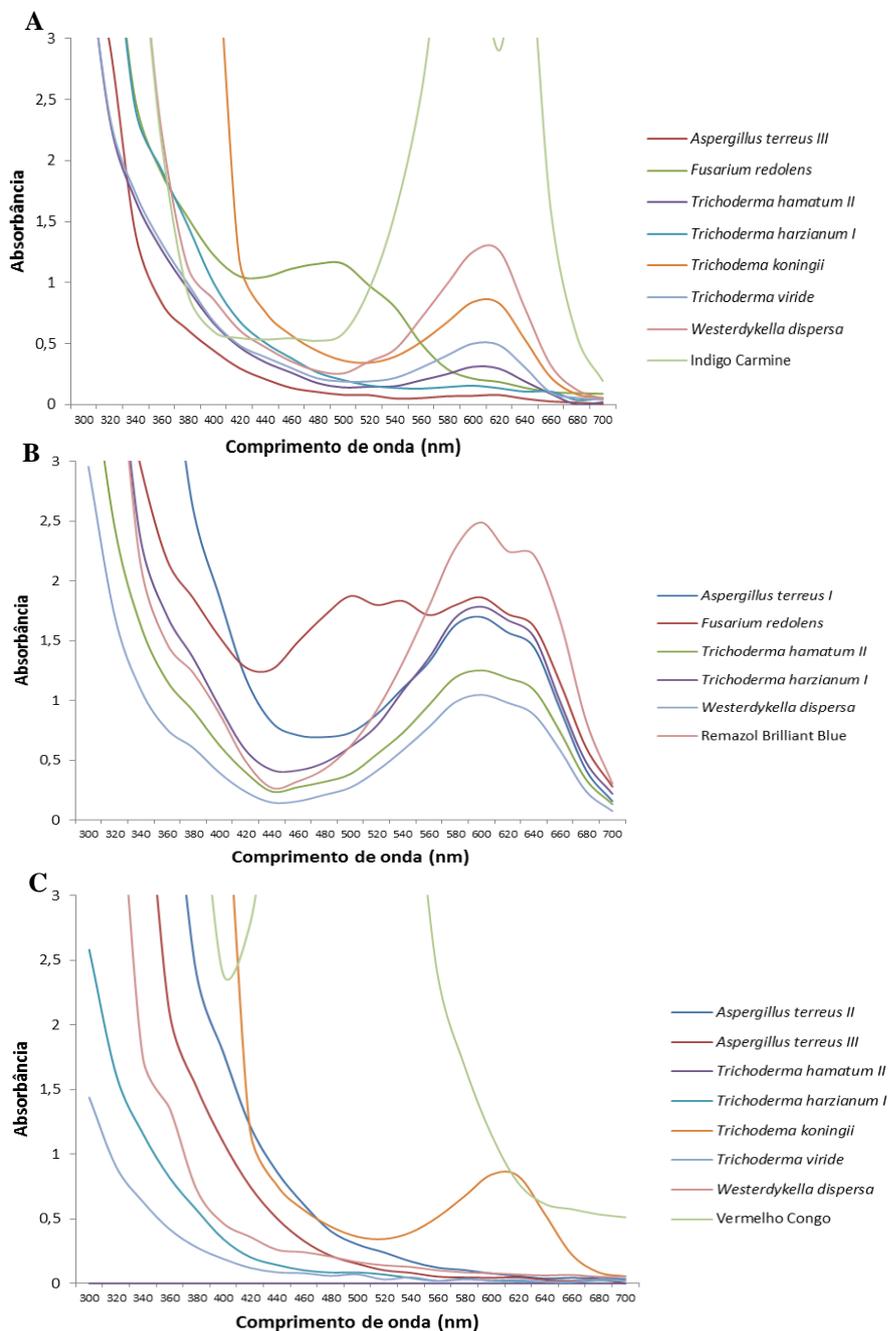


Figura 18. Espectro de absorção dos corantes Índigo Carmine (A), Azul Brillhante de Remazol (B) e Vermelho Congo (C) antes e depois do tratamento fúngico, em condição estática.

Os espectros de absorção dos corantes após tratamento com os fungos mostram a diminuição dos picos cromóforos de cada corante após o tratamento, no entanto, em alguns

pontos observou-se um aumento da intensidade da absorvância, em diferentes comprimentos de onda como pode-se observar com *F. redolens* no tratamento do corante Índigo Carmine e do corante Azul Brilhante de Remazol na faixa de 460 nm a 500 nm (Figuras 18A e B). Isso significa que os produtos, que estão sendo formados pela reação enzimática ocorrida na descoloração dos corantes, absorvem nesta região do espectro ou que o fungo esteja produzindo outro pigmento (Silva *et al.*, 2012).

A partir dos espectros de absorção das figuras 18 e 19 pode-se confirmar que a maioria dos isolados utilizados neste experimento demonstraram um decréscimo da absorvância em comparação com os pontos de máxima do controle dos corantes têxteis, comprovando a descoloração do corante por estes fungos, como pode-se citar: *F. redolens*, *A. terreus* II, *A. terreus* III, *T. koningii*, *T. harzianum* I e *T. harzianum* II, entre outros. A descoloração do corante têxtil Índigo Carmine por alguns dos isolados acima citados pode ser visto na Figura 20 (A-F). Resultados semelhantes são observados por Barreto *et al.* (2011) estudando a descoloração de uma mistura de corantes têxteis contendo Amarelo Procion HE4R, Azul Procion HEGN e Vermelho Procion HE7B pelo fungo do gênero *Ganoderma*.

Algumas espécies de *Aspergillus* tem sido relatadas na literatura como eficientes na descoloração de corantes. Andleeb *et al.* (2010) avaliaram a descoloração de efluente têxtil sintético contendo o corante Preto Enxofre por isolados de *A. terreus* obtidos de lodo de lagoa de armazenamento de resíduos de uma indústria têxtil e observaram que os isolados foram eficientes no tratamento do efluente sintético. Ali *et al.* (2008) avaliaram a descoloração de quatro diferentes corantes têxteis (Vermelho ácido 151, Laranja II, Drimarene azul K2RL e Preto Enxofre) por *Aspergillus niger* isolado de lodo de esgoto e constataram que o isolado demonstrou eficiência na descoloração dos corantes.

A evidência para a remoção total do corante pode ser observada com a absorvância máxima próximo a zero. No presente estudo, isto aconteceu com *T. hamatum* II atuando na descoloração do corante Vermelho Congo em condição estática (Figura 18C) e com *A. terreus* II na descoloração do corante Azul Brilhante de Remazol sob agitação (Figura 19B) que apresentaram absorvância igual a zero ao longo de todo o espectro.

Sadhasivam *et al.* (2009b) em estudo realizados com *T. harzianum* observaram que a biomassa autoclavada do isolado foi eficiente na adsorção dos corantes Rodamina 6G e Erioglaucine. Anastasi *et al.* (2011) em estudos de descoloração de quatro tipos diferentes de efluentes têxteis sintéticos pelo fungo *Bjerkandera adusta* observaram um decréscimo na absorvância comparado ao efluente sem tratamento, chegando aos maiores

comprimentos de onda a zero de absorbância, demonstrando a eficiência destes isolado em descolorir os efluentes têxteis sintéticos utilizados no estudo.

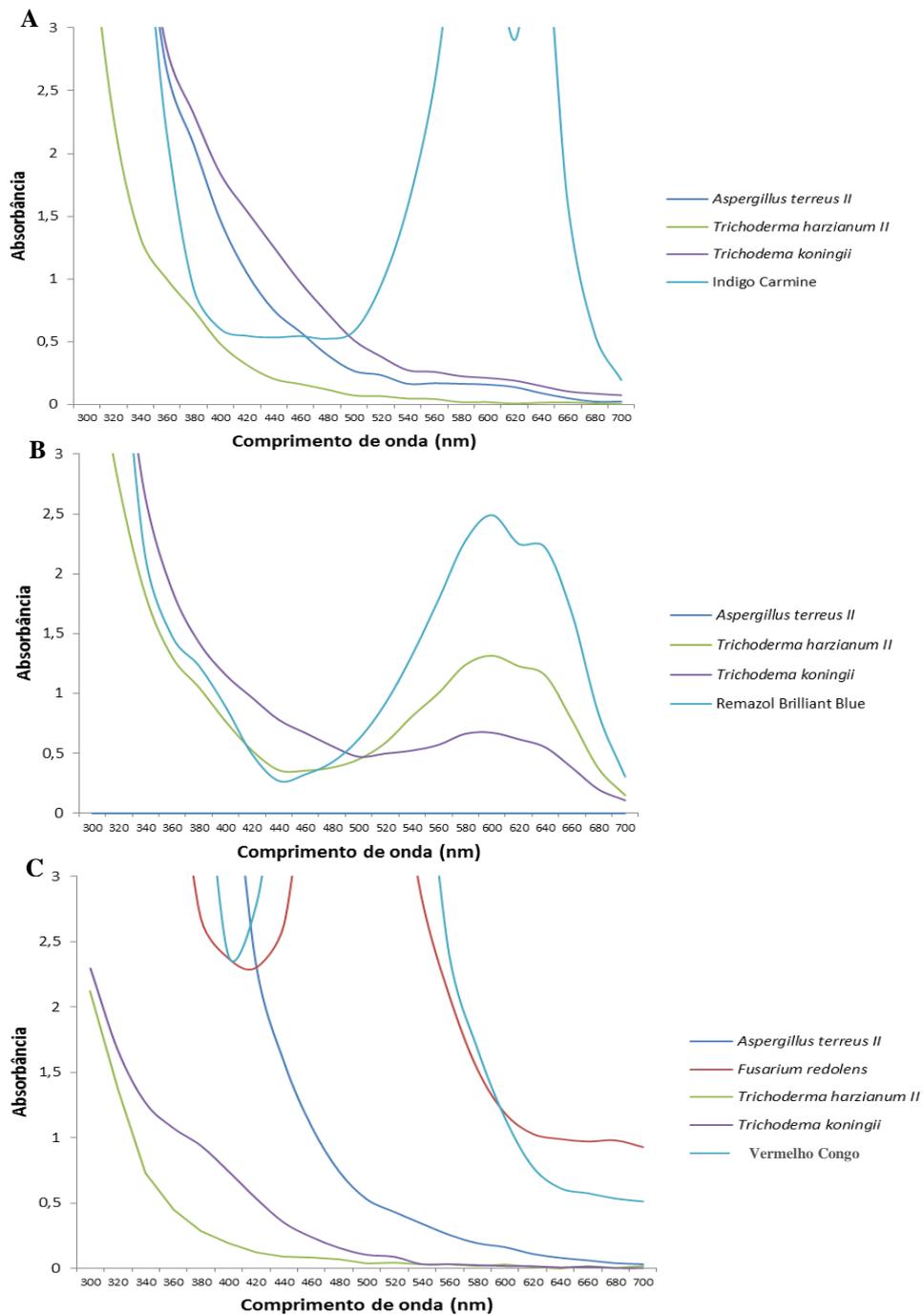


Figura 19. Espectro de absorção dos corantes Índigo Carmine (A), Azul Brillhante de Remazol (B) e Vermelho Congo (C) antes e depois do tratamento, sob agitação (130rpm).

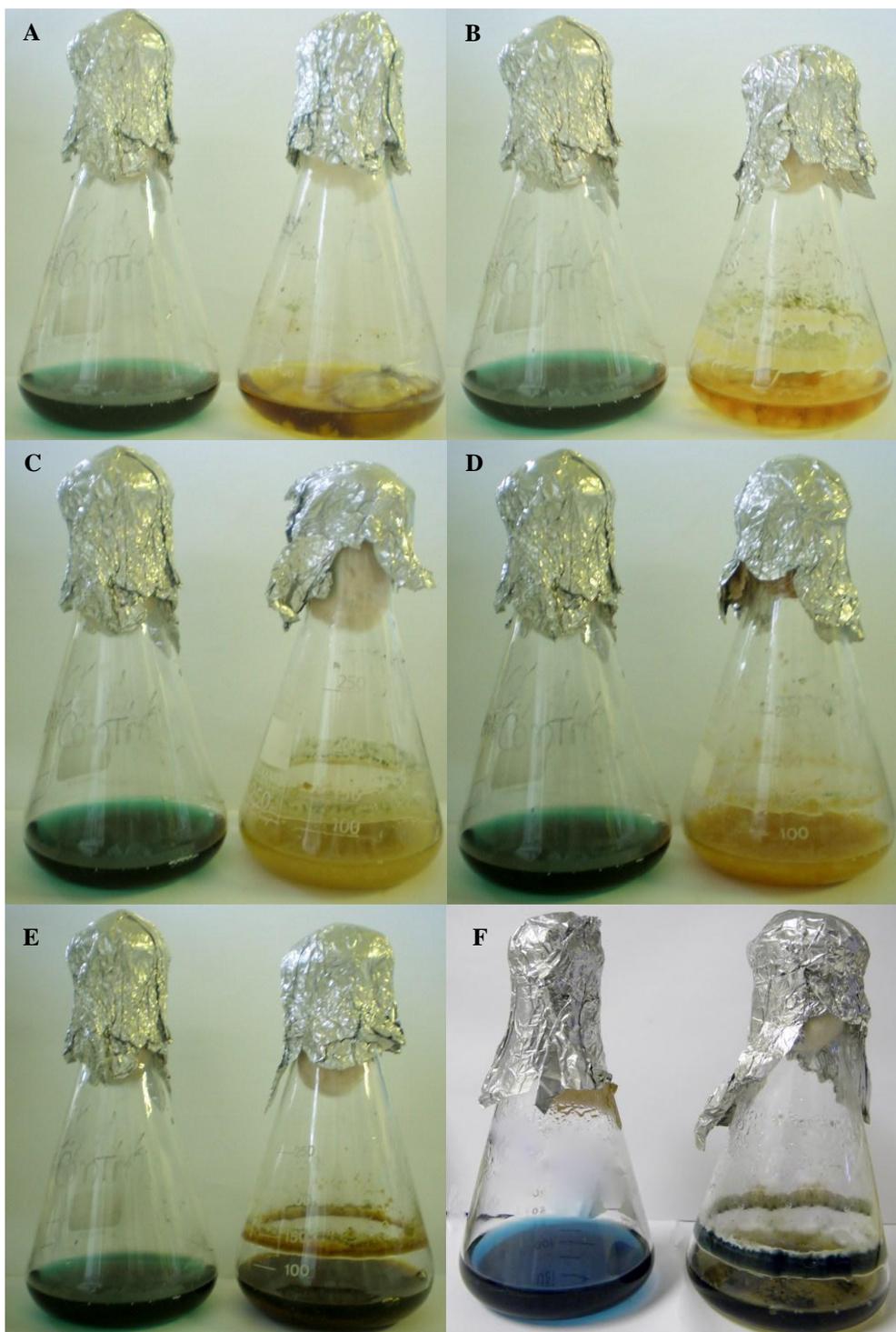


Figura 20. Descoloração do corante Índigo Carmine por *T. harzianum* I (A), *T. hamatum* I (B), *T. harzianum* II (C), *T. viride* (D), *T. koningii* (E), *A. terreus* I (F), após 8 dias de incubação.

## 5. CONCLUSÕES

- Espécies de *Aspergillus*, *Trichoderma* e *Penicillium* são predominantes em sedimento do rio Capibaribe contaminado com efluentes de lavanderias industriais têxteis no município de Toritama – PE, Brasil.
- Isolados de *A. terricola*, *A. terreus*, *F. redolens*, *F. solani*, *S. apiospermum*, *Talaromyces* sp, *Trichoderma aureoviride*, *T. harzianum*, *T. koningii*, *T. viride*, *T. virens* e *Westerdykella dispersa* são produtores de fenoloxidasas em meio sólido contendo ácido gálico.
- Para produção de manganês peroxidase são indicadas as espécies *W. dispersa* e *A. terreus* I em condição estática e *F. redolens* sob agitação.
- Para produção de lignina peroxidase, *A. terreus* II é indicado tanto na condição estática quanto sob agitação;
- Para produção de lacase, são indicados *A. terreus* I na condição estática e *A. terreus* III sob agitação.
- Algumas espécies de fungos isoladas de sedimento do rio Capibaribe contaminado com efluente têxteis podem descolorir totalmente o corante têxtil como *T. hamatum* II atuando sobre o corante Vermelho Congo em condição estática e *A. terreus* II atuando sobre o corante Azul Brilhante de Remazol sob agitação.
- Fungos filamentosos isolados de sedimento do rio Capibaribe contaminado com efluentes de lavanderias industriais têxteis no município de Toritama-PE são eficientes na descoloração de corantes têxteis e na produção de enzimas do complexo fenoloxidase.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Afolabi, O. O., Fagade, O. E., Ogunjobi A. A. 2010. Enzymatic activity of some fungal isolates from decaying bamboo leaves. *Acta SATECH* 3: 108-112.
- Agência Estadual de Meio Ambiente e Recursos Hídricos – CPRH. 2005. Diagnóstico Ambiental das Lavanderias de Toritama - PE, 1-47.
- Aguiar, M. M., Ferreira, L. F. R., Monteiro, R. T. R. 2010. Use of vinasse and sugarcane bagasse for the production of enzymes by lignocellulolytic fungi. *Brazilian Archives Of Biology And Technology* 53: 1245-1254.
- Ahmed, S., Prema, P. 2002. Influence of media nutrients on synthesis of lignin peroxidase from *Aspergillus* sp. *Applied Biochemistry and Biotechnology* 102-103: 327-336.
- Alexopoulos, C.J., Mims, C.W., Blackwell, M. 1996. *Introductory Mycology*. New York, John Wiley.
- Ali, N., Hameed, A., Ahmed, S., Khan, A. G. 2008. Decolorization of structurally different textile dyes by *Aspergillus niger* SA1. *World Journal of Microbiology and Biotechnology* 24: 1067-1072.
- Ali, N.F., El-Mohamedy, R. S. R. 2011. Microbial decolorization of textile waste water. *Journal of Saudi Chemical Society* 15: 1-7.
- Alves, F. R., Campos, V. P. 2003. Efeitos da temperatura sobre a atividade de fungos no controle biológico de *Meloidogyne javanica* e *M. incognita* raça 3. *Ciências e Agrotecnologia* 27: 91-97.
- Ammar, S., Abdelhedi, R., Flox, C., Arias, C. and Brillas, E. 2006. Electrochemical degradation of the dye indigo carmine a boron-doped diamond anode for wastewaters remediation. *Environmental Chemistry Letters* 4: 229-233.
- Anastasi, A., Prigione, V., Casieri, L., Varese, G. C. 2009. Decolourisation of model and industrial dyes by mitosporic fungi in different culture conditions. *World Journal Microbiology and Biotechnology* 25: 1363–1374.
- Anastasi, A., Parato, B., Spina, F., Tigini, V., Prigione, V., Varese, G. C. 2011. Decolourisation and detoxification in the fungal treatment of textile wastewaters from dyeing processes. *New Biotechnology* 29: 38-45.
- Andleeb, S., Atiq, N., Ali, M. I., Razi-Ul-Hussnain, R., Shafique, M., Ahmad, B., Ghumro, P. B., Hussain, M., Hameed, A., Ahmad, S. 2010. Biological treatment of textile effluent in stirred tank bioreactor. *International Journal of Agriculture & Biology* 12: 256-260.
- Anjaneyulu, Y. Chary, N. S., Raj, D. S. S. 2005. Decolourization of industrial effluents – available methods and emerging technologies – a review. *Reviews in Environmental Science and Bio/Technology* 4:245–273.
- Arora, D. S., Gill, P. K. 2001. Comparison of two assay procedures for lignin peroxidase. *Enzyme and Microbial Technology* 28: 602–605.
- Arora, D. S., Chander, M., Gill, P. K. 2002. Involvement of lignin peroxidase, manganese peroxidase and laccase in degradation and selective ligninolysis of wheat straw. *International Biodeterioration & Biodegradation* 50: 115 – 120.
- Arora, D. S., Sharma, R. K. 2010. Ligninolytic fungal laccases and their biotechnological applications. *Applied Biochemistry and Biotechnology* 160: 1760-1788.
- Associação Brasileira da Indústria Têxtil e de Confecção. 2011. Disponível em: <[http://www.abit.org.br/site/navegacao.asp?id\\_menu=1&id\\_sub=4&idioma=PT](http://www.abit.org.br/site/navegacao.asp?id_menu=1&id_sub=4&idioma=PT)>. Acesso em: 18 outubro 2011.

- Bafana, A., Krishnamurthi, K., Devi, S. S., Chakrabarti, T. 2008. Biological decolourization of C.I. Direct Black 38 by *E. gallinarum*. *Journal of Hazardous Materials* 157:187–193.
- Balan, D. S. L., Monteiro, R. T. R. 2001. Decolorization of textile indigo dye by ligninolytic fungi. *Journal of Biotechnology* 89: 141–145.
- Baldrian, P. 2006. Fungal laccases - occurrence and properties. *Federation of European Microbiological Societies* 30: 215–242.
- Baldrian, P., Voříšková, J., Dobiášová, P., Merhautová, V., Lisá, L., Valášková, V. 2011. Production of extracellular enzymes and degradation of biopolymers by saprotrophic microfungi from the upper layers of forest soil. *Plant and Soil* 338: 111–125.
- Barka, N., Assabbane, A., Nounahb, A., Aît Ichou, Y. 2008. Photocatalytic degradation of indigo carmine in aqueous solution by TiO<sub>2</sub>-coated non-woven fibres. *Journal of Hazardous Materials* 152: 1054–1059.
- Barreto, W. J., Bernardino, N. D., Afonso, R., Doi, S. M. O. 2011. Biodegradação de uma mistura de corantes têxteis usando o fungo *Ganoderma* sp: um estudo cinético. *Química Nova* 34: 568-572.
- Bastian, E. Y. O. 2009. Guia técnico ambiental da indústria têxtil. São Paulo, CETESB.
- Bennet, W., Wunch, K. G., Faison, B. D. 2002. Use of Fungi Biodegradation. In: Hurst, C. J. (ed.) *Manual of Environmental Microbiology*. 2<sup>nd</sup> edition. Washington, ASM Press, 960-971.
- Bolzon, L. B. 2007. Nb<sub>2</sub>O<sub>5</sub> como fotocatalisador para a degradação de índigo de carmina. 72f. Dissertação (Pós-graduação em Química) - Universidade de Brasília, Brasília, Distrito Federal.
- Bon, E., Ferrara, M.A., Corvo, M.L. 2008. *Enzimas em Biotecnologia: produção, aplicações e mercado*. Rio de Janeiro, Interciência.
- Bonugli-Santos, R. C., Durrant, L. R., Silva, M., Sette, L. D. 2010. Production of laccase, manganese peroxidase and lignin peroxidase by Brazilian marine-derived fungi. *Enzyme and Microbial Technology* 46: 32–37.
- Brijwani, K., Rigdon, A., Vadlani, P. V. 2010. Fungal laccases: production, function, and applications in food processing. *Enzyme Research* 2010: 1-10.
- Campos, A. T., Daga, J. Rodrigues, E. E., Franzener, G., Suguí, M. M. T., Syperreck, V. L. G. 2006. Tratamento de águas residuárias de fecularia por meio de lagoas de estabilização. *Engenharia Agrícola* 26: 235-242.
- Canales, M., Lobos, S., Rafael, V. 1998. Molecular modeling of manganese peroxidase from the lignin-degrading fungus *Ceriporiopsis subvermispota* and structural comparison with other peroxidases. *Electronic Journal of Biotechnology* 1: 96-102.
- Cantrell, S. A., Casillas-Martínez, L., Molina, M. 2006. Characterization of fungi from hypersaline environments of solar salterns using morphological and molecular techniques. *Mycological Research* 110: 962 - 970.
- Carvalho, W., Canilha, L., Ferraz, A., Milagres, A. M. F. 2009. Uma visão sobre a estrutura, composição e biodegradação da madeira. *Química Nova* 32: 2191-2195.
- Cavalcanti, M.A.Q., Oliveira, L. G., Fernandes, M. J., Lima, D. M. 2006. Fungos filamentosos isolados do solo em municípios na região Xingó, Brasil. *Acta Botanica Brasilica* 20: 831-837.
- Chaparro, D. F., Rosas, D. C., Varela, A. 2009. Aislamiento y evaluación de la actividad enzimática de hongos descomponedores de madera (Quindío, Colombia). *Revista Iberoamericana de Micología* 26: 238–243.

- Clark, F.E. 1965. Agar-plate method for total microbial count. In: Black, C.A., Evans, D., White, J.L., Ensminger, L.E., Clark, F.E., Dinauer, R.C. (eds.). *Methods of soil analysis, Part 2. Chemical and microbiological properties*. New York, Madson Inc, pp. 1460-1466.
- Colla, L. M., Primaz, A. L., Lima, M., Bertolin, T. E., Costa, A. V. C. 2008. Isolamento e seleção de fungos para biorremediação a partir de solo contaminado com herbicidas triazínicos. *Ciência e Agrotecnologia* 32: 809-813.
- Conceição, D. M., Angelis, D. A., Bidoia, D., Angelis, F. 2005. Fungos filamentosos isolados do Rio Atibaia, SP e Refinaria de petróleo biodegradadores de compostos fenólicos. *Arquivos do Instituto Biológico* 72: 99-106.
- Conesa, A., Jeenes, D., Archer, D. B., van den Hondel, C. A. M. J. J., Punt, P. J. 2002. Calnexin overexpression increases manganese peroxidase production in *Aspergillus niger*. *Applied and Environmental Microbiology* 68: 846-851.
- Companhia de Pesquisa de Recursos Minerais - Serviço Geológico do Brasil. 2005. *Projeto cadastro de fontes de abastecimento por água subterrânea. Diagnóstico do município de Toritama, estado de Pernambuco*. Recife, CPRM/PRODEEM, 1-11.
- Conselho Nacional do Meio Ambiente. 2011. Resolução Nº 430. Disponível em: <<http://www.mma.gov.br/port/conama/legiabre.cfm?codlegi=646>>. Acesso em: 20 outubro 2011.
- Cordi, L., Minussi, R.C., Freire, R. S., Durán, N. 2007. Fungal laccase: copper induction, semi-purification, immobilization, phenolic effluent treatment and electrochemical measurement. *African Journal of Biotechnology* 6: 1255-1259.
- Costa, A. F. S. 2008. *Aplicação de tratamentos biológico e físico-químico em efluentes de lavanderia e tinturaria industriais do município de Toritama no estado de Pernambuco*. 87f. Dissertação (Mestrado em Desenvolvimento de Processos Ambientais) – Universidade Federal de Pernambuco, Recife, Pernambuco.
- Costa, P. M. O., Souza-Motta, C. M., Malosso, E. 2011. Diversity of filamentous fungi in different systems of land use. *Agroforest Systems* (8 novembro de 2011): 1-9.
- Coutinho, F.P., Cavalcanti, M.A.Q., Yano-Melo, A.M. 2010. Filamentous fungi isolated from the rhizosphere of melon plants (*Cucumis melo* L. cv. Gold Mine) cultivated in soil with organic amendments. *Acta Botanica Brasilica* 24: 292-298.
- Davidson, R. W., Campbell, W. A., Blaisdell, D. J. 1938. Differentiation of wooddecaying fungi by their reactions on gallic or tannic acid medium. *Journal Agriculture Research*, 57: 683-695.
- De Souza, C. G., Peralta, R. M. 2003. Purification and characterization of the main laccase produced by White-rot fungus *Pleurotus pulmonarius* on wheat bran solid state medium. *Journal Basic Microbiology* 43: 2277-2282.
- De Souza, C. R. L., Peralta-Zamora, P. 2005. Degradação de corantes reativos pelo sistema ferro metálico/peróxido de hidrogênio. *Química Nova* 28: 226-228.
- Dellamatrice, P. M. 2005. *Biodegradação e toxicidade de corantes têxteis e efluentes da Estação de Tratamento de Águas Residuárias de Americana, SP*. 137f. Tese (Pós-Graduação em Ecologia de Agroecossistemas) – Universidade de São Paulo, Piracicaba, São Paulo.
- Dellamatrice, P. M., Monteiro, R. T. R. 2006. Decolorization and toxicity of municipal waste by horseradish (*Cochlearia armoracia*). *Química Nova*, 29: 419-421.
- Diwaniyan, S., Kharb, D., Raghukumar, C., Kuhad, R. C. 2010. Decolorization of synthetic dyes and textile effluents by basidiomycetous fungi. *Water, Air, & Soil Pollution* 210:409-419.
- Domsch, K.H.; Gams, W.; Anderson, T. 1993. *Compendium of soil fungi*. San Francisco, IHW-Verlag.

- Domsch KH, Gams W, Anderson T. 2007. *Compendium of soil fungi*. San Francisco, IHW-Verlag.
- Dullius, C. H. 2004. *Utilização de fungos para biodegradação de corantes têxteis sintéticos*. 72f. Dissertação (Programa de Pós-Graduação em Desenvolvimento Regional) - Universidade de Santa Cruz do Sul, Santa Cruz do Sul, Rio Grande do Sul.
- D'Souza-Ticlo, D., Garg, S., Raghukumar, C. 2009. Effects and interactions of medium components on laccase from a marine-derived fungus using response surface methodology. *Marine Drugs* 7: 672-688.
- Edwards, S. L., Raag, R., Warshii, H., Goldt, M. H., Poulos, T. L. 1993. Crystal structure of lignin peroxidase. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 90: 750-754.
- El-Rahim, W. M. A. 2006. Assessment of textile dye remediation using biotic and abiotic agents. *Journal of Basic Microbiology* 46: 318-328.
- Enayatzamir, K., Alikhani, H. A., Yakhchali, B., Tabandeh, F., Rodríguez-Couto, S. 2010. Decolouration of azo dyes by *Phanerochaete chrysosporium* immobilised into alginate beads. *Environmental Science and Pollution Research* 17: 145-153.
- Esmaili, A., Kalantari, M. 2011. Bioremoval of an azo textile dye, reactive red 198, by *Aspergillus flavus*. *World Journal of Microbiology and Biotechnology* (9 October 2011): 1-7.
- Esposito, E., Azevedo, J.L. 2004. *Fungos: uma introdução à biologia, bioquímica e biotecnologia*. Coleção Biotecnologia. Caixias do Sul, EDUCS. 510p.
- Forgacs, E., Cserhádi, T., Oros, G. 2004. Removal of synthetic dyes from wastewaters: a review. *Environment International* 30: 953-971.
- Freire, R. S., Pelegrini, R., Kubota, L. T., Durán, N., Peralta-Zamora, P. 2000. Novas tendências para o tratamento de resíduos industriais contendo espécies organocloradas. *Química Nova* 23: 504-511.
- Gaylarde, C. C., Bellisano, M. L., Manfio, G. P. 2005. Biorremediação: aspectos biológicos e técnicos da biorremediação de xenobióticos. *Biotecnologia Ciência e Desenvolvimento* 34: 36-43.
- Gianfreda, L., Bollag, J. M. 2002. Isolated enzymes for the transformation and detoxification of organic pollutants. In: Burns, R. G., Dick, R. P. (eds.) *Enzymes in the environment: activity, ecology, and applications*. New York, Marcel Dekker.
- Gochev, V. K., Krastanov, A. I. 2007. Isolation of laccase producing *Trichoderma* Spp. *Bulgarian Journal of Agricultural Science* 13: 171-176.
- Gomes, D. N. F. 2007. *Diversidade e potencial biotecnológico de fungos filamentosos isolados do manguezal Barra das Jangadas, Jaboatão dos Guararapes, Pernambuco*. 94f. Tese (Programa de Pósgraduação em Biologia de Fungos) – Universidade Federal de Pernambuco, Recife, Pernambuco.
- Grassi, E., Scodeller, P., Filiel, N., Carballo, R., L. 2011. Potential of *Trametes trogii* culture fluids and its purified laccase for the decolorization of different types of recalcitrant dyes without the addition of redox mediators. *International Biodeterioration & Biodegradation* 65: 635-643.
- Guaratini, C. C. I., Zanoni, M. V. B. 2000. Corantes Têxteis. *Química Nova* 23: 71-78.
- Guerra, D. M. S., Pires, A. P. D., Lima, E. A. L. A. 2009. Persistência de *Metarhizium anisopliae* spp no solo sob diferentes condições de temperatura e umidade. *Revista Caatinga* 22: 50-54.
- Guimarães, L. H. S., Peixoto-Nogueira, S. C., Michelin, M., Rizzatti, A. C. S., Sandrim, V. C., Zanoelo, Aquino, F. F., A. C. M. M., Junior, A. B., Polizeli, M. L. T.M. 2006. Screening of filamentous fungi for production of enzymes of biotechnological interest. *Brazilian Journal of Microbiology* 37: 474-480.

- Hasan, S.H., Ranjan, D., Talat, M. 2010. Agro-industrial waste 'wheat bran' for the biosorptive remediation of selenium through continuous up-flow fixed-bed column. *Journal of Hazardous Materials* 181: 1134–1142.
- Hassemer, M. E. N. 2006. Oxidação fotoquímica - UV/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> - para degradação de poluentes em efluentes da indústria têxtil. Tese (Pós-Graduação em Engenharia Ambiental) - Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, Santa Catarina.
- Hassemer, M. E. N.; Sens, M. L. 2002. Tratamento do efluente de uma indústria têxtil. Processo físico-químico com ozônio e coagulação/floculação. *Engenharia sanitária e ambiental* 7: 30-36.
- Ho, C. H., Chen, L., Ho, Y. P., Yang, C. L. 2010. Oxidative decomposition of reactive blue c.i. 19 with sodium hypochlorite. *Environmental engineering science* 27: 103-109.
- Hofrichter, M. 2002. Review: lignin conversion by manganese peroxidase (MnP). *Enzyme and Microbial Technology* 30: 454–466.
- Holker, U., Dohse, J., Hofer, M. 2002. Extracellular laccases in Ascomycetes *Trichoderma atroviride* and *Trichoderma harzianum*. *Folia Microbiologica* 47: 423-427.
- Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. 2010. Disponível em: <<http://www.ibge.gov.br/home/estatistica/populacao/censo2010/default.shtm>>. Acesso em: 23 novembro 2010.
- Immich, A. P. S. 2006. *Remoção de Corantes de Efluentes Têxteis Utilizando Folhas de Azadirachta indica como Adsorvente*. 119f. Dissertação (Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química) - Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, Santa Catarina.
- Iskandar, N. L., Zainudin, N. A. I. M., Tan, S. G. 2011. Tolerance and biosorption of copper (Cu) and lead (Pb) by filamentous fungi isolated from a freshwater ecosystem. *Journal of Environmental Sciences* 23: 824–830.
- Jin, X. C., Liu, G. Q., Xu, Z. H., Tao, W. Y. 2007. Decolorization of a dye industry effluent by *Aspergillus fumigatus* XC6. *Applied Microbiology and Biotechnology* 74: 239–24.
- Kamida, H. M., Durrant, L. R., Monteiro, R. T. R. e Armas, E. D. 2005. Biodegradação de efluente têxtil por *Pleurotus sajor-caju*. *Quimica Nova* 28: 629-632.
- Kanayama, N., Suzuki, T., Kawai, K. 2002. Purification and characterization of an alkaline manganese peroxidase from *Aspergillus terreus* LD-1. *Journal of Bioscience and Bioengineering* 93: 405-410.
- Klich, M. A. 2002. *Identification of common Aspergillus species*. Centraalbureau vöör, Schimmelcultures.
- Kudanga, T., Nyanhongob, G. S., Guebitzb, G. M., Burtona, S. 2011. Potential applications of laccase-mediated coupling and grafting reactions: A review *Enzyme and Microbial Technology* 48: 195–208.
- Kunz, A., Peralta-Zamora, P., Moraes, S. G., Durán, N. 2002. Novas tendências no tratamento de efluentes têxteis. *Quimica Nova*, 25: 78-82.
- Kuwahara, M., Glenn, J.K., Morgan, M.A., Gold, M.H. 1984. Separation and characterization of two extracellular H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-dependent oxidases from ligninolytic cultures of *Phanerochaete chrysosporium*. *FEBS Letters* 169: 247-250.
- Lacaz, C. S. 1991. *Micologia médica: fungos, actinomicetos e algas de interesse médico*. São Paulo, Savier.
- Leslie, J. F., Summerell, B. A. 2006. *The Fusarium laboratory manual*. Iowa, Blackwell Publishing.
- Lima, U. A. L., Aquarone, E., Borzani, W., Schmidell, W. 2001. *Biotechnologia Industrial: Processos fermentativos e enzimáticos*. Vol. 3. São Paulo, Blucher.

- Liu, R., Chiu, H.M., Shiau, C., Yeh, R. Y., Hung, Y. T. 2007. Degradation and sludge production of textile dyes by Fenton and photo-Fenton processes. *Dyes and Pigments* 73: 1-6.
- Lucena, W. G. L. 2004. *Uma Contribuição ao Estudo das Informações Contábeis Geradas pelas Micro e Pequenas Empresas Localizadas na Cidade de Toritama no Agreste pernambucano*. 114f. Dissertação (Mestrado em Ciências Contábeis) – Universidade de Brasília/ Universidade Federal da Paraíba/ Universidade Federal de Pernambuco/ Universidade Federal do Rio Grande do Norte, João Pessoa, Paraíba.
- Lyra, E. S., Moreira, K. A., Porto, T. S., Carneiro da Cunha, M. N., Paz Júnior, F. B., Neto, B. B., Lima-Filho, J. L., Cavalcanti, M. A. Q., Converti, A. , Porto, A. L. P. 2009. Decolorization of synthetic dyes by basidiomycetes isolated from woods of the Atlantic Forest (PE), Brazil. *World Journal Microbiology and Biotechnology* 25: 1499-1504.
- Machado, K. M. G., Matheus, D. R., Bononi, V. L. R. 2005. Ligninolytic enzymes production and Remazol Brilliant Blue R decolorization by tropical brazilian Basidiomycetes fungi. *Brazilian Journal of Microbiology* 36: 246-252.
- Machado, K. M. G., Compart, L. C. A., Morais, R. O., Rosa, L. H., Santos, M. H. 2006. Biodegradation of reactive textile dyes by basidiomycetous fungi from Brazilian ecosystems. *Brazilian Journal of Microbiology*, 37: 481-487.
- Maciel, C. C. S. 2010. Produção de enzimas do sistema lignolítico e biossurfactante por *Curvularia luneta* (UFPEDA 885), usado óleo diesel como substrato. 142f. Tese (Pós-Graduação em Biologia de Fungos) – Universidade Federal de Pernambuco, Recife, Pernambuco.
- Maciel, C. C. S., Souza, M. A., Gusmão, N. B. Campos-Takaki, G. M. 2010. Produção de enzimas do sistema lignolítico por fungos filamentosos isolados de locais impactados por petroderivados. *Exacta* 8: 299-305.
- Mancilha, E. S. L. 2006. Seleção de Basidiomycetes coletados e isolados em área de mata atlântica – PE, com atividade fenoxidase e sua aplicação na descoloração de corantes sintéticos. 128f. Tese (Pós-Graduação em Ciências Biológicas) – Universidade Federal de Pernambuco, Recife, Pernambuco.
- Mansur, M., Arias, M. E., Copa-Patiño, J. L., Flärdh, M., González, A. E. 2003. The white-rot fungus *Pleurotus ostreatus* secretes laccase isozymes with different substrate specificities. *Mycologia* 95: 1013–1020.
- Martinez, M. J., Ruiz-Duenas, F. J., Cuillen, F., Martinez, A. T. 1996. Purification and catalytic properties of two manganese peroxidase isoenzymes from *Pleurotus eryngii*. *European Journal of Biochemistry* 237: 424-432.
- Miao, L., Zhang, G., Wang, H., Ng, T. 2010. Purification and characterization of a laccase from the edible wild mushroom *Tricholoma mongolicum*. *Journal of Microbiology and Biotechnology* 20: 1069–1076.
- Miquelante, F. A. 2011. *Prospecção de fungos filamentosos halotolerantes para uso na descoloração de corantes têxteis*. 76f. Dissertação (Programa de Pós-Graduação em Ciências – Bioquímica) – Universidade Federal do Paraná, Curitiba, Paraná.
- Morceli, V. R. 2006. Fungos endofíticos e/ou saprofíticos isolados em cultivares marandú e xaraés de *Brachiaria brizantha* (Hochst Ex Rich.) Stapf. (Poaceae). 89f. Dissertação (Pós-Graduação em biologia vegetal) - Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, Campo Grande, Mato Grosso do Sul.
- Nelson, D. L., Lehninger, A. L., Cox, M. M. 2002. *Lehninger princípios de bioquímica*. 3.ed. São Paulo, Sarvier.

- Oliveira, L. H. S., Barreto, B., Vitalli, V. M. V., Machado, K. M. G. Matheus, D. R. 2010. Descoloração de corantes sintéticos por basidiomicetos tropicais brasileiros. *Naturalia* 33: 85-99.
- Pant, D., Adholeya, A. 2007. Enhanced production of ligninolytic enzymes and decolorization of molasses distillery wastewater by fungi under solid state fermentation. *Biodegradation* 18: 647-659.
- Parshetti, G. K., Kalme, S.D., Gomare, S.S., Govindwar, S.P. 2007. Biodegradation of Reactive blue-25 by *Aspergillus ochraceus* NCIM-1146. *Bioresource Technology* 98: 3638-3642.
- Pereira, A. R. B., Bueno, F. L., Santos, S. C., Lima, C. A. A., Dias, A. L. T. 2010. Biodegradação de corantes e efluentes têxteis por fungos. *Holos Environment* 10: 165-179.
- Perovano Filho, N, Silva, K. F. S., López, A. M. Q. 2011. Ação de micoflora de efluentes agroindustriais sobre diferentes corantes e substratos lignocelulósicos. *Acta Scientiarum. Biological Sciences* 33: 427-435.
- Piontek, K., Antorini, M., Choinowski, T. 2002. Crystal Structure of a Laccase from the Fungus *Trametes versicolor*. *The Journal of Biological Chemistry* 277: 37663–37669.S at 1.90-Å Resolution Containing a Full Complement of Coppers\*
- Pitt, J.I. 1988. *A laboratory guide to common Penicillium species*. North Ryde, Commonwealth Scientific and Industrial Research Organization – Division of Food Processing.
- Praveen, K., Viswanath, B., Usha, K. Y., Pallavi, H., Reddy, G. V. S., Naveen, M., Reddy, B. R. 2011. Lignolytic Enzymes of a Mushroom *Stereum ostrea* Isolated from Wood Logs. *Enzyme Research* 2011: 1-6.
- Quintero, L., Cardona, S. 2010. Tecnologías para la decoloración de tintes índigo e índigo carmín. *Dyna* 77: 371-386.
- Raju, N. S., Venkataramana, G. V., Girish, S. T., Raghavendra, V. B., Shivashankar, P. 2007. Isolation and evaluation of indigenous soil fungi for decolourization of textile dyes. *Journal of Applied Science* 7: 298-301.
- Raper, K. B., Fennell, D. I. 1965. *The genus Aspergillus*. Baltimore, Willians and Wilkins.
- Ribeiro, M.C., Soares, M.M.S.R. 2002. *Microbiologia prática: roteiro e manual*. São Paulo, Atheneu.
- Rifai, M.A. 1969. A revision of the genus *Trichoderma*. *Mycological Papers* 116: 1-56.
- Robinson, T., McMullan, G., Marchant, R., Nigam, P. 2001. Remediation of dyes in textile effluent: a critical review on current treatment technologies with a proposed alternative. *Bioresource Technology* 77: 247-255.
- Sadhasivam, S., Savitha, S., Swaminathan, K. 2009a. Redox-mediated decolorization of recalcitrant textile dyes by *Trichoderma harzianum* WL1 laccase. *World Journal Microbiology and Biotechnology* 25: 1733–1741.
- Sadhasivam, S., Savitha, S., Swaminathan, K., Lin, F. 2009b. Metabolically inactive *Trichoderma harzianum* mediated adsorption of synthetic dyes: Equilibrium and kinetic studies. *Journal of the Taiwan Institute of Chemical Engineers* 40: 394–402.
- Salgado, B. C. B. 2009. Descoloração de efluentes têxteis via processos oxidativos avançados fenton e fotoassistidos. 164f. Dissertação (Pós-Graduação em Tecnologia e Gestão Ambiental) - Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Ceará, Fortaleza, Ceará.
- Salgado, B. C. B., Nogueira, M. I. C., Rodrigues, K. A., Sampaio, G. M. M. S., Buarque, H. L. B., Araújo, R. S. 2009. Descoloração de efluentes aquosos sintéticos e têxtil contendo corantes índigo e azo via processos Fenton e foto-assistidos (UV e UV/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>). *Engenharia Sanitária e Ambiental* 14: 1-8.

- Samson, R. A., Frisvad, J. C. 2004. *Penicillium* Subgenus *Penicillium*: new Taxonomics Schemes, Mycotoxins and Other Extralites. *Studies in Mycology* 49: 1-260.
- Santiago, A. L. C. M. A., Souza-Motta, C. M. 2006. Mucorales isolados do solo de mineração de cobre e produção de amilase e inulinase. *Acta Botânica Brasilica*, 20: 641-647.
- Santos, P. K., Fernandes, K. C., Faria, L. A., Freitas, A. C., Silva, L. M. 2011. Descoloração e degradação do azo corante vermelho grlx-220 por ozonização. *Química Nova* 34: 1315-1322.
- Sant'Anna Jr., G. L. 2001. Produção de Enzimas Microbianas. In: Lima, U. A. L., Aquarone, E., Borzani, W., Schmidell, W (cords.) *Biotecnologia Industrial: Processos fermentativos e enzimáticos*. Vol. 3. São Paulo, Blucher.
- Saparrat, M. C. N., Martínez, M. J., Tournier, H. A., Cabello, M. N., Arambarri, A. M. 2000. Production of ligninolytic enzymes by *Fusarium solani* strains isolated from diferent substrata. *World Journal of Microbiology & Biotechnology* 16: 799-803.
- Sathishkumar, P., Arulkumarb, M., Palvannanb, T. 2012. Utilization of agro-industrial waste *Jatropha curcas* pods as an activated carbon for the adsorption of reactive dye Remazol Brilliant Blue R (RBBR). *Journal of Cleaner Production* 22: 67-75.
- Schoenlein, N. C., Corso, R. C., Schoenlein-Crusius, I. H., Souza, J. I., Oliveira, L. H.S. 2008. Fungos anamorfos do solo da região dos lagos no município de Santa Gertrudes, SP, Brasil. *Revista Brasileira de Botânica*, 31: 667-678.
- Shedbalkar, U., Dhanve, R., Jadhav, J. 2008. Biodegradation of triphenylmethane dye cotton blue by *Penicillium ochrochloron* MTCC 517. *Journal of Hazardous Materials*, 157: 472-479.
- Shin, K. S., Kim, Y. H., Lim, J. S. 2005. Purification and Characterization of Manganese Peroxidase of the White-Rot Fungus *Irpex lacteus*. *The Journal of Microbiology* 43: 503-509.
- Shraddha, Shekher, R., Sehgal, S., Kamthania, M., Kumar, A. 2011. Laccase: microbial sources, production, purification, and potential biotechnological applications. *Enzyme Research* 2011: 1-11.
- Sigma-Aldrich. 2011. Disponível em: <<http://www.sigmaaldrich.com/catalog/Lookup>>. Acesso em: 30 novembro 2011.
- Silva, C.M.M.S., Melo, I.S., Oliveira, P.R. 2003. Production of phenol-oxidases and peroxidases by fungus isolated from irrigated Rice. *Brazilian Journal of Microbiology* 34: 53-55.
- Silva, I. S., Menezes, C. R., Franciscon, E., Santos, E. C., Durrant, L. R. 2010. Degradation of lignosulfonic and tannic acids by ligninolytic soil fungi cultivated under icroaerobic conditions. *Brazilian Archives of Biology and Technology* 53: 693-699.
- Silva, M., Esposito, E. 2004. O papel dos fungos na recuperação ambiental. In: Esposito, E., Azevedo, J. L. (orgs). *Fungos: uma introdução à biologia, bioquímica e biotecnologia*. Caixias do Sul, Educ.
- Silva, M. G., Almeida, D.G., Miranda, R.C.M., Maciel, C.C.S., Gusmão, N.B. 2011. Produção da enzima lignina peroxidase por fungos filamentosos utilizando óleo diesel como substrato. *Scientia Plena* 7: 1-7.
- Silva, M. C., Corrêa, A. D., Torres, J. A., Amorim, M. T. S. P. 2012. Descoloração de corantes industriais e efluentes têxteis simulados por peroxidase de nabo (*Brassica campestris*). *Química Nova* 1-6.
- Singh, S., Pakshirajan, K. 2010. Enzyme activities and decolourization of single and mixed azo dyes by the white-rot fungus *Phanerochaete chrysosporium*. *International Biodeterioration & Biodegradation* 64: 146-150.

- Soares, I. A., Flores, A. C., Zanettin, L., Pin, H. K., Mendonça, M. M., Barcelos, R. P., Trevisol, L. R., Carvalho, R. D., Schauren, D., Rocha, C. L. M. S. C., Baroni, S. 2010. Identificação do potencial amilolítico de linhagens mutantes do fungo filamentoso *Aspergillus nidulans*. *Ciência e Tecnologia de Alimentos* 30: 700-705.
- Souza, H. Q., Oliveira, L. A., Andrade, J. S. 2008. Seleção de Basidiomycetes da Amazônia para produção de enzimas de interesse biotecnológico. *Ciência e Tecnologia de Alimentos* 28: 116-124.
- Souza, A. F., Rosado, F. R. 2009. Utilização de fungos Basidiomicetes em biodegradação de efluentes têxteis. *Revista em Agronegócios e Meio Ambiente* 2: 121-139.
- Srinivasan, A., Viraraghavan, T. 2010. Decolorization of dye wastewaters by biosorbents: A review. *Journal of Environmental Management* 91: 1915-1929.
- Sundaramoorthy, M., Gold, M. H., Poulos, T. L. 2010. Ultrahigh (0.93 Å) Resolution structure of manganese peroxidase from *Phanerochaete chrysosporium*: implications for the catalytic mechanism. *Journal of Inorganic Biochemistry* 104: 683-690.
- Suzuki, R.M., Andrade, A.D., Sousa, J.C., Rollemberg, M.C. 2007. Preparation and characterization of activated carbon from rice bran. *Bioresource Technology* 98: 1985-1991.
- Tavares, A. P. M. 2006. *Produção de lacase para potencial aplicação como oxidante na indústria papeleira*. 190f. Tese (Pós-Graduação Engenharia Química) - Universidade de Aveiro, Aveiro.
- Thurston, C. F. 1994. The structure and function of fungal laccases. *Microbiology* 140: 19-26.
- Torres, B. T. 2001. Elementos de Enzimologia. In: Borzani, W., Schmidell, W., Lima, U. A., Aquarone, E (coords). *Biotecnologia Industrial: Fundamentos*. Vol 1. São Paulo, Blucher.
- Tosi, S., Kostadinova, N., Krumova, E., Pashova, S., Dishliiska, V., Spassova, B., Vassilev, S., Angelova, M. 2010. Antioxidant enzyme activity of filamentous fungi isolated from Livingston Island, Maritime Antarctica. *Polar Biology* 33:1227-1237.
- Vasques, A. R., Souza, S. M. A. G. U., Weissenberg, L., Souza, A. A. U., Valle, J. A. B. 2011. Adsorção dos corantes RO16, RR2 e RR141 utilizando lodo residual da indústria têxtil. *Engenharia Sanitária e Ambiental*, 16: 245-252.
- Villen, R. A. 2001. Tratamento Biológico de Efluentes. In: Lima, U. A. L., Aquarone, E., Borzani, W., Schmidell, W (cords.) *Biotecnologia Industrial: Processos fermentativos e enzimáticos*. Vol. 3. São Paulo, Blucher.
- Wariishi, H., Vallis, K., Gold, M. H. 1992. Manganese(II) Oxidation by Manganese Peroxidase from the Basidiomycete *Phanerochaete chrysosporium*. *The Journal of Biological Chemistry* 267: 23689-23695.
- Yang, X. Q., Zhao, X. X., Liu, C. Y., Zheng, Y., Qian, S. J. 2009. Decolorization of azo, triphenylmethane and anthraquinone dyes by a newly isolated *Trametes* sp. SQ01 and its laccase. *Process Biochemistry* 44: 1185-1189.
- Yang, Y. S., Zhou, J. T., Lu, H., Yuan, Y. L., Zhao, L. H. 2011. Isolation and characterization of a fungus *Aspergillus* sp. strain F-3 capable of degrading alkali lignin. *Biodegradation* 22: 1017-1027.
- Zhang, M., Wu, F., Wei, Z., Xiao, Y., Gong, W. 2006. Characterization and decolorization ability of a laccase from *Panus rudis*. *Enzyme and Microbial Technology* 39: 92-97.