

NARA BALLAMINUT

**CARACTERIZAÇÃO DO PROCESSO DE DESCOLORAÇÃO DE
CORANTE REATIVO DIAZO POR BASIDIOMICETOS TROPICAIS**

Tese apresentada ao Programa de Pós Graduação Interunidades em Biotecnologia USP/Instituto Butantan/IPT para obtenção de título de Doutor em Biotecnologia.

Área de Concentração: Biotecnologia

Orientador: Prof. Dr. Dácio Roberto Matheus

Co-orientadora: Prof^a. Dra. Elizabete Campos de Lima

“Versão corrigida. A versão original eletrônica, encontra-se disponível tanto na biblioteca do ICB quanto na biblioteca digital de teses e dissertações da USP (BDTD).”

**São Paulo
2016**

RESUMO

BALLAMINUT, N. **Caracterização do processo de descoloração de corante reativo diazo por basidiomicetos tropicais.** 2016. 175 f. Tese (Doutorado em Biotecnologia) – Instituto de Ciências Bimédicas, Universidade de São Paulo. São Paulo, 2016.

Corantes reativos têxteis, conhecidos por sua recalcitrância, podem ser degradados pelo mecanismo ligninolítico de basidiomicetos, constituído por enzimas oxidativas e hidrolíticas, e ainda compostos de baixa massa molar, embora a ação desses últimos venha sendo negligenciada em estudos de degradação. Foi nesse contexto que foi avaliada a biodegradação de CI Reactive Blue 222 por *Peniophora cinerea* CCIBt 2541, *Pleurotus ostreatus* CCIBt 2347 e *Trametes villosa* CCIBt 2628, selecionando condições ótimas para maximizar a eficiência do processo. Foram definidas concentrações ótimas de cobre e manganês, além de fonte conhecida de ácidos graxos insaturados, adicionados ao cultivo fúngico. *P. ostreatus* foi mais eficiente na descoloração quando cultivos de 25 dias, contendo 0,446 mM de sulfato de cobre e 0,821 mM de sulfato de manganês, sem adição de ácido graxo insaturado foram empregados. *T. villosa* também mostrou máxima eficiência com cultivos de 25 dias, contendo 1 mM de sulfato de cobre e de manganês, na presença de 3,75% de fonte de ácido graxo insaturado. Já *P. cinerea* foi mais eficiente quando cultivos com 18 dias, contendo 1 mM de sulfato de cobre, 0,106 mM de sulfato de manganês e 4% de fonte de ácido graxo insaturado foram empregados. Foi avaliada ainda a ação dos sistemas mediados por lacase-ABTS, lacase-RBBR e lacase-ABTS-RBBR na descoloração empregando os três basidiomicetos, em tratamentos individuais, onde a presença desses mediadores no efluente sintético favoreceu a descoloração, quando 2mM de ABTS estavam presentes, para qualquer um dos basidiomicetos estudados, embora RBBR influenciou positivamente apenas os tratamentos com *P. ostreatus* e *P. cinerea*, sendo ótima a concentração de 0,2 μ M para esse mediador. Contudo, é importante ressaltar que o processo é dinâmico, ficando sugerido que são necessárias intervenções sucessivas para maximizar a eficiência do processo, em suas diferentes fases. A degradação foi confirmada por cromatografia de camada delgada e testes de descoloração com inibição seletiva das principais enzimas mostraram que os mecanismos ligninolíticos funcionam diferentemente, de acordo com cada espécie estudada. A partir da interpretação dos resultados foi sugerido que as lacases de *P. ostreatus* oxidam o grupo cromóforo azo, ligado ao radical fenólico da molécula do corante nas primeiras 24 horas, concomitantemente à ação não enzimática de hidroxilação. Já as lacases de *P. cinerea*, capazes de oxidar Mn^{+2} e quinona, possibilitam a via de Fenton, hidroxilizando assim a molécula do corante, paulatinamente, a partir das ligações mais vulneráveis. *T. villosa* inicia a descoloração fazendo uso de um mecanismo prioritariamente envolvendo a via de Fenton, promovendo a hidroxilação gradativa da molécula do corante. Conclui-se que embora a maioria de estudos desse tipo foquem na produção enzimática, associando-as à descoloração, a participação dos compostos de baixa massa molar não pode ser negligenciada, uma vez que processos *in vivo* fazem uso de componentes enzimáticos e não enzimáticos, simultaneamente, para efetivar a degradação de poluentes.

Palavras-chave: Biodegradação. Enzimas ligninolíticas. Quelantes e redutores de ferro. Via metabólica. Compostos de baixa massa molar.

ABSTRACT

BALLAMINUT, N. **Characterization of reactive disazo dye decolorization by tropical basidiomycetes.** 2016. 175 p. Thesis (Ph. D. Thesis in Biotechnology) – Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2016.

Reactive textile dyes are known for their recalcitrance, can be degraded by ligninolytic mechanism of basidiomycetes, comprising oxidative and hydrolytic enzymes, as well as low molecular weight compounds, although the action of the latter have been neglected in degradation studies. In this context that was evaluated the CI Reactive Blue 222 decolorization by *Peniophora cinerea* CCIBt 2541, *Pleurotus ostreatus* CCIBt 2347 and *Trametes villosa* CCIBt 2628, selecting optimal conditions to maximize process efficiency. Copper and manganese concentrations were defined, in addition was defined a known source of unsaturated fatty acids, added into the fungal culture. *P. ostreatus* was more efficient in the decolorization when 25-day cultures, containing 0.446 mM copper sulphate and 0.821 mM manganese sulphate, without the addition of unsaturated fatty acid, were employed. *T. villosa* also showed maximum efficiency with 25-day cultures, containing 1 mM copper and manganese sulphate, in the presence of 3.75% unsaturated fatty acid source. *P. cinerea* was more efficient when cultures with 18-day cultures, containing 1 mM of copper sulphate, 0.106 mM of manganese sulphate and 4% of unsaturated fatty acid source were used. It was evaluated the action of laccase mediated systems, laccase-ABTS, laccase-RBBR, and laccase-ABTS-RBBR in decolorization employing the basidiomycetes mentioned, in individual treatments, where the presence of these mediators in the synthetic effluent favoured the decolorization, when 2 mM ABTS were present, for any of the basidiomycetes studied, although RBBR influenced positively only the treatments with *P. ostreatus* and *P. cinerea*, being optimal 0.2 μM for this mediator. However, it is important to emphasize that the process is dynamic, and it is suggested that successive interventions are necessary to maximize the efficiency of the process, in its different phases. The degradation was confirmed by thin layer chromatography and the selective decolorization with inhibition tests of the main enzymes showed that the ligninolytic mechanisms function differently, according to each species studied. From the interpretation of the results, it was suggested that *P. ostreatus* laccases oxidize the azo chromophore group, linked to the phenolic radical of the dye molecule in the first 24 hours, concomitantly with the non-enzymatic action of hydroxylation. The *P. cinerea* laccases, capable of oxidizing Mn^{+2} and quinone, enable the Fenton pathway, thus hydrolysing the dye molecule, gradually, from the most vulnerable linkages. *T. villosa* initiates decolorization using a mechanism primarily involving the Fenton pathway, promoting the gradual hydroxylation of the dye molecule. Concludes that although most such studies focus on enzyme production, associating these with the decolorization, the share of low molecular weight compounds cannot be neglected, since *in vivo* processes make use of enzymatic and non-enzymatic components, simultaneously, to effect the pollutant degradation.

Keywords: Biodegradation. Ligninolytic enzymes. Iron chelators and reducers. Metabolic pathway. Low molecular weight compounds.

1 INTRODUÇÃO

Dentre as inúmeras atividades impactantes, atualmente conhecidas, o tratamento de efluentes é um dos principais desafios enfrentados pela gestão ambiental. A indústria têxtil emprega principalmente corantes, e a presença desses compostos nos efluentes finais está entre os problemas mais complexos enfrentados pelo setor têxtil.

1.1 Corantes têxteis

Corantes têxteis existem no mercado em extensa variedade de tipos e classes, sendo inicialmente classificados de acordo com sua natureza e origem, como: corantes naturais, aqueles que são extraídos de fonte animais e vegetais, e sintéticos. Esses últimos surgiram na segunda metade do século XIX, iniciando pela anilina, seguida por alguns corantes azo sintetizados por diazotização. Os corantes sintéticos são produzidos pela síntese química de aromáticos e possuem, dentro de suas estruturas, anéis aromáticos que contêm elétrons deslocados, além de diferentes grupos funcionais (KYZAS et al., 2013; POLAK; JAROSZ-WILKOLAZKA, 2012; ZAHARIA; SUTEU, 2012).

1.1.1 Estrutura molecular do corante

Segundo Ali (2010), desde o século XIX, mais de 100.000 diferentes corantes foram produzidos ao redor do mundo, com uma produção anual de cerca de 700.000 toneladas métricas. A cor desses compostos é devida à sua estrutura insaturada denominada cromogencromóforo, considerada como o aceptor de elétrons, e sua capacidade de coloração é devida ao grupo auxócromo, considerado como doador de elétrons. Essas estruturas são os componentes mais importantes da molécula do corante. O cromogene é constituído de uma estrutura aromática, geralmente baseada em anéis de benzeno, naftaleno ou antraceno, que são ligados aos cromóforos, os quais contêm ligações duplas conjugadas com os elétrons deslocados e, frequentemente, contêm heteroátomos (nitrogênio, enxofre e oxigênio) com elétrons não ligados. Os grupos auxócromos são ionizáveis, o que confere aos corantes a capacidade de ligação química com o material têxtil (ALI, 2010; KYZAS et al., 2013; ZAHARIA; SUTEU, 2012).

A configuração dos cromóforos é representada por grupos azo ($-N=N-$), azoxila ($-N=N^+-O^-$); azoamino ($-N=N-NH$); etileno ($=C=C=$), azometino ($-C=NH$, $-C=N-$); metino ($-CH=$), carbonil ($=C=O$), carbono-nitrogênio ($=C=NH$; $-CH=N-$), carbono-enxofre ($=C=S$; $\equiv CS-$; S-

C≡), nitro (-NO₂; -NO-OH) e nitroso (-N=O; =N-OH). Os grupos mais comuns de auxóchromos são os amino (-NH₂), metilamino (-NHCH₃); dimetilamino (-N(CH₃)₂); ácido sulfônico (-SO₃H); ácido carboxílico (-COOH); cloro (-Cl); metila (-CH₃); metoxila (-OCH₃); carboxila (-COOH), ciano (CN); acetila (-COCH₃); amido (-CONH₂); e hidroxila (-OH) (KYZAS et al., 2013; SARAYU; SANDHYA, 2012; ZAHARIA; SUTEU, 2012).

1.1.2 Classificação

Os corantes orgânicos são classificados, principalmente, *i*) com base na estrutura química do composto colorante, bem como *ii*) pelas características de uso e suas aplicações à fibra, sendo essa última a classificação adotada pelo Colour Index (CI) e formalmente adotada em estudos de pesquisa (GUARATINI; ZANONI, 2000; KYZAS et al., 2013; ZAHARIA; SUTEU, 2012).

1.1.3 Fibras têxteis e modo de fixação do corante

As fibras têxteis estão divididas em dois grandes grupos, as *i*) fibras naturais, de constituição baseada em cadeias poliméricas lineares de glucose (celulose) e em polímeros complexos compostos de diferentes aminoácidos (proteína), presentes na lã, seda, algodão e linho; e as *ii*) sintéticas, compostas por xantato de celulose (viscose), acetato de celulose extraído da madeira, condensado de ácido adípico e hexametileno diamina (poliamida), polímero de ácido tereftálico e etilenoglicos (poliéster) e polímero de acrilonitrila (acrílico) (GUARATINI; ZANONI, 2000; KYZAS et al., 2013; ZAHARIA; SUTEU, 2012).

A fixação do corante às essas fibras é feita geralmente em meio aquoso, envolvendo quatro tipos de interações. Em geral, as fibras têxteis podem atrair corantes para suas estruturas como resultado da força de Van der Waals, das ligações de hidrogênio e de interações hidrofóbicas, que são características da adsorção física. Especificamente as interações *i*) iônicas promovem coloração baseada em interações entre os centros positivos dos grupos amino e carboxilato presentes na fibra e a carga iônica da molécula do corante, e vice-versa. Comuns a tintura de lã, seda e poliamida. As interações de *ii*) Van der Waals apresentam colorações baseadas na aproximação máxima entre orbitais π das moléculas do corante e da fibra, ancorando firmemente a molécula do corante à fibra, sem formação de ligação propriamente dita. Características da tintura de lã e poliéster. As interações *iii*) de hidrogênio mostram coloração proveniente da ligação entre átomos de hidrogênio, covalentemente ligados no corante, com pares de elétrons livres de átomos doadores, presentes na fibra, coloração

característica de fibras acrílicas. Finalmente, a interação mais forte corante-fibra é aquela que resulta da *iv*) ligação covalente, com interação eletrostática entre o grupo reativo do corante (eletrofílico) e resíduos nucleofílicos da fibra, de cargas opostas. Tal tipo de coloração é considerada como quimiosorção, característica da tintura de fibra de algodão (GUARATINI; ZANONI, 2000; KYZAS et al., 2013; ZAHARIA; SUTEU, 2012).

1.1.4 Classes dos corantes

A classificação dos corantes, de acordo com o Colour Index, está representada pelas seguintes classes:

- a) diretos: esses corantes são solúveis em água na presença de eletrólitos, além de apresentar alta afinidade com fibras de celulose, formando interações Van der Waals com esse tipo de fibra. A maioria dos corantes dessa classe são poliazos;
- b) dispersos: são corantes insolúveis em água, aplicados em fibras hidrofóbicas, tais como poliéster, poliamida, poliacrilonitrila, polipropileno, acetato, e fibras acrílicas. Quimicamente esses corantes são predominantemente azo e antraquinônicos, tendo baixo peso molecular e contendo nitrobenzenosulfonato, que auxiliam na formação de dispersões aquosas estáveis;
- c) à cuba: são corantes insolúveis em água, mas podem ser aplicados, principalmente em fibras de celulose, convertendo-se para sua forma leuco. Em seguida, sofrem oxirredução e são solubilizados para recuperar a forma original do corante sobre a fibra. Tal processo é chamado de processo à cuba. São em sua maioria antraquinônicos e indigóides;
- d) de enxofre: são compostos insolúveis em água, que são aplicados na forma de sais de sódio por processo de redução utilizando sulfeto de sódio (Na_2S) como agente redutor, sob condições alcalinas. Após a aplicação, caracterizam-se por compostos macromoleculares contendo pontes polissulfeto ($-\text{S}_n^-$);
- e) básicos: são catiônicos e solúveis em água. São utilizados quando o brilho é mais necessário do que a resistência à luz e à lavagem;
- f) ácidos: são aniônicos e contêm grupos sulfônicos, o que os torna solúveis em água. Na coloração o corante é previamente neutralizado e se liga à fibra por meio de troca iônica, envolvendo o par de elétrons livres dos grupos amino e carboxilato da fibra protéica, na forma protonada;

- g) reativos: são corantes que formam ligações químicas covalentes com os grupos hidroxila das fibras celulósicas, com os grupos amino, hidroxila e tióis das fibras protéicas, bem como com os grupos amino das poliamidas. Os principais corantes reativos contêm grupo azo e antraquinona, como cromóforos, e clorotriazinila e sulfatoetilsulfonila, como grupos reativos.

Apesar da classificação formal adotada pelo Colour Index, pode-se ainda dividir os corantes têxteis considerando apenas a estrutura geral, como aniônicos, não iônicos e catiônicos (GUARATINI; ZANONI, 2000; KYZAS et al., 2013; ZAHARIA; SUTEU, 2012).

1.1.4.1. Corantes reativos

Dentre os vários tipos de corantes têxteis existentes, a classe dos reativos apresenta aplicação expressiva no mercado mundial, devido principalmente à ampla gama de tonalidades de cores, facilidade de aplicação e baixo consumo de energia no processo. De forma semelhante, a indústria têxtil brasileira emprega, predominantemente, corantes reativos para fibras celulósicas, que respondem por 57 % do mercado (ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DA INDÚSTRIA QUÍMICA, 2016).

Estruturalmente, a maioria dos corantes reativos contém grupamentos azo e antraquinônicos. Funcionalmente, esses corantes formam ligação química covalente com a fibra têxtil, o que proporciona estabilidade química para o tingimento. No entanto, os corantes reativos estão dentre os principais corantes aniônicos, que correspondem também aos mais problemáticos, por serem altamente solúveis em água e não serem removidos pelo tratamento convencional dos efluentes têxteis (KYZAS et al., 2013; PEREIRA; ALVES, 2012; ZAHARIA; SUTEU, 2012).

Os corantes reativos possuem estrutura geral composta por um grupo reativo eletrofílico, os quais contêm um grupo de saída nucleófilo (grupo de saída que leva embora o par de elétrons de ligação) e um grupo de ligação. O grupo cromóforo e os grupos de solubilização em água estão ligados em sequência a partir do grupo de ligação. Alguns corantes que contêm dois ou mais grupos reativos são denominados bifuncionais, podendo ser iguais (homofuncionais) ou diferentes (heterofuncionais), conferindo à molécula a capacidade de coesão, uma vez que quanto maior a diversidade desses grupos reativos em uma molécula, mais recalcitrante esta se torna. Os grupos reativos podem ser classificados de acordo com seu mecanismo de fixação. São eles: *a)* substituição nucleofílica heteroaromática, onde um grupo funcional nucleofílico ionizado da fibra é transferido para o centro eletrofílico do centro do grupo reativo; *b)* adição

nucleofílica, que ocorre quando é eliminado o grupo nucleofílico do grupo reativo da molécula, seguido pela adição de um grupo funcional da fibra têxtil; e c) formação de fosfonato, caracterizada pela formação de um éster entre a função nucleofílica da fibra e um fósforo-grupo ligado a um carbono aromático ou alifático do corante (GUARATINI; ZANONI, 2000; KYZAS et al., 2013; ZAHARIA; SUTEU, 2012; ZOLLINGER, 2003).

Os corantes reativos podem conter função sulfoxietilsulfonil, as quais formam grupos vinil-sulfona ($-\text{SO}_2-\text{CH}=\text{CH}_2$), que durante o tingimento se ligam à fibra têxtil. Embora essas ligações já estejam formadas, o grupo vinil-sulfona sofre hidrólise espontânea e, como os produtos dessa hidrólise não apresentam qualquer afinidade com as fibras, não formam ligação covalente, ficando dissolvidos no efluente de saída dessa etapa do processo (GUARATINI; ZANONI, 2000; KYZAS et al., 2013; ZAHARIA; SUTEU, 2012). Ainda segundo Zollinger (2003) cerca de 80% dos corantes reativos são azo. Afirmação confirmada por Zaharia e Suteu (2012) onze anos mais tarde, incluindo ainda dentro dessa classe os ftalocianina, formazan e antraquinônicos.

1.1.4.1.1. Corantes azo

Metade dos corantes sintéticos conhecidos são azo, que são compostos contendo grupo azo ($-\text{N}=\text{N}-$), com alta polaridade e recalcitrância, caracterizados por propriedades anfotéricas, quando suas moléculas contêm grupos ácidos adicionais (hidroxila, carboxila ou sulfoxila). Tais compostos aceitam prótons para o par de elétrons do nitrogênio, e ainda esses mesmos elétrons interagem com o sistema π -orbital deslocado. O aceptor substituinte do anel aromático ($-\text{Cl}$ ou $-\text{NO}_2$) causa decréscimo no caráter básico dos grupos amino. Já os grupos doadores ($-\text{CH}_3$ ou $-\text{OR}$), nas posições *meta* e *para*, levam a um aumento da basicidade em grupos amínicos, embora doadores substituintes na posição *orto* podem impedir a protonação e, conseqüentemente, diminuir a basicidade dos grupos amínicos. A presença de grupos amino na molécula aumenta o ponto de ebulição e sua solubilidade em água (GUARATINI; ZANONI, 2000; KYZAS et al., 2013; ZAHARIA; SUTEU, 2012).

Dependendo do valor de pH, o corante azo pode ser aniônico, por consequência da desprotonação do grupo ácido, pode ser catiônico, por consequência da protonação do grupo amino, ou ainda não iônico (GUARATINI; ZANONI, 2000; KYZAS et al., 2013; ZAHARIA; SUTEU, 2012).

1.2. Efluentes têxteis: características e tratamento

A descarga de efluentes coloridos no ambiente, além de indesejável, é proibida em território nacional e regulamentada pela Resolução do Conselho Nacional do Meio Ambiente nº 357, de 17 de março de 2005, não só pela presença de cor, mas também porque muitos dos corantes liberados, e seus produtos de degradação são tóxicos, carcinogênicos ou até mesmo mutagênicos. Além disso, sem o tratamento adequado, estes compostos podem permanecer no ambiente por longos períodos, acarretando ainda mais problemas ao ambiente (AGUIAR; FERRAZ, 2011; GUARATINI; ZANONI, 2000; KUNZ et al., 2002; ZAHARIA; SUTEU, 2012).

Os efluentes altamente coloridos ou efluentes contendo corantes têm sido identificados especialmente pelo banho de tingimento de fibras de celulose, perfazendo, apenas o algodão, o equivalente a 50 % do mercado mundial de fibras celulósicas. Em particular, com uso de corantes reativos nos banhos de tingimento observa-se perdas para o efluente de 10 a 50 %, levando para o setor industrial a preocupação com as questões ambientais associadas com teor de corante residual ou a cor residual nos efluentes têxteis tratados. Assim sendo, os corantes orgânicos têxteis devem ser separados e eliminados da água residuária, por meio de métodos eficazes e viáveis, em estações de tratamento de esgoto municipal ou na própria planta industrial, após atender dois conceitos básicos do tratamento: *i*) separação de poluentes orgânicos de fase líquida do efluente, e *ii*) retirada e mineralização ou decomposição desses poluentes orgânicos, de forma parcial ou completa (ZAHARIA; SUTEU, 2012).

Processos de separação tem base na mecânica dos fluídos (sedimentação, centrifugação, filtração e flutuação) ou nas membranas sintéticas (micro, ultra e nanofiltração, osmose reversa). Adicionalmente, processos físico-químicos, tais como adsorção, precipitação química e coagulação-floculação, podem ser usados para separar o dissolvido ou emulsionado (CHEQUER et al., 2013; ZAHARIA; SUTEU, 2012). Outras diferentes técnicas para o tratamento físico e químico desses efluentes foram desenvolvidas, sendo objeto de estudo de recentes pesquisas, que buscam a remoção dos corantes desses resíduos líquidos (ARGUN et al., 2013; EL-GHENYMY et al., 2014; FERNADES RÊGO et al., 2014; FERNANDEZ et al., 2010; FERNANDO et al., 2014; HASSAN; HAMEED, 2011; KAVITHA et al., 2014; LAU et al., 2014; MOREIRA et al., 2013; NABIL et al., 2013; PAJOOTAN et al., 2014; SIDDIQUE et al., 2013; THOMAS et al., 2014; WENG et al., 2013).

Esses processos foram classificados por Fernández e colaboradores. (2010) em *i*) não-destrutivos, constituído por todos aqueles que apenas transferem o poluente de fase, sem

destruí-lo (adsorção, sedimentação, filtração, coagulação e eletrocoagulação) e *ii*) destrutivos, composto pelas técnicas que destroem a molécula do poluente, por biodegradação ou por processos oxidativos avançados. Ainda outras revisões, como Chacko e Subramanian (2011) e Zaharia e Suteu (2012), apresentam resumidamente os tratamentos mais empregados, suas vantagens e desvantagens, apresentados na **Tabela 1**, com destaque para as limitações de cada tratamento físico-químico.

Tabela 1 - Algumas das principais técnicas físico-químicas de tratamento de efluentes têxteis, coloridos por corantes orgânicos e suas limitações.

Tratamento	Limitações
Precipitação, coagulação-floculação	Separação e tratamento de aglomerados; condição seletiva de operações
Coagulação eletrocinética	Grande produção de lodo
Processo de Fenton	Geração de lodo; problemas com a disposição do lodo
Ozonização	Não aplicável para corantes dispersos; curta meia-vida do ozônio; produz corantes aromáticos
Oxidação por NaOCl	Alto custo; produz aminas aromáticas
Carvão ativado	Alto custo, elevado custo pra regeneração
Processo fotoquímico	Formação de coprodutos
Oxidação eletroquímica	Alto custo de processo, principalmente eletricidade
Membrana de filtração	Alto custo de corrida; produção de lodo concentrado; sólidos dissolvidos não são separados

Fontes - Chacko e Subramanian (2011); Zaharia e Suteu (2012).

Embora ineficientes como processos unitários, devido principalmente à diversidade de tipos e classes de corantes, que contêm grupamentos funcionais diferentes, a inviabilização da aplicação de um procedimento único no tratamento desse tipo de efluente, consideram-se esses processos como uma opção quando em associação a tratamentos biológicos, os quais vêm se mostrando uma alternativa promissora para a remoção de corantes dos efluentes do banho de tingimento (ALMEIDA; CORSO, 2014; ÁLVAREZ et al., 2013; BASHA et al., 2011; KIRAN et al., 2013; KUNZ et al., 2001; OLIVEIRA et al., 2010; SABA et al., 2013; SENTHILKUMAR et al., 2012; VANHULLE et al., 2008). Entretanto, os tratamentos biológicos convencionais não se mostraram apropriados para tratar efluentes têxteis, que apresentam alta salinidade e elevado pH. Além disso, esses tratamentos apresentam baixo rendimento na biodegradação de corantes têxteis, que foram sintetizados para resistir à degradação. Adicionalmente, esses tratamentos dispendem de extensos tempos de retenção hidráulica, associados à geração de compostos tóxicos, no caso de processos anaeróbios, podendo ainda formar resíduos de lodo colorido no fundo dos tanques de tratamento, características que os torna também ineficientes, quando aplicados isoladamente. Assim sendo, vários micro-organismos, incluindo fungos, bactérias e algas, vem sendo avaliados na

descoloração e na degradação de corantes sintéticos. Tais micro-organismos apresentam diferentes capacidades, alguns com vantagens específicas em detrimento de outros (ALI, 2010; CHEQUER et al., 2013; DONLON et al., 1995; DOS SANTOS et al., 2005; HAROUN; IDRIS, 2009; IŞIK; SPONZA, 2007; ZAHARIA; SUTEU, 2012).

1.3. Biodegradação de corantes

A biodegradação de corantes é caracterizada pela quebra do grupo cromóforo, que está associada à descoloração, podendo promover o deslocamento do comprimento de onda de máxima absorção desse composto (ALI, 2010; KAUSHIK; MALIK, 2009).

1.3.4. Fungos ligninolíticos

Os fungos de podridão branca apresentam vantagem para a aplicação em tratamentos *in vivo*, devido à presença de um sistema enzimático ligninolítico extracelular e inespecífico, capaz de catalisar a degradação de diferentes compostos químicos, incluindo corantes (AGUIAR; FERRAZ, 2011; BIBI; BHATTI, 2012; DURÁN; ESPOSITO, 2000; FARACO et al., 2009; KALPANA et al., 2012; MALACHOVA et al., 2013; MOREIRA-NETO et al., 2013; MUKHERJEE et al., 2013; PAKSHIRAJAN; KHERIA, 2012). Outra vantagem apresentada por esses fungos é a eficácia no tratamento em ampla faixa de pH e de temperatura (MUKHERJEE et al., 2013), o que possibilita aplicação direta, dispensando tratamento químico prévio.

1.3.5. Mecanismo ligninolítico dos basidiomicetos

O mecanismo ligninolítico desses fungos inclui três enzimas, consideradas por Wong (2009) como principais: Lignina Peroxidase (LiP, EC 1.11.1.14), capaz de oxidar compostos fenólicos e não fenólicos de alto potencial redox; Peroxidase dependente do Manganês (MnP, EC 1.11.1.13), capaz de oxidar compostos fenólicos na presença de Mn^{+2} , e ainda oxidar um segundo mediador para efetivar a quebra de compostos não fenólicos; e Lacase (EC 1.10.3.2), capaz de oxidar compostos fenólicos simultaneamente à redução do oxigênio molecular a água. Ainda, segundo Aguiar e Ferraz (2011), essas enzimas ligninolíticas podem ser ordenadas de acordo com suas capacidades oxidativas: LiPs > MnPs > Lacases.

A LiP e a MnP são heme peroxidases, capazes de oxidar substratos por transferência de elétrons *multi-step*, com formação de radical catiônico intermediário. A LiP catalisa a despolimerização oxidativa H_2O_2 -dependente, de forma relativamente inespecífica quanto aos substratos,

fenólicos e não fenólicos, sendo que os mais rapidamente catalisados são os fenólicos. MnP é capaz de abstrair elétrons apenas de estruturas fenólicas, diferentemente da LiP, que é capaz de oxidar fenólicos e não fenólicos, indistintamente. Nos dois casos, a enzima é ativada pela oxidação por peróxido de hidrogênio, formando um *oxo*-complexo deficiente em dois elétrons. A redução desse complexo até a enzima nativa ocorre em duas etapas, com a abstração de um elétron de cada vez. No caso da LiP, a redução dos compostos intermediários pode ocorrer por meio da oxidação dos substratos, fenólicos e não fenólicos, levando à formação de radicais cátion. Nessa enzima existe um resíduo de triptofano na cadeia protéica, o qual atua como elo de transferência de elétrons com substratos aromáticos que não podem ter um contato direto com o grupo heme oxidado da enzima. Já a MnP depende do Mn^{2+} para a redução de um dos compostos intermediários, oxidando o Mn^{2+} para Mn^{+3} . Já o outro composto intermediário pode ser reduzido pela oxidação direta de uma estrutura fenólica ou de um átomo de Mn^{2+} , sendo esse íon o elo preferencial de transferência de elétrons, visto que a MnP não possui o resíduo de triptofano, comumente encontrado na LiP, sendo essa a principal diferença entre as duas enzimas (AGUIAR; FERRAZ, 2011; CHACKO; SUBRAMANIAM, 2011; WONG, 2009).

O Mn^{+3} formado é então dissociado da enzima e estabilizado pela formação de complexos com α -hidroxiácidos, como oxalato e malonato, os quais são ótimos quelantes e são secretados naturalmente pelo fungo. Outras funções fisiológicas estão associadas a estes quelantes, incluindo o aumento da atividade enzimática, pela sua capacidade de facilitar a dissociação de Mn^{+3} a partir da enzima. A oxidação do ácido oxálico por Mn^{+3} produz um radical formato (HCO^{-2}), que reage com dióxigênio para formar superóxido O^{-2} e, subsequentemente, H_2O_2 . O complexo Mn^{+3} -quelante atua como um oxidante difusível de substratos fenólicos, oxidando um elétron do substrato para produzir um radical fenoxila intermediário, o qual sofre rearranjos, clivagens de ligações e degradação não enzimática, produzindo assim vários outros produtos. O quelante Mn^{+3} gerado pode catalisar a oxidação de substratos fenólicos, incluindo fenóis simples, aminas e corantes, contudo é um oxidante suave sob condições fisiológicas, tendo seu espectro de ação limitado a oxidação de estruturas fenólicas e, por si só, não é capaz de oxidar compostos não fenólicos. Para esses substratos, a oxidação de Mn^{+3} envolve a formação de radicais reativos na presença de um segundo mediador. O Mn^{+3} também participa da peroxidação de lipídeos, para catalisar a clivagem da ligação C_{α} - C_{β} e de estruturas não-fenólicas da lignina, respectivamente. O mecanismo envolve a captação de hidrogênio a partir do carbono benzílico (C_{α}), através de radicais peroxilipídicos,

seguido da adição de O₂ para formar radical peroxi e subsequente degradação não enzimática (WONG, 2009).

As lacases são enzimas oxidoredutases multicobre, contendo quatro átomos de cobre, que abstraem elétrons de fenóis, em função da redução do Cu⁺² a Cu⁺¹, reduzindo O₂ a H₂O. A estequiometria é de quatro moléculas de substrato redutor para cada oxigênio molecular, envolvendo a transferência total de quatro elétrons. O primeiro passo da redução é a catálise do substrato pela redução de um cobre, Tipo 1 (T1), que é o receptor primário, transferindo os elétrons para os demais cobres, T2 e T3, resultando na redução total da enzima. As lacases catalisam a subtração de um elétron a partir de grupos hidroxifenólicos para formar radicais fenoxi, que geralmente sofrem polimerização por acoplamento. Essa reação é acompanhada por desmetilação e formação de quinona, resultando em clivagem do anel aromático (POLAK; JAROSZ-WILKOLAZKA, 2012; SINGH et al., 2015; WONG, 2009).

Sistemas mediados por LiP e MnP são capazes de oxidar não fenólicos; no entanto, alguns fungos de podridão branca não produzem essas duas enzimas, mas produzem lacase como a enzima predominante e ainda são capazes de degradar lignina de forma eficiente. Isso porque a lacase é capaz de oxidar compostos não fenólicos, porém na presença de um mediador, que pode ser sintético, como o caso do ABTS (2,2'-azinobis-(3-etilbenzotiazolino-6-sulfonato)) ou natural, como são o ácido benzóico e o íon Mn⁺² (AGUIAR; FERRAZ, 2011; SINGH et al., 2015; WONG, 2009). Esses mediadores, conhecidos como compostos de baixa massa molar, podem ser empregados conjuntamente na mesma reação catalisada por lacase, uma vez que tal combinação pode aumentar as taxas de oxidação, comparado com as taxas obtidas separadamente com cada sistema mediador. Segundo Arantes e Milagres (2009) um mediador é uma molécula de baixa massa molar, que atua como carreador de elétrons, e sua oxidação pode ocorrer pela transferência de elétrons via direta ou via transferência de átomos de hidrogênio, sendo que essa última via é imprescindível para que a peroxidação lipídica com lacase ocorra (CAÑAS; CAMARERO, 2010; POLAK; JAROSZ-WILKOLAZKA, 2012).

Ainda em sua revisão, Cañas e Camarero (2010) comentam que o mediador redox ideal deve ser pequeno, capaz de gerar radicais estáveis, na sua forma oxidada, que não inativem a enzima, e ainda ser capaz de ser reciclado sem degenerar. Adicionalmente, do ponto de vista ambiental e industrial, deve ser menos agressivo e de baixo custo.

1.3.5.1. Peroxidação lipídica e reação de Fenton

A peroxidação lipídica consiste na incorporação do oxigênio molecular a um ácido graxo insaturado para produzir um hidroperóxido (R-OOH), como produto primário inicial. Tal mecanismo gerador de radicais livres tem como principal produto o radical peroxila ($\cdot\text{OOR}$), o qual apresenta potencial de oxidação suficientemente elevado para oxidar compostos não fenólicos. Durante a biodegradação, a peroxidação lipídica pode ser mediada por radicais hidroxila ($\cdot\text{OH}$) e hidroperoxila ($\cdot\text{OOH}$), e ainda metais de transição Fe^{+2} e Cu^{+2} . Contudo Fe^{+3} e Fe^{+3} -complexado podem iniciar a peroxidação lipídica, desde que um agente redutor esteja presente para reduzir Fe^{+3} para Fe^{+2} . O íon Mn^{+3} gerado pela MnP também pode mediar a peroxidação lipídica, quando complexado com ácidos orgânicos, possibilitando um aumento da taxa de peroxidação. Ainda lacases podem mediar esse processo, quando em um complexo Lacase-Fenol- Mn^{+2} . Ficam assim evidentes as diferenças na mediação desse processo por essas duas enzimas, uma vez que lacase não requer a presença de peróxido de hidrogênio, nem de ácidos orgânicos para completar sua ação mediadora, diferente da MnP (AGUIAR; FERRAZ, 2011; ARANTES; MILAGRES, 2007; HAMMEL et al., 2002; SREBOTNIK; BOISSON, 2005; TEN HAVE; TEUNISSEN, 2001).

Um processo iniciador da peroxidação de lipídeos é a reação de Fenton, que é baseada na reação entre H_2O_2 e Fe^{+2} , em meio ácido, para formar espécies reativas de oxigênio (ROS), principalmente $\cdot\text{OH}$, que é o mais forte oxidante que pode ocorrer em meio aquoso. Dessa forma, fica evidente a importância do íon ferro para os fungos de podridão branca, uma vez que, além de estar diretamente envolvido na produção de ROS, faz parte do sítio ativo das peroxidases. Esse íon é geralmente retirado do substrato ligninocelulósico pelo fungo, sendo encontrado predominantemente na forma oxidada e insolúvel (Fe^{+3}), o que gera demanda por quelantes para solubilizá-lo e reduzi-lo. Tais quelantes podem ainda mediar a reação de Fenton, juntamente com o sistema mediado por lacase, o que amplia a oxidação do composto alvo na biodegradação (AGUIAR; FERRAZ, 2011; ARANTES; MILAGRES, 2007; HAMMEL et al., 2002; SREBOTNIK; BOISSON, 2005; TEN HAVE; TEUNISSEN, 2001).

1.3.5.2. Compostos de Baixa Massa Molar

Os compostos de baixa massa molar (CBMM), produzidos naturalmente por fungos de podridão branca, identificados e relacionados à degradação dos componentes da madeira, foram descritos em estudos recentes (ARANTES et al., 2011; ARANTES; MILAGRES, 2009;

2010; HAMMEL et al., 2002; HORTA et al., 2011; KAPICH. et al., 2010; MOLDES et al., 2012). São eles:

- a) ácido 3-hidroxi-antranílico: é um metabólito produzido por *Pycnoporus cinnabarinus*, que sob forma de radical, é capaz de mediar a atividade de lacase na degradação de não fenólicos;
- b) ácidos carboxílicos: dentre as inúmeras funções listadas para o ácido oxálico, um ácido dicarboxílico metabólito fúngico, é capaz de reduzir intermediários para início da degradação não enzimática da madeira, quelar Ca^{+2} e Mn^{+3} , e ainda mediar naturalmente a atividade de MnP, na presença de Mn^{+3} , e LiP, na presença de álcool veratrílico;
- c) ácidos graxos insaturados: a peroxidação de ácidos graxos insaturados produz radicais livres, principalmente radical peroxila, que são capazes de oxidar estruturas não fenólicas da lignina;
- d) álcool veratrílico (álcool 3,4-dimetoxibenzílico): metabólito secundário produzido e acumulado no meio de cultura de fungos de podridão branca produtores de LiP, capaz de mediar essa atividade enzimática;
- e) compostos aromáticos clorados: podem ser produzidos por fungos, como é o caso do 2-cloro-1,4-dimetoxibenzeno, e atuar na mediação de LiP. Contudo, na ausência dessa enzima, esses compostos podem atuar como substratos de outra enzima oxidase, para produzir peróxido de hidrogênio;
- f) espécies reativas de oxigênio (ROS): são aos radicais hidroxila ($\cdot\text{OH}$), peroxila ($\cdot\text{OOR}$) e hidroperoxila ($\cdot\text{OOH}$). Hidroxila é produzido pela reação de Fenton e é considerado o mais forte oxidante que pode ocorrer nos sistemas aquosos. Já os radicais peroxila e hidroperoxila são resultantes da oxidação de polímeros da madeira pelo radical hidroxila, e também da peroxidação lipídica por MnP. Esses dois últimos são oxidantes mais seletivos;
- g) compostos quelantes e redutores de Fe^{+3} : são compostos aromáticos, por exemplo ácido hidroxifenilacético, ácido hidroxibenzóico e hidroxibenzeno, ou ainda quinonas, capazes de reduzir Fe^{+3} , concomitantemente com a geração de radicais hidroxila, sendo assim considerados mediadores da reação de Fenton;
- h) peptídeos: são glicopeptídeos, e também peptídeos, capazes de quelar Fe^{+3} para reduzir a Fe^{+2} , seguindo a reação de Fenton. Possuem afinidade com Fe^{+2} , formando um complexo capaz de catalisar reações oxidoreduativas, produzindo peróxido de

hidrogênio, além de também serem capazes de reduzir o peróxido formado a radicais hidroxila, via reação de Fenton.

O modo de ação desses compostos na biodegradação da madeira, segundo Aguiar e Ferraz (2011) consiste em atuar diretamente na oxidação da parede celular vegetal ou ainda como mediadores das enzimas oxidativas, viabilizando assim o acesso das enzimas ao substrato. Apesar de haver relatos da importância do papel desses compostos de baixa massa molar na degradação da lignina desde a década de 1980, como mencionado nos estudos de Evans et al. (1994) e de Kirk e Farrell (1987) que esses compostos receberam maior atenção em estudos relacionados à degradação (AGUIAR; FERRAZ, 2011; ARANTES et al., 2009; HAMMEL et al., 2002; MOLDES et al., 2012; TEN HAVE; TEUNISSEN, 2001) o entanto tais estudos não mencionam a sinergia existente entre as enzimas ligninolíticas e a ação oxidativas desses compostos, assunto discutido por Arantes e Milagres (2007), em estudo de degradação de Azure B por fungos de podridão branca., em estudo de degradação de Azure B por fungos de podridão branca.

1.4. Fatores importantes de tratamentos de descoloração empregando basidiomicetos

O desenvolvimento de biotecnologia eficiente requer a aplicação de espécies selecionadas cuidadosamente e de condições favoráveis ao processo. Valores significativos de biomassa e componentes celulares podem ser obtidos por otimização de condições de cultivo, por isso em planejamento de sistemas de tratamento é importante estimular a produção das enzimas ligninolíticas, adicionando compostos considerados indutores e/ou estimuladores ao cultivo dos fungos. Uma vez que estudos relatam que a presença de co-substratos, como fontes de carbono e nitrogênio, favorece a descoloração e ainda estimula a produção enzimática (ALI, 2010; ANDRADE et al., 2013; FUKUDA et al., 2009; GAHLOUT et al., 2013; LEVIN et al., 2010; SARAYU; SANDHYA, 2012). Nesse contexto, uma variedade de substratos é avaliada como fonte de carbono e nitrogênio, visando a minimização dos custos dos processos, como por exemplo, amido, glicerol, farelo de arroz e de trigo, licor de maceração de milho, extrato de levedura, glúten de milho, oxalato de amônio, entre outros, variando os melhores substratos e suas concentrações, de acordo com os espécimes estudados. Outros indutores são os metais, uma vez que participam do ciclo catalítico dessas enzimas, como é o caso do cobre e do manganês, amplamente estudados em sistemas de cultivo de basidiomicetos (AKDOGAN et al., 2014; BALDRIAN; GABRIEL, 2002; FONSECA et al., 2010; LORENZO et al., 2006;

KARP et al., 2012; KAUSHIK; MALIK, 2009; KIRAN et al., 2012; KOYANI et al., 2013; MOREIRA et al., 2000; TINOCO et al., 2011; WONG, 2009). Além disso, é sabido que MnP tem sua expressão regulada pela presença de Mn^{+2} no meio de cultivo, e ainda a presença de ácidos orgânicos e de Mn^{+2} têm efeito estimulatório na produção de MnP (BONNARME; JEFFRIES, 1990; MESTER; FIELD, 1997).

Contudo, mesmo diante de tão amplo espectro de ação degradativa e ainda da inespecificidade do sistema ligninocelulolítico, nem todos os fungos são capazes de produzir todas as enzimas do mecanismo enzimático supracitado em sistemas de tratamento biológicos, havendo predominância das lacases na maioria das vezes (BARRASA et al., 2009; BIBI; BHATTI, 2012; MOREIRA et al., 2014; PAPADOPOULOU et al., 2013). Dessa forma, fica comprometida a eficiência do tratamento já que muitos corantes com grupo funcional azo não são substratos de lacase, demonstrando recalcitrância, mesmo em condições otimizadas, o que ainda mostra a necessidade do uso de mediadores, para proporcionar o ataque enzimático nesses casos (CAÑAS; CAMARERO, 2010; KUMAR et al., 2012; HU et al., 2009; NOUSIAINEN et al., 2014; SHANKAR; SHIKHA, 2015).

Outro fator importante na otimização desses sistemas de tratamento é o uso de substrato ligninocelulósico no cultivo, não só devido à indução das enzimas ligninolíticas, mas também porque os substratos ligninocelulósicos podem favorecer a produção de lacases amarelas, capazes de oxidar estruturas não fenólicas diretamente, ampliando assim o espectro de ação do sistema de tratamento (AGUIAR; FERRAZ, 2011; CHEN et al., 2014; IQBAL; EDYVEAN, 2005; LI et al., 2014; MAZMANCI; UNYAYAR, 2005; SAAB et al., 2013; SARATALE et al., 2011).

Deve-se também considerar sistemas *in vitro* e *in vivo*, que é objetivo de estudo de vários pesquisadores (HADIBARATA et al., 2012a; OSMA et al., 2010; ZHAO et al., 2007; ZILLE et al., 2003). Contudo, é importante lembrar que sistemas *in vivo* oferecem vantagens em relação aos sistemas *in vitro*, uma vez que *in vivo* ocorre a peroxidação lipídica, via importante da biodegradação, além de apresentar baixo custo (AGUIAR; FERRAZ, 2011; CAÑAS; CAMARERO, 2010).

Existem ainda os fatores que podem afetar a biodegradação dos corantes, como por exemplo as condições ambientais de pH e temperatura. Além disso, é importante lembrar que estabelecer as condições ótimas para o processo deve anteceder sua caracterização, uma vez que nas condições otimizadas o processo atinge a máxima eficiência. De forma a completar estudos desse tipo, deve-se ainda verificar a presença de produtos da degradação, para

confirmar a quebra da molécula tratada e também obter informações sobre a toxicidade de seus produtos (ALI, 2010).

1.4.4. Os gêneros de basidiomicetos: *Pleurotus*, *Peniophora* e *Trametes*

Os gêneros de basidiomicetos *Peniophora*, *Trametes* e *Pleurotus* vem sendo avaliados em tratamentos com corantes de grupo funcional azo. Shankar e Shikha (2015) estudando a descoloração com *Peniophora* sp., avaliou o efeito dos metais Cd^{+2} , Co^{+2} , Ca^{+2} , Cu^{+2} , Mn^{+2} , Ni^{+2} , Na^{+} e dos mediadores de lacase, 1-hidroxibenzotriazol (HBT) e ABTS, na descoloração de corantes nitro e azo. Seus resultados mostraram que 1 mM de ABTS foi a melhor condição para a descoloração desses corantes, onde Metil Orange, um corante monoazo, apresentou um máximo de descoloração de 42 % e Amido Black, um corante diazo, atingiu um máximo de 25 % de descoloração. Em outro estudo empregando *P. cinerea* CCIBt 2541, Moreira et al. (2014) avaliaram o sistema lacase-siringaldeído- Mn^{+2} -oxalato na descoloração dos corantes têxteis CI Reactive Blue 19 e Red 271, mostrando ser esse um sistema promissor para tratamentos desse tipo. Em 2016, Bonugli-Santos et al. em estudo envolvendo esse mesmo gênero de basidiomiceto, aplicado na descoloração de corante azo, mostraram que MnP tem papel fundamental na descoloração e biodegradação de Reactive Black 5. Contudo, apesar da eficiência de *Peniophora* na descoloração de corantes sintéticos, tal potencialidade não está bem documentada para diferentes espécies desse gênero (SHANKAR; SHIKHA, 2015).

Basidiomicetos do gênero *Trametes* vem sendo bastante estudados e os resultados estão bem documentados pela literatura, como é o caso do estudo de Bibi e Bhatti (2012), que avaliaram a descoloração de corantes de função azo e antraquinona, empregando *Trametes hirsuta*, *Pycnoporus* sp. e *Irpex* sp., sob diferentes condições de cultivo. Esses autores observaram que, sob condições estacionárias, *T. hirsuta* descoloriu o corante antraquinônico em 50 % após 24 horas, atingindo 80 % após 5 dias de incubação, mostrando taxas 2 a 5 vezes maior do que aquelas observadas com os demais fungos avaliados. Contudo, como é sabido da dificuldade em se degradar corantes azo, os corantes azo avaliados não descoloriram mais que 40 % e *Trametes* apresentou maior descoloração do corante monoazo Reactive Orange 16 em relação aos demais fungos estudados, confirmando assim sua potencial capacidade oxidativa. Em outro estudo com várias espécies de *Trametes*, Chenux et al. (2014) avaliaram a descoloração de corante Acid Red 27, corante fenólico monoazo, sob períodos prolongados (acima de 24 horas) e os resultados confirmam a capacidade oxidativa desse gênero de basidiomicetos, indicando ainda a lacase como a principal enzima envolvida na descoloração.

Si et al. (2013), em estudo de descoloração de corante diazo não fenólico Congo Red, observaram que dentre as 42 espécies testadas, *Trametes pubescens* apresentou os melhores resultados, confirmando ainda a degradação por identificação de metabólitos. Essa mesma capacidade biodegradativa foi confirmada por Adnan et al. (2014) em estudo com *Trametes gibbosa* sp. na descoloração de Reactive Black 5. Adicionalmente, lacase purificada de *Trametes polyzona* foi eficiente em descolorir corantes de função azo, com e sem estruturas fenólicas na molécula do corante, confirmando assim a capacidade desse gênero de basidiomiceto em tratamentos desse tipo (CHAIRIN et al., 2013).

Uma espécie de *Pleurotus* (*P. eryngii*) foi avaliada por Hadibarata et al. (2013) na descoloração de Reactive Black 5, um corante reativo diazo contendo estrutura fenólica, em diferentes condições, onde foi observada descoloração acima de 90 %. Outros pesquisadores, como Papadopoulou et al. (2013), também avaliaram *Pleurotus*, juntamente com outros fungos, na descoloração de diferentes corantes de função azo e antraquinona, e observaram que as melhores taxas de descoloração foram obtidas pelas espécies desse gênero, contudo os resultados mostram recalcitrância nos tratamentos contendo corantes de função azo. Ainda Kiran et al. (2012), em estudo comparativo de descoloração de Reactive Blue 222 por *P. ostreatus* e *Phanerochaete chrysosporim*, mostraram que *Pleurotus* apresentou melhores resultados de descoloração. Já Barreto et al. (2012) avaliaram a cinética de descoloração de três corantes azo, empregando *P. ostreatus*, e observaram baixas taxas de descoloração para esses corantes considerados recalcitrantes.

Recentemente Moreira Neto et al. (2011) e Moreira Neto et al. (2013) avaliaram a capacidade de espécies desses gêneros de basidiomicetos em descolorir o corante reativo antraquinônico CI Reactive Blue 19, onde *Peniophora cinerea*, *Pleurotus ostreatus* e *Trametes villosa* foram selecionadas por apresentarem potencial biotecnológico para degradação desse corante têxtil em alta salinidade, pH elevado, associado a um tempo de retenção hidráulica reduzido. Em continuidade, Santos (2016) avaliou tratamentos de descoloração de corantes reativos de função azo, não fenólicos, em misturas no banho de tingimento, empregando esses três basidiomicetos imobilizados em biorreatores, a tentativa de estabelecer um processo biotecnológico. Contudo, ainda é necessário caracterizar o processo, visto que parte dos estudos não comprova a degradação, comprometendo-se apenas com a diminuição da cor no efluente. É nesse contexto que o presente estudo avaliou parâmetros que interferem no processo de descoloração de um corante reativo diazo, de uso frequente pela indústria têxtil, procurando

inferir os componentes envolvidos nos diferentes mecanismos de degradação do corante pelas espécies estudadas.

5. CONCLUSÕES

- Conclui-se que os três basidiomicetos estão aptos a participar de processos de descoloração desse corante diazo fenólico, confirmando a inespecificidade de seus mecanismos degradativos. Fica ainda evidente que o processo é dinâmico, capaz de expressar diferentes especificidades durante as etapas do processo, de acordo com *i*) a espécie de basidiomiceto empregada, *ii*) o tempo de incubação pré-contato e durante contato *in vivo* e *iii*) as condições nutricionais, incluindo mediadores enzimáticos, o que sugere a necessidade de intervenções sucessivas, a fim de maximizar a descoloração em todas as etapas do processo;
- As três espécies de basidiomicetos expressam lacase, como principal enzima ligninolítica, que, juntamente com outras enzimas e compostos quelantes e redutores de ferro, constituem mecanismos degradativos eficientes para descolorir concentração elevada desse corante recalcitrante (0,03 %);
- Concentrações de sulfato de cobre, sulfato de manganês e fonte de ácido graxo influenciam não apenas a produção das enzimas ligninolíticas, mas também a descoloração, mostrando que esses são fatores importantes para se otimizar, na busca pela eficiência de processos desse tipo. A idade fisiológica do cultivo também mostra-se um importante fator a ser considerado para cultivos empregando esses basidiomicetos;
- *P. ostreatus* apresenta maior eficiência na descoloração empregando cultivo de 25 dias, contendo 0,446 mM de sulfato de cobre e 0,821 mM de sulfato de manganês, sem adição de ácido graxo insaturado. *T. villosa* também mostra máxima eficiência quando emprega cultivo com 25 dias, contendo 1 mM de sulfato de cobre e de manganês, na presença de 3,75% de fonte de ácido graxo insaturado. Já *P. cinerea* mostra máxima eficiência empregando cultivo com 18 dias, contendo 1 mM de sulfato de cobre e 0,106 mM de sulfato de manganês, na presença de 4% de fonte de ácido graxo insaturado;
- A presença de mediadores no efluente sintético influencia positivamente a descoloração, quando 2mM de ABTS são adicionados, para qualquer um dos basidiomicetos estudados. Já o RBBR influencia positivamente apenas os tratamentos com *P. ostreatus* e *P. cinerea*, na concentração de 0,2 µM;

- As ferramentas estatísticas mostram-se apropriadas para analisar a eficiência desse tipo de processo, possibilitando ainda esclarecimentos sobre as vias de processos;
- Cromatografia de Camada Delgada apresenta-se como técnica eficaz para detectar metabólitos, o que pode viabilizar pesquisas biotecnológicas com descobertas importantes minimizando custos de análise;
- *P. ostreatus* é capaz de degradar RB222 nas primeiras 24 horas de contato *in vivo*, provocando deslocamento hipsocrômico do comprimento de onda de máxima absorção, com participação ativa das lacases, associadas à ação não enzimática dos CBMM.
- *P. cinerea* é capaz de iniciar a descoloração de RB222 sem a ação direta de lacases e MnP, uma vez que os compostos de baixa massa molar presentes em seus extratos de cultivo apresentam participação ativa no processo.
- *T. villosa* é capaz de iniciar a descoloração de RB222, também fazendo uso de um mecanismo misto, enzimático e não enzimático.
- Por fim, conclui-se que embora a grande maioria dos estudos desse tipo foquem erroneamente em máximas produções enzimáticas, negligenciando a ação de CBMM e vias adjacentes do processo *in vivo*, fica comprovado que o mecanismo ligninolítico pode atingir sua máxima eficiência em configurações diferentes daquelas preconizadas até então.

REFERÊNCIAS*

ADNAN, L. et al. Biodegradation of bis-azo dye Reactive Black 5 by white-rot fungus *Trametes gibbosa* sp. WRF 3 and its metabolite Characterization. **Water Air and Soil Pollution**, Cham, v. 225, n. 10, p. 1-11, 2014. ISSN 0049-6979.

AGUIAR, A. et al. Behavior of *Ceriporiopsis subvermispota* during *Pinus taeda* biotreatment in soybean-oil-amended cultures. **International Biodeterioration and Biodegradation**, v. 64, n. 7, p. 588-593, 2010. ISSN 0964-8305.

AGUIAR, A.; FERRAZ, A. Mecanismos envolvidos na biodegradação de materiais lignocelulósicos e aplicações tecnológicas correlatas. **Química Nova**, v. 34, n. 10, p. 1729-1738, 2011. ISSN 01004042.

AKDOGAN, H. A.; TOPUZ, M. C.; URHAN, A. A. Studies on decolorization of Reactive Blue 19 textile dye by *Coprinus plicatilis*. **Journal of Environmental Health Science Engineering**, v. 12, n. 1, 2014. ISSN 2052336X.

AKPINAR, M.; UREK, R. Production of ligninolytic enzymes by solid-state fermentation using *Pleurotus eryngii*. **Preparative Biochemistry and Biotechnology**, v. 42, n. 6, p. 582-597, 2012. ISSN 1082-6068.

ALBERTS, J. F. et al. Degradation of aflatoxin B(1) by fungal laccase enzymes. **International Journal of Food Microbiology**, v. 135, n. 1, p. 47, 2009.

ALI, H. Biodegradation of Synthetic Dyes-A Review. **Water Air and Soil Pollution** 213: 251-273 p. 2010.

ALMANSA, E. et al. Influence of structure on dye degradation with laccase mediator systems. **Biocatalysis and Biotransformation**, v. 22, n. 5-6, p. 315-324, 2004. ISSN 1024-2422.

ALMEIDA, E. J. R.; CORSO, C. R. Comparative study of toxicity of azo dye Procion Red MX-5B following biosorption and biodegradation treatments with the fungi *Aspergillus niger* and *Aspergillus terreus*. **Chemosphere**, 2014. ISSN 0045-6535.

ÁLVAREZ, M. S. et al. Novel physico-biological treatment for the remediation of textile dyes-containing industrial effluents. **Bioresource Technology**, v. 146, p. 689-95, Oct 2013. ISSN 1873-2976. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23985354>>. Acesso em: 15 out. 2016.

ANDRADE, M. V. F. et al. Azo Dye Degradation by *Phanerochaete chrysosporium* in the Medium Enriched with Nitrogen in the Presence of Primary Co-Substrate. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v. 56, n. 5, p. 867-874, 2013. ISSN 1516-8913.

ARANTES, V. et al. Lignocellulosic polysaccharides and lignin degradation by wood decay fungi: the relevance of nonenzymatic Fenton-based reactions. **Journal of Industrial**

* De acordo com: ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. **NBR6023**: informação e documentação: referências: elaboração. Rio de Janeiro, 2002.

Microbiology and Biotechnology, Berlin/Heidelberg, v. 38, n. 4, p. 541-555, 2011. ISSN 1367-5435.

ARANTES, V.; MILAGRES, A., M. F. Relevância de compostos de baixa massa molar produzidos por fungos e envolvidos na biodegradação da madeira. **Química Nova**, v. 32, n. 6, p. 1586-1595, 2009. ISSN 0100-4042.

ARANTES, V.; MILAGRES, A. M. F. The synergistic action of ligninolytic enzymes (MnP and Laccase) and Fe³⁺-reducing activity from white-rot fungi for degradation of Azure B. **Enzyme and Microbial Technology**, v. 42, n. 1, p. 17-22, 2007. ISSN 01410229.

_____. Effect of pH and oxalic acid on the reduction of Fe³⁺ by a biomimetic chelator and on Fe³⁺ desorption/adsorption onto wood: Implications for brown-rot decay. **International Biodeterioration and Biodegradation**, v. 63, n. 4, p. 478-483, 2009. ISSN 0964-8305.

ARGUN, M. E.; GÜCLÜ, D.; KARATAS, M. Adsorption of Reactive Blue 114 dye by using a new adsorbent: Pomelo peel. **Journal of Industrial and Engineering Chemistry**, 2013. ISSN 1226086X.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DA INDÚSTRIA QUÍMICA. **Usos de corantes, pigmentos e branqueadores ópticos** Disponível em <http://abiquim.org.br/corantes/cor_aplicacoes.asp>. Acesso em: 15 out. 2016.

BALDRIAN, P.; GABRIEL, J. Copper and cadmium increase laccase activity in *Pleurotus ostreatus*. **FEMS Microbiology Letters**, v. 206, n. 1, p. 69-74, 2002. ISSN 0378-1097.

BALLAMINUT, N. et al. Avaliação de substratos lignolíticos em inóculo de basidiomicetos para descoloração de corantes. In: Congresso Brasileiro de Recursos Genéticos, 3., 2014a, Santos. **Resumos**. Santos: Mendes Convention Center, 2014a. Área 2, protocolo 643. Disponível em <<http://www.cbrg.net.br/cd/area-microorganismos.html>>. Acesso em 15 fev. 2017.

BALLAMINUT, N. et al. Physiological Characterization of fungal inoculum for biotechnological remediation of soils. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v. 57, n. 4, p. 561-570, 08/2014 2014b. ISSN 1516-8913. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_abstract&pid=S1516-89132014000400561&lng=en&nrm=iso&tlng=en>. Acesso em 15 out. 2016.

BALLAMINUT, N.; MATHEUS, D. R. Characterization of fungal inoculum used in soil bioremediation. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 38, n. 2, p. 248-252, 2007. ISSN 1517-8382.

BALLAMINUT, N.; YAMANAKA, R.; MACHADO, K. M. G. Interference of a commercial catalase preparation in laccase and peroxidase activities. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v. 52, n. 5, p. 1193-1198, 2009. ISSN 1516-8913.

BARRASA, J.; MARTÍNEZ, A.; MARTÍNEZ, M. Isolation and selection of novel basidiomycetes for decolorization of recalcitrant dyes. **Folia Microbiologica**, Dordrecht, v. 54, n. 1, p. 59-66, 2009. ISSN 0015-5632.

BARRETO, W. et al. A kinetic study of the biodegradation of textile dye mixtures by *Pleurotus ostreatus* fungus. **Monatshefte für Chemie**, Vienna, v. 143, n. 10, p. 1389-1395, 2012. ISSN 0026-9247.

BASHA, C. A. et al. Degradation studies for textile reactive dye by combined electrochemical, microbial and photocatalytic methods. **Separation and Purification Technology**, p.303-309. 2011

BIBI, I.; BHATTI, H. N. Enhanced biodecolorization of reactive dyes by basidiomycetes under static conditions. **Applied Biochemistry and Biotechnology**, v. 166, n. 8, p. 2078-2090, 2012. ISSN 0273-2289.

BONNARME, P.; JEFFRIES, T. W. Mn(II) regulation of lignin peroxidases and manganese-dependent peroxidases from lignin-degrading white rot fungi. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 56, n. 1, p. 210, 1990. ISSN 0099-2240.

BONUGLI-SANTOS, R.; DURRANT, L.; SETTE, L. The production of ligninolytic enzymes by marine-derived basidiomycetes and their biotechnological potential in the biodegradation of recalcitrant pollutants and the treatment of textile effluents. **Water Air and Soil Pollution**, Dordrecht, v. 223, n. 5, p. 2333-2345, 2012. ISSN 0049-6979.

BONUGLI-SANTOS, R. et al. Enhanced textile dye decolorization by marine-derived basidiomycete *Peniophora* sp. CBMAI 1063 using integrated statistical design. **Environmental Science and Pollution Research**, Berlin/Heidelberg, v. 23, n. 9, p. 8659-8668, 2016. ISSN 0944-1344.

BOURBONNAIS, R.; PAICE, M. G. Oxidation of non-phenolic substrates. An expanded role for laccase in lignin biodegradation. **FEBS Letters**, v. 267, n. 1, p. 99-102, 1990. ISSN 00145793.

BÖHMER, S.; MESSNER, K.; SREBOTNIK, E. Oxidation of phenanthrene by a fungal laccase in the presence of 1-hydroxybenzotriazole and unsaturated lipids. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, v. 244, n. 1, p. 233-238, 1998. ISSN 0006-291X.

CAÑAS, A. I.; CAMARERO, S. Laccases and their natural mediators: Biotechnological tools for sustainable eco-friendly processes. **Biotechnology advances**, v. 28, n. 6, p. 694-705, 2010. ISSN 0734-9750.

CHACKO, J. T.; SUBRAMANIAM, K. Enzymatic degradation of azo dyes – a review. **International Journal of Environmental Sciences** 1: 1250-1260 p. 2011.

CHAIRIN, T. et al. Biodegradation of bisphenol a and decolorization of synthetic dyes by laccase from white rot fungus, *Trametes polyzona*. (Report). **Applied Biochemistry and Biotechnology**, v. 169, n. 2, p. 539, 2013. ISSN 0273-2289.

CHEN, Q. et al. A multiscale study on the structural and mechanical properties of the luffa sponge from *Luffa cylindrica* plant. **Journal of Biomechanics**, 47: 1332 p. 2014.

CHENAUX, P.; LALJI, N.; LEFEBVRE, D. *Trametes meyenii* possesses elevated dye degradation abilities under normal nutritional conditions compared to other white rot fungi. **AMB Express**, Berlin/Heidelberg, v. 4, n. 1, p. 1-9, 2014.

CHEQUER, F. M. D. et al. Textile dyes: dyeing process and environmental impact. In: GÜNAY, M. (Ed.). **Eco-Friendly textile dyeing and finishing**: InTech, 2013. DOI: 10.5772/53659. Disponível em: <<http://www.intechopen.com/books/eco-friendly-textile-dyeing-and-finishing/textile-dyes-dyeing-process-and-environmental-impact>>. Acesso em: 15 out. 2016.

CLARKE, C. E. et al. Oxidative decolorization of acid azo dyes by a Mn oxide containing waste. **Environmental Science and Technology**, v. 44, p. 1116-1122, 2010. ISSN 1520-5851.

CONSELHO NACIONAL DE MEIO AMBIENTE. Resolução nº 357, de 2005. **Classificação dos corpos de água e diretrizes ambientais**. Disponível em: <<http://www.mma.gov.br/port/conama/res/res05/res35705.pdf>>. Acesso em: 15 out. 2016.

CUNICO, M. W. M. et al. Planejamento fatorial: uma ferramenta estatística valiosa para a definição de parâmetros experimentais empregados na pesquisa científica. **Visão Acadêmica**. Curitiba, Paraná, v. 9, n. 1, p. 23-32, 2008.

DONLON, B. A. et al. Toxicity of N-substituted aromatics to acetoclastic methanogenic activity in granular sludge. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 61, n. 11, p. 3889-3893, 1995. ISSN 00992240.

DOS SANTOS, A. B. et al. The transformation and toxicity of anthraquinone dyes during thermophilic (55 degrees C) and mesophilic (30 degrees C) anaerobic treatments. **Journal of Biotechnology**, v. 115, n. 4, p. 345-353, 2005. ISSN 0168-1656.

DURÁN, N.; ESPOSITO, E. Potential applications of oxidative enzymes and phenoloxidase-like compounds in wastewater and soil treatment: A review. **Applied Catalysis B: Environmental**, v. 28, n. 2, p. 83-99, 2000. ISSN 09263373.

EGGERT, C.; TEMP, U.; ERIKSSON, K. E. L. The ligninolytic system of the white rot fungus *Pycnoporus cinnabarinus*: Purification and characterization of the laccase. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 62, n. 4, p. 1151-1158, 1996. ISSN 00992240.

EL-GHENYMY, A. et al. Decolorization and mineralization of Orange G azo dye solutions by anodic oxidation with a boron-doped diamond anode in divided and undivided tank reactors. **Electrochimica Acta**, v. 130, p. 568-576, 2014. ISSN 0013-4686.

ENAYATZAMIR, K. et al. Decolouration of azo dyes by *Phanerochaete chrysosporium* immobilised into alginate beads. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 17, n. 1, p. 145-153, 2010. ISSN 09441344.

EVANS, C. S. et al. Enzymes and small molecular mass agents involved with lignocellulose degradation. **FEMS Microbiology Reviews**, v. 13, n. 2-3, p. 235-240, 1994. ISSN 01686445.

FARACO, V. et al. Bio-remediation of colored industrial wastewaters by the white-rot fungi *Phanerochaete chrysosporium* and *Pleurotus ostreatus* and their enzymes. **Biodegradation**, v. 20, n. 2, p. 209-220, 2009. ISSN 0923-9820.

FERNADES RÊGO, F. E. et al. Application of electro-Fenton process as alternative for degradation of Novacron Blue dye. **Journal of Environmental Chemical Engineering**, v. 2, n. 2, p. 875-880, 6// 2014. ISSN 2213-3437. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2213343714000451>>. Acesso em: 15 out. 2016.

FERNANDEZ, C.; LARRECHI, M. S.; CALLAO, M. P. An analytical overview of processes for removing organic dyes from wastewater effluents. **Trends in Analytical Chemistry**, 29: 1202-1211 p. 2010.

FERNANDO, E.; KESHAVARZ, T.; KYAZZE, G. Complete degradation of the azo dye Acid Orange-7 and bioelectricity generation in an integrated microbial fuel cell, aerobic two-stage bioreactor system in continuous flow mode at ambient temperature. **Bioresource Technology**, v. 156, p. 155-162, 2014. ISSN 0960-8524.

FONSECA, M. I. et al. Copper inducing effect on laccase production of white rot fungi native from Misiones (Argentina). **Enzyme and Microbial Technology**, v. 46, n. 6, p. 534-539, 2010. ISSN 0141-0229.

FUKUDA, E. et al. Fungal cell wall polysaccharides: purification and characterization. **Semina Ciências Agrárias** 30: 117-133 p. 2009.

GAHLOUT, M.; GUPTE, S.; GUPTE, A. Optimization of culture condition for enhanced decolorization and degradation of azo dye reactive violet 1 with concomitant production of ligninolytic enzymes by *Ganoderma cupreum* AG-1. **3 Biotech**, Berlin/Heidelberg, v. 3, n. 2, p. 143-152, 2013. ISSN 2190-572X.

GARCÍA-MONTAÑO, J. et al. Degradation pathways of the commercial reactive azo dye Procion Red H-E7B under solar-assisted photo-fenton reaction. **Environmental Science and Technology**, v. 42, n. 17, p. 6663-6670, 2008. ISSN 0013936X.

GUARATINI, C. C. I.; ZANONI, M. V. B. Corantes têxteis. **Química Nova**, v. 23, n. 1, p. 71-78, 2000. ISSN 01004042.

HADIBARATA, T. et al. Microbial decolorization of an azo dye reactive black 5 using white-rot fungus *Pleurotus eryngii* F032. **International Journal of Environment and Pollution**, Dordrecht, v. 224, n. 6, p. 1-9, 2013. ISSN 0049-6979.

HADIBARATA, T.; YUSOFF, A.; KRISTANTI, R. Acceleration of anthraquinone-type dye removal by white-rot fungus under optimized environmental conditions. **International Journal of Environment and Pollution**, Dordrecht, v. 223, n. 8, p. 4669-4677, 2012a. ISSN 0049-6979.

_____. Decolorization and metabolism of anthraquinone-type dye by laccase of white-rot fungi *Polyporus* sp. S133. **International Journal of Environment and Pollution**, Dordrecht, v. 223, n. 2, p. 933-941, 2012b. ISSN 0049-6979.

HAMMEL, K. E. et al. Reactive oxygen species as agents of wood decay by fungi. **Enzyme and Microbial Technology**, v. 30, n. 4, p. 445-453, 2002. ISSN 01410229.

HAROUN, M.; IDRIS, A. Treatment of textile wastewater with an anaerobic fluidized bed reactor. **Desalination**, v. 237, n. 1-3, p. 357-366, 2009. ISSN 00119164.

HASSAN, H.; HAMEED, B. H. Oxidative decolorization of Acid Red 1 solutions by Fe-zeolite Y type catalyst. **Desalination**, v. 276, n. 1-3, p. 45-52, 2011. ISSN 00119164.

HORTA, M. A. et al. Linoleic acid peroxidation initiated by Fe³⁺-reducing compounds recovered from *Eucalyptus grandis* biotreated with *Ceriporiopsis subvermispota*. **International Biodeterioration and Biodegradation**, v. 65, n. 1, p. 164-171, 2011. ISSN 0964-8305.

HU, M. et al. Laccase- mediator system in the decolorization of different types of recalcitrant dyes. **Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology**, v. 36, n. 1, p. 45-51, 2009. ISSN 1367-5435.

IQBAL, M.; EDYVEAN, R. G. J. *Loofa sponge* immobilized fungal biosorbent: A robust system for cadmium and other dissolved metal removal from aqueous solution. **Chemosphere**, v. 61, n. 4, p. 510-518, 2005. ISSN 0045-6535.

IŞIK, M.; SPONZA, D. T. Fate and toxicity of azo dye metabolites under batch long-term anaerobic incubations. **Enzyme and Microbial Technology**, v. 40, n. 4, p. 934-939, 2007. ISSN 01410229.

JIANG, M.; TEN, Z.; DING, S. J. Decolorization of synthetic dyes by crude and purified laccases from *Coprinus comatus* grown under different cultures: the role of major isoenzyme in dyes decolorization. **Applied Biochemistry and Biotechnology**, v. 169, n. 2, p. 660-672, 2013. ISSN 0273-2289.

JOHANNES, C.; MAJCHERCZYK, A. Laccase activity tests and laccase inhibitors. **Journal of Biotechnology**, v. 78, n. 2, p. 193-199, 2000. ISSN 0168-1656.

KALPANA, D. et al. Biodecolorization and biodegradation of reactive Levafix Blue E-RA granulate dye by the white rot fungus *Irpex lacteus*. **Journal of Environmental Management**, 111: 142-149 p. 2012.

KANAGARAJ, J.; SENTHILVELAN, T.; PANDA, R. Biodegradation of azo dyes in industrial effluent: an eco-friendly way toward green technology. **Clean Techn Environ Policy**, Berlin/Heidelberg, v. 17, n. 2, p. 331-341, 2015. ISSN 1618-954X.

KAPICH, A. N. et al. Oxidizability of unsaturated fatty acids and of a non- phenolic lignin structure in the manganese peroxidase-dependent lipid peroxidation system. **Enzyme and Microbial Technology**, v. 46, n. 2, p. 136-140, 2010. ISSN 0141-0229.

KARP, S. G. et al. Characterization of laccase isoforms produced by *Pleurotus ostreatus* in solid state fermentation of sugarcane bagasse. **Bioresource Technology**, v. 114, p. 735-739, 2012. ISSN 0960-8524.

KAUSHIK, P.; MALIK, A. Fungal dye decolourization: Recent advances and future potential. **Environment International**, v. 35, n. 1, p. 127-141, 2009. ISSN 0160-4120.

KAVITHA, S. R. et al. Fluorescence quenching and photocatalytic degradation of textile dyeing waste water by silver nanoparticles. **Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy**, v. 127, p. 115-121, 2014. ISSN 1386-1425.

KIRAN, S.; ALI, S.; ASGHER, M. Degradation and mineralization of azo dye Reactive Blue 222 by sequential Photo-Fenton's oxidation followed by aerobic biological treatment using white rot fungi. **Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology**, v. 90, n. 2, p. 208-15, Feb 2013. ISSN 1432-0800. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23272326>>. Acesso em: 15 out. 2016.

KIRAN, S. et al. Comparative study on decolorization of Reactive Dye 222 by white rot fungi *Pleurotus ostreatus* IBL-02 and *Phanerochaete chrysosporium* IBL-03: **Academic Journals**, 6: 3639-3650 p. 2012.

KIRK, T. K.; FARRELL, R. L. Enzymatic combustion: The microbial degradation of lignin. **Annual Review of Microbiology**, 41: 465-501 p. 1987.

KNOP, D.; YARDEN, O.; HADAR, Y. The ligninolytic peroxidases in the genus *Pleurotus* : divergence in activities, expression, and potential applications. **Applied Microbiology and Biotechnology**, Berlin/Heidelberg, v. 99, n. 3, p. 1025-1038, 2015. ISSN 0175-7598.

KOYANI, R. D. et al. Contribution of lignin degrading enzymes in decolourisation and degradation of reactive textile dyes. **International Biodeterioration and Biodegradation**, v. 77, p. 1-9, 2013. ISSN 09648305.

KUMAR, V. V. et al. Biochemical characterization of three phase partitioned laccase and its application in decolorization and degradation of synthetic dyes. **Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic**, v. 74, n. 1-2, p. 63-72, 2012. ISSN 1381-1177.

KUNZ, A. et al. Novas tendências no tratamento de efluentes têxteis. **Química Nova.**, 25: 78-82 p. 2002.

KUNZ, A.; REGINATTO, V.; DURAN, N. Combined treatment of textile effluent using the sequence *Phanerochaete chrysosporium*-ozone. **Chemosphere**, v. 44, n. 2, p. 281-287, 2001. ISSN 0045-6535.

KURADE, M. B. et al. Bacterial- yeast consortium as an effective biocatalyst for biodegradation of sulphonated azo dye Reactive Red 198. **RSC Advances**, v. 5, n. 29, p. 23046-23056, 2015. ISSN 20462069.

KUWAHARA, M. et al. Separation and characterization of two extracellular H₂O₂-dependent oxidases from ligninolytic cultures of *Phanerochaete chrysosporium*. **FEBS Letters**, v. 169, n. 2, p. 247-250, 1984. ISSN 0014-5793.

KYZAS, G. Z. et al. Decolorization of dyeing wastewater using polymeric absorbents - an overview. In: GÜNAY, M. (Ed.). **Eco-Friendly textile dyeing and finishing**: InTech, 2013.

DOI: 10.5772/52817. Disponível em: <<http://www.intechopen.com/books/eco-friendly-textile-dyeing-and-finishing/decolorization-of-dyeing-wastewater-using-polymeric-absorbents-an-overview>>. Acesso em: 15 out. 2016.

LAU, Y.-Y. et al. Coagulation- flocculation of azo dye Acid Orange 7 with green refined laterite soil. **Chemical Engineering Journal**, v. 246, p. 383-390, 2014. ISSN 1385-8947.

LEVIN, L.; MELIGNANI, E.; RAMOS, A. M. Effect of nitrogen sources and vitamins on ligninolytic enzyme production by some white-rot fungi. Dye decolorization by selected culture filtrates. **Bioresource Technology**, v. 101, n. 12, p. 4554-4563, 2010. ISSN 09608524.

LI, H. et al. *In vivo* and *in vitro* decolorization of synthetic dyes by laccase from solid state fermentation with *Trametes* sp SYBC-L4. **Bioprocess and Biosystems Engineering**, v. 37, n. 12, p. 2597-2605, 2014. ISSN 1615-7591.

LORENZO, M.; MOLDES, D.; SANROMAN, M. A. Effect of heavy metals on the production of several laccase isoenzymes by *Trametes versicolor* and on their ability to decolourise dyes. **Chemosphere**, v. 63, n. 6, p. 912-917, 2006. ISSN 0045-6535.

LU, Y. et al. Determination of the degradation products of selected sulfonated phenylazonaphthol dyes treated by white rot fungus *Pleurotus ostreatus* by capillary electrophoresis coupled with electrospray ionization ion trap mass spectrometry. **Journal of Chromatography A**, v. 1208, n. 1-2, p. 223, 2008. ISSN 0021-9673.

MACHADO, K. M. G.; MATHEUS, D. R.; BONONI, V. L. R. Ligninolytic enzymes production and Remazol Brilliant Blue R decolorization by tropical brazilian basidiomycetes fungi. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 36, n. 3, p. 246-252, 2005. ISSN 1517-8382.

MALACHOVA, K. et al. Biodegradation and detoxification potential of rotating biological contactor (RBC) with *Irpex lacteus* for remediation of dye-containing wastewater. **Water Research**, v. 47, n. 19, p. 7143-8, Dec 2013. ISSN 1879-2448. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24210510>>. Acesso em: 15 out. 2016.

MARTINEZ, M. J. et al. Purification and catalytic properties of two manganese peroxidase isoenzymes from *Pleurotus eryngii*. **European Journal of Biochemistry**, v. 237, n. 2, p. 424-432, 1996. ISSN 0014-2956.

MATHEUS, D. R.; BONONI, V. L. R. C/N Ratio and vegetable oil to mineralize 14Chexachlorobenzene by white-rot-fungi. In: Gavaskar, A. R., Chen, A. S. C. (eds.). **Remediation of Chlorinated and Recalcitrant Compounds**. Monterey, CA, Paper 2B-10. 2002.

MAZMANCI, M. A.; UNYAYAR, A. Decolourisation of Reactive Black 5 by *Funalia trogii* immobilised on *Luffa cylindrica* sponge. **Process Biochemistry**, v. 40, n. 1, p. 337-342, 2005. ISSN 1359-5113.

MELO, J. P. **Avaliação da degradação de corantes têxteis reativos da indústria têxtil por quelantes de ferro produzidos por fungos basidiomicetos**. 2009. 134 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Ciências Biológicas). Universidade Santo Amaro, São Paulo, 2009.

MESTER, T.; FIELD, J. A. Optimization of manganese peroxidase production by the white rot fungus *Bjerkandera* sp. strain BOS55. **FEMS Microbiology Letters**, v. 155, n. 2, p. 161-168, 1997. ISSN 0378-1097.

METAPRINT2D. Metabolic site predictor. Sam Adams, Centre for Molecular Science Informatics, University of Cambridge. Disponível em <<http://www-metaprint2d.ch.cam.ac.uk/metaprint2d-react/about.html>>. Acesso em 15 out. 2016.

MIELGO, I. et al. Oxidative Degradation of Azo Dyes by Manganese Peroxidase under Optimized Conditions. **Biotechnology Progress**, USA, v. 19, n. 2, p. 325-331, 2003. ISSN 8756-7938.

MILAGRES, A. M. F.; MACHUCA, A.; NAPOLEÃO, D. Detection of siderophore production from several fungi and bacteria by a modification of chrome azurol S (CAS) agar plate assay. **Journal of Microbiological Methods**, v. 37, n. 1, p. 1-6, 1999. ISSN 0167-7012.

MINITAB. Windows User. Versão 17.3.1. Minitab Inc. 2016.

MOLDES, D.; FERNÁNDEZ-FERNÁNDEZ, M.; SANROMÁN, M. Á. Role of laccase and low molecular weight metabolites from *Trametes versicolor* in dye decolorization. **The Scientific World Journal**, v. 2012, 2012.

MOLDES, D.; LORENZO, M.; SANROMÁN, M. Different proportions of laccase isoenzymes produced by submerged cultures of *Trametes versicolor* grown on lignocellulosic wastes. **Biotechnology Letters**, Dordrecht, v. 26, n. 4, p. 327-330, 2004. ISSN 0141-5492.

MOLDES, D.; SANROMAN, M. A. Amelioration of the ability to decolorize dyes by laccase: relationship between redox mediators and laccase isoenzymes in *Trametes versicolor*. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, v. 22, n. 11, p. 1197-1204, 2006. ISSN 0959-3993.

MOREIRA, F. C. et al. Decolorization and mineralization of Sunset Yellow FCF azo dye by anodic oxidation, electro-Fenton, UVA photoelectro-Fenton and solar photoelectro-Fenton processes. **Applied Catalysis B: Environmental**, v. 142, p. 877-890, 2013. ISSN 0926-3373.

MOREIRA, M. T. et al. Evaluation of different fungal strains in the decolourisation of synthetic dyes. **Biotechnology Letters**, New York, v. 22, n. 18, p. 1499-1503, 2000. ISSN 0141-5492.

MOREIRA NETO, S. L. et al. Decolorization of salt-alkaline effluent with industrial reactive dyes by laccase-producing basidiomycetes strains. **Letters in Applied Microbiology**, v. 56, n. 4, p. 283-290, 2013. ISSN 0266-8254.

MOREIRA NETO, S. L. et al. Novel salt and alkali tolerant neotropical basidiomycetes for dye decolorisation in simulated textile effluent. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, v. 27, n. 11, p. 2665-2673, 2011. ISSN 0959-3993.

MOREIRA NETO, S. L.; MILAGRES, A. M. F.; MUSSATTO, S. Reactive dyes and textile effluent decolorization by a mediator system of salt-tolerant laccase from *Peniophora cinerea*. **Separation and Purification Technology**, v. 135, p. 183-189, 2014. ISSN 1383-5866.

MOTA, T. et al. Decolourization of Congo Red by *Ganoderma lucidum* Laccase: Evaluation of Degradation Products and Toxicity. **Water Air Soil Pollution**, Cham, v. 226, n. 10, p. 1-11, 2015. ISSN 0049-6979.

MUKHERJEE, S. et al. Potential use of polyphenol oxidases (PPO) in the bioremediation of phenolic contaminants containing industrial wastewater. **Reviews in Environmental Science and Bio/Technology**, 12: 61-73 p. 2013.

NABIL, G. M.; EL-MALLAH, N. M.; MAHMOUD, M. E. Enhanced decolorization of reactive black 5 dye by active carbon sorbent-immobilized-cationic surfactant (AC-CS). **Journal of Industrial and Engineering Chemistry**, 2013. ISSN 1226086X.

NIDHEESH, P.; GANDHIMATHI, R.; RAMESH, S. Degradation of dyes from aqueous solution by Fenton processes: a review. **Environmental Science and Pollution Research**, Berlin/Heidelberg, v. 20, n. 4, p. 2099-2132, 2013. ISSN 0944-1344.

NOUSIAINEN, P. et al. Phenolic mediators enhance the manganese peroxidase catalyzed oxidation of recalcitrant lignin model compounds and synthetic lignin. **Fungal Genetics and Biology**, v. 72, p. 137-149, 2014. ISSN 1087-1845.

NOVOTNÝ, Č. et al. Biodegradation of synthetic dyes by *Irpex lacteus* under various growth conditions. **International Biodeterioration and Biodegradation**, p.215-223. 2004

OLIVEIRA, L. H. S. et al. Descoloração de corantes sintéticos por basidiomicetos tropicais brasileiros. **Naturalia**, p.85-99. 2010

OSMA, J. F.; TOCA-HERRERA, J. L.; RODRIGUEZ-COUTO, S. Transformation pathway of Remazol Brilliant Blue R by immobilised laccase. **Bioresource Technology**, v. 101, n. 22, p. 8509-8514, 2010. ISSN 0960-8524.

PAJOOTAN, E.; ARAMI, M.; RAHIMDOKHT, M. Discoloration of wastewater in a continuous electro- Fenton process using modified graphite electrode with multi-walled carbon nanotubes/surfactant. **Separation and Purification Technology**, v. 130, p. 34, 2014. ISSN 1383-5866.

PAKSHIRAJAN, K.; KHERIA, S. Continuous treatment of coloured industry wastewater using immobilized *Phanerochaete chrysosporium* in a rotating biological contactor reactor. **Journal of Environmental Management**, 101: 118-123 p. 2012.

PALMIERI, G. et al. Copper induction of laccase isoenzymes in the ligninolytic fungus *Pleurotus ostreatus*. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 66, n. 3, p. 920-924, 2000. ISSN 0099-2240.

PAPADOPOULOU, K. et al. Optimization of fungal decolorization of azo and anthraquinone dyes via Box-Behnken design. **International Biodeterioration and Biodegradation**, v. 77, p. 31-38, 2013. ISSN 0964-8305.

PARANHOS, A. P. S. **Avaliação da produção de quelantes de ferro por fungos basidiomicetos e degradação de corantes da indústria têxtil.** 2007. 122 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Ciências Biológicas). Universidade Santo Amaro, São Paulo, 2007.

PARANHOS, A. P. S. **Estudo dos compostos de baixa massa molar, redutores de ferro, produzidos por basidiomicetos com potencialidade em descolorir corantes da indústria têxtil.** 2011. 141 f. Dissertação (Mestrado em Botânica). Instituto de Botânica da Secretaria do Estado de Meio Ambiente, São Paulo, 2011.

PEREIRA, L.; ALVES, M. Dyes - Environmental impact and remediation. In: Malik, A.; Grohmann, E. (Ed.). **Environmental Protection Strategies for Sustainable Development.** Springer, Netherlands, 2012. cap. 4, p.111-162. ISBN 978-94-007-1591-2. DOI: dx.doi.org/10.1007/978-94-007-1591-2.

PLÁCIDO, J. et al. Degradation and detoxification of synthetic dyes and textile industry effluents by newly isolated *Leptosphaerulina* sp. from Colombia. **Bioresources and Bioprocessing**, Berlin/Heidelberg, v. 3, n. 1, p. 1-14, 2016.

POLAK, J.; JAROSZ-WILKOLAZKA, A. Fungal laccases as green catalysts for dye synthesis. **Process Biochemistry**, v. 47, n. 9, p. 1295-1307, 2012. ISSN 1359-5113.

PRATHEEBAA, P.; PERIASAMY, R.; PALVANNAN, T. Factorial design for optimization of laccase production from *Pleurotus ostreatus* IMI 395545 and laccase mediated synthetic dye decolorization. **Indian Journal of Biotechnology**, v. 12, n. 2, p. 236-245, 2013. ISSN 0972-5849.

RODRIGUES, M. I.; IEMMA, A. F. **Planejamento de experimentos e otimização de processos.** 3. ed. Campinas: Cárita, 2014. 336 p.

RODRIGUEZ, E. et al. Degradation of phenolic and non-phenolic aromatic pollutants by four *Pleurotus* species: the role of laccase and versatile peroxidase. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 36, n. 6, p. 909-916, 2004. ISSN 0038-0717.

RODRIGUEZ, E.; PICKARD, M. A.; VAZQUEZ-DUHALT, R. Industrial dye decolorization by laccases from ligninolytic fungi. **Current Microbiology**, v. 38, n. 1, p. 27-32, 1999. ISSN 0343-8651.

RODRÍGUEZ COUTO, S.; SANROMÁN, M.; GÜBITZ, G. M. Influence of redox mediators and metal ions on synthetic acid dye decolorization by crude laccase from *Trametes hirsuta*. **Chemosphere**, v. 58, n. 4, p. 417-422, 2005. ISSN 00456535.

SAAB, H. B. et al. *Luffa cylindrica* and phytosterols bioconversion: from shake flask to jar bioreactor. **Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology**, 40: 1315-1320 p. 2013.

SABA, B. et al. Reactive black-5 azo dye treatment in suspended and attached growth sequencing batch bioreactor using different co-substrates. **International Biodeterioration and Biodegradation**, v. 85, p. 556-562, 2013. ISSN 0964-8305.

SALAME, T. M. et al. Redundancy among manganese peroxidases in *Pleurotus ostreatus*. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 79, n. 7, p. 2405, 2013.

SANTOS, G. D. O. F. D. **Avaliação do tratamento de efluentes do banho de tingimento de indústria têxtil por fungos basidiomicetos em biorreatores**. 2016. 174 f. Tese (Doutorado em Biotecnologia). Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2016.

SARATALE, G. D. et al. Fixed- bed decolorization of Reactive Blue 172 by *Proteus vulgaris* NCIM- 2027 immobilized on *Luffa cylindrica* sponge. **International Biodeterioration and Biodegradation**, v. 65, n. 3, p. 494-503, 2011. ISSN 0964-8305.

SARAYU, K.; SANDHYA, S. Current technologies for biological treatment of textile wastewater – a review. **Applied Biochemistry and Biotechnology**, New York, v. 167, n. 3, p. 645-661, 2012. ISSN 0273-2289.

SCHWYN, B.; NEILANDS, J. B. Universal chemical assay for the detection and determination of siderophores. **Analytical Biochemistry**, v. 160, n. 1, p. 47-56, 1987. ISSN 0003-2697.

SENTHILKUMAR, S. et al. Electrochemical oxidation and aerobic biodegradation with isolated bacterial strains for dye wastewater: Combined and integrated approach. **Electrochimica Acta**, v. 77, p. 171-178, 2012. ISSN 0013-4686.

SHAHID, A. et al. Biodegradation of textile dyes by fungi isolated from North Indian field soil. **Environment Asia**, v. 6, n. 2, p. 51-57, 2013. ISSN 1906-1714.

SHANKAR, S.; SHIKHA, S. Laccase Production and Enzymatic Modification of Lignin by a Novel *Peniophora* sp. **Applied Biochemistry and Biotechnology**, v. 166, n. 4, p. 1082-1094, 2012. ISSN 0273-2289.

_____. Effect of Metal Ions and Redox Mediators on Decolorization of Synthetic Dyes by Crude Laccase from a Novel White rot Fungus *Peniophora* sp. (NFCCI-2131). **Applied Biochemistry and Biotechnology**, Boston, v. 175, n. 1, p. 635-647, 2015. ISSN 0273-2289. Errata em: **Applied Biochemistry and Biotechnology**, Boston, v. 175, n. 1, p. 648, 2015.

SI, J.; CUI, B.; DAI, Y. Decolorization of chemically different dyes by white- rot fungi in submerged cultures. **Annals of Microbiology**, v. 63, n. 3, p. 1099-1108, 2013. ISSN 1590-4261.

SIDDIQUE, M.; FAROOQ, R.; PRICE, G. J. Synergistic effects of combining ultrasound with the Fenton process in the degradation of Reactive Blue 19. **Ultrasonics Sonochemistry**, v. 21, n. 3, p. 1206-1212, 2013. ISSN 1350-4177.

SILVÉRIO, S. et al. Laccase production by free and immobilized mycelia of *Peniophora cinerea* and *Trametes versicolor* : a comparative study. **Bioprocess and Biosystems Engineering**, Berlin/Heidelberg, v. 36, n. 3, p. 365-373, 2013. ISSN 1615-7591.

SINGH, R. L.; SINGH, P. K.; SINGH, R. P. Enzymatic decolorization and degradation of azo dyes – a review. **International Biodeterioration and Biodegradation**, v. 104, p. 21-31, 2015. ISSN 0964-8305.

SREBOTNIK, E.; BOISSON, J.-N. Peroxidation of linoleic acid during the oxidation of phenols by fungal laccase. **Enzyme and Microbial Technology**, v. 36, n. 5, p. 785-789, 2005. ISSN 0141-0229.

STOOKEY, L. L. Ferrozine - A new spectrophotometric reagent for iron. **Analytical Chemistry**, v. 42, n. 7, p. 779-781, 1970. ISSN 00032700.

SUNDARAMOORTHY, M. et al. High-resolution crystal structure of manganese peroxidase: substrate and inhibitor complexes. **Biochemistry**, v. 44, n. 17, p. 6463, 2005. ISSN 0006-2960.

SVOBODOVA, K. et al. Implication of mycelium-associated laccase from *Irpex lacteus* in the decolorization of synthetic dyes. **Bioresource Technology**, v. 99, n. 3, p. 463-471, 2008. ISSN 0960-8524.

TAVARES, A. et al. Optimisation of reactive textile dyes degradation by laccase-mediator system. **Journal of Chemical Technology and Biotechnology**, v. 83, n. 12, p. 1609-1615, 2008. ISSN 0268-2575.

TEN HAVE, R.; TEUNISSEN, P. J. M. Oxidative mechanisms involved in lignin degradation by white-rot fungi. **Chemical Reviews**, v. 101, n. 11, p. 3397-3413, 2001. ISSN 00092665.

THOMAS, S. et al. Oxidative degradation of Acid Red 1 in aqueous medium. **Chemical Engineering Journal**, v. 244, p. 473-482, 2014. ISSN 1385-8947.

TINOCO, R. et al. Increasing *Pleurotus ostreatus* laccase production by culture medium optimization and copper/lignin synergistic induction. **Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology**, v. 38, n. 4, p. 531-540, 2011. ISSN 1367-5435.

VANHULLE, S. et al. Decolorization, cytotoxicity, and genotoxicity reduction during a combined ozonation/fungal treatment of dye-contaminated wastewater. **Environmental Science and Technology**, v. 42, n. 2, p. 584, 2008. ISSN 0013-936X.

WANG, C.-T. et al. COD removal from real dyeing wastewater by electro-Fenton technology using an activated carbon fiber cathode. **Desalination**, v. 253, n. 1, p. 129-134, 2010. ISSN 0011-9164.

WATANABE, T. et al. Formation of acyl radical in lipid peroxidation of linoleic acid by manganese dependent peroxidase from *Ceriporiopsis subvermispota* and *Bjerkandera adusta*. **European Journal of Biochemistry**, v. 267, n. 13, p. 4222-4231, 2000. ISSN 00142956.

WATHARKAR, A. D. et al. Enhanced phytotransformation of Navy Blue RX dye by *Petunia grandiflora* Juss. with augmentation of rhizospheric *Bacillus pumilus* strain PgJ and subsequent toxicity analysis. **Bioresource Technology**, v. 142, p. 246-254, 2013. ISSN 0960-8524.

WENG, C. H. et al. Rapid decoloration of Reactive Black 5 by an advanced Fenton process in conjunction with ultrasound. **Separation and Purification Technology**, v. 117, p. 75, 2013. ISSN 1383-5866.

WONG, D. W. S. Structure and action mechanism of ligninolytic enzymes. **Applied Biochemistry and Biotechnology**, 157: 174-209 p. 2009.

WONG, Y.; YU, J. Laccase-catalyzed decolorization of synthetic dyes. **Water Research**, v. 33, n. 16, p. 3512-3520, 1999. ISSN 0043-1354.

ZAHARIA, C.; SUTEU, D. Textile organic dyes – characteristics, polluting effects and separation/elimination procedures from industrial effluents – a critical overview. In: PUZYN, T. e MOSTRAG-SZLICHTYNG, A. (Ed.). **Organic pollutants ten years after the stockholm convention - environmental and analytical update**: In Tech, 2012. Disponível em: <<http://www.intechopen.com/books/organic-pollutants-ten-years-after-the-stockholm-convention-environmental-and-analytical-update/textile-organic-dyes-characteristics-polluting-effects-and-separation-elimination-procedures-from-in>>. Acesso em: 15 out. 2016.

ZERAIK, A. E. et al. Development of a spot test for peroxidase activity monitoring during a purification procedure. **Química Nova**, v. 31, n. 4, p. 731-734, 2008. ISSN 0100-4042.

ZHAO, X.; HARDIN, I. R. HPLC and spectrophotometric analysis of biodegradation of azo dyes by *Pleurotus ostreatus*. **Dyes and Pigments**, v. 73, n. 3, p. 322-325, 2007. ISSN 0143-7208.

ZHAO, X. et al. Study of biodegradation products from azo dyes in fungal degradation by capillary electrophoresis/electrospray mass spectrometry. **Journal of Chromatography A**, v. 1159, n. 1-2, p. 217-224, 2007. ISSN 00219673.

ZHAO, X. H.; HARDIN, I. R.; HWANG, H. M. Biodegradation of a model azo disperse dye by the white rot fungus *Pleurotus ostreatus*. **International Biodeterioration and Biodegradation**, v. 57, n. 1, p. 1-6, 2006. ISSN 0964-8305.

ZILLE, A. et al. Immobilized laccase for decolourization of Reactive Black 5 dyeing effluent. **Biotechnology Letters**, New York, v. 25, n. 17, p. 1473-1477, 2003. ISSN 0141-5492.

ZILLE, A. et al. Degradation of azo dyes by *Trametes villosa* laccase over long periods of oxidative conditions. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 71, n. 11, p. 6711, 2005. ISSN 0099-2240

ZOLLINGER, H. **Colour chemistry: syntheses, properties and applications of organic dyes and pigments**. 3. ed. Switzerland: Wiley-VHC. 2003. 637p.