



UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA  
CAMPUS FLORIANÓPOLIS  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA AMBIENTAL

JULIANA BARDEN SCHALLEMBERGER

**REMOÇÃO DE CORANTES TÊXTEIS UTILIZANDO O SUBSTRATO  
RESIDUAL DA PRODUÇÃO DE COGUMELO *Pleurotus ostreatus*:  
DEGRADAÇÃO ENZIMÁTICA E ADSORÇÃO**

FLORIANÓPOLIS

2021

Juliana Barden Schalleberger

**REMOÇÃO DE CORANTES TÊXTEIS UTILIZANDO O SUBSTRATO  
RESIDUAL DA PRODUÇÃO DE COGUMELO *Pleurotus ostreatus*:  
ADSORÇÃO E DEGRADAÇÃO ENZIMÁTICA**

Dissertação submetida ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia Ambiental da Universidade Federal de Santa Catarina para a obtenção do título de Mestre em Engenharia Ambiental.

Orientadora: Prof. Dr<sup>a</sup>. Maria Eliza Nagel Hassemer.

Coorientador: Dr. Nelson Libardi Junior

Florianópolis

2021

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor,  
através do Programa de Geração Automática da Biblioteca Universitária da UFSC.

Schalleberger, Juliana Barden  
Remoção de corantes têxteis utilizando o substrato residual da produção de cogumelo *Pleurotus ostreatus* : degradação enzimática e adsorção / Juliana Barden Schalleberger ; orientador, Maria Eliza Nagel Hassemer, coorientador, Nelson Libardi, 2021.  
136 p.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Santa Catarina, Centro Tecnológico, Programa de Pós-Graduação em Engenharia Ambiental, Florianópolis, 2021.

Inclui referências.

1. Engenharia Ambiental. 2. Tratamento de efluente têxtil. 3. Lacase. 4. Resíduo sólido. I. Hassemer, Maria Eliza Nagel . II. Libardi, Nelson. III. Universidade Federal de Santa Catarina. Programa de Pós-Graduação em Engenharia Ambiental. IV. Título.

Juliana Barden Schalleberger

**Remoção de corantes têxteis utilizando o substrato residual da produção de cogumelo**

*Pleurotus ostreatus*: degradação enzimática e adsorção

O presente trabalho em nível de mestrado foi avaliado e aprovado por banca examinadora composta pelos seguintes membros:

Prof<sup>ª</sup> Maria Elisa Magri, Dra.

Mariane Bonatti Chaves

Prof<sup>ª</sup> Mariane Bonatti Chaves, Dra.

Universidade da Região de Joinville

Certificamos que esta é a **versão original e final** do trabalho de conclusão que foi julgado adequado para obtenção do título de mestre em Mestre em Engenharia Ambiental.

---

Coordenação do Programa de Pós-Graduação

---

Prof<sup>ª</sup> Maria Eliza Nagel Hassemer, Dra

Orientadora

Florianópolis, 2021.

## AGRADECIMENTOS

Primeiramente gostaria de agradecer a Deus pelas oportunidades, bênçãos e proteção, por me mostrar que toda adversidade enfrentada é para um bem maior e que a fé e a perseverança nos mostram os melhores caminhos.

Aos meus pais Janete e Irineu, minha querida vó e segunda mãe Arani, e minha irmã Janaína, que apesar da saudade, angústias e incertezas, sempre apoiaram as minhas escolhas e me incetivaram a persistir naquilo que eu acredito. Sou eternamente grata, sem vocês eu nada seria! Amo-os eternamente!

A minha orientadora Prof. Dr. Maria Eliza pela confiança, oportunidade e incentivo prestado. Ao meu coorientador Dr. Nelson pelo conhecimento compartilhado, dedicação, paciência e por toda ajuda que foi essencial para a realização deste trabalho.

As colegas de “salinha” Beatriz, Dayane, Ana e Amanda pelos bons momentos e outros nem tão bons, mas que foram necessários. Obrigado pela ajuda e por tornarem essa fase mais agradável.

Ao eterno Cartel da ETA, formado pelas engenheiras mais lindas desse mundo, Carol, Magali, Marcelle e Tatiane, que mesmo distantes sempre estiveram presentes, sou muito grata por ter conhecidos vocês!

As minhas amigas de toda vida Tainá, Jordana, Glauceca e Taís, por compreenderem a minha ausência e manterem essa amizade tão importante para mim.

A Universidade Federal de Santa Catarina, juntamente com o Departamento de Engenharia Sanitária e Ambiental e o Programa de Pós-graduação em Engenharia Ambiental, pela estrutura e ensino gratuito e de qualidade.

Aos laboratórios da UFSC utilizados para o desenvolvimento deste trabalho: LARA, LIMA, LABTOX, LCME e Central de Análises do EQA.

A empresa Fungis Brasilis por conceder os substratos e por serem sempre solícitos aos meus pedidos.

A CAPES pela bolsa de estudos.

Enfim, minha eterna gratidão a todos que direta ou indiretamente contribuíram para a realização deste trabalho!

Só é útil o conhecimento que nos torna melhores.

(Sócrates)

## RESUMO

Este estudo avaliou a remoção da mistura de corantes em efluente têxtil sintético utilizando o Substrato Residual da Produção de Cogumelos (SRC) sem nenhum tipo de tratamento, visando à realização simultânea dos processos de adsorção e degradação enzimática. O percentual de degradação enzimática foi obtido pela diferença entre a remoção com o SRC aquecido a 90°C para desnaturação das enzimas e o SRC com enzimas. O SRC foi avaliado por MEV, EDS e FTIR. O ponto de carga zero obtido para o SRC foi de 5,5. A lacase presente no SRC foi caracterizada e apresentou atividade máxima em pH 2,0 e 45°C, constante de Michaelis-Menten ( $K_m$ ) de 0,264 mM e velocidade máxima de reação ( $V_{m\acute{a}x}$ ) de 117,95  $\mu\text{mol L}^{-1} \text{min}^{-1}$ . A presença de NaCl a 5 mM inibiu a atividade da enzima e nenhuma inibição foi observada por  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ . Um planejamento fatorial foi realizado e a adsorção máxima do corante (57,22%) foi alcançada em pH 8,0, 25°C e 100 g  $\text{L}^{-1}$  de SRC, enquanto a degradação enzimática máxima (14,18%) foi obtida nas mesmas condições, mas no pH 4,0. Com a avaliação isolada das variáveis foi alcançada uma remoção total máxima de 75,67% em pH 8, 155 g SRC  $\text{L}^{-1}$  e 25°C. As enzimas lacase, lignina peroxidase e manganês peroxidase aderidas no SRC resultaram em maior descoloração do corante quando comparado com a solução enzimática extraída do SRC, o que significa que o SRC é uma matriz de imobilização natural que melhora a degradação enzimática dos corantes. O tratamento com SRC resultou na remoção de 28,75% da cor verdadeira, mas aumentou os demais parâmetros de qualidade (DQO solúvel e particulada, amônia, fósforo total, cor aparente, turbidez e pH). O modelo cinético de Pseudo-segunda ordem melhor representou a cinética de adsorção e a isoterma Sips promoveu o melhor ajuste dos dados experimentais. Nas temperaturas de 25°C e 35°C a adsorção é exotérmica e química, mas na temperatura de 45°C o processo é endotérmico e ocorre a fisissorção. O tratamento do efluente têxtil com SRC não aumentou a toxicidade para o organismo *Daphnia magna*. O SRC pode ser utilizado no tratamento de efluentes têxteis para remoção de corantes por mecanismos simultâneos de adsorção e degradação enzimática, com redução de impactos ambientais e de custos associados a enzimas e adsorventes comerciais.

**Palavras-chave:** Lacase. Tratamento de efluente têxtil. Resíduo sólido. Isotermas. Modelos cinéticos.

## ABSTRACT

This study evaluated the removal of the mixture of dyes in synthetic textile effluent using the Spent Mushroom Substrate (SMS) without any type of treatment, aiming at the simultaneous realization of adsorption and enzymatic degradation processes. The percentage of enzymatic degradation was obtained by the difference between the removal with the SMS heated to 90°C for enzyme denaturation and the SMS without treatment. SMS was evaluated by SEM, EDS and FTIR. The zero load point obtained for the SMS was 5.5. The laccase present in the SMS was characterized and showed maximum activity at pH 2.0 and 45°C, Michaelis-Menten constant ( $K_m$ ) of 0.264 mM and maximum reaction rate ( $V_{max}$ ) of 117.95  $\mu\text{mol L}^{-1} \text{min}^{-1}$ . The presence of 5 mM NaCl inhibited the enzyme activity and no inhibition was observed by  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ . A factorial design was carried out and the maximum dye adsorption (57.22%) was reached at pH 8.0, 25°C and 100 g  $\text{L}^{-1}$  of SMS, while the maximum enzymatic degradation (14.18%) was obtained under the same conditions but at pH 4.0. With the isolated evaluation of the variables, a maximum total removal of 75.67% was achieved at pH 8, 155 g SMS  $\text{L}^{-1}$  and 25°C. The laccase, lignin peroxidase and manganese peroxidase enzymes adhered to the SMS resulted in greater dye discoloration when compared to the enzyme solution extracted from the SMS, which means that the SMS is a natural immobilization matrix that improves the enzymatic degradation of the dyes. Treatment with SMS resulted in the removal of 28.75% of the true color, but increased the other quality parameters (soluble and particulate COD, ammonia, total phosphorus, apparent color, turbidity and pH). The Pseudo-second order kinetic model best represented the adsorption kinetics and the Sips isotherm provided the best fit of the experimental data. At temperatures of 25°C and 35°C the adsorption is exothermic and chemical, but at 45°C the process is endothermic and physisorption occurs. The treatment of textile effluent with SMS did not increase the toxicity to the organism *Daphnia magna*. SMS can be used in the treatment of textile effluents for dye removal by simultaneous mechanisms of adsorption and enzymatic degradation, reducing environmental impacts and costs associated with enzymes and commercial adsorbents.

**Keywords:** Lacase. Textile effluent treatment. Solid waste. Isotherms. Kinetic models.



## LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Fluxograma da cadeia de produção têxtil. ....	20
Figura 2 – Formas das isotermas de adsorção. ....	34
Figura 3 – Ciclo catalítico da lacase. ....	39
Figura 4 - Ciclo catalítico da LiP. ....	41
Figura 5 - Ciclo catalítico da MnP. ....	42
Figura 6 – Substrato com cogumelos cultivados e seus componentes após a colheita. ....	48
Figura 7 - Fluxograma metodológico da pesquisa. ....	53
Figura 8 – Estrutura química do corante <i>Levafix Brilliant Red E4BA</i> . ....	55
Figura 9 – Estrutura química do corante <i>Remazol Black B 133%</i> . ....	56
Figura 10 - Varredura espectral do efluente têxtil sintético. ....	67
Figura 11 - Curva de calibração para a determinação da concentração de corantes. ....	67
Figura 12 – Determinação do ponto de carga zero do SRC. ....	71
Figura 13 – Análise de FTIR do SRC com e sem enzimas, antes e após o tratamento do efluente têxtil. ....	72
Figura 14 - Fotografias de MEV do SRC sem enzimas, aumento de 200x (A) e 1000x (B). SRC com enzimas, aumento de 200x (C), 1000x (D). ....	74
Figura 15 - Efeito do pH na atividade da lacase. ....	75
Figura 16 - Efeito da temperatura na atividade da lacase. ....	76
Figura 17 - Modelo de Michaelis-Menten com diferentes concentrações de NaCl. ....	80
Figura 18 - Modelo de Michaelis-Menten com diferentes concentrações de Na <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> . ....	80
Figura 19 – Diagrama de Lineweaver-Burk. ....	81
Figura 20 - Comparação visual da remoção de cor resultante do planejamento fatorial (A: Adsorção, A+D: Adsorção e Degradação Enzimática, e B: Efluente Bruto). ....	82
Figura 21 - Diagrama de pareto para os valores absolutos dos efeitos para a remoção dos corantes pela Adsorção e Degradação enzimática (A), Adsorção (B), Degradação enzimática (C) e Atividade da Lacase (D) com $p = 0,1$ . T: Temperatura, SRC: Substrato Residual da Produção de Cogumelos. ....	84
Figura 22 - Superfícies de resposta com a interação das variáveis pH e temperatura para as respostas remoção de cor pela Adsorção e Degradação enzimática (A), Adsorção (B), Degradação Enzimática (C) e Atividade da Lacase (D). ....	86

Figura 23 - Superfícies de resposta com a interação das variáveis concentração de SRC e pH para as respostas remoção de cor pela Adsorção e Degradação enzimática (A), Adsorção (B), Degradação Enzimática (C) e Atividade da Lacase (D).....	86
Figura 24 - Superfície de resposta com a interação das variáveis concentração de SRC e Temperatura para as respostas remoção de cor pela Adsorção e Degradação enzimática (A), Adsorção (B), Degradação Enzimática (C) e Atividade da Lacase (D).....	87
Figura 25 - Efeito do pH na adsorção e degradação enzimática dos corantes têxteis utilizando o SRC.....	88
Figura 26 - Comparação visual da remoção dos corantes têxteis em diferentes valores de pH (A: Adsorção, A+D: Adsorção e Degradação Enzimática, e B: Efluente Bruto).....	88
Figura 27 - Efeito da temperatura na adsorção e degradação enzimática dos corantes utilizando o SRC.....	90
Figura 28 - Comparação visual da remoção dos corantes têxteis em diferentes temperaturas (A: Adsorção, A+D: Adsorção e Degradação Enzimática, e B: Efluente Bruto).....	91
Figura 29 - Efeito da concentração de SRC na adsorção e degradação enzimática dos corantes têxteis.....	93
Figura 30 - Comparação visual da remoção dos corantes têxteis em diferentes concentrações de SRC (A: Adsorção, A+D: Adsorção e Degradação Enzimática, e B: Efluente Bruto). ....	93
Figura 31 - Ensaio cinético de descoloração em pH 4. ....	94
Figura 32 - Comparação visual da remoção dos corantes têxteis em diferentes tempos de contato em pH 4 (A: Adsorção, A+D: Adsorção e Degradação Enzimática, e 0: Efluente Bruto).....	95
Figura 33 - Ensaio cinético de descoloração em pH 8. ....	95
Figura 34 - Comparação visual da remoção dos corantes têxteis em diferentes tempos de contato em pH 8 (A: Adsorção, A+D: Adsorção e Degradação Enzimática, e 0: Efluente Bruto).....	95
Figura 35 - Comparação da degradação enzimática com o SRC e o extrato enzimático proveniente do SRC.....	97
Figura 36 - Cor das amostras após tratamento com o SRC e o extrato enzimático proveniente do SRC. (A: Adsorção, A+D: Adsorção e Degradação Enzimática, e B: Efluente Bruto). ....	97
Figura 37 - Modelos cinéticos de adsorção. ....	100
Figura 38 - Modelo cinético de difusão intrapartícula. ....	101
Figura 39 - Isotermas de adsorção de corantes têxteis pela SRC em diferentes temperaturas: 25°C (A), 35°C (B) e 45°C (C). ....	104

Figura 40 - Valores do coeficiente de separação $R_L$ para diferentes temperaturas. ....	107
Figura 41 - FTIR do efluente bruto e após tratamento com o SRC.....	108

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Principais operações realizadas no beneficiamento primário.....	22
Tabela 2 - Comparativo do consumo de água no processamento de algodão e poliéster.....	26
Tabela 3 - Porcentagens de corantes não fixados durante o tingimento das fibras. ....	27
Tabela 4 – Características do efluente têxtil.....	29
Tabela 5 – Características químicas e físicas do SRC.....	49
Tabela 6 - Estudos referentes à utilização do SRC na remoção de corantes têxteis.....	52
Tabela 7 – Composição do efluente têxtil sintético.....	55
Tabela 8 - Níveis dos fatores utilizados no planejamento fatorial dos ensaios de descoloração do efluente têxtil com o SRC.....	58
Tabela 9 - Matriz do delineamento experimental para descoloração do efluente têxtil utilizando o SRC.....	58
Tabela 10 - Metodologia e equipamentos utilizados para determinação dos parâmetros de qualidade do efluente.....	66
Tabela 11 - Análise de EDS do SRC com e sem enzimas.....	74
Tabela 12 - Parâmetros cinéticos da lacase usando ABTS como substrato. ....	77
Tabela 13 - Matriz do delineamento fatorial e os resultados da eficiência de remoção de corantes e atividade da lacase. ....	82
Tabela 14 - Parâmetros obtidos pelos modelos cinéticos. ....	99
Tabela 15 - Parâmetros cinéticos obtidos em outros estudos. ....	102
Tabela 16 - Parâmetros obtidos pelas isotermas de adsorção.....	103
Tabela 17 - Valores de $q_{m\acute{a}x}$ obtidos pela isoterma de Langmuir para diferentes adsorventes na remoção de corantes têxteis.....	105
Tabela 18 - Parâmetros termodinâmicos. ....	107
Tabela 19 - Análises de qualidade do efluente bruto e tratado com o SRC. ....	110
Tabela 20 – Resultados toxicológicos com <i>Daphnia magna</i> . ....	111

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

$\Delta G^\circ$  – Energia livre de Gibbs

$\Delta H^\circ$  – Variação da entalpia

$\Delta S^\circ$  – Variação da entropia

$\mu$  – Micro  $10^{-6}$

ABIT – Associação Brasileira da Indústria Têxtil e de Confecção

ABTS – 2,2'-azino-bis (3-etilbenzotiazolina-6-sulfonato)

ANPC – Associação Nacional de Produtores de Cogumelos

C – Concentração de saída do adsorvato

C/N – Carbono/Nitrogênio

$C_0$  – Concentração de entrada do adsorvato

Cm – Centímetros

CNI – Confederação Nacional da Indústria

COT – Carbono Orgânico Total

Cu – Cobre

DBO – Demanda Bioquímica de Oxigênio

DQO – Demanda Química de Oxigênio

dS – Decisiemens

EDS – Espectrometria de Energia Dispersiva de Raios X

FAO – *Food and Agriculture Organization*

Fe – Ferro

g – Gramas

$H_2O_2$  – Peróxido de hidrogênio

$H_2SO_4$  – Ácido sulfúrico

HCl – Ácido clorídrico

kDa – QuiloDalton

kg – Quilo

L – Litros

LARA – Laboratório de Reúso de Águas

LCME – Laboratório Central de Microscopia Eletrônica

LIMA – Laboratório Integrado de Meio Ambiente

LiP – Lignina peroxidase

M – Mol  
MDIC – Ministério do Desenvolvimento, Indústria e Comércio Exterior  
MEV – Microscopia Eletrônica de Varredura  
Mg – Miligramas  
Min – Minutos  
mL – Mililitro  
mM Milimolar  
Mn – Manganês  
MnP – Manganês Peroxidase  
MnSO<sub>4</sub> – Sulfato de manganês  
MO – Matéria orgânica  
Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> – Sulfato de sódio  
NaCl – Cloreto de sódio  
NaOH – Hidróxido de sódio  
O<sub>2</sub> – Oxigênio molecular  
pH – Potencial hidrogeniônico  
ppm – Partes por milhão  
q<sub>e</sub> – Capacidade de adsorção  
R<sub>L</sub> – Fator de separação  
Rpm – Rotações por minuto  
SDT – Sólidos Dissolvidos Totais  
SRC – Substrato Residual da Produção de Cogumelos  
SST – Sólidos Suspensos Totais  
t – Toneladas  
UNIDO - *United Nations Industrial Development Organization*  
U – Unidades Internacionais  
UFSC – Universidade Federal de Santa Catarina  
USD – Dólar americano

## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO .....</b>	<b>15</b>
1.1	OBJETIVOS.....	17
1.1.1	<b>Objetivo Geral .....</b>	<b>17</b>
1.1.2	<b>Objetivos Específicos.....</b>	<b>17</b>
<b>2</b>	<b>REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....</b>	<b>19</b>
2.1	INDÚSTRIA TÊXTIL .....	19
2.1.1	<b>Processo têxtil .....</b>	<b>20</b>
2.1.2	<b>Corantes têxteis.....</b>	<b>23</b>
2.2	EFLUENTES TÊXTEIS .....	26
2.2.1	<b>Uso da água e a geração de efluentes têxteis .....</b>	<b>26</b>
2.2.2	<b>Caracterização dos efluentes têxteis .....</b>	<b>27</b>
2.2.3	<b>Impactos associados aos corantes têxteis.....</b>	<b>29</b>
2.3	MÉTODOS DE DESCOLORAÇÃO DE EFLUENTES TÊXTEIS.....	30
2.3.1	<b>Adsorção.....</b>	<b>32</b>
2.4	FUNGOS BASIDIOMICETOS .....	36
2.4.1	<b>Enzimas ligninolíticas.....</b>	<b>36</b>
2.4.1.1	<i>Lacase.....</i>	38
2.4.1.2	<i>Lignina Peroxidase.....</i>	39
2.4.1.3	<i>Manganês peroxidase.....</i>	41
2.4.2	<b>Enzimas ligninolíticas e a degradação de corantes.....</b>	<b>43</b>
2.5	PRODUÇÃO DE COGUMELOS COMESTÍVEIS .....	45
2.5.1	<b>Cultivo de <i>Pleurotus spp.</i> .....</b>	<b>46</b>
2.5.2	<b>Substrato residual da produção de cogumelos .....</b>	<b>47</b>
2.6	SUBSTRATO RESIDUAL DA PRODUÇÃO DE COGUMELOS E A DESCOLORAÇÃO DE EFLUENTES TÊXTEIS.....	50
<b>3</b>	<b>MATERIAIS E MÉTODOS.....</b>	<b>53</b>

3.1	SUBSTRATO RESIDUAL DA PRODUÇÃO DE COGUMELOS (SRC).....	53
<b>3.1.1</b>	<b>Caracterização do SRC.....</b>	<b>54</b>
3.2	EFLUENTE TÊXTIL.....	54
3.3	CARACTERIZAÇÃO DA LACASE .....	56
<b>3.3.1</b>	<b>Extração enzimática .....</b>	<b>56</b>
<b>3.3.2</b>	<b>Efeito do pH e da temperatura na atividade da lacase .....</b>	<b>56</b>
<b>3.3.3</b>	<b>Parâmetros cinéticos .....</b>	<b>57</b>
3.4	ENSAIOS DE DESCOLORAÇÃO EM PROCESSO DE BATELADA .....	58
<b>3.4.1</b>	<b>Planejamento fatorial.....</b>	<b>58</b>
<b>3.4.2</b>	<b>Efeito das variáveis isoladas e ensaios cinéticos .....</b>	<b>59</b>
<b>3.4.3</b>	<b>Ensaio comparativo da degradação enzimática .....</b>	<b>60</b>
3.5	ESTUDO DA ADSORÇÃO .....	60
<b>3.5.1</b>	<b>Modelos cinéticos.....</b>	<b>61</b>
<b>3.5.2</b>	<b>Isotermas e termodinâmica .....</b>	<b>62</b>
3.6	ANÁLISES DO EFLUENTE TRATADO.....	65
3.7	PROCEDIMENTOS ANALÍTICOS .....	66
<b>3.7.1</b>	<b>Determinação da concentração dos corantes.....</b>	<b>66</b>
<b>3.7.2</b>	<b>Atividade enzimática.....</b>	<b>68</b>
<b>4</b>	<b>RESULTADOS E DISCUSSÃO .....</b>	<b>71</b>
4.1	CARACTERIZAÇÃO DO SUBSTRATO RESIDUAL DA PRODUÇÃO DE COGUMELOS .....	71
4.2	CARACTERIZAÇÃO DA LACASE .....	74
4.3	ENSAIOS DE DESCOLORAÇÃO .....	81
<b>4.3.1</b>	<b>Planejamento fatorial.....</b>	<b>81</b>
<b>4.3.2</b>	<b>Efeito das variáveis isoladas .....</b>	<b>88</b>
<b>4.3.3</b>	<b>Ensaio cinéticos .....</b>	<b>94</b>
<b>4.3.4</b>	<b>Ensaio comparativo da degradação enzimática .....</b>	<b>96</b>
4.4	ESTUDO DA ADSORÇÃO .....	98



<b>4.4.1</b>	<b>Modelos cinéticos.....</b>	<b>98</b>
<b>4.4.2</b>	<b>Isotermas de adsorção.....</b>	<b>103</b>
<b>4.5</b>	<b>ANÁLISES DO EFLUENTE TRATADO.....</b>	<b>107</b>
<b>5</b>	<b>CONCLUSÕES .....</b>	<b>113</b>
<b>5.1</b>	<b>SUGESTÕES E RECOMENDAÇÕES .....</b>	<b>113</b>
	<b>REFERÊNCIAS .....</b>	<b>115</b>
	<b>APÊNDICE A – Estimativas de efeitos do modelo experimental para a remoção total (Adsorção + Degradação enzimática). .....</b>	<b>133</b>
	<b>APÊNDICE B – Resultados da análise ANOVA do modelo experimental para a remoção total (Adsorção + Degradação enzimática).....</b>	<b>133</b>
	<b>APÊNDICE C – Estimativas de efeitos do modelo experimental para a adsorção. ....</b>	<b>134</b>
	<b>APÊNDICE D – Resultados da análise ANOVA do modelo experimental para a adsorção.....</b>	<b>134</b>
	<b>APÊNDICE E – Estimativas de efeitos do modelo experimental para a degradação enzimática.....</b>	<b>135</b>
	<b>APÊNDICE F – Resultados da análise ANOVA do modelo experimental para a degradação enzimática.....</b>	<b>135</b>
	<b>APÊNDICE G – Estimativas de efeitos do modelo experimental para a atividade da lacase.....</b>	<b>136</b>
	<b>APÊNDICE H – Resultados da análise ANOVA do modelo experimental para a atividade da lacase.....</b>	<b>136</b>

## 1 INTRODUÇÃO

A indústria têxtil apresenta uma cadeia produtiva longa que envolve os processos necessários para promover a transformação das matérias-primas (fibras) em produtos beneficiados de estruturas definidas (fios e tecidos) (RIBEIRO, 1984). Esse segmento fornece o produto base para outros setores relacionados e está presente em todo o mundo, representando uma atividade econômica que contribui expressivamente para o desenvolvimento de diversos países (CAMPOS; PAULA, 2006). A indústria têxtil brasileira se destaca no mercado mundial e está entre as maiores produtoras de têxteis do mundo (UNIDO, 2018).

Apesar de representar uma importante atividade econômica, a produção têxtil tem sido responsável por causar impactos negativos ao meio ambiente, pois emprega grandes volumes de água em seu processo e utiliza uma diversidade de produtos químicos tóxicos que são descartados na forma de efluentes com alto potencial poluidor (KUMAR; GUNASUNDARI, 2017). Uma das principais características dos efluentes têxteis é sua forte cor produzida pelos corantes que não são fixados adequadamente às fibras no processo de tingimento e são desprendidos durante a lavagem do tecido (ELANGO; RATHIKA; ELANGO, 2017). Em média de 20 a 50% dos corantes aplicados no tingimento são eliminados nos efluentes (KHATRI et al., 2015).

Quando os sistemas de tratamento de efluentes têxteis são inexistentes ou ineficientes, os corantes são lançados em corpos receptores, ocasionando diversos impactos. Esses compostos são altamente perceptíveis e afetam negativamente a estética do ambiente, e reduzem a penetração da radiação solar no corpo receptor, alterando os ciclos biológicos e causando danos à comunidade aquática. Além disso, os corantes apresentam características carcinogênicas e/ou mutagênicas podendo provocar distúrbios nos organismos e conferir riscos à saúde humana (GUARATINI; ZANONI, 2000; PEREIRA; ALVES, 2012).

Devido à estrutura molecular e origem sintética dos corantes, estes compostos são estáveis e de difícil degradação, tornando a descoloração dos efluentes um processo complexo (BANAT et al., 1996). Em geral, os processos convencionais de tratamento de efluentes não apresentam a capacidade de degradar ou remover os corantes, exigindo um uso excessivo de produtos químicos para atingir os níveis de descoloração exigidos pela legislação ambiental, gerando grandes quantidades de lodo contaminado e um alto custo para as indústrias (KUNZ et al., 2002).

Dessa forma, novos métodos complementares para a descoloração dos efluentes devem ser desenvolvidos, considerando a sustentabilidade, eficiência, viabilidade, facilidade de operação e baixo custo. A degradação enzimática e a adsorção têm merecido destaque entre os demais métodos, no entanto, alto custo dos adsorventes e enzimas pode inviabilizar a aplicação. O uso de resíduos como adsorventes e de enzimas prontamente disponíveis constitui-se como uma alternativa atraente e, nesse sentido destaca-se o substrato residual da produção de cogumelo do gênero *Pleurotus* (KATHERESAN; KANSEDO; LAU, 2018).

Os fungos do gênero *Pleurotus* pertencem a classe dos basidiomicetos de podridão branca, que são reconhecidos pela sua capacidade efetiva de produzir enzimas ligninolíticas, principalmente, a lacase, manganês peroxidase (MnP) e lignina peroxidase (LiP), as quais atuam na degradação de estruturas semelhantes à lignina, como os corantes têxteis (ELLOUZE; SAYADI, 2016; REID, 1995). O gênero *Pleurotus* inclui várias espécies comestíveis que são cultivadas comercialmente, sendo considerado o segundo cogumelo mais cultivado no mundo e no Brasil (ANPC, 2019; ROYSE; BAARS; TAN, 2017). Ao final do ciclo produtivo, tem-se como resíduo o substrato residual da produção de cogumelos (SRC), o qual consiste em uma mistura de micélio e substrato lignocelulósico não utilizado, além das enzimas extracelulares liberadas pelos fungos durante o seu crescimento (SINGH et al., 2011).

A necessidade de descarte do SRC configura-se como um inconveniente para os produtores e a falta de um destino adequado e rentável para esse resíduo contribui para que o SRC seja depositado no meio ambiente sem qualquer controle, podendo causar efeitos negativos aos ecossistemas (GUO; CHOROVER, 2006). Considerando que a quantidade gerada de SRC corresponde a uma proporção de aproximadamente 5 kg para cada 1 kg de cogumelo cultivado (FINNEY et al., 2009) e que a produção de cogumelos tem crescido no Brasil, aplicações do SRC com reduzido impacto ambiental devem ser estudadas e desenvolvidas (HANAFI et al., 2018).

A produção e purificação industrial de enzimas é um processo demorado e de alto custo, inviabilizando sua aplicação em estações de tratamento de efluentes, onde são necessários grandes volumes de enzimas a um preço acessível (CHOWDHARY et al., 2019). Em contrapartida, a utilização do SRC como fonte de enzimas ligninolíticas elimina o tempo necessário para o desenvolvimento do fungo e a produção e purificação das enzimas, além de promover a valorização desse resíduo para a solução de um problema ambiental. O SRC também é um material que possui potencial para ser utilizado como adsorvente de substâncias

poluentes devido a abundância dos grupos hidroxil, carbonil e carboxil presentes na sua superfície (WU et al., 2019). O desenvolvimento do fungo no substrato resulta em um aumento da área superficial e dos locais ativos do SRC, portanto, apresenta uma maior capacidade de adsorção em comparação com o substrato antes do cultivo (LIU et al., 2017).

Diante disso, a adsorção e degradação enzimática de corantes têxteis utilizando o SRC foi avaliada nesse trabalho, diante da possibilidade de desenvolvimento de uma alternativa sustentável e econômica para o tratamento de efluentes têxteis e aproveitamento do resíduo. Este estudo está inserido em uma sequência de pesquisas voltadas ao tratamento de efluentes empregando processos de adsorção desenvolvidos no Laboratório de Reuso de Águas (LARA) nos últimos anos (AMARAL, 2016; GIMENEZ, 2018; GÓMEZ, 2014; 2018; RITTER, 2020; TARPANI, 2012; TOMASSONI, 2019).

## 1.1 OBJETIVOS

### 1.1.1 Objetivo Geral

Avaliar a degradação enzimática e a adsorção de corantes presentes em efluentes têxteis ao utilizar o SRC.

### 1.1.2 Objetivos Específicos

- Otimizar as condições operacionais dos processos de adsorção e degradação enzimática, isolados e em conjunto, em efluentes têxteis com o uso SRC;
- Avaliar a capacidade da enzima lacase do SRC em manter sua atividade em diferentes condições ambientais e em tolerar aos sais que estão presentes nos efluentes têxteis;
- Determinar os mecanismos que promovem a adsorção dos corantes têxteis ao SRC;
- Analisar se a degradação enzimática é potencializada ao empregar o SRC em comparação com a utilização do extrato enzimático proveniente do SRC;
- Avaliar o efeito do tratamento do efluente têxtil sintético com o SRC nos parâmetros de qualidade e na toxicidade do efluente tratado.



## 2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

### 2.1 INDÚSTRIA TÊXTIL

A indústria têxtil é um segmento industrial que envolve todas as atividades e processos necessários para promover a transformação das matérias-primas (fibras) em produtos beneficiados de estruturas definidas (fios e tecidos), para que possam ser enviados à confecção, tendo como destino o setor vestuário, mobiliário, doméstico ou industrial (RIBEIRO, 1984). O segmento têxtil está presente em todo o mundo e é caracterizado pela sua complexidade e cadeia produtiva longa. Esse setor foi um dos principais responsáveis por impulsionar a Revolução Industrial do século XVII ao adotar a tecnologia das máquinas a vapor em substituição aos teares manuais (CNI, 2017).

Devido ao avanço tecnológico, a criação de novos produtos e o maior consumo, a indústria têxtil tem contribuído expressivamente para o desenvolvimento econômico de diversos países (CAMPOS; PAULA, 2006). No cenário mundial, o continente asiático lidera as estatísticas do setor, como produção, exportação, geração de empregos e investimentos. Com base nos dados de 2018, a China é o maior produtor mundial de têxteis, seguida da Índia, Estados Unidos e Japão. Nesse *ranking* o Brasil ocupa a décima posição (UNIDO, 2018).

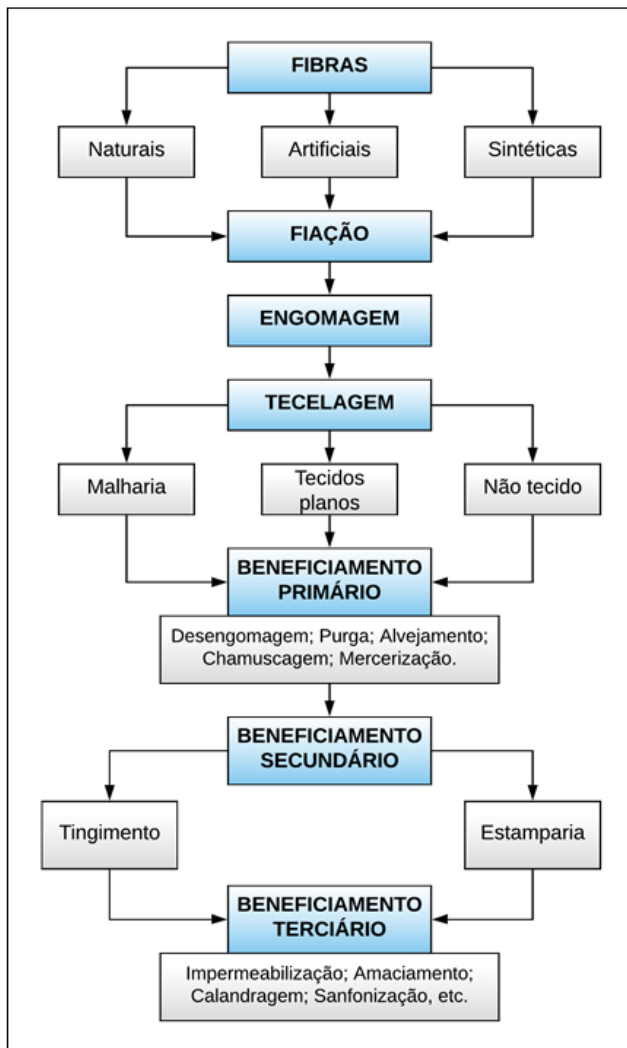
Em 2017, o Brasil obteve uma produção média de 1,3 milhões de toneladas (t) de produtos têxteis. No ano de 2014 foram contabilizadas 2983 empresas formais atuantes em todo o Brasil, propiciando, juntamente com setor de confecção, o título de segundo maior empregador da indústria da transformação (ABIT, 2018a; LAFIS, 2017). Em 2018, as exportações brasileiras de artigos têxteis e confeccionados corresponderam a 181 mil t de produtos, valor inferior à quantidade importada de 1,4 milhões de t (ABIT, 2018b).

Em 2015 a indústria têxtil brasileira apresentou um Valor Bruto da Produção igual a 40 bilhões de reais. A região Sudeste participa com 48,29% desse valor, a Sul com 32,65% e o nordeste com 16,18%, enquanto o centro-oeste e o norte concentram apenas 2,52% e 0,36%, respectivamente. Em relação aos estados, os maiores produtores são São Paulo (37,44%), Santa Catarina (22,62%) e Minas Gerais (8,51%) (MENDES JUNIOR, 2017).

### 2.1.1 Processo têxtil

Os sistemas de produção têxtil são diversificados, pois dependem do produto que se pretende fabricar e das tecnologias empregadas. Entretanto, o processamento têxtil abrange, basicamente, as etapas de fiação, tecelagem e beneficiamento. As etapas de produção são inter-relacionadas, uma vez que, o produto de cada fase torna-se a matéria prima para o desenvolvimento do processo subsequente (MASSUDA, 2002; RECH, 2008). Dentre as suas ramificações, a cadeia de produção têxtil é composta, resumidamente, pela sequência de operações apresentadas na Figura 1.

Figura 1 - Fluxograma da cadeia de produção têxtil.



Fonte: Adaptado de Costa e Rocha (2009).

O processo de fiação objetiva a formação dos fios a partir de fibras naturais, artificiais ou sintéticas. As fibras naturais são aquelas que possuem origem animal, vegetal ou mineral, como lã e seda, algodão e linho, basalto e amianto, respectivamente. As fibras artificiais são obtidas da regeneração de polímeros naturais, principalmente da celulose presente na madeira ou no línter do algodão, constituindo, por exemplo, o raiom viscose e o raiom acetato. Já as fibras sintéticas têm como matéria-prima os derivados de petróleo que são transformados pelo intermédio de reagentes químicos, produzindo materiais como o poliéster e a poliamida (ÂLCANTARA; DALTIM, 1996; HOUCK; SIEGEL, 2015).

Na fiação, as fibras são submetidas à limpeza e a uma série de procedimentos de estiramento, paralelização e torção, de forma que as fibras se prendam uma as outras por atrito e os fios sejam formados (ARAÚJO; CASTRO, 1987). Em seguida, os fios são encaminhados para a engomagem que consiste no revestimento deles por uma película, a qual é estabelecida pela adição de substâncias adesivas. Essa operação tem o propósito de aumentar a resistência dos fios para que suportem os esforços sofridos nos teares. As substâncias adesivas, denominadas gomas, podem ser naturais como fécula de mandioca ou batata e sintéticas a base de carboximetilcelulose e álcool polivinílico (KARMAKAR, 1999).

Na tecelagem é realizada a fabricação dos tecidos por meio do entrelaçamento dos fios, podendo ser utilizadas diferentes técnicas: malharia, tecelagem de tecidos planos e não-tecidos (RIBEIRO, 1984).

A etapa de beneficiamento integra os diversos procedimentos em que os materiais têxteis são submetidos com o intuito de transformar o tecido cru em artigos brancos, coloridos, estampados e acabados, conferindo características estéticas e técnicas como conforto e durabilidade, para promover o enobrecimento do produto e torná-lo adequado para as fases seguintes de corte e costura (LACASSE; BAUMANN, 2004). Em função da diversidade de matérias-primas e produtos, as etapas de beneficiamento e os produtos auxiliares variam conforme as características de cada material e a finalidade a que se destinam (CHOUDHURY, 2011).

O beneficiamento têxtil é classificado em primário, secundário e terciário. As operações do beneficiamento primário são efetuadas com o propósito de preparar o tecido para o tingimento e outros acabamentos específicos (ÂLCANTARA; DALTIM, 1996). As principais técnicas envolvidas no beneficiamento primário estão apresentadas na Tabela 1.



Tabela 1 - Principais operações realizadas no beneficiamento primário.

<b>Operação</b>	<b>Descrição</b>
<b>Chamuscagem</b>	Combustão das fibras presentes na superfície dos fios e tecidos;
<b>Desengomagem</b>	Remoção da goma por processo enzimático (aplicação de amilase e tensoativos), hidrólise ácida (ácidos minerais) ou oxidação simultânea ao alveamento.
<b>Purga</b>	Cozimento em temperatura próxima a ebulição e adição de produtos químicos (solução alcalina, emulgador, antiespumante, surfactante, entre outros), com o objetivo de eliminar impurezas do tecido e aumentar sua hidrofiliidade;
<b>Mercerização</b>	Tratamento do material com hidróxido de sódio (NaOH) concentrado, sob tensão, para aumentar o brilho, absorção, resistência e estabilidade dimensional do tecido;
<b>Alveamento</b>	Processo de branqueamento do tecido com a utilização de oxidantes como peróxido de hidrogênio (H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> ), hipoclorito de sódio e clorito de sódio, e produtos auxiliares (NaOH, ácidos, surfactantes, silicato de sódio, fosfato de sódio, entre outros).

Fonte: adaptado de Conway (2016) e Karmakar (1999).

O beneficiamento secundário consiste na coloração parcial (estamparia) ou total (tingimento) dos materiais têxteis com a aplicação de pigmentos ou corantes. Os pigmentos são substâncias insolúveis no meio de aplicação (água ou solvente) e para a incorporação ao substrato necessitam de um composto adicional. Já os corantes apresentam solubilidade durante alguma etapa do tingimento e devem possuir afinidade com o substrato (ZOLLINGER, 2003).

A coloração pode ser efetuada tanto nas fibras e fios como nos tecidos ou peças confeccionadas, empregando diferentes substâncias, técnicas e equipamentos. Comumente, as indústrias têxteis utilizam os corantes para o tingimento de tecidos. De uma forma geral, o tingimento abrange três etapas: montagem, fixação e tratamento final (ÂLCANTARA; DALTIM, 1996; SHANG, 2013).

A montagem corresponde ao processo de deslocamento do corante presente na solução para a superfície do substrato têxtil. Essa etapa pode ser realizada por processo contínuo (impregnação) ou descontínuo (esgotamento). No processo contínuo, posteriormente ao banho de tingimento, o corante é impregnado com o auxílio de uma força mecânica que prensa o material têxtil. No processo descontínuo, a coloração é realizada em batelada e o material permanece em contato com o banho de tingimento durante um período para que ocorra o esgotamento do corante e o equilíbrio seja atingido (SALEM, 2010).

Na etapa de fixação o corante se adere ao substrato têxtil, envolvendo quatro tipos de interações: ligações iônicas, covalentes, de hidrogênio e de Van de Waals. A fixação pode ser otimizada mediante o controle de fatores químicos e/ou físicos, tais como pH, temperatura, tempo de contato e com a utilização de produtos químicos auxiliares. No tratamento final, o material tingido é submetido ao processo de lavagem com o intuito de eliminar os corantes não fixados e as substâncias químicas. Essa lavagem é realizada, geralmente, com água quente e detergente, seguida de enxague (CLARK, 2011; GUARATINI; ZANONI, 2000).

O beneficiamento terciário é um conjunto de operações que modificam as propriedades físicas e químicas do substrato para melhorar o acabamento e a qualidade do produto, conferindo características como brilho, maciez, lisura, resistência ao desgaste, antichamas, impermeabilização e outras (ARAÚJO; CASTRO, 1987).

### 2.1.2 Corantes têxteis

Os corantes têxteis são compostos orgânicos que absorvem seletivamente a luz na região do visível e possuem a capacidade de colorir permanentemente os materiais têxteis (fibras, fios e tecidos). As moléculas dos corantes apresentam dois componentes principais que determinam as suas características intrínsecas: os grupos cromóforos e auxocromos. Os cromóforos são grupos funcionais insaturados, responsáveis pela cor, como antraquinona, nitro e azo. Os auxocromos consistem nos grupos doadores ou receptores de elétrons, como etila, amino, sulfônico, hidroxila, cloro e bromo, os quais intensificam a atuação dos cromóforos, promovendo a fixação do corante à fibra e o aumento da intensidade da cor (ZOLLINGER, 2003)

Atualmente, diversos tipos de corantes estão disponíveis no mercado para utilização na indústria têxtil. Esses corantes podem ser classificados conforme a sua estrutura química, o método de aplicação e o tipo de fibra a que se destinam (CHRISTIE, 2015; SALEM, 2010).

Segundo Hunger (2003) a forma mais apropriada de classificar os corantes é com base na sua estrutura química. Esse segmento abrange inúmeras classes, dentre as quais se destacam os corantes azo, antraquinona, metalizado, indigoide, ftalocianinas, metina, polimetinas, diarilmetano, triarilmetanos, nitro, nitrosos e sulfurosos (ZANONI; YAMANAKA, 2016)

Entretanto, o Índice Internacional de Corantes (*Colour Index*) utiliza o método de aplicação à fibra como critério para classificação dos corantes. A seguir estão apresentadas as

categorias mais relevantes que estão incluídas nessa classificação e as suas principais características (ÂLCANTARA, M. R.; DALVIN, 1996; CHRISTIE, 2015; GUARATINI; ZANONI, 2000)

- a) Corantes reativos:** apresentam um grupo reativo (eletrofílico) que estabelece ligações covalentes com os grupos funcionais presentes em fibras celulósicas. Os principais corantes reativos possuem grupos cromóforos da função azo e antraquinona, e grupos reativos constituídos de clorotriazinila e sulfatoetilsulfonila. Para que a reação ocorra são necessárias condições alcalinas e elevadas temperaturas nos banhos de tingimento. Esses corantes são caracterizados pela alta solubilidade em água e por propiciarem uma maior estabilidade da cor no material tingido.
- b) Corantes diretos:** são solúveis e possuem significativa afinidade com as fibras de celulose, promovendo a interação por intermédio de ligações de Van der Waals. A fixação se processa em banhos neutros ou ligeiramente alcalinos e a afinidade com a fibra pode ser aumentada com a adição de eletrólitos. Essa classe é composta, principalmente, por corantes com mais de um grupo azo (díazo, triazo e outros) ou pré-transformados em complexos metálicos.
- c) Corantes azóicos:** apresentam um ou mais agrupamentos azo ( $N=N$ ) ligados com sistemas aromáticos. No processo de tingimento, esses corantes são sintetizados sobre as fibras mediante a aplicação de naftol (composto insolúvel em água sendo transformado em naftolato de sódio por meio da solubilização com o NaOH) e de uma base insolúvel em água (substância que torna-se solúvel com a adição de nitrito de sódio e ácido clorídrico, constituindo uma base diazotada). A combinação do substrato têxtil naftolado com a base diazotada possibilita a coloração do material.
- d) Corantes ácidos:** são compostos aniônicos que interagem com os sítios catiônicos da fibra, instituindo ligações iônicas, ligações de Van der Waals ou pontes de hidrogênio. A maioria dos corantes ácidos são sais de ácido sulfônico, os quais são previamente neutralizados com soluções contendo cloreto, acetato, hidrogenossulfato e outras substâncias. Em geral, os corantes incluídos nessa classe apresentam solubilidade em água e são essenciais para a coloração de fibras protéicas e de poliamida sintética. As estruturas químicas dos corantes ácidos são constituídas por grupos azo, antraquinona, nitro e nitroso.

- e) Corantes à cuba:** são insolúveis em água, mas são reduzidos para a forma solúvel com a aplicação de hidrossulfito de sódio em meio alcalino. Após a montagem, o corante entra em contato com o ar,  $H_2O_2$  ou outros agentes oxidantes que promovem a precipitação e fixação do corante. Essa classe é utilizada, predominantemente, na tintura do algodão e a sua composição química é baseada nos índigos, tioindigóides e antraquinóides.
- f) Corantes de enxofre:** são constituídos por macromoléculas com pontes de polissulfetos, que apresentam alta insolubilidade em água. A aplicação é realizada após a transformação do corante para a forma solúvel com a utilização de hidrossulfito de sódio como redutor. O processo para insolubilizar o corante sobre a fibra ocorre pelo contato com o ar. Esses corantes são empregados, principalmente, em fibras celulósicas e conferem cores intensas e escuras.
- g) Corantes dispersos:** são insolúveis em água e sofrem hidrólise durante o tingimento, precipitando de forma dispersa sobre as fibras. Geralmente, a aplicação é executada em alta temperatura/pressão e com o auxílio de agentes dispersantes que estabilizam a suspensão do corante e favorecem o contato com a fibra hidrofóbica.
- h) Corantes pré-metalizados:** têm pouca ou nenhuma afinidade com a fibra, no entanto possuem um grupo hidroxila ou carboxila na posição ortho em relação à função azo que possibilita a formação de complexos com íons metálicos. No processo de tingimento, os metais se combinam com os grupos funcionais detentores de pares de elétrons livres que estão presentes nas fibras. O cromo é o metal mais comumente utilizado para a formação dos complexos estáveis.
- i) Corantes branqueadores:** promovem a neutralização da tonalidade amarelada das fibras brutas. A estrutura química desses corantes é constituída de benzenos, naftalenos, pirenos e anéis aromáticos aliados a grupos carboxílicos, azometino ou etilênicos.

Os corantes reativos destacam-se como a classe mais produzida e utilizada no mundo, majoritariamente os associados ao grupo azo que representam cerca de 60% dos corantes consumidos. A segunda classe de maior consumo é a dos corantes ácidos, seguida dos dispersos e diretos (CHRISTIE, 2015; ZOLLINGER, 2003).

## 2.2 EFLUENTES TÊXTEIS

### 2.2.1 Uso da água e a geração de efluentes têxteis

A água é recurso fundamental para a produção de materiais têxteis, portanto, a indústria têxtil configura-se como uma das maiores consumidoras de água do setor industrial. Em média de 50 a 100 litros de água são necessários para processar 1 kg de produto (KUMAR; GUNASUNDARI, 2017). No processamento têxtil, a água é utilizada para diferentes finalidades, principalmente, no processo de lavagem, como meio solvente e mecanismo de transferência de corantes e produtos químicos. Além disso, também é empregada para fins de resfriamento, secagem a vapor e limpeza (RAJA et al., 2019; SHAIKH, 2009).

Na etapa de produção mecânica de têxteis (fiação e tecelagem) são requeridos pequenos volumes de água. Entretanto, as operações do processamento químico (lavagem, alvejamento, tingimento, estampagem e acabamento) demandam grandes quantidades de água (SAMANTA et al., 2019). Na Tabela 2 está exposta a faixa de variação da quantidade de água requerida nos processos de produção de algodão e poliéster.

Tabela 2 - Comparativo do consumo de água no processamento de algodão e poliéster.

<b>Fibra</b>	<b>Processo</b>	<b>Consumo de água em L/kg de produto</b>
<b>Algodão</b>	Desengomagem	3-9
	Lavagem	26-43
	Alvejamento	3-124
	Mercerização	232-308
	Tingimento	8-300
<b>Poliéster</b>	Lavagem	25-42
	Tingimento	17-33
	Lavagem final	17-33

Fonte: adaptado de Correia, Stephenson e Judd (1994).

O volume de água consumido varia conforme diversos fatores, como o tipo de fibra e de produto, natureza do corante, agentes de acabamento, equipamentos e processos específicos de cada indústria (RATHER et al., 2019; VALH et al., 2011). Sharma (2015) verificou que o maior consumo de água em uma indústria de tecidos de algodão ocorre na etapa de tingimento (beneficiamento secundário), correspondendo a 47% do volume total. O pré-tratamento (beneficiamento primário) e a finalização (beneficiamento terciário) contribuem com 41% e 12%, respectivamente.

Em função do elevado consumo de água no processamento, o setor têxtil se evidencia como um potencial gerador de efluentes resultantes da sua atividade. Conforme Leão, Carneiro e Soares (2002), aproximadamente 88% da água utilizada são descartados como efluentes e apenas 12% são eliminados por evaporação.

### 2.2.2 Caracterização dos efluentes têxteis

Os efluentes têxteis apresentam uma composição extremamente heterogênea com uma ampla diversidade de produtos químicos e corantes, os quais são provenientes, principalmente, dos processos de tingimento e acabamento (SABUR; KHAN; SAFIULLAH, 2012). Tipicamente, esses efluentes são caracterizados pela presença de diversos compostos orgânicos (amido, óleos, graxas, enzimas, fenóis, detergentes, álcoois, ácido acético, surfactantes, pectina e outros) e inorgânicos (cloretos, sulfetos, carbonato, NaOH, peróxidos e outros) (CORREIA; STEPHENSON; JUDD, 1994; MOHAN et al., 2017).

Uma das principais características dos efluentes têxteis é sua forte cor produzida pelos corantes que não são fixados adequadamente às fibras no processo de tingimento, sendo desprendidos durante a lavagem do tecido (ELANGO; RATHIKA; ELANGO, 2017). Segundo Khatri et al. (2015) em média de 20 a 50% dos corantes aplicados na produção são eliminados na água residual. Esse percentual varia conforme a marca e o tipo do corante, além das condições e materiais empregados nos processos industriais (CHOCKALINGAM; BANERJEE; MURUHAN, 2019). A Tabela 3 exibe as porcentagens dos corantes não fixados às fibras durante o processo de tingimento.

Tabela 3 - Porcentagens de corantes não fixados durante o tingimento das fibras.

<b>Fibra</b>	<b>Tipo de corante</b>	<b>Corante não fixado (%)</b>
<b>Lã e nylon</b>	Ácidos e reativos	7-20
	Pré-metalizados	2-7
<b>Algodão e viscose</b>	Azóicos	5-10
	Reativos	20-50
	Diretos	5-20
	Pigmento	1
	À cuba	5-20
	De enxofre	30-40
<b>Poliéster</b>	Disperso	8-20

Fonte: adaptado de Ghaly et al. (2013).

Nas unidades de produção têxtil, o pH é um parâmetro importante para obtenção de bons resultados, sendo ajustado de acordo com as especificidades do processo, resultando em efluentes com pHs altamente flutuantes. Contudo, o pH dos efluentes têxteis possuem, frequentemente, características alcalinas devido ao uso de substâncias cáusticas e detergentes de natureza alcalina (PATEL; VASHI, 2015).

Os efluentes têxteis são constituídos por altas concentrações de sais em virtude da sua utilização para a fixação do corante à fibra. Os sais mais empregados são cloreto de sódio, sulfato de sódio, cloreto de magnésio e cloreto de potássio (VALH et al., 2011). No tingimento descontínuo do algodão, os sais são empregados em quantidades que atingem entre 20 e 80% do peso dos materiais tingidos e cerca de 2000 a 3000 ppm são liberados para os efluentes (KOLTUNIEWICZ, 2010).

Os metais pesados são encontrados nos efluentes têxteis, pois estão presentes nos cromóforos dos corantes e na composição dos produtos auxiliares (HUSSEIN, 2013). Os corantes são comumente associados ao cobre, zinco, cromo, chumbo, cobalto, níquel e manganês (PANG; ABDULLAH, 2013). O mercúrio e outros metais pesados são utilizados como catalisadores na síntese de corantes e também podem ser liberados para os efluentes. Entretanto, a concentração de metais pesados nos efluentes têxteis está diminuindo nas últimas décadas devido à redução do teor desses compostos nos corantes, em vista da preocupação ambiental (VALH et al., 2011).

Na caracterização dos efluentes têxteis são verificadas altas concentrações de cloretos e isso se deve a utilização de compostos como ácido hipoclorídrico, ácido clorídrico e gás cloro nos processos de alvejamento, lavagem e desinfecção (CHOCKALINGAM; BANERJEE; MURUHAN, 2019). Palani et al. (2015) constataram uma variação de 145 a 1668 mg/L de cloreto nos efluentes coletados em diferentes indústrias.

Os efluentes têxteis contêm concentrações expressivas de óleos e graxas, provenientes de dispersantes e outros produtos com ácidos graxos que são aplicados para auxiliar no processo de tingimento, além dos amaciantes e óleos utilizados no beneficiamento (BELTRAME, 2000). Outro parâmetro relevante dos efluentes têxteis é a dureza, relacionada aos íons de cálcio e magnésio que são adicionados para induzir a precipitação dos corantes (PATEL; VASHI, 2015).

Em função da diversidade de compostos presentes nos efluentes têxteis, estes apresentam uma complexidade química e são caracterizados por valores elevados de DBO (Demanda Bioquímica de Oxigênio), DQO (Demanda Química de Oxigênio), SST (Sólidos

Suspensos Totais), SDT (Sólidos Dissolvidos Totais) e turbidez (ELANGO; RATHIKA; ELANGO, 2017). As concentrações de nitrogênio e fósforo também podem prevalecer na composição dos efluentes têxteis (YASEEN; SCHOLZ, 2019). Devido à necessidade de aplicação de calor intenso em determinadas etapas da produção têxtil, a temperatura final do efluente permanece alta (ALI; HAMEED; AHMED, 2009). As características típicas dos efluentes têxteis estão indicadas na Tabela 4.

Tabela 4 – Características do efluente têxtil.

<b>Parâmetro</b>	<b>Mínimo</b>	<b>Máximo</b>
<b>pH</b>	5,5	10,5
<b>Temperatura (°C)</b>	33	45
<b>DBO (mg L<sup>-1</sup>)</b>	80	6000
<b>DQO (mg L<sup>-1</sup>)</b>	150	12000
<b>SST (mg L<sup>-1</sup>)</b>	15	8000
<b>SDT (mg L<sup>-1</sup>)</b>	2900	3100
<b>Cloreto (mg L<sup>-1</sup>)</b>	200	6000
<b>Nitrogênio Total Kjeldahl (mg L<sup>-1</sup>)</b>	70	80
<b>Cor (mg L<sup>-1</sup>)</b>	50	2500
<b>Alcalinidade Total (mg L<sup>-1</sup>)</b>	500	800
<b>Óleos e graxas (mg L<sup>-1</sup>)</b>	10	50
<b>Sulfeto (mg L<sup>-1</sup>)</b>	5	20
<b>Sulfato (mg L<sup>-1</sup>)</b>	500	700
<b>Sódio (mg L<sup>-1</sup>)</b>	400	2175
<b>Potássio (mg L<sup>-1</sup>)</b>	30	50
<b>Zinco (mg L<sup>-1</sup>)</b>	3	6
<b>Cobre (mg L<sup>-1</sup>)</b>	2	6
<b>Cromo (mg L<sup>-1</sup>)</b>	2	5

Fonte: adaptado de Valh et al. (2011) e Hussein (2013).

### 2.2.3 Impactos associados aos corantes têxteis

O efluente têxtil é a principal fonte de poluição nas indústrias têxteis, pois é o precursor de diversos poluentes tóxicos ao meio ambiente e aos seres vivos. O despejo inadequado desse efluente causa danos tanto na qualidade da água superficial e subterrânea, como no solo. Esse efeito se deve à composição dos efluentes têxteis, principalmente, quanto a DQO, DBO, nitrogênio, metais pesados e corantes (UDDIN, 2018).

A cor do efluente têxtil é um parâmetro que exige maior atenção nas estações de tratamento, uma vez que, quando lançado no curso d'água, os corantes são altamente visíveis mesmo em baixas concentrações (<1 ppm), afetando negativamente a estética do ambiente. Além disso, os corantes presentes na água absorvem e refletem a luz, dificultando a penetração da radiação solar no interior do curso d'água, o que resulta na diminuição da atividade fotossintética e na deficiência de oxigênio dissolvido, alterando os ciclos biológicos



e prejudicando a sobrevivência e o crescimento das espécies aquáticas. Os corantes são altamente resistentes à luz e ao ataque microbiano, podendo permanecer durante anos no ambiente (GUARATINI; ZANONI, 2000; PEREIRA; ALVES, 2012).

Os corantes têxteis podem causar efeitos agudos e/ou crônicos como letalidade, genotoxicidade, mutagenicidade e carcinogenicidade, dependendo da concentração e duração da exposição (GREGORY, 2007). A toxicidade dos corantes também pode ser decorrente dos produtos químicos a partir dos quais os corantes são preparados (CLARKE; STEINLE, 1995).

A presença de corantes têxteis nos recursos hídricos ocasiona diversos distúrbios físicos e bioquímicos nos organismos aquáticos (peixes, algas, bactérias e outros). Em relação aos danos provocados nos seres humanos, alguns corantes estão associados a doenças como câncer de bexiga, sarcomas esplênicos e hepatocarcinomas, hipertensão, dermatite e outras (ISLAM et al., 2011; PUVANESWARI; MUTHUKRISHNAN; GUNASEKARAN, 2006). Ademais, o lançamento de corantes no solo causa a morte dos microrganismos do meio e altera as propriedades físicas, químicas e biológicas do solo, afetando a produtividade e o crescimento das plantas (HOSSAIN; SARKER; KHAN, 2018).

### 2.3 MÉTODOS DE DESCOLORAÇÃO DE EFLUENTES TÊXTEIS

Em virtude dos impactos ocasionados ao meio ambiente e à saúde humana, a remoção dos corantes é uma etapa primordial do tratamento de efluentes têxteis. Devido a sua estrutura molecular e origem sintética, os corantes são estáveis e de difícil degradação, tornando a descoloração dos efluentes um processo complexo (BANAT et al., 1996). Dessa forma, tem-se desenvolvido diversos métodos de remoção de corantes, buscando compatibilizar a economia de recursos e a eficiência do tratamento (BHATIA et al., 2018).

Os processos de remoção de cor de efluentes têxteis podem ser baseados em métodos físicos, químicos ou físico-químicos como coagulação/floculação, adsorção, troca iônica, filtração por membranas, eletrocoagulação e processos oxidativos avançados (BHATIA et al., 2018; JOSHI; BANSAL; PURWAR, 2004). Os métodos físico-químicos apresentam inconvenientes como alto custo, versatilidade limitada, consumo elevado de eletricidade, uso excessivo de produtos químicos e a geração de grandes quantidades de lodo tóxico que necessitam de tratamento adicional.

Dentre os produtos químicos disponíveis comercialmente para a remoção de cor dos efluentes têxteis destacam-se os descolorantes, coagulantes e floculantes, os quais são

empregados em grandes quantidades e geram um alto custo para as indústrias. Rocha (2018) verificou que o custo com os produtos químicos utilizados no tratamento físico-químico de efluente têxtil representa 83% do custo total. O autor relata que uma vazão de 40 m<sup>3</sup>/h de efluente gera os seguintes custos mensais com os produtos químicos: alcalinizante (R\$ 29.870,13), anti-espumante (R\$ 7.500,00), coagulante (R\$ 16.500,00), descolorante (R\$ 8.750,00) e floculante (R\$ 350,00).

Os métodos biológicos de remoção de cor consistem na utilização de enzimas, bactérias, fungos, algas e leveduras específicas que possuem a capacidade de separar ou biodegradar os corantes (ALI, 2010; ROBINSON et al., 2001). Esses métodos oferecem soluções eficientes, econômicas e ecologicamente corretas, pois são utilizados poucos produtos químicos e são gerados menores volumes de lodo, possibilitando a redução de riscos ambientais (KUMAR et al., 2019; MONDAL; CHAUHAN, 2012).

Dentre os métodos biológicos utilizados nas indústrias têxteis destacam-se os lodos ativados, no entanto, estes promovem uma baixa remoção de cor, visto que os corantes são compostos de difícil degradação biológica. Os microrganismos anaeróbios são eficientes na degradação de determinados corantes, mas aminas aromáticas, que são tóxicas e cancerígenas, são liberadas como subprodutos. Além disso, os lodos ativados geram uma quantidade elevada de lodo contaminado (MEYER, 1981).

A utilização de enzimas secretadas pelos microrganismos tem se mostrado um método simples e eficaz para a degradação de corantes, principalmente as enzimas extracelulares oxidativas lacase, manganês peroxidase e lignina peroxidase, produzidas pelos fungos basidiomicetos de podridão branca (MOJSOV; JANEVSKI; GABER, 2016). Segundo Solís et al. (2012), a degradação enzimática é vantajosa, pois proporciona uma maior remoção de corantes em comparação com os demais métodos biológicos de descoloração de efluentes têxteis e não gera subprodutos contaminados.

Contudo, a aplicação de enzimas em estações de tratamento é impossibilitada pelo seu alto custo, o qual é decorrente da dificuldade de produção e purificação das enzimas produzidas por fungos (CHOWDHARY et al., 2019). A indisponibilidade de formulações enzimáticas produzidas nacionalmente, a qual é ainda inexpressiva, em comparação aos produtos fabricados por empresas Europeias e Americanas, torna a aplicação de formulações enzimáticas um fator limitante, principalmente em aplicações na área ambiental.

A utilização de resíduos agroindustriais lignocelulósicos como substrato para o cultivo dos microrganismos é uma alternativa economicamente viável e que minimiza os

problemas de eliminação desses resíduos, porém, também demanda um maior período de tempo para o crescimento do fungo e a secreção das enzimas (NIGAM; PANDEY, 2009). Dessa forma, novas fontes econômicas e naturais de enzimas bem como métodos adequados de extração são constantemente investigadas (VRSANSKA et al., 2015).

### **2.3.1 Adsorção**

A remoção de corantes de efluentes têxteis pelo processo de adsorção tem sido apontada como uma das técnicas mais adequadas devido à capacidade de remover uma ampla diversidade de corantes. Em função da descoberta de novos adsorventes de baixo custo e da sua simplicidade operacional, a adsorção é considerada interessante para o processo de remoção de corantes, no entanto, apresenta como desvantagem a geração de resíduos contaminados (KATHERESAN; KANSEDO; LAU, 2018).

A adsorção é um mecanismo de transferência de massa em que determinadas substâncias presentes em fluidos líquidos ou gasosos se concentram na superfície de sólidos, permitindo a separação dos constituintes desses fluidos. O adsorvato é a espécie que se concentra na superfície do material e o adsorvente, o material sólido no qual o adsorvato se adere. Em função das forças envolvidas, o processo de adsorção pode ser classificado em dois tipos: adsorção física (fisissorção) e adsorção química (quimissorção) (WORCH, 2012).

Na adsorção física as forças atuantes são relativamente fracas e similares às forças de coesão molecular, podendo ser atribuída às forças de Van der Waals. Esse tipo de adsorção é rápida e reversível, na qual pode ocorrer a deposição de mais de uma camada de adsorvato sobre a superfície do adsorvente, considerando que à medida que aumenta o número de camadas, a força de adsorção diminui. Os valores de entalpia na fisissorção são baixos e insuficientes para promover uma quebra de ligações químicas do adsorvato, mantendo a identidade das espécies. Já a quimissorção ocorre pela interação química entre o adsorvente e o adsorvato, envolvendo a troca ou partilha de elétrons, o que resulta em uma ligação mais forte em comparação com a fisissorção. A adsorção química é geralmente irreversível e acontece em uma única camada, sendo as posteriores decorrentes da fisissorção (RUTHVEN, 1984).

Mais de um desses mecanismos podem ocorrer simultaneamente em um processo de adsorção, dependendo da composição, estrutura e propriedades do adsorvente e do contaminante, e das condições da solução como pH, força iônica e temperatura. Diversas

interações são relatadas para cada mecanismo, como segue, fisissorção: adsorção de superfície, força de Van der Waals, ligações de hidrogênio, interações hidrofóbicas (interações  $\pi - \pi$ , interações de Yoshida) e difusão na rede do material; quimissorção: interações eletrostáticas, complexação, quelação, formação de complexos de inclusão, deslocamento de prótons, ligação covalente e oxidação/redução (CRINI et al., 2019).

A eficiência de adsorção depende de diversos fatores relacionados às características do adsorvente, do adsorvato e das condições operacionais. As características do adsorvente que exercem maior influência no processo de adsorção são a área superficial, porosidade, densidade, hidrofobicidade e grupos funcionais presentes na superfície. Quanto aos aspectos do adsorvato, a adsorção depende da polaridade, solubilidade e tamanho da partícula. As condições operacionais, como pH, temperatura e a natureza do solvente, são particularidades que devem ser consideradas nos processos de adsorção (COONEY, 1998).

A cinética de adsorção corresponde à taxa de remoção do adsorvato na fase fluida em relação ao tempo, envolvendo a transferência de massa dos componentes presentes no líquido para o interior da partícula do adsorvente. Diversos modelos cinéticos são utilizados para determinar os mecanismos controladores da adsorção, sendo os mais empregados os modelos de pseudo-primeira ordem e pseudo-segunda ordem, além dos quais se destacam os modelos de Elovich e de Weber e Morris (NASCIMENTO et al., 2014).

O modelo pseudo-primeira ordem considera que a velocidade de remoção do adsorvato é diretamente proporcional ao número de sítios ativos do sólido e que cada sítio pode adsorver uma espécie do adsorvato (LAGERGREN, 1898). Já o modelo de pseudo-segunda ordem admite que cada adsorvato ocupa dois sítios ativos do adsorvente e que a adsorção em fase sólida é de natureza química (HO; MCKAY, 1999).

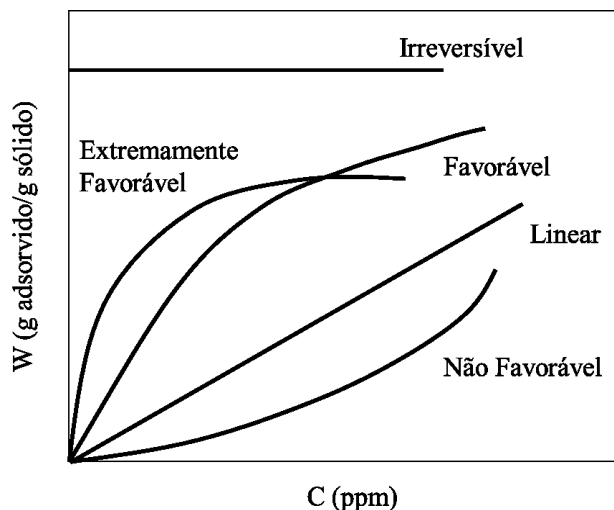
O modelo cinético de Elovich considera que o processo de adsorção ocorre em duas fases. Inicialmente a reação é rápida e o adsorvato se desloca para locais imediatamente externos, seguido de um processo lento de difusão para os microporos do adsorvente (ROGINSKY; ZELDOVICH, 1934). O modelo de Weber e Morris determina que a difusão intrapartícula é o fator determinante da velocidade de adsorção (WEBER; MORRIS, 1963). Na aplicação, diferentes retas são geradas e cada uma corresponde a uma etapa da adsorção (NASCIMENTO et al., 2014).

As isotermas são uma das principais ferramentas para estudar o processo de adsorção. Quando o adsorvato presente em uma fase fluida entra em contato com um adsorvente, as moléculas tendem a fluir do meio líquido para a superfície do adsorvente, até

que a concentração de soluto no meio aquoso permaneça constante, indicando que o sistema atingiu o estado de equilíbrio. A isoterma de adsorção reflete a relação de equilíbrio entre a concentração de adsorvato na fase fluida e sua concentração nas partículas do adsorvente, sob uma determinada temperatura (MCCABE; SMITH; HARRIOT, 1993).

A partir das isotermas de adsorção é possível inferir diversas informações importantes sobre o processo, tais como: afinidade entre o adsorvato/adsorvente e a forma como interagem, os mecanismos de adsorção, propriedades da superfície do adsorvente e uma estimativa da quantidade máxima de adsorvato que o adsorvente poderá adsorver (RUTHVEN, 1984). As formas das isotermas refletem o comportamento dos mecanismos de adsorção e podem ser classificadas em irreversíveis, extremamente favoráveis, favoráveis, lineares e não favoráveis, conforme apresentado na Figura 2 (MCCABE; SMITH; HARRIOT, 1993). Várias equações de isotermas foram propostas para ajustar os dados experimentais, dentre as quais se destacam os modelos de Langmuir, Freundlich, Sips, Temkin e Redlich-Peterson.

Figura 2 – Formas das isotermas de adsorção.



Fonte: Mccabe, Smith e Harriot (1993).

A isoterma de Langmuir, proposta pelo pesquisador Irving Langmuir no ano de 1918, é termodinamicamente consistente e considera os seguintes pressupostos: existe um número definido de sítios que apresentam uma energia equivalente e as moléculas adsorvidas não interagem umas com as outras; a adsorção ocorre em uma monocamada; a superfície de

adsorção é homogênea, ou seja, a adsorção é constante e independe da extensão revestida da superfície; e cada sítio pode comportar apenas uma molécula adsorvida (LANGMUIR, 1918).

A isoterma de Freundlich é uma equação exponencial, a qual considera que a energia de adsorção decresce logaritmicamente à proporção que a superfície é revestida pelo soluto, diferentemente da isoterma de Langmuir. O modelo de Freundlich pressupõe que as superfícies são heterogêneas, a adsorção ocorre em multicamadas e os sítios de adsorção apresentam diferentes energias, podendo ser aplicado em sistemas não ideais (FREUNDLICH, 1906).

A isoterma de Sips corresponde ao agrupamento das isotermas de Langmuir e Freundlich, também conhecida como isoterma de Langmuir-Freundlich. Esse modelo apresenta um comportamento semelhante ao da isoterma de Freundlich quando o adsorvato está presente em baixas concentrações. Já em altas concentrações a isoterma se aproxima do modelo de Langmuir e prevê uma adsorção em monocamada (FOO; HAMEED, 2010).

A equação de Redlich-Peterson engloba os parâmetros das isotermas de Langmuir e Freundlich, sendo semelhante à isoterma de Sips. Esse modelo é aplicável tanto em sistemas homogêneos como heterogêneos e em amplas faixas de concentração (NASCIMENTO et al., 2014).

A isoterma de Temkin considera que o calor de adsorção das moléculas tende a decrescer linearmente com o aumento da cobertura do adsorvente, desconsiderando concentrações extremamente baixas e elevadas (AHARONI; UNGARISH, 1977). Esse modelo abrange interações entre adsorvente/adsorvato e a distribuição uniforme de energias de ligação (FOO; HAMEED, 2010).

Os parâmetros termodinâmicos também são estimativas importantes para compreender os processos de adsorção. Dentre outros aspectos, o estudo termodinâmico proporciona: determinar se o processo é espontâneo, se é regido majoritariamente por contribuições entálpicas ou entrópicas; estimar a capacidade máxima de adsorção do adsorvente; informações referentes à heterogeneidade da superfície do adsorvente; e indica se o processo envolve fisissorção ou quimissorção, com o auxílio de parâmetros cinéticos (NASCIMENTO et al., 2014).

Os parâmetros termodinâmicos amplamente analisados nos estudos de adsorção são a variação da energia livre de Gibbs ( $\Delta G^\circ$ ), variação da entalpia ( $\Delta H^\circ$ ) e variação da entropia ( $\Delta S^\circ$ ). Em um processo de adsorção há uma diminuição da energia livre de Gibbs superficial do sistema, portanto, o  $\Delta G^\circ$  é negativo, sendo um processo espontâneo. Contudo, há uma

diminuição do número de graus de liberdade, uma vez que, as moléculas do adsorvato se deslocam somente sobre a superfície do adsorvente, ou seja,  $\Delta S^\circ$  é menor que zero e o processo é exotérmico ( $\Delta H^\circ$  negativa) (RUTHVEN, 1984).

## 2.4 FUNGOS BASIDIOMICETOS

Os fungos basidiomicetos são caracterizados por produzirem esporos de origem sexuada em estruturas diferenciadas denominadas de basídios, no qual ocorre a cariogamia e a meiose (ALEXOPOULOS; MINS; BLACKWELL, 1996). Os basidiomicetos, juntamente com os ascomicetos, são os principais decompositores de materiais lignocelulósicos, desempenhando uma função essencial na ciclagem do carbono e outros nutrientes (CARLILE; WATKINSON, 1994).

A lignocelulose, principal componente da madeira, é constituída, basicamente, por celulose, hemicelulose e lignina (GLAZER; NIKAIDO, 1995). Os fungos causadores da podridão parda são responsáveis pela degradação da celulose e hemicelulose, mas apenas modificam a lignina, diferentemente dos fungos da podridão branca que são capazes de degradarem a lignina, além da celulose e hemicelulose (HATAKKA; HAMMEL, 2011; HIGHLEY; KIRK, 1979).

A degradação da lignina pelos fungos de podridão branca se deve a sua capacidade efetiva de produzir enzimas ligninolíticas (REID, 1995). Essa degradação ocorre de forma extracelular e a lignina é progressivamente despolimerizada até moléculas menores que são suscetíveis ao metabolismo intracelular dos fungos (ESPOSITO; AZEVEDO, 2004; HIGHLEY; KIRK, 1979). O mesmo complexo enzimático que promove a decomposição da lignina, atua na biodegradação de poluentes recalcitrantes, portanto esses fungos são amplamente estudados e utilizados nos processos de biorremediação (ELLOUZE; SAYADI, 2016).

### 2.4.1 Enzimas ligninolíticas

Em função da natureza complexa da lignina, diversos grupos de enzimas oxidativas são responsáveis pela sua completa degradação. O principal grupo de enzimas extracelulares envolvidas no processo são as fenoxidases: lignina peroxidase, manganês peroxidase e lacase (NILADEVI, 2009). As enzimas ligninolíticas são altamente versáteis na natureza e

são aplicadas em diversas áreas biotecnológicas (MACIEL; SILVA; RIBEIRO, 2010). No tratamento de efluentes industriais, essas enzimas são amplamente empregadas para degradar poluentes recalcitrantes à degradação biológica (NILADEVI, 2009). A aplicação de enzimas ligninolíticas também abrange a recuperação de solos, estabilização de vinhos e sucos, lavagem de denim, indústria de cosméticos, branqueamento da celulose e outros (CHOWDHARY et al., 2019; FALADE et al., 2017; YADAV; YADAV, 2015).

O mercado mundial de enzimas é um segmento que está em constante crescimento devido ao aumento do consumo de enzimas nos processos industriais. Segundo dados publicados pela *Fior Market Research* (2019), o mercado global de enzimas deve crescer de USD \$ 8,18 bilhões em 2018 para USD \$ 13,79 bilhões até 2026. O Brasil apresenta um uso ainda reduzido de enzimas em comparação com outros países, sendo principalmente um importador de enzimas. Em 2012, o Ministério do Desenvolvimento, Indústria e Comércio Exterior (MDIC) publicou um relatório sobre a biotecnologia no Brasil, no qual relata que as importações de enzimas chegaram a USD \$ 119 milhões e as exportações a USD \$ 52 milhões no ano de 2011 (MDIC, 2012).

Para a produção comercial de enzimas são utilizadas as técnicas de fermentação submersa (FSm) e fermentação em estado sólido (FES). Na FSm o meio é constituído por água e nutrientes dissolvidos, já na FES o cultivo dos microrganismos ocorre em materiais sólidos com umidade suficiente apenas para o crescimento e metabolismo microbiano (MURTHY; KARANTH; RAO, 1993; PANDEY, 1992).

A produção industrial das enzimas oxiredutases disponíveis comercialmente é realizada pela FSm, superexpressando genes selecionados em hospedeiros microbianos nativos ou heterólogo (ELLILÄ et al., 2017). O principal fator limitante dessa técnica é o fator econômico devido ao alto custo dos meios de cultivo e do elevado consumo de energia (FEITOSA, 2009; VINIEGRA-GONZÁLEZ et al., 2003). Já a aplicação da FES em escala ampliada nas indústrias é restringida devido à dificuldade de monitoramento e controle de diversos parâmetros sob disponibilidade limitada de água (como umidade, pH, temperatura e concentração de substrato) (HÖLKER; HÖFER; LENZ, 2004).

Em relação à atividade das enzimas esta é influenciada, principalmente, pela temperatura, pH, concentração e tipo do substrato e a presença de ativadores e inibidores. Conforme o princípio das reações químicas, o aumento da temperatura intensifica a agitação das moléculas, possibilitando um maior contato entre elas e, por consequência, acelera a reação. No entanto, uma temperatura elevada pode resultar em uma agitação excessiva que



promove o rompimento da estrutura espacial da enzima que perde sua atividade irreversivelmente. As reações enzimáticas estão diretamente relacionadas ao pH do meio, pois o estado de ionização da enzima é essencial para o processo de catálise. As condições ideais de pH e temperatura para a máxima atividade enzimática varia de acordo com cada enzima (COPELAND, 2000).

Das et al. (2016) caracterizaram uma lacase extracelular produzida pelo fungo *Pleurotus ostreatus* MTCC 142 e verificaram que essa enzima apresentou uma atividade ótima em pH 3,0 e temperatura de 35°C. Liu et al. (2009) verificaram que a lacase produzida pelo fungo *Pleurotus ostreatus* 10969 apresenta máxima atividade em pH 4,0 e temperatura de 50°C.

Para a MnP purificada de *Pleurotus ostreatus*, Yehia (2014) obteve a maior atividade da enzima em pH de 4 a 5 e temperatura de 25°C. Asgher, Ramzan e Bilal (2016) também constataram um pH igual a 5 para MnP do fungo *Trametes versicolor* IBL-04 e uma temperatura de 40°C. Para a atividade da enzima LiP excretada por *Pleurotus sajor-caju* MTCC-141, Yadav, Singh e Yadav (2009) verificaram uma condição ótima de pH 3 e 30°C.

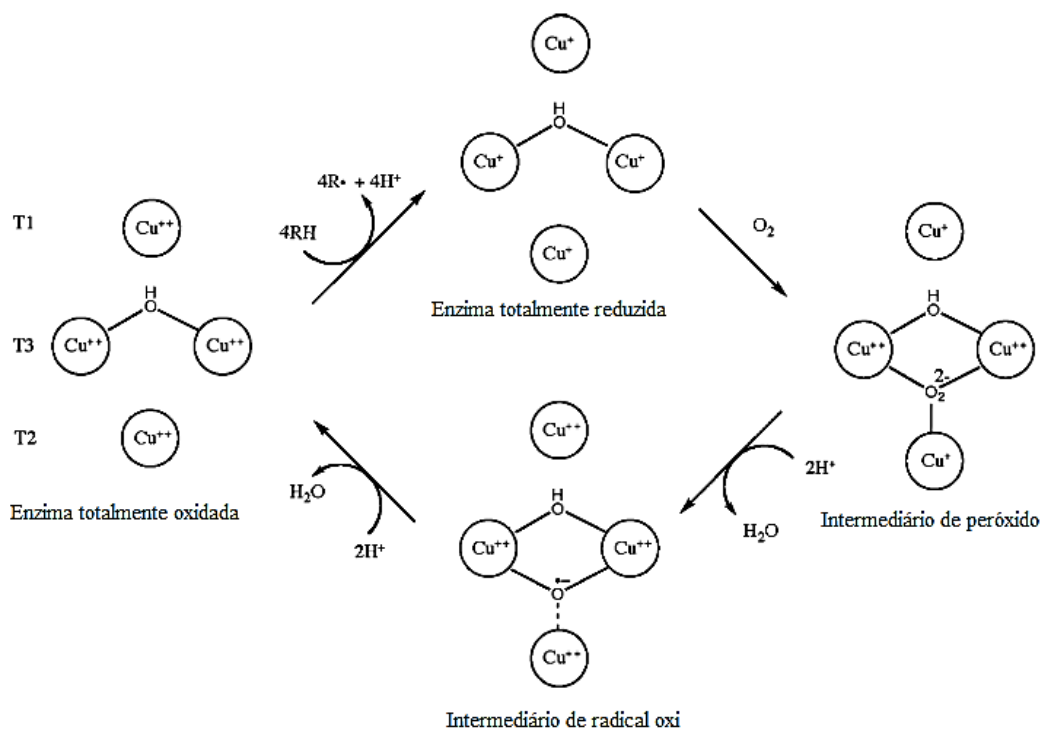
#### 2.4.1.1 Lacase

As lacases são glicoproteínas fenoloxidasas que pertencem ao grupo multicobre e representam uma das enzimas mais antigas já descritas (HIKOROKURO, 1883). A massa molar dessa enzima varia de 60 a 100 kDa (ESPOSITO; AZEVEDO, 2004; NILADEVI, 2009). Em relação ao substrato, a lacase possui baixa especificidade e catalisa diretamente a oxidação de compostos fenólicos com a redução simultânea de oxigênio molecular em água, sem a necessidade de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. Na presença de mediadores adequados, como ABTS (ácido 2,2'-azino-bis-(3-etilbenzo-tiazol-6-sulfônico), 1-hidróxibenzotriazol, ácido 3-hidróxiantranílico e siringaldeído (3,5-Dimetoxi-4-hidroxibenzaldeído), a lacase tem a sua capacidade de oxidação aumentada, podendo degradar estruturas não fenólicas e outros compostos de alto potencial redox (NILADEVI, 2009; WONG, 2009; YAROLOV et al., 1994).

A molécula da lacase apresenta quatro átomos de cobre de três tipos iônicos, os quais possuem diferentes funções catalíticas e características espectroscópicas e paramagnéticas: Tipo 1 (um átomo de Cu), Tipo 2 (um átomo de Cu) e Tipo 3 (dois átomos de Cu). Nas enzimas nativas, todos os átomos de cobre estão no estado oxidativo +2. Conforme apresentado na Figura 3, a primeira etapa do ciclo catalítico consiste na redução do cobre

Tipo 1 ( $\text{Cu}^{2+}$  para  $\text{Cu}^+$ ) pelo substrato. Os elétrons extraídos do substrato redutor são transferidos para o centro trinuclear (T2 e T3), resultando na transferência da forma totalmente oxidada da enzima para o estado totalmente reduzido (DOOLEY et al., 1979; LEE et al., 2002; MESSERSCHMIDT; LUECKE; HUBER, 1992; YAROLOPOV et al., 1994).

Figura 3 – Ciclo catalítico da lacase.



Fonte: Wong (2009).

A oxidação dos substratos está vinculada à redução do oxigênio molecular ( $\text{O}_2$ ) e a geração de duas moléculas de água ( $\text{H}_2\text{O}$ ), por conseguinte, para cada oxigênio reduzido, quatro moléculas de substrato são oxidadas. Em vista disso, a lacase é considerada um catalisador “verde”, pois emprega  $\text{O}_2$  como co-substrato e gera  $\text{H}_2\text{O}$  como subproduto (RIVA, 2006).

#### 2.4.1.2 Lignina Peroxidase

A LiP é uma glicoproteína do tipo oligomanose que contém ferro protoporfirínico IX (heme) como grupo protéstico (ESPOSITO; AZEVEDO, 2004). Essas enzimas possuem uma massa molar de aproximadamente 40 kDa e necessitam de  $\text{H}_2\text{O}_2$  para catalisar a despolimerização oxidativa da lignina (SCHMIDT et al., 1990).

No processo de degradação da lignina, a LiP é uma das enzimas mais importantes, pois apresenta um potencial redox alto em comparação com outras enzimas. Em relação ao substrato, essa enzima é relativamente inespecífica, podendo oxidar tanto substratos habituais das peroxidases (fenóis e aminas aromáticas) como uma variedade de outras estruturas aromáticas não fenólicas e compostos orgânicos com potencial redox de até 1,4 volts (KERSTEN et al., 1990; VALLI; WARIISHI; GOLD, 1990).

No ciclo catalítico da lignina peroxidase, o ferro (Fe) presente no grupo heme passa por diferentes estados de oxirredução. A Figura 4 apresenta um esquema representativo desse ciclo que pode ser dividido em três etapas, conforme segue (HAMMEL; CULLEN, 2008; RENGANATHAN; GOLD, 1986):

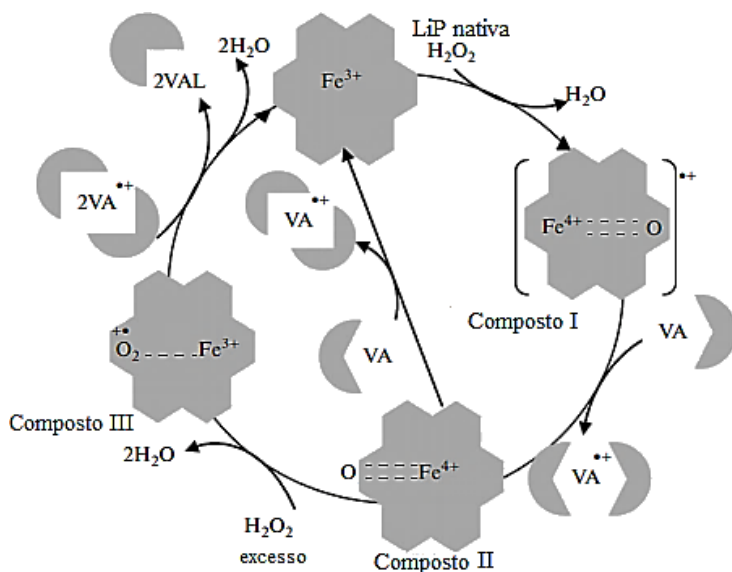
1ª Etapa: o  $\text{H}_2\text{O}_2$  atua como substrato e promove a oxidação do  $\text{Fe}^{+3}$  da enzima nativa a  $\text{Fe}^{+4}$ , produzindo o Composto I constituído de um radical catiônico deficiente de dois elétrons.

2ª Etapa: com ação de um agente redutor, o Composto I é reduzido pela transferência de um elétron, formando o Composto II, em que o ferro permanece na forma de  $\text{Fe}^{+4}$ , mas não como radical livre.

3ª Etapa: um segundo substrato doa um elétron, propiciando a redução e o retorno da enzima ao seu estado nativo, completando o ciclo catalítico.

Na ausência de um substrato redutor, o  $\text{H}_2\text{O}_2$  promove a oxidação do Composto II para o Composto III, o qual apresenta uma forma de LiP com capacidade catalítica reduzida (GOLD; WARIISHI; VALLI, 1989). O agente redutor preferido da lignina peroxidase é o álcool veratrílico, um metabólito do fungo de podridão branca que evita a inativação da enzima pelo excesso de  $\text{H}_2\text{O}_2$ . O álcool veratrílico é oxidado a veratraldeído pela LiP, sendo utilizado nos ensaios destinados a determinar a atividade dessas enzimas (ESPOSITO; AZEVEDO, 2004).

Figura 4 - Ciclo catalítico da LiP.



Fonte: Kulikova et al. (2011).

#### 2.4.1.3 Manganês peroxidase

A enzima MnP, assim como a LiP, é uma glicoproteína que apresenta o ferro heme como grupo protéico e necessita de  $\text{H}_2\text{O}_2$  para a sua atividade. A principal característica que distingue a MnP de outras peroxidases é a exigência da presença de  $\text{Mn}^{+2}$  para que o ciclo catalítico seja completado. Além disso, o potencial redox é menor em comparação ao da lignina peroxidase e, conseqüentemente, os seus mecanismos enzimáticos não possuem a capacidade de oxidar compostos não fenólicos. A MnP é produzida como uma série de isoenzimas de formas múltiplas e a sua massa molar varia em torno de 45 kDa (ESPOSITO; AZEVEDO, 2004; KIRK; CULLEN, 1998)

O ciclo catalítico da enzima MnP é similar ao da LiP, como perceptível na Figura 5. Esse ciclo consiste basicamente nas seguintes etapas (WARIISHI; AKILESWARAN; GOLD, 1988; WONG, 2009).

1ª Etapa: a MnP é oxidada pelo  $\text{H}_2\text{O}_2$  ou peróxidos orgânicos, resultando no Composto I deficiente de dois elétrons.

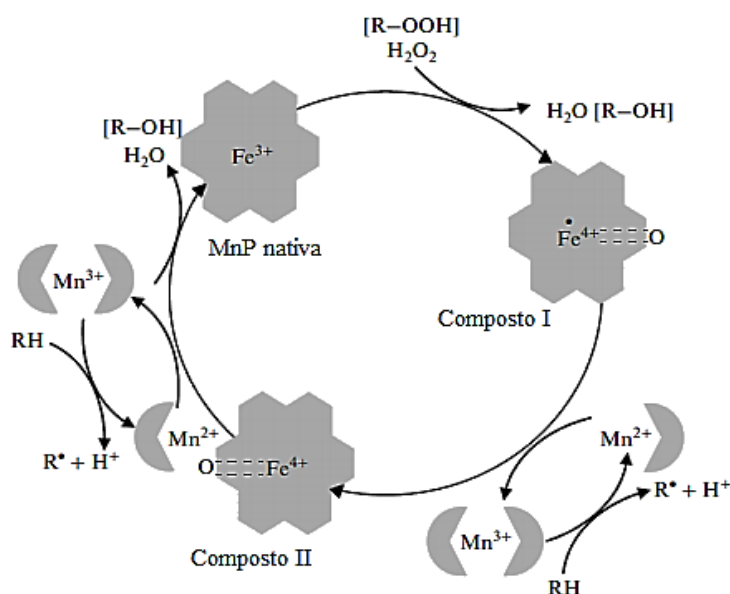
2ª Etapa: o Composto I recebe um elétron doado pelo íon  $\text{Mn}^{2+}$ , formando o Complexo II, e o  $\text{Mn}^{+2}$  é oxidado a  $\text{Mn}^{3+}$ .

3ª Etapa: ocorre a redução do Composto II pela oxidação do  $\text{Mn}^{+2}$  e outro  $\text{Mn}^{+3}$  é formado, retornando para a forma original da enzima.

A reação de conversão do Composto I para o Composto II pode ocorrer tanto na presença de  $Mn^{+2}$  como de outros doadores de elétrons com potencial redox adequado. No entanto, para que o Composto II seja transformado na enzima nativa é requerido, exclusivamente, o íon  $Mn^{+2}$ . A reversibilidade da enzima pode ser inativada quando altas concentrações de  $H_2O_2$  estão presentes no meio, devido à formação de outro intermediário (Composto III) (HOFRICHTER, 2002; WARIISHI; AKILESWARAN; GOLD, 1988).

O íon  $Mn^{+3}$  formado durante o processo catalítico é estabilizado por ácidos orgânicos produzidos pelos próprios fungos (como o oxalato, malonato, tartarato ou lactato), tornando-se um agente de baixa massa molecular que subtrai elétrons de compostos orgânicos inespecíficos (como fenóis, aminas aromáticas, compostos orgânicos sulfurados e ácidos graxos insaturados), promovendo a formação de radicais altamente reativos que atuam na oxidação de diversos poluentes recalcitrantes (NILADEVI, 2009; PERMINOVA; HATFIELD; HERTKORN, 2002; WARIISHI; AKILESWARAN; GOLD, 1988). Com a peroxidação de lipídios insaturados promovida pela MnP na presença de  $Mn^{+2}$ , são gerados intermediários reativos (radicais peroxil) que oxidam compostos não fenólicos (KAPICH; JENSEN; HAMMEL, 1999).

Figura 5 - Ciclo catalítico da MnP.



Fonte: Kulikova et al. (2011).

#### 2.4.2 Enzimas ligninolíticas e a degradação de corantes

Diversos tipos de corantes têxteis são degradados pela LiP, MnP e lacase, no entanto, há uma dificuldade na descoloração enzimática dos efluentes têxteis pois estes não apresentam apenas corantes, mas também sais, valores extremos de pH, agentes quelantes, subprodutos, precursores, surfactantes e outros, os quais podem influenciar negativamente na atividade catalítica das enzimas. Ademais, a mistura de corantes nos efluentes pode resultar em compostos de diferentes estruturas que afetam significativamente a descoloração. Outro aspecto que gera preocupação são os possíveis intermediários gerados em decorrência da degradação dos corantes, que apesar de incolores podem ser potencialmente tóxicos, evidenciando a necessidade da realização de uma análise toxicológica subsequente ao tratamento (WESENBERG; KYRIAKIDES; AGATHOS, 2003).

A eficiência de degradação de corantes pelas enzimas depende de diferentes fatores que envolvem desde as condições de cultivo, do microrganismo e a natureza do extrato (bruto ou purificado) até as condições de degradação (temperatura, pH, tipo e concentração do corante e tempo de reação) (BETTIN et al., 2019; SOSA-MARTÍNEZ et al., 2020).

Iark et al. (2019) avaliaram a degradação enzimática do corante azo Vermelho do Congo por uma lacase produzida pelo fungo de podridão branca *Oudemansiella canarii*. Nesse estudo foi verificado que a lacase (5 U) foi capaz de descolorar 80% do corante (50 mg/L) em 24 horas a 30°C e pH 5,5. Esses autores constataram que a lacase não atua somente no grupo cromóforo do corante, mas também cliva diferentes ligações covalentes, promovendo uma fragmentação efetiva da molécula. Além disso, a lacase reduziu significativamente a toxicidade com base no ensaio de inibição da luz emitida pelo *Aliivibrio fischeri*.

Zhuo et al. (2019) avaliaram a degradação de diferentes corantes por três isoenzimas do fungo *Pleurotus ostreatus* HAUCC 162. Em 24 horas, a isoenzima da lacase apresentou as melhores taxas de descoloração com 91,5%, 84,9 %, 79,1% e 73,1% de remoção para os corantes verde malaquita, azul brilhante de remazol R, azul de bromofenol e a laranja de metila, respectivamente, todos na concentração de 100 mg/L. Esses autores também investigaram as vias de transformação dos corantes, constatando que o remazol azul brilhante R foi inicialmente dividido em dois subprodutos, o que resultou em duas vias de ramificação. Posteriormente às etapas sucessivas de desaminação, hidroxilação e oxidação, o anel foi

completamente aberto. Já a degradação do corante verde malaquita ocorreu em duas etapas de transformação paralelas, a desmetilação e oxidação após hidroxilação.

Alam, Mansor e Jalal (2009) obtiveram uma remoção de 90% do corante azul de metileno na concentração de 15 mg/L com 0,687 U/mL de LiP produzida pelo fungo *Phanerocheate chrysosporium*, após 60 minutos de incubação com 4,0 mM de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, em pH 5 e 55°C. Esses autores também verificaram que a adição do mediador álcool veratrílico não contribuiu para o aumento da degradação do corante pela LiP. Parshetti et al. (2012) constataram que a LiP produzida pela bactéria *Kocuria rosea* MTCC 1532 é uma peroxidase versátil pois descoloriu 11 diferentes corantes, variando de 60% de degradação do preto amido e azul algodão a 100% do laranja de metil, azul reativo 25 e verde HE4B.

Zhang et al. (2016) avaliaram a capacidade de descoloração da MnP purificada produzida pelo fungo de podridão branca *Trametes* sp. 48424. Nesse estudo foi verificado que esta enzima degradou 94,6%, 85,0%, 88,4% e 93,1% dos corantes índigo carmin, azul brilhante de remazol R, violeta brilhante de remazol 5R e verde metílico, respectivamente, após 18 horas de contato e com os corantes na concentração de 100 mg/L. Também foi verificado que a capacidade da MnP em degradar os corantes não foi afetada pela presença de íons metálicos e solventes orgânicos, os quais geralmente estão presentes nos efluentes têxteis.

O mecanismo de degradação do corante depende da estrutura do corante e da enzima envolvida no processo. Segundo Legerská, Chmelová e Ondrejovi (2018) a degradação dos corantes azo pela lacase inicia pela clivagem da ligação azo seguida por ciclagem oxidativa, dessulfonação, desaminação, desmetilação e di-hidroxilação.

Pandi, Marichetti e Numbi (2019) avaliaram a descoloração de corantes azo pela lacase de uma nova cepa do fungo *Peroneutypa scoparia* e relataram que a via de degradação do corante azo Vermelho ácido 97 pode ser descrita em três fases. Inicialmente a lacase oxidou o grupo fenólico do corante com um elétron, produzindo um radical fenoxi que na segunda fase foi transferido para a oxidação do íon carbono. Por fim, o carbono do anel fenólico com a ligação azo sofreu um ataque nucleofílico pela água e produziu os metabólitos naftaleno 1,2-diona e ácido 3- (2-hidroxi-1-naftilazo) benzenossulfônico.

Gomare, Jadhav e Govindwar (2008) estudaram as vias de degradação do corante diazo Blu-2B pela LiP de *Brevibacillus laterosporus* MTCC 2298. Com a remoção de duas moléculas de N<sub>2</sub> foi formado o composto 1, 1'-díciclohex-2, 5-eno-4-ona, o qual sofreu  $\alpha$ -clivagem e foi transformado em 4-(2-ácido hexenóico)-2, 5-ciclohexadienona. Reações redox

e posterior clivagem do anel de benzeno dos derivados de  $\alpha$  naftol resultaram em ácido desidroacético. Os resultados indicaram que além da clivagem da ligação azo, a LiP pode remover os grupos sulfato do corante.

Atualmente, a imobilização de enzimas é uma estratégia que tem se destacando nos estudos científicos, pois melhora as propriedades catalíticas das enzimas e a estabilidade operacional. Ao imobilizar a lacase em uma membrana modificada de polifluoreto de vinilideno, Zhu et al. (2020) obtiveram uma maior atividade e estabilidade da lacase imobilizada em comparação com a livre. A eficiência de descoloração do corante vermelho do congo foi aumentada de 54,9% a 97,1% com a imobilização da lacase, o que foi atribuído à redução da transição conformacional da lacase e a adsorção do corante na membrana. Além disso, a lacase imobilizada apresentou uma satisfatória estabilidade após o armazenamento à baixa temperatura e uma excelente capacidade de reutilização com eficiência de remoção acima de 75% após cinco ciclos.

Em outro estudo a lacase imobilizada em nanopartículas de  $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{C}-\text{Cu}^{2+}$  apresentou maior estabilidade térmica e de pH, e resistência a solventes orgânicos e íons metálicos do que a enzima livre. A lacase imobilizada foi capaz de degradar diferentes corantes sintéticos com eficiência de remoção de 99% e 75%, e após 10 reutilizações sucessivas manteve a remoção em 94% e 60% dos corantes verde malaquita e vermelho Procion MX-5B, respectivamente (LI et al., 2020).

## 2.5 PRODUÇÃO DE COGUMELOS COMESTÍVEIS

Segundo dados da FAO (*Food and Agriculture Organization*), a produção mundial de cogumelos e trufas foi de 10,2 milhões de t no ano de 2017. Dentre os países, a China produziu cerca de 7,9 milhões de t, seguido dos Estados Unidos com 421 mil t e da Polônia com 302 mil t de cogumelos e trufas. Os Países Baixos ocupam a quarta posição com 300 mil t produzidas (FAO, 2017).

A indústria mundial de cogumelos foi avaliada em aproximadamente 63 bilhões de dólares no ano de 2013, sendo que 54% desse total correspondem ao cultivo de cogumelos comestíveis, 38% de cogumelos medicinais e 8% de cogumelos selvagens. Em relação aos gêneros dos cogumelos comestíveis cultivados, o principal é o *Lentinula* que representa 22% da produção mundial, seguido do *Pleurotus* e *Auricularia* com 19% e 18%, enquanto que o *Agaricus* e *Flammulina* correspondem a 15 e 11%, respectivamente. O gênero *Volvariella*



corresponde a 5% e os demais gêneros a 10% do total cultivado (ROYSE; BAARS; TAN, 2017).

No Brasil, a ANPC (Associação Nacional dos Produtores de Cogumelos) relata a inexistência de dados precisos em relação a esse setor e estima que o país produz cerca de 12 mil t de cogumelos comestíveis por ano. As principais espécies cultivadas no Brasil são *Agaricus bisporus* (8000 t/ano), *Pleurotus* spp (2000 t/ano), *Lentinula edodes* (1500 t/ano) e *Agaricus blazei* Murril (500 t/ano). Apesar da produção expressivamente inferior em comparação aos principais produtores mundiais, a cadeia produtiva de cogumelos no Brasil tem se disseminado por todo território nacional, apresentando uma tendência de crescimento. Esse comportamento se deve ao aumento do consumo de cogumelos e do número de restaurantes de culinária asiática no país, bem como pela facilidade de cultivo. Dessa forma, a produção de cogumelos tem representado uma importante atividade para a obtenção de renda para os micros e pequenos produtores da agricultura familiar (ANPC, 2019).

### 2.5.1 Cultivo de *Pleurotus* spp.

O gênero *Pleurotus* pertence ao grupo dos fungos de podridão branca e incluem várias espécies comestíveis que são cultivadas comercialmente, entre elas o *Pleurotus ostreatus*, *Pleurotus pulmonarius*, *Pleurotus sajor-caju*, *Pleurotus eryngii*, *Pleurotus djamor* e *Pleurotus citrinopileatus* (BELLETTINI et al., 2019).

A tecnologia de cultivo e o substrato utilizado variam conforme cada espécie de cogumelo. O *Pleurotus* spp. é um saprófito que extrai os nutrientes do substrato para o seu desenvolvimento. Esse cogumelo possui a capacidade de crescer em qualquer tipo de resíduo agrícola ou florestal que contenha celulose, hemicelulose e lignina (BONONI et al., 1999; SÁNCHEZ, 2010).

O cultivo do *Pleurotus* é basicamente igual para todas as linhagens, variando apenas a temperatura de frutificação, e pode ser dividido nas seguintes etapas (BONONI et al., 1999):

- 1) Produção de matriz: processo de obtenção da matriz em laboratório, por processo assexuado ou sexuado.
- 2) Compostagem do substrato: o substrato é submetido à fermentação natural com duração variável. Dependendo do substrato, essa etapa de compostagem pode ser dispensada e realizada apenas a incorporação de água ao substrato.

- 3) Pasteurização ou esterilização do substrato: a pasteurização é o tratamento térmico do substrato com vapor de água, a fim de eliminar os agentes patogênicos ou microrganismos que possam competir com fungo inoculado. O substrato também pode ser esterilizado em autoclave. No entanto, diversos produtores não realizam a pasteurização ou esterilização porque durante a fermentação já é alcançada a temperatura necessária para esse objetivo.
- 4) Inoculação: o acondicionamento do substrato para inoculação pode ser realizado em sacos de polietileno, caixas plásticas ou de madeira, blocos comprimidos e empacotados com papel aluminizado ou containers cilíndricos verticais. A inoculação consiste na distribuição uniforme da matriz no substrato. A quantidade de inóculo adicionada é em torno de 0,5 a 2,0% do peso úmido do substrato pronto.
- 5) Incubação: durante a incubação o micélio degrada o substrato e utiliza os nutrientes para se desenvolver e colonizar o substrato, sendo uma etapa de elevada atividade biológica. A temperatura do substrato é primordial para um bom crescimento do micélio e deve ser mantida, de uma forma geral, entre 25 e 28°C. Em média, o final da incubação ocorre após 15 a 20 dias, período em que o substrato está completamente colonizado.
- 6) Produção e colheita: com a finalização da incubação, o substrato colonizado é exposto parcial ou totalmente ao ar, provocando alterações nas trocas gasosas, umidade e luminosidade, que conduzem ao surgimento de primórdios. Essas estruturas se desenvolvem e formam os corpos de frutificação que serão retirados do substrato na colheita.

### **2.5.2 Substrato residual da produção de cogumelos**

O substrato residual da produção de cogumelos (SRC) é definido como a biomassa remanescente após a colheita do cogumelo. O SRC compreende uma mistura de micélio, enzimas extracelulares liberadas pelos fungos durante o seu crescimento e o substrato lignocelulósico não utilizado (SINGH et al., 2011). Dentre os diversos materiais aproveitados como substrato, destacam-se os resíduos agrícolas como palha e farelo de trigo e arroz, bagaço de cana, palha de café, folhas de bananeira e serragem, podendo ser suplementados

com aditivos químicos (KAMTHAN; TIWARI, 2017). A Figura 6 ilustra o substrato com o cogumelo cultivado, o qual passa a ser denominado de substrato residual após a colheita.

As propriedades físicas, químicas e biológicas do SRC variam conforme os processos de compostagem, técnicas e condições ambientais do cultivo, idade do substrato residual, tipo de fungo e dos materiais que compõem o substrato. Em média, o SRC é constituído por 40% de matéria seca e 60% de água, com alta densidade aparente. Esse substrato é caracterizado pelo alto teor de matéria orgânica e quantidade moderada de nutrientes (CASTRO; DELMASTRO; CURVETTO, 2008; UZUN, 2004). A Tabela 5 apresenta as características físicas e químicas de SRC analisados por diferentes autores.

No SRC tem sido detectada uma ampla variedade de enzimas lignocelulósicas, tais como  $\alpha$ -amilase, celulase,  $\beta$ -glicosidase, xilanase, amilase, dextranase, lacase, manganês peroxidase e lignina peroxidase. O tipo de enzima produzida pelo fungo é diretamente dependente dos materiais que constituem o SRC e da espécie do cogumelo (BALL; JACKSON, 1995; NAKAJIMA et al., 2018; PHAN; SABARATNAM, 2012). Singh; Abdullah, Vikineswary (2003) analisaram o perfil enzimático do SRC do *Pleurotus sajor-caju* e verificaram uma produtividade máxima de xilanase, celulase e  $\beta$ -glucosidase de  $7,51 \text{ U g}^{-1}$ ,  $3,13 \text{ U g}^{-1}$  e  $121,13 \text{ U g}^{-1}$ , já para a lacase e lignina peroxidase de  $7,59 \text{ U g}^{-1}$  e  $206,20 \text{ U g}^{-1}$ , respectivamente.

Figura 6 – Substrato com cogumelos cultivados e seus componentes após a colheita.



Fonte: adaptado de Merryhill mushrooms® (2019).

Tabela 5 – Características químicas e físicas do SRC.

Parâmetro	Substrato Residual da Produção de Cogumelos			
	<i>Pleurotus spp.</i> (Andrades, 2012)	<i>Pleurotus eryngii</i> (Lou et al., 2017)	<i>Pleurotus eryngii</i> (Sun et al., 2013)	<i>Agaricus bisporus</i> (Corral-Bobadilla, 2019)
pH	5,7	5,8	6,8	7,2
Cinzas	15,9%	11,0%	6,02%	-
Umidade	47,6%	56,1%	21,5%	52,6%
Carbono	38,3%	37,1%	-	-
Hidrogênio	5,50%	5,2%	-	-
Nitrogênio	0,73%	2,6%	-	2,16%
Oxigênio	39,6%	34,0%	-	-
Potássio	-	-	1262 $\mu\text{g g}^{-1}$	0,69%
Fósforo	-	-	3827 $\mu\text{g g}^{-1}$	2,2%
Cálcio	-	-	4671 $\mu\text{g g}^{-1}$	10,8%
Magnésio	-	-	1391 $\mu\text{g g}^{-1}$	0,83%
Sódio	-	-	244 $\mu\text{g g}^{-1}$	0,24%
Ferro	-	-	19,5 $\mu\text{g g}^{-1}$	1820 ppm
Cobre	-	-	2,9 $\mu\text{g g}^{-1}$	50,7 ppm
Cromo	-	-	0,12 $\mu\text{g g}^{-1}$	18,7 ppm
Chumbo	-	-	2,11 $\mu\text{g g}^{-1}$	<30 ppm
Manganês	-	-	13,1 $\mu\text{g g}^{-1}$	241,2 ppm
Zinco	-	-	5,6 $\mu\text{g g}^{-1}$	189,9 ppm
Níquel	-	-	-	<20 ppm
Cádmio	-	-	0,83 $\mu\text{g g}^{-1}$	<20 ppm
MO	84,1%	-	-	-
COT	38,3%	-	-	54,3%
C/N	52,4	14,6	41,74	11,5
CE	-	4,4 $\text{mS cm}^{-1}$	-	6,2 $\text{dS m}^{-1}$
Lignina	-	14,8%	-	-
Celulose	-	34,7%	-	-
Hemicelulose	-	7,1%	-	-

Fonte: Elaborado pela autora, 2020.

A quantidade gerada de SRC corresponde a uma proporção de aproximadamente 5 kg para cada 1 kg de cogumelo cultivado. O SRC configura-se como um problema para os agricultores, pois deve ser destinado adequadamente, uma vez que, o simples descarte do SRC no ambiente pode causar efeitos negativos nos ecossistemas (FINNEY et al., 2009). Considerando que o Brasil produz anualmente 12 mil t dos principais cogumelos comestíveis, conforme apresentado no item 2.5, em média de 60 mil t de SRC são geradas por ano.

Guo e Chorover (2006) verificaram que o intemperismo do SRC no ambiente produz um lixiviado com alta concentração de matéria orgânica e sais inorgânicos que podem

contaminar o solo e a água superficial e subterrânea. Em vista disso, aplicações do SRC de menor impacto ambiental e aproveitamento desse resíduo estão sendo aprimorada pelas indústrias e pesquisadores. Dentre os destinos do SRC destaca-se o uso na fertilização do solo, alimentação de animais, geração de energia e biorremediação (HANAFI et al., 2018).

A diversidade de microrganismos e enzimas presentes nos SRC possibilita a exploração desse substrato nas técnicas de biorremedição do ar, solo e água. Diversos estudos relatam a eficiência de enzimas extraídas do SRC na remoção de fármacos, fungicidas, metais pesados, corantes e outras substâncias presentes nas águas residuais (CHANG et al., 2018; GUIMARÃES et al., 2016; RINKER, 2017; SINGH; AHLAWAT; RAJOR, 2013; SOUZA; PERALTA, 2003).

## 2.6 SUBSTRATO RESIDUAL DA PRODUÇÃO DE COGUMELOS E A DESCOLORAÇÃO DE EFLUENTES TÊXTEIS

Na remoção de corantes de efluentes têxteis, o SRC tem sido estudado como material adsorvente e fonte de enzimas. A Tabela 6 apresenta as pesquisas recentes em que o SRC foi utilizado nesses dois aspectos.

Singh et al. (2011) avaliaram o potencial das enzimas extraídas do SRC de *Pleurotus sajor-caju* para descoloração de corantes azo e antraquinona. Para os corantes azo, a eficiência de remoção foi de 84,0 e 80,9% para o preto 5 e laranja 16, respectivamente, já para o azul 79 foi de 32,1%, após 4 horas de incubação com 45 U de LiP extraída do SRC. Enquanto para os corantes antraquinona, a descoloração do vermelho 60 foi de 47,2% e apenas 5,9% do azul 56.

Di Gregorio et al. (2010) analisaram a eficiência do SRC de *Pleurotus ostreatus* em promover a descoloração de banhos cromo reativos têxteis contendo altas concentrações de diferentes surfactantes, antiespumantes e sal. Após 24 horas de incubação dinâmica de 130 g de SRC em 500 mL de banho cromo reativo preto em uma temperatura de 21°C, foi obtida uma descoloração de 97%. Papinutti e Forchiassin (2010) obtiveram uma remoção de 100% dos corantes azul celeste e verde malaquita, e 74,5% do índigo carmim, após 40 horas de incubação com o SRC de *Pleurotus ostreatus* a 28°C. Entretanto, para o corante xilidina não houve remoção.

Wu et al. (2019) avaliaram o SRC de *Pleurotus eryngii* na adsorção dos corantes verde malaquita, safranina T e azul de metileno. Em soluções com 100 mg/L de concentração

inicial dos corantes, 1 g de SRC e pH 6 foi obtido um percentual de remoção acima de 93%, após 4 horas de contato. Além disso, verificaram que o modelo isotérmico de Freundlich ajustou-se melhor aos dados de adsorção em comparação com o modelo de Langmuir, e que a adsorção dos corantes foi um processo exotérmico e espontâneo. Em relação aos modelos cinéticos, o de pseudo-segunda ordem forneceu um melhor ajuste do que o modelo de pseudo-primeira ordem.

Tian et al. (2011) obtiveram uma capacidade máxima de adsorção igual a 147,1 mg do corante vermelho do congo por g de SRC do *Tricholoma lobayense*. Wu et al. (2018) verificaram que o SRC do cogumelo *Ganodorma lucidum* apresentou uma eficiência de adsorção dos corantes verde malaquita, safranina T e azul de metileno acima de 78% nos cinco minutos iniciais e aumentou lentamente até os trinta minutos, atingindo o equilíbrio em um curto espaço de tempo.

Com base na pesquisa bibliográfica realizada, apenas os autores Bogoni (2018), Di Gregorio et al. (2010) e Papinutti e Forchiassin (2010) avaliaram a eficiência de remoção de corantes têxteis aplicando o SRC sem tratamento. Contudo, nenhum desses autores realizou um estudo aprofundado dos processos simultâneos de degradação enzimática e adsorção ao utilizar o SRC na descoloração de efluentes têxteis.

Tabela 6 - Estudos referentes à utilização do SRC na remoção de corantes têxteis.

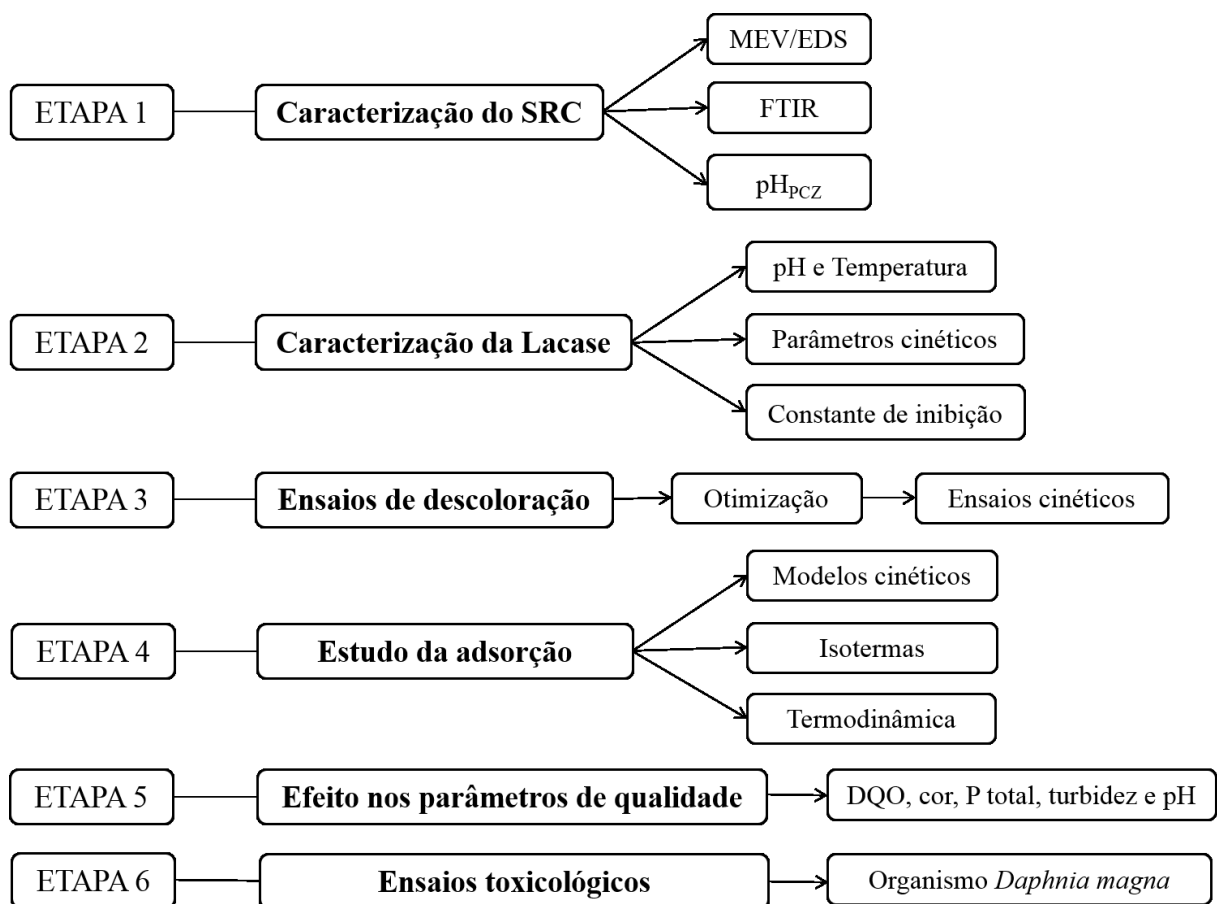
Referência	SRC	Corantes	Estudo
Ahlawat e Singh (2009)	<i>Agaricus bisporus</i> ; <i>Pleurotus sajor-caju</i> ; <i>Lentinula edodes</i> .	Rondamina B; Violeta de metila 2B; Chicago céu azul 6B.	A descoloração sob diferentes condições de cultivo do fungo;
Singh, Ahlawat e Rajor (2013)	<i>Pleurotus sajor-caju</i> ; <i>Pleurotus flabellatus</i>	Violeta de metila 2B; Vermelho de quinaldina; Laranja II sal de sódio; Rondamina B; Azul celeste B; Azul de metileno; Chicago céu azul; Azul reativo; Amido azul celeste.	A descoloração sob diferentes condições de cultivo do fungo;
Di Gregorio et al. (2010)	<i>Pleurotus ostreatus</i>	Amarelo 39 + Vermelho 136 + Preto DM 5594; Azul 3G; Azul BLI; Vermelho FGN.	A remoção foi avaliada na presença de produtos auxiliares e em condições dinâmicas e estáticas.
Papinutti e Forchiassin (2010)	<i>Pleurotus ostreatus</i>	Azul celeste B; Verde malaquita; Xilidina; Índigo carmim.	Avaliação do processo de degradação e adsorção do SRC sem tratamento.
Singh et al. (2010)	<i>Pleurotus sajor-caju</i>	Violeta cristal; Azul de bromofenol; Azul de tripano; Preto de amido; Vermelho do congo;	Descoloração por extrato enzimático concentrado proveniente do SRC, com a LiP como enzima principal.
Zhou et al. (2011)	<i>Pleurotus ostreatus</i>	Azul de metileno; Azul brilhante de remazol R; Verde de metila; Azul de metileno	Adsorção do corante ao SRC.
Toptas et al. (2014)	<i>Agaricus bisporus</i>	Levafix Braun E-RN LB; Vermelho básico 18; Vermelho ácido 111.	Adsorção dos corantes ao SRC.
Lim, Lee e Kang (2013)	<i>Pleurotus eryngii</i> ; <i>Pleurotus comucopiae</i> ; <i>Pleurotus ostreatus</i>	Azul brilhante de remazol R; Vermelho do congo.	Extrato enzimático proveniente dos SRC na degradação dos corantes.
Alhujaily et al. (2020)	<i>Pleurotus ostreatus</i>	Direct Black 22; Direct Red 5B; Reactive Black 5; Direct Blue 71.	Adsorção dos corantes ao SRC.
Yan e Wang (2013)	Não informado	Azul de metileno	Adsorção dos corantes ao SRC.
Tian et al. (2011)	<i>Tricholoma lobayense</i>	Vermelho do congo	Adsorção dos corantes ao SRC.
Liu et al. (2017)	<i>Grifola frondosa</i>	Rodamina B	Adsorção dos corantes ao SRC.
Nakajima et al. (2018)	<i>Hypsizygus marmoreus</i> ; <i>lammulina velutipes</i> ; <i>Pleurotus eryngii</i> ; <i>Lentinula edodes</i> ; <i>Pleurotus ostreatus</i> ; <i>Pleurotus</i> sp.	Azul brilhante de coomassie	Estudo de descoloração por extrato enzimático proveniente do SRC;
Teixeira, Pereira; Ferreira-Leitão (2010)	<i>Pleurotus ostreatus</i>	Azul drimaren X-3LR; Azul drimaren X-BLN; Rubinol drimaren X-3LR; Azul drimaren C-R.	Descoloração por extrato enzimático do SRC, com a lacase como enzima principal;
Wu et al. (2018)	<i>Ganoderma lucidum</i>	Verde malaquita; Safranina T; Azul de metileno	Adsorção dos corantes ao SRC;
Machado e Mateus (2006)	<i>Pleurotus ostreatus</i>	Azul brilhante de remazol B	Descoloração por extrato enzimático do SRC;
Wu et al. (2019)	<i>Pleurotus eryngii</i>	Verde malaquita; Safranina T; Azul de metileno	Adsorção dos corantes ao SRC;
Kang (2016)	<i>Pleurotus eryngii</i>	Azul de bromofenol; Azul brilhante de remazol B; Vermelho do congo; Azul brilhante de coomassie; Violeta de cristal; Azul de metileno; Rit-azul; Rit-vermelho.	Descoloração por extrato enzimático e do SRC;
Bogoni (2018)	<i>Pleurotus ostreatus</i>	Levafix Brilliant Red E4BA + Remazol Preto B 133%	Remoção de corantes utilizando o SRC

Fonte: Elaborado pela autora, 2020.

### 3 MATERIAIS E MÉTODOS

O presente estudo foi realizado no Laboratório de Reúso de Águas (LARA) do Programa de Pós-Graduação em Engenharia Ambiental e no Laboratório Integrado de Meio Ambiente (LIMA) pertencentes ao Departamento de Engenharia Sanitária e Ambiental da Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC). A fim de atender aos objetivos propostos, os experimentos foram planejados em seis diferentes etapas, conforme apresentado na Figura 7.

Figura 7 - Fluxograma metodológico da pesquisa.



Fonte: Elaborado pela autora, 2020.

#### 3.1 SUBSTRATO RESIDUAL DA PRODUÇÃO DE COGUMELOS (SRC)

O SRC utilizado no estudo era proveniente da produção do cogumelo *Pleurotus ostreatus* e foi cedido por uma empresa produtora de cogumelos, localizada no município de Biguaçu/SC. O SRC era constituído de serragem e farelo de trigo, suplementado com carbonato de cálcio. Para os experimentos foi utilizado o SRC coletado após 114 dias da



inoculação e 75 dias da segunda indução, momento em que o SRC não possuía mais utilidade para a empresa e constituía-se como um resíduo. O SRC foi mantido refrigerado a 5°C até sua utilização nos experimentos, para preservação das enzimas e da estrutura do material. Os blocos de SRC foram desestruturados e homogeneizados manualmente para a utilização de amostras representativas para cada repetição experimental.

### 3.1.1 Caracterização do SRC

A morfologia do SRC com e sem enzimas foi avaliada por Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) com o microscópio JEOLJSM-6390LV operando a 10 kV e a composição qualitativa por Análise de Difração de Raios-X (EDS) em um Sistema de Microanálise de Seis Raios-X NORAN, ambas no Laboratório Central de Microscopia Eletrônica da Universidade Federal de Santa Catarina (LCME-UFSC). As amostras foram fixadas em suportes metálicos com fitas de carbono e recobertas com ouro. Os grupos funcionais presentes no SRC com e sem enzimas foram verificados por Espectroscopia de Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR), utilizando o espectrômetro Agilent Technologies-Cary 660 na faixa de comprimento de onda de 400-4000  $\text{cm}^{-1}$  e resolução de 4  $\text{cm}^{-1}$ , pertencente à Central de Análises do Departamento de Engenharia Química e de Alimentos da UFSC. Para a realização destas análises, o SRC foi mantido em estufa por três dias a 50°C.

O ponto de carga zero ( $\text{pH}_{\text{PCZ}}$ ) do SRC foi determinado pelo método de equilíbrio em batelada, no qual 6,25 g de SRC foram adicionadas em 50 mL de uma solução de NaCl 0,01 M com diferentes valores iniciais de pH (1 a 12), ajustados com soluções de HCl (0,5 M) e NaOH (0,5 M). Essas amostras foram mantidas em banho termostático sob 100 rpm e 25°C, durante um período de 24 horas. Ao final do tempo de incubação foi determinado o pH final de cada amostra e elaborado um gráfico de  $\Delta\text{pH}$  *versus* pH inicial para determinar o  $\text{pH}_{\text{PCZ}}$  do adsorvente (BABIC et al., 1999).

### 3.2 EFLUENTE TÊXTIL

Considerando que as características do efluente liberado pelas indústrias têxteis variam ao longo do tempo, dependendo dos processos de produção, o que dificultaria a comparação efetiva de resultados, nesse estudo foi utilizado um efluente têxtil sintético, equivalente ao efluente têxtil real após o tratamento biológico, preparado de acordo com a

metodologia adaptada de Mo et al. (2007). O efluente têxtil sintético foi constituído de dois diferentes corantes azo reativos e as substâncias químicas auxiliares utilizadas na indústria têxtil em concentrações apresentadas na Tabela 7.

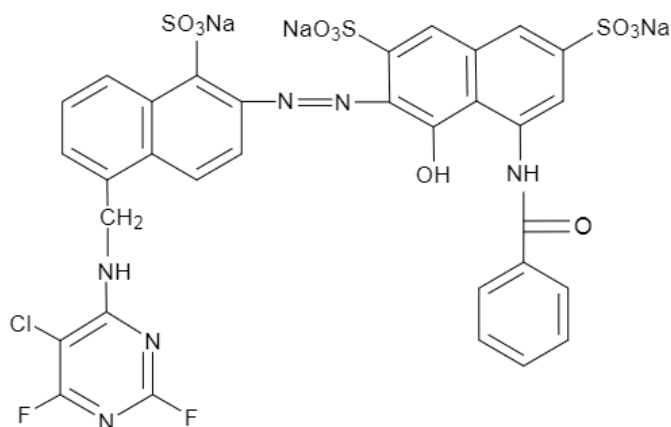
Tabela 7 – Composição do efluente têxtil sintético.

Produto químico	Concentração (mg L <sup>-1</sup> )
<i>Levafix Brilliant Red E4BA</i>	25
<i>Remazol Black B 133%</i>	25
Álcool polivinílico	125
NaCl	250
Na <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	200

Fonte: adaptado de Mo et al. (2007).

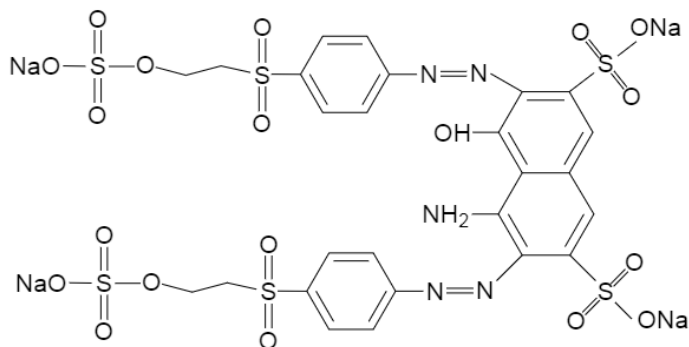
Os corantes aniônicos *Levafix Brilliant Red E4BA* (C<sub>29</sub>H<sub>22</sub>ClN<sub>7</sub>O<sub>11</sub>S<sub>3</sub>, 776,16 g mol<sup>-1</sup>), e *Remazol Black B 133%* (C<sub>26</sub>H<sub>21</sub>N<sub>5</sub>Na<sub>4</sub>O<sub>17</sub>S<sub>6</sub>, 991,82 g mol<sup>-1</sup>) são denominados de Vermelho Reativo 158 e Preto Reativo 5 pela *Color Index*, e suas estruturas químicas estão apresentadas nas Figura 8 e Figura 9, respectivamente.

Figura 8 – Estrutura química do corante *Levafix Brilliant Red E4BA*.



Fonte: Muthuraman e Elumalai (2013).

Figura 9 – Estrutura química do corante *Remazol Black B* 133%.



Fonte: Catanho, Malpass e Motheo (2006).

### 3.3 CARACTERIZAÇÃO DA LACASE

#### 3.3.1 Extração enzimática

As enzimas presentes no SRC foram extraídas com tampão acetato de sódio 0,1 M (pH 5) e 155 g L<sup>-1</sup> de SRC (*in natura*), submetidos a uma agitação de 100 rpm em agitador magnético, durante um tempo de contato de 1 hora e sob temperatura ambiente. Posteriormente, a mistura foi centrifugada a 11000 rpm por 5 minutos e o sobrenadante foi utilizado nos ensaios seguintes. As análises seguintes de caracterização da lacase foram realizadas em duplicata.

#### 3.3.2 Efeito do pH e da temperatura na atividade da lacase

Para a determinação da temperatura e pH ótimos da enzima foi realizado o mesmo protocolo utilizado no ensaio da atividade da lacase com o substrato ABTS, conforme descrito no item 3.7.2, apenas empregando diferentes soluções tampões e temperaturas. Os valores de pH avaliados foram 2, 4, 6, 8 e 10, utilizando tampão McIlvaine (ácido cítrico 0,1 M e fosfato dissódico 0,2 M) para os pH 2 a 8 e tampão borato (PanReac AppliChen: 3,092 g de ácido bórico, 3,728 g de cloreto de potássio e 2,34 ml de hidróxido de sódio 50%) para pH 10. A temperatura ótima da enzima foi determinada incubando a preparação enzima-substrato em seu pH ótimo a 25°C, 35°C, 45°C, 55°C e 65°C, usando banhos de água controlados.

### 3.3.3 Parâmetros cinéticos

A cinética enzimática foi analisada pelo modelo de Michaelis-Menten com diferentes concentrações de ABTS (0,1, 0,3, 0,5, 0,75, 1, 1,5 e 2 mM), em condições ótimas de pH e temperatura obtidas previamente. O efeito de inibição dos sais NaCl e Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> sobre a atividade da lacase foi avaliada aplicando concentrações de 1, 2, 5, 5, 7,5 e 10 mM de cada sal. Esses sais foram analisados pois compõem o efluente sintético utilizado nos ensaios e geralmente são encontrados nos efluentes têxteis reais, podendo resultar na inibição da atividade da lacase.

Os parâmetros cinéticos  $K_m$  (coeficiente de Michaelis Menten) e  $V_{m\acute{a}x}$  (velocidade máxima de reação) foram determinados pelo ajuste não linear do modelo de Michaelis Menten (Equação 1), utilizando o programa Origin® 2017. A constante de inibição ( $K_i$ ) foi obtida pela Equação 2. Para determinar o tipo de inibição foi realizada a linearização de duplo recíproco de Lineweaver-Burk (ESTERBAUER et al., 1991).

$$V_0 = \frac{V_{max} [S]}{K_m + [S]} \quad (1)$$

Onde:  $V_0$ : velocidade inicial, também atribuída à atividade enzimática ( $U L^{-1}$ );  $[S]$ : concentração de ABTS (mM);  $V_{m\acute{a}x}$ : velocidade máxima de reação ( $mM L^{-1} min^{-1}$ );  $K_m$ : coeficiente de Michaelis Menten (mM).

$$K_i = \frac{[I]}{\alpha - 1} \quad (2)$$

Onde:  $K_i$ : constante de inibição (mM);  $[I]$ : concentração do inibidor (mM);  $\alpha$ : obtido pela divisão entre  $K_m$  na presença de inibidor e  $K_m$  na ausência de inibidor.

### 3.4 ENSAIOS DE DESCOLORAÇÃO EM PROCESSO DE BATELADA

#### 3.4.1 Planejamento fatorial

Para avaliar o efeito combinado de variáveis na descoloração do efluente têxtil foi realizado um planejamento fatorial  $2^3$  com uma repetição no ponto central, resultando em 9 tratamentos executados em duplicata (BOX; HUNTER; HUNTER, 2005). As variáveis independentes consideradas foram pH, temperatura e concentração de SRC (*in natura*) e os respectivos níveis estão apresentados na Tabela 8. Esses níveis foram definidos com base nas características gerais dos efluentes têxteis (item 2.2.2) e em ensaios preliminares. A remoção de cor e a atividade da lacase foram definidas como as variáveis dependentes. A Tabela 9 apresenta a matriz do delineamento experimental dos ensaios de descoloração.

Tabela 8 - Níveis dos fatores utilizados no planejamento fatorial dos ensaios de descoloração do efluente têxtil com o SRC.

Variáveis	Nível (-)	Nível (0)	Nível (+)
pH	4	6	8
Temperatura (°C)	25	35	45
Concentração de SRC (g L <sup>-1</sup> )	30	65	100

Fonte: Elaborado pela autora, 2020.

Tabela 9 - Matriz do delineamento experimental para descoloração do efluente têxtil utilizando o SRC.

Ensaio	X <sub>1</sub>	pH	X <sub>2</sub>	Temperatura (°C)	X <sub>3</sub>	Concentração do SRC (g L <sup>-1</sup> )
1	-1	4	-1	25	-1	30
2	1	8	-1	25	-1	30
3	-1	4	1	45	-1	30
4	1	8	1	45	-1	30
5	-1	4	-1	25	1	100
6	1	8	-1	25	1	100
7	-1	4	1	45	1	100
8	1	8	1	45	1	100
9	0	6	0	35	0	65

Fonte: Elaborado pela autora, 2020.

Os ensaios de descoloração foram realizados em banho termostático (marca Dubnoff, modelo 252) utilizando Erlenmeyers (250 mL) contendo 150 mL de efluente têxtil sob uma agitação de 200 rpm e duas horas de contato. Para cada combinação das variáveis analisadas

(Tabela 9) foram incubadas duas amostras controle, uma contendo apenas o efluente e a outra o SRC em água destilada para desconsiderar a cor liberada pelo SRC. Os diferentes valores de pH do efluente têxtil foram ajustados com soluções de HCl 0,5 M e NaOH 0,5 M e determinado com pHmetro (Quimis® Q-400M). As amostras foram centrifugadas a 11000 rpm durante 5 minutos para posterior determinação da concentração de corantes (item 3.7.1) e a atividade da enzima lacase (item 3.7.2).

Nas mesmas combinações das variáveis analisadas (Tabela 9) e paralelamente aos ensaios de descoloração foram realizados experimentos utilizando o SRC sem a presença de enzimas, a fim de determinar a remoção da cor pelo mecanismo de adsorção. Para isso, o SRC foi pré-tratado a 90°C por 15 minutos para desnaturação das enzimas e perda da atividade catalítica. A degradação enzimática foi estimada pela diferença entre a remoção utilizando o SRC com e sem enzimas.

O software Statistica (StatSoft, EUA) foi utilizado para o desenvolvimento do delineamento experimental e para as análises estatísticas. Uma equação polinomial de primeira ordem foi determinada para identificar as possíveis interações dos fatores selecionados. Os efeitos foram obtidos pelo método dos mínimos quadrados e avaliados estatisticamente pela análise de variância (ANOVA). A significância estatística dos coeficientes de regressão foi de 90%.

### **3.4.2 Efeito das variáveis isoladas e ensaios cinéticos**

A partir dos resultados constatados no planejamento fatorial verificou-se a necessidade de avaliar o efeito isolado das variáveis pH, temperatura e concentração de SRC na adsorção e degradação enzimática. Para isso foram empregados diferentes valores de pH (4, 6, 8 e 10), temperatura (25, 35, 45 e 55 °C) e concentração de SRC (65, 95, 125 e 155 g L<sup>-1</sup>), com um tempo de contato de duas horas. Os experimentos foram conduzidos em duplicata e os resultados apresentados como valores médios. Os dados de remoção de cor foram analisados com ANOVA unilateral e as médias comparadas ao teste de Tukey com 5% de probabilidade. A normalidade dos dados foi confirmada pelo teste de Anderson-Darling. Essas análises foram realizadas com o software Origin® 2017.

Nas condições ótimas obtidas para cada variável foram realizados ensaios cinéticos de descoloração em duplicata, com coleta de amostras após 0, 15, 30, 60, 120, 180 e 240 minutos de contato. Nos ensaios cinéticos além da remoção da cor e da atividade da lacase

foram determinadas as atividades das enzimas LiP e MnP. Os ensaios de otimização e os cinéticos foram conduzidos conforme descrito no item 3.4.1.

### 3.4.3 Ensaio comparativo da degradação enzimática

A fim de avaliar se a degradação enzimática era favorecida ao ocorrer simultaneamente com a adsorção foi realizado um ensaio comparativo empregando o SRC e o extrato enzimático do SRC, nas mesmas condições e proporções. Inicialmente foi realizada a extração enzimática em Erlenmeyers com a concentração ótima definida de SRC em água destilada, incubados no banho termostático (marca Dubnoff, modelo 252) e 200 rpm de agitação por duas horas. Para o ensaio de descoloração uma solução concentrada de efluente têxtil sintético (2000 mg L<sup>-1</sup> de corantes) foi adicionada ao extrato enzimático, resultando em uma concentração final de 50 mg L<sup>-1</sup> de corantes (25 mg L<sup>-1</sup> de cada corante).

No ensaio com o SRC a degradação enzimática foi obtida pela diferença entre a remoção utilizando o SRC aquecido a 90°C (sem enzimas) e o SRC com enzimas. Assim como os testes com o extrato enzimático, os ensaios com o SRC foram realizados com efluente de 50 mg L<sup>-1</sup> de corantes sob 200 rpm de agitação e duas horas de contato, nas melhores condições de pH, temperatura e concentração de SRC obtidas nos experimentos anteriores. Para a determinação da concentração dos corantes e da atividade da lacase, as amostras foram centrifugadas a 11000 rpm por 5 minutos. Duas amostras controle foram incubadas, uma contendo apenas o efluente e a outra o SRC em água destilada para desconsiderar a cor liberada pelo SRC.

## 3.5 ESTUDO DA ADSORÇÃO

Para avaliar o processo de adsorção dos corantes ao SRC foram estudados os modelos cinéticos, isotermas e os parâmetros termodinâmicos. As quantidades de corantes adsorvidas pelo SRC em um determinado momento ( $q_t$ ) e no equilíbrio ( $q_e$ ) foram calculadas usando as equações correspondentes de balanço de massas (Equação 3).

$$q_e \text{ ou } q_t = \frac{(C_o - C_e \text{ ou } C_t) V}{m} \quad (3)$$

Onde,  $q$ : quantidade do soluto adsorvido por grama de adsorvente ( $\text{mg g}^{-1}$ );  $C_o$ : concentração inicial do adsorvato ( $\text{mg L}^{-1}$ );  $C_e$ : concentração do adsorvato no equilíbrio ( $\text{mg L}^{-1}$ );  $V$ : volume da solução (L);  $m$ : massa seca do adsorvente (g).

Isotermas e modelos cinéticos foram aplicados de forma não linear, uma vez que a linearização dos dados altera a estrutura e distribuição do erro, além de resultar na perda da interpretação intrínseca dos parâmetros (NASCIMENTO et al., 2014). Para o ajuste não linear desses modelos foi utilizado o programa Origin® 2017.

### 3.5.1 Modelos cinéticos

A partir dos dados do ensaio cinético com SRC sem enzimas (item 3.4.2) foram aplicados os modelos cinéticos de pseudo-primeira ordem (Equação 4), pseudo-segunda ordem (Equação 5), difusão intrapartícula (Equação 7) e equação de Elovich (Equação 8).

$$q_t = q_e (1 - e^{-k_1 t}) \quad (4)$$

Onde,  $q_e$ : capacidade de adsorção no equilíbrio ( $\text{mg g}^{-1}$ );  $q_t$ : capacidade de adsorção em um tempo  $t$  ( $\text{mg g}^{-1}$ );  $t$ : tempo de reação (min);  $k_1$ : constante da taxa de adsorção de pseudo-primeira ordem ( $\text{min}^{-1}$ ) (LAGERGREN, 1898).

$$q_t = \frac{K_2 q_e^2 t}{1 + K_2 q_e t} \quad (5)$$

Onde,  $q_e$ : capacidade de adsorção no equilíbrio ( $\text{mg g}^{-1}$ );  $q_t$ : capacidade de adsorção em um tempo  $t$  ( $\text{mg g}^{-1}$ );  $t$ : tempo de reação (min);  $K_2$ : constante da velocidade de adsorção de pseudo-segunda ordem ( $\text{g mg}^{-1} \text{min}^{-1}$ ). Com o  $K_2$  pode-se determinar a velocidade inicial de adsorção ( $h$ ) a partir da Equação (6) (HO; MCKAY, 1999).

$$h = K_2 q_e^2 \quad (6)$$



Onde,  $h$ : velocidade inicial de adsorção ( $\text{mg g}^{-1} \text{min}^{-1}$ );  $q_e$ : capacidade de adsorção no equilíbrio ( $\text{mg g}^{-1}$ );  $K_2$ : constante da velocidade de adsorção de pseudo-segunda ordem ( $\text{g mg}^{-1} \text{min}^{-1}$ ).

$$q_t = K_d t^{0.5} + C \quad (7)$$

Onde,  $q_t$ : capacidade de adsorção em um tempo  $t$  ( $\text{mg g}^{-1}$ );  $K_d$ : constante de difusão intrapartícula ( $\text{mg g}^{-1} \text{min}^{-1/2}$ );  $C$ : constante relacionada com a resistência à difusão ( $\text{mg g}^{-1}$ ) (WEBER; MORRIS, 1963).

$$q_t = \frac{1}{\beta} \ln(1 + \alpha \beta t) \quad (8)$$

Onde,  $q_t$ : capacidade de adsorção em um tempo  $t$  ( $\text{mg g}^{-1}$ );  $\beta$ : constante de dessorção ( $\text{mg g}^{-1}$ );  $\alpha$ : taxa de adsorção inicial ( $\text{mg g}^{-1} \text{min}^{-1}$ ) (ROGINSKY; ZELDOVICH, 1934).

### 3.5.2 Isotermas e termodinâmica

Os ensaios para determinação das isotermas de adsorção foram realizados com variadas concentrações de corantes (5, 10, 15, 20, 30, 40, 50 e 60  $\text{mg L}^{-1}$ ) sob três diferentes temperaturas (25, 35 e 45°C). O experimento foi realizado com 150 mL de efluente têxtil e na concentração ótima de SRC sem enzimas, sob agitação de 200 rpm em banho termostático em um período pré-estabelecido com bases nos ensaios cinéticos. Duas amostras controle foram incubadas, uma contendo apenas o efluente e a outra o SRC em água destilada para desconsiderar a cor liberada pelo SRC. As amostras foram submetidas à centrifugação de 11000 rpm durante 5 minutos para posterior determinação da concentração de corantes (item 3.7.1).

Para ajustar os dados experimentais e caracterizar o processo de adsorção foram estudados os modelos não lineares das isotermas de Freundlich (Equação 9), Langmuir (Equação 10), Sips (Equação 12), Redlich-Peterson (Equação 13) e Temkin (Equação 14).

$$q_e = K_F C_e^{\frac{1}{n}} \quad (9)$$

Onde,  $C_e$ : concentração do adsorvato no equilíbrio ( $\text{mg L}^{-1}$ );  $q_e$ : quantidade do soluto adsorvido por grama de adsorvente no equilíbrio ( $\text{mg g}^{-1}$ );  $K_F$ : constante de capacidade de adsorção de Freundlich ( $\text{mg}^{1-(1/n)} \text{L}^{-1/n} \text{g}^{-1}$ );  $1/n$ : constante relacionada à heterogeneidade da superfície (FREUNDLICH, 1906).

$$q_e = \frac{q_m K_L C_e}{1 + K_L C_e} \quad (10)$$

Onde,  $C_e$ : concentração do adsorvato no equilíbrio ( $\text{mg L}^{-1}$ );  $q_e$ : quantidade do soluto adsorvido por grama de adsorvente no equilíbrio ( $\text{mg g}^{-1}$ );  $q_{\text{máx}}$ : capacidade máxima de adsorção ( $\text{mg g}^{-1}$ );  $K_L$ : constante de interação adsorvato/adsorvente ( $\text{L mg}^{-1}$ ) (LANGMUIR, 1918).

O modelo de Langmuir também foi explicado pelo fator de separação ( $R_L$ ), o qual possibilita analisar a forma da isoterma com base na Equação (11).

$$R_L = \frac{1}{1 + K_L C_0} \quad (11)$$

Onde,  $R_L$ : fator de separação (adimensional);  $K_L$ : constante de interação adsorvato/adsorvente ( $\text{L mg}^{-1}$ );  $C_0$ : concentração inicial do adsorvato ( $\text{mg L}^{-1}$ ) (ITODO; ITODO; GAFAR, 2010).

$$q_e = \frac{K_S C_e^{\beta_S}}{1 + a_S C_e^{\beta_S}} \quad (12)$$

Onde,  $C_e$ : concentração do adsorvato no equilíbrio ( $\text{mg L}^{-1}$ );  $q_e$ : quantidade do soluto adsorvido por grama de adsorvente no equilíbrio ( $\text{mg g}^{-1}$ );  $K_S$ : constante da isoterma de Sips ( $\text{L g}^{-1}$ );  $\beta_S$ : coeficiente de heterogeneidade da superfície do bioadsorvente;  $a_S$ : coeficiente de afinidade (SIPS, 1948).

$$q_e = \frac{K_R C_e}{1 + a_R C_e^g} \quad (13)$$

Onde,  $C_e$ : concentração do adsorvato no equilíbrio ( $\text{mg L}^{-1}$ );  $q_e$ : quantidade do soluto adsorvido por grama de adsorvente no equilíbrio ( $\text{mg g}^{-1}$ );  $K_R$ : constante da isoterma de Redlich-Peterson ( $\text{L g}^{-1}$ );  $g$ : expoente da isoterma de Redlich-Peterson;  $a_R$ : constante da isoterma de Redlich-Peterson ( $\text{L mg}^{-1}$ ) (REDLICH; PETERSON, 1959).

$$q_e = \frac{RT}{b} \ln(K_t C_e) \quad (14)$$

Onde,  $C_e$ : concentração do adsorvato no equilíbrio ( $\text{mg L}^{-1}$ );  $q_e$ : quantidade do soluto adsorvido por grama de adsorvente no equilíbrio ( $\text{mg g}^{-1}$ );  $R$ : constante dos gases ( $8,3144 \text{ J mol}^{-1} \text{ K}^{-1}$ );  $T$ : temperatura (K);  $b$ : constante relacionada ao calor de bioadsorção ( $\text{J mol}^{-1}$ );  $K_t$ : constante da isoterma de Temkin ( $\text{L g}^{-1}$ ) (TEMKIN; PYZHEV, 1939).

Os parâmetros termodinâmicos de adsorção entalpia ( $\Delta H^\circ_{\text{ads}}$ ), entropia ( $\Delta S^\circ_{\text{ads}}$ ) e energia livre de Gibbs ( $\Delta G^\circ_{\text{ads}}$ ) foram calculados com o objetivo de determinar os mecanismos de adsorção. A energia livre de Gibbs foi calculada conforme a Equação 15 (RUTHVEN, 1984). Como a entalpia e a entropia não apresentaram relação linear com a temperatura, a relação foi aproximada a um polinômio de segundo grau e  $\Delta H^\circ_{\text{ads}}$  foi calculado pela Equação 16 e o  $\Delta S^\circ_{\text{ads}}$  pela Equação 17 (BOYSEN et al., 1999; SOUSA et al., 2014).

$$\Delta G^\circ_{\text{ads}} = -RT \ln K_D \quad (15)$$

$$\ln K_D = -R \left( b + 2 \frac{c}{T} \right) \quad (16)$$

$$\Delta G^\circ_{\text{ads}} = \Delta H^\circ_{\text{ads}} - T \Delta S^\circ_{\text{ads}} \quad (17)$$

Onde,  $\Delta G^\circ_{\text{ads}}$ : energia livre de Gibbs ( $\text{kJ mol}^{-1}$ );  $R$ : constante universal dos gases ( $8,314 \text{ J mol}^{-1} \text{ K}^{-1}$ );  $T$ : temperatura (K);  $K_D$ : constante de equilíbrio termodinâmico adimensional obtida pela isoterma de Langmuir;  $\Delta H^\circ_{\text{ads}}$ : entalpia na adsorção ( $\text{J mol}^{-1}$ );  $\Delta S^\circ_{\text{ads}}$ : entropia na adsorção ( $\text{J mol}^{-1}$ );  $a$ ,  $b$ ,  $c$ : parâmetros empíricos.

### 3.6 ANÁLISES DO EFLUENTE TRATADO

O efluente têxtil sintético (50 mg L<sup>-1</sup> de corantes) e o tratado pelo SRC sem e com enzimas nas melhores condições obtidas foram avaliados por FTIR em espectrômetro Agilent Technologies-Cary 660 (comprimento de onda de 400 a 4000 cm<sup>-1</sup> e 4 cm<sup>-1</sup> de resolução) pela Central de Análises do Departamento de Engenharia Química e de Alimentos da UFSC. As amostras líquidas foram secas em estufa durante três dias a 50°C e o sólido resultante foi encaminhado para a análise.

O efeito do tratamento do efluente têxtil sintético com o SRC nos demais parâmetros de qualidade (DQO solúvel e particulada, amônia, fósforo total, cor, turbidez e pH) foi avaliado em vista da capacidade de remoção e da possibilidade de liberação de compostos pelo SRC. Para isso, foi realizado um ensaio nas melhores condições obtidas nos experimentos anteriores em banho termostático e 200 rpm de agitação. O ensaio foi conduzido em duplicata, exceto para os parâmetros de amônia e fósforo total que foram analisados em amostras simples. Para as análises de DQO solúvel, amônia e fósforo total as amostras foram centrifugadas em 1100 rpm por 5 minutos. As metodologias e equipamentos utilizados para as análises estão apresentadas na Tabela (9).

A toxicidade do efluente bruto e tratado pelo SRC com enzimas nas melhores condições por duas horas foi avaliada pelo teste de toxicidade aguda do microcrustáceo *Daphnia Magna*, conforme metodologia da NBR 12.713/2016 (ABNT, 2016) no Laboratório de Toxicologia Ambiental (LABTOX) do Departamento de Engenharia de Sanitária e Ambiental da UFSC. A toxicidade da água destilada mantida em contato com a SRC durante o teste também foi avaliada para verificar a possível liberação de compostos tóxicos pela SRC.

Um total de 10 neonatos *Daphnia magna* com 2 a 26 horas de vida foram expostos a diferentes fatores de diluição (1, 2, 4 e 8) da mesma amostra, sob uma temperatura de 20±2°C na ausência de energia e iluminação durante 48 horas. Os testes foram realizados em duplicata e após 48 horas foi observado o número de indivíduos imóveis ou mortos. Os resultados foram expressos pela Concentração Efetiva que afeta 50% da população dos organismos (CE<sub>50%</sub>) e pelo Fator de Diluição (FD).

Tabela 10 - Metodologia e equipamentos utilizados para determinação dos parâmetros de qualidade do efluente.

<b>Parâmetro</b>	<b>Metodologia</b>	<b>Limite de detecção</b>
DQO solúvel e particulada	Método colorimétrico com reagentes da Alfakit para DQO de alta concentração. Leitura em espectrofotômetro Hach DR 5000 no comprimento de onda de 600 nm;	125 - 1000 mg L <sup>-1</sup>
Amônia	Método do Salicilato utilizando Test 'N Tube AmVer (Método Hach 10031). Leitura em espectrofotômetro Hach DR 5000 no comprimento de onda de 655 nm;	0,4 – 50,0 mg L <sup>-1</sup> NH <sub>3</sub> -N
Fósforo total	Método molibdovanadato e digestão ácida com persulfato, utilizando Test 'N Tube AmVer (Método Hach 10127). Leitura em espectrofotômetro Hach DR 5000 no comprimento de onda de 420 nm;	1,0 – 100 mg L <sup>-1</sup> PO <sub>4</sub> <sup>3-</sup>
Cor aparente	Método Colorimétrico. Leitura em espectrofotômetro Hach modelo DR 5000 no comprimento de onda de 455 nm;	15 – 500 mg L <sup>-1</sup> PtCo
Cor verdadeira	Método Colorimétrico com filtração da amostra em membrana de 0,45 µm. Leitura em espectrofotômetro Hach modelo DR 5000 no comprimento de onda de 455 nm	15 – 500 PtCo
Turbidez	Método Nefelométrico em turbidímetro Hach 2100G	0 – 1000 NTU
pH	pHmetro Quimis Q-400M	-

Fonte: Elaborado pela autora.

### 3.7 PROCEDIMENTOS ANALÍTICOS

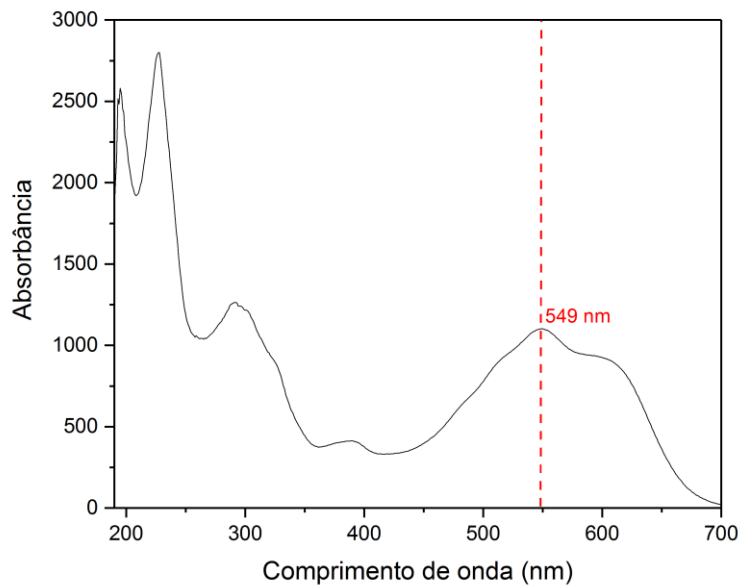
#### 3.7.1 Determinação da concentração dos corantes

A concentração de corantes no efluente têxtil foi avaliada por espectrofotometria, utilizando o espectrofotômetro Hach DR 3600, no comprimento de onda de 549 nm correspondente a maior absorbância na faixa do visível, obtido após a varredura espectral do efluente, conforme apresentado na Figura 10. O valor de absorbância verificado em cada análise foi interpolado na curva de calibração (Figura 11) inserida no espectrofotômetro para obtenção da concentração dos corantes. O percentual de remoção dos corantes foi determinado conforme a Equação 18.

$$Rc = \frac{Cc_{ST} - Cc_T}{Cc_{ST}} \times 100 \quad (18)$$

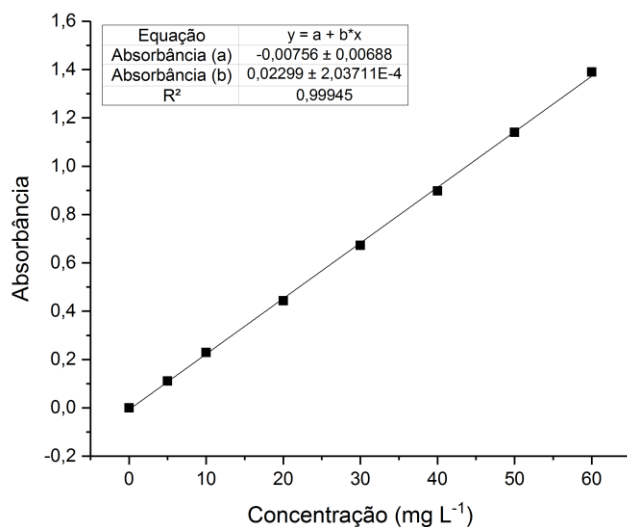
Onde, Rc: remoção de corantes (%); Cc<sub>ST</sub>: concentração de corantes sem tratamento; Cc<sub>T</sub>: concentração dos corantes no efluente tratado.

Figura 10 - Varredura espectral do efluente têxtil sintético.



Fonte: Elaborado pela autora.

Figura 11 - Curva de calibração para a determinação da concentração de corantes.



Fonte: Elaborado pelo autor.

### 3.7.2 Atividade enzimática

A atividade das enzimas foi expressa em Unidades Internacionais (U), sendo uma unidade de atividade enzimática definida como a quantidade de enzima necessária para oxidar 1  $\mu\text{mol}$  do substrato por minuto (BUSWELL et al., 1996). A Equação 19 foi utilizada para determinar a atividade de cada enzima.

$$\frac{U}{L} = \frac{\Delta_{abs} \cdot V_t \cdot 10^6}{\epsilon \cdot d \cdot V_a \cdot t} \quad (19)$$

Onde:  $\Delta_{abs}$ : diferença entre absorbância final e inicial;  $V_t$ : volume total da reação (mL);  $\epsilon$ : coeficiente de extinção molar (36000  $\text{L M}^{-1} \text{cm}^{-1}$  para lacase; 11590  $\text{L M}^{-1} \text{cm}^{-1}$  para manganês peroxidase; 9300  $\text{L M}^{-1} \text{cm}^{-1}$  para lignina peroxidase);  $d$ : comprimento do passo (cm);  $V_a$ : volume de amostra (mL);  $t$ : tempo de reação (min).

A atividade da lacase foi determinada colorimetricamente pela oxidação do substrato ácido 2,2'-azino-bis-(3-etilbenzo-tiazol-6-sulfônico) (ABTS). A mistura reacional continha 4 ml de ABTS (1,8 mM), 0,5 ml de tampão de acetato de sódio (0,1 M; pH 5) e 0,5 ml da amostra. A solução foi mantida a 40°C durante 5 minutos em banho de água controlado e a absorbância resultante foi medida espectrofotometricamente a 420 nm (BOURBONNAIS; PAICE, 1990). Duas amostras controles foram preparadas, uma substituindo a amostra pelo tampão (1 mL de tampão e 4 mL de ABTS) e a outra o ABTS pelo tampão (0,5 mL de amostra e 4,5 mL de tampão).

A atividade de MnP foi determinada pela formação do complexo Mn (III)-malonato com a mistura reacional de 1 ml de  $\text{MnSO}_4$  (4 mM), 0,5 ml de  $\text{H}_2\text{O}_2$  (0,4 mM), 1 ml de tampão malonato (20 mM; pH 5) e 1 ml da amostra. Essa mistura foi mantida a 30°C, durante 5 minutos em banho de água controlado e a absorbância resultante foi medida espectrofotometricamente a 270 nm (WARIISHI; GOLD, 1992). Duas amostras controles foram analisadas, uma substituindo a amostra pelo tampão de malonato de sódio (1,1 mL de malonato de sódio, 1 mL de  $\text{MnSO}_4$  e 0,5 mL  $\text{H}_2\text{O}_2$ ) e outra o  $\text{MnSO}_4$  pelo tampão (2 mL de tampão, 0,1 mL de amostra e 0,5 mL de  $\text{H}_2\text{O}_2$ ).

A atividade do LiP foi determinada pela oxidação do álcool veratrílico a veratraldeído pela enzima. A mistura de reação consistia em 0,5 ml de álcool veratrílico (10

mM), 0,5 ml de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (0,4 mM), 1 ml de tampão tartarato de sódio (100 mM; pH 3) e 0,5 ml da amostra. A solução foi mantida a 30°C durante 5 minutos em banho de água controlado e a absorbância resultante foi medida espectrofotometricamente a 310 nm (TIEN; KIRK, 1984, 1988). Duas amostras controles foram preparadas, uma substituindo a amostra pelo tampão (1,5 mL de tampão, 0,5 mL de álcool veratrílico e 0,5 mL H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) e a outra o álcool veratrílico pelo tampão (1,5 mL de tampão, 0,5 mL de amostra e 0,5 mL de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>).





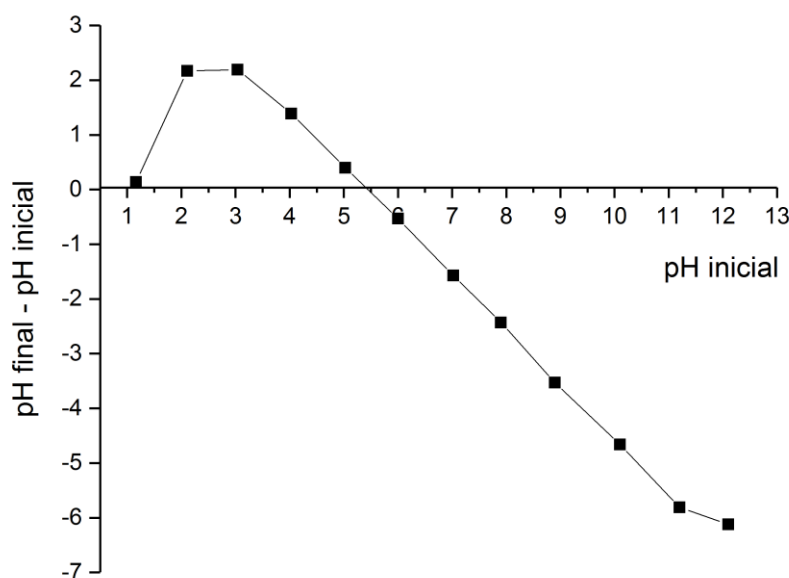
## 4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 4.1 CARACTERIZAÇÃO DO SUBSTRATO RESIDUAL DA PRODUÇÃO DE COGUMELOS

Os substratos foram caracterizados em relação aos grupos funcionais pela análise de FTIR (SRC com e sem enzimas, antes e após o tratamento), à morfologia e composição química qualitativa pela MEV/EDS (SRC com e sem enzimas) e ao ponto de carga zero pelo método de equilíbrio em batelada (SRC com enzimas).

A Figura 12 apresenta o gráfico elaborado para a determinação do ponto de carga zero (pH<sub>PCZ</sub>) do SRC. A partir dessa análise verifica-se que o pH<sub>PCZ</sub> do SRC é 5,5, indicando que abaixo do pH 5,5 o SRC terá uma carga positiva e a adsorção de ânions será favorecida, enquanto em pH acima de 5,5 o SRC terá uma carga negativa e as espécies catiônicas serão mais bem adsorvidas. Esse comportamento da carga superficial do adsorvente está associado à presença de prótons (H<sup>+</sup>) em pH baixo e de íons (OH<sup>-</sup>) em pH alto. Nos estudos de Yan e Wang (2013) e Alhujaily et al. (2018), o SRC apresentou pH<sub>PCZ</sub> aproximado de 6,5 e 7,2, respectivamente.

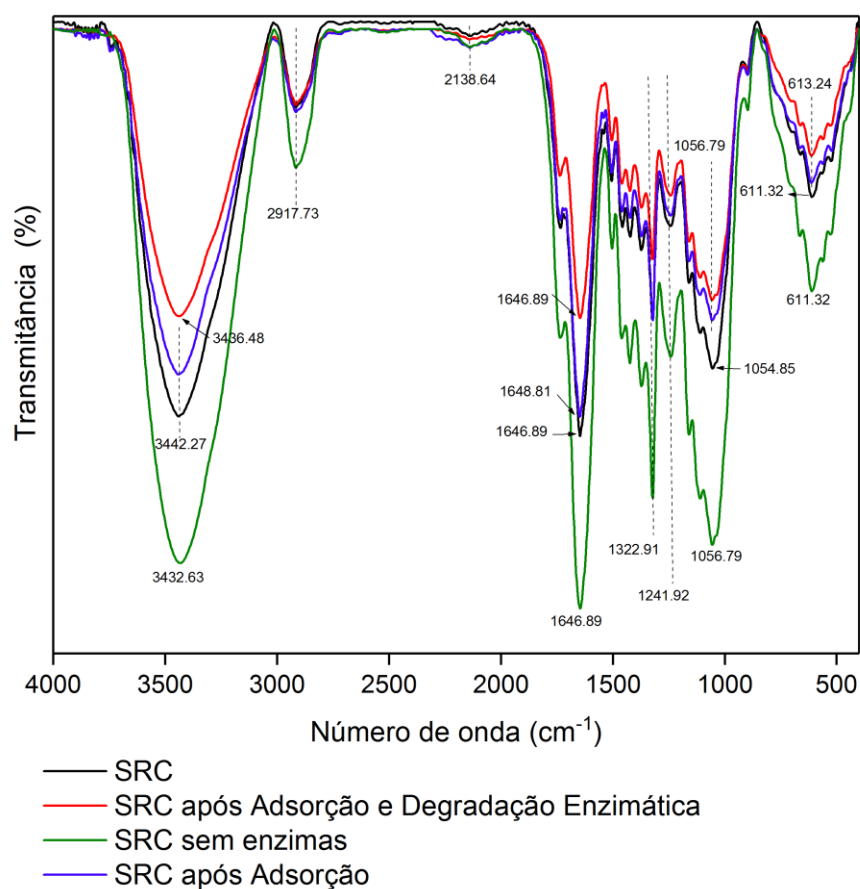
Figura 12 – Determinação do ponto de carga zero do SRC.



Fonte: Elaborado pela autora.

A Figura 13 apresenta o FTIR do SRC com e sem enzimas (125 g SRC L<sup>-1</sup>, pH 4 e 25°C), antes e após o tratamento do efluente têxtil sintético. O SRC é constituído principalmente de lignina, celulose, hemiceluloses e açúcares simples, quitina e minerais (ASADA et al., 2011; LAW et al., 2003). Esses componentes apresentam diversos grupos funcionais que podem possibilitar a adsorção dos corantes têxteis.

Figura 13 – Análise de FTIR do SRC com e sem enzimas, antes e após o tratamento do efluente têxtil.



Fonte: Elaborado pela autora.

As bandas de 3442,27 a 3432,63 cm<sup>-1</sup> são atribuídas ao grupo funcional OH<sup>-</sup> do grupo celulose e fenol da lignina. O pico em 2917,73 cm<sup>-1</sup> corresponde ao alongamento do grupo CH<sub>2</sub> alifático. As bandas em 1648,81 e 1646,89 cm<sup>-1</sup> referem-se ao grupo aldeído C = O (AKHOUAIRI et al., 2019). O pico 1322,91 cm<sup>-1</sup> corresponde à vibração do CH<sub>2</sub> na celulose (OH et al., 2005). O anel siringila e o trecho C-O na lignina e xilana foram identificados na banda 1241,92 cm<sup>-1</sup> (VILKOVSKÁ; KLEMENT; VÝBOHOVÁ, 2018). Os picos em 1054,85 e 1056,79 cm<sup>-1</sup> correspondem ao trecho C-O em polissacarídeos (IRBE et al., 2019). A

deformação C-H fora do plano do anel aromático é detectada no número de onda de 611,32 e 613,24  $\text{cm}^{-1}$  (JING et al., 2018).

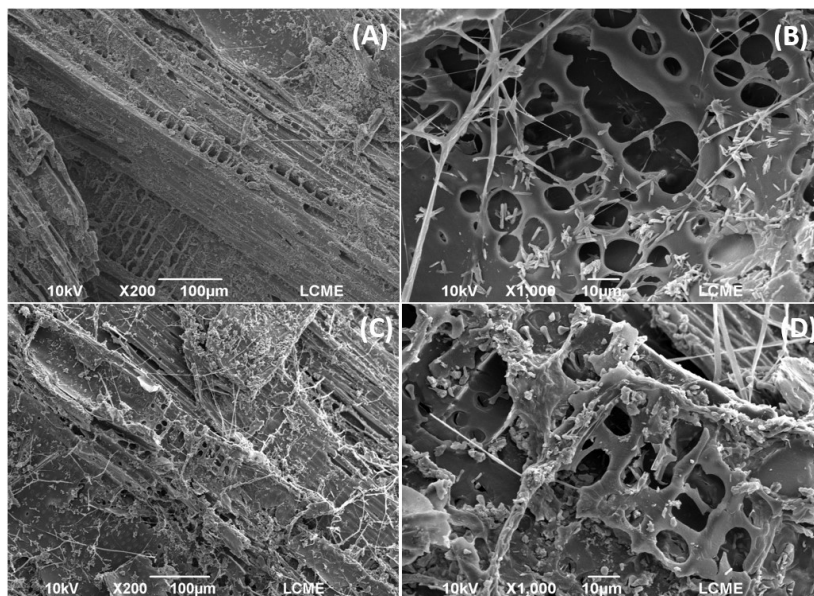
Os SRC com e sem enzimas antes do tratamento apresentaram picos de maior intensidade nos números de onda correspondentes aos grupos funcionais C=O (1646,89  $\text{cm}^{-1}$ ), OH<sup>-</sup> (3442,77 e 3433,62  $\text{cm}^{-1}$ ), CO (1054,85 e 1056,79  $\text{cm}^{-1}$ ) e CH<sub>2</sub> (1322,91  $\text{cm}^{-1}$ ), em ordem decrescente. O SRC sem enzimas apresentou maior intensidade das bandas em comparação ao SRC com enzimas, mas nenhum novo pico foi adicionado. Verificou-se também que no SRC sem enzimas houve um pequeno deslocamento em relação ao SRC para números de onda menores, 3442,27 a 3432,63  $\text{cm}^{-1}$  e de 1506,11 a 1504,18  $\text{cm}^{-1}$  e para os maiores de 1054,85 a 1056,78  $\text{cm}^{-1}$ . Considerando que essas diferenças não são acentuadas e que a capacidade de adsorção pode não ser significativamente afetada por essas diferenças, os SRC com e sem enzimas são comparáveis para identificar o desempenho exclusivo das enzimas.

O SRC com e sem enzimas após o tratamento apresentaram picos de menor intensidade em comparação ao respectivo SRC sem contato com o efluente. A redução na intensidade dos picos do SRC após o tratamento pode ser atribuída à liberação de compostos presentes no SRC para o efluente. Nenhum novo pico foi adicionado ao SRC após o contato com o efluente têxtil, porém foram observados desvios nos números de onda, o que pode indicar a adsorção do corante.

As fotografias do SRC com e sem enzimas obtidas pela MEV estão apresentadas na Figura 14, a partir das quais é possível verificar a estrutura morfológica do SRC e a presença de micélio do fungo *Pleurotus ostreatus*. O SRC possui uma superfície irregular e porosa, formada pelo crescimento do fungo que utiliza o substrato como fonte de carbono e energia. Em comparação entre o SRC com e sem enzimas nenhuma alteração morfológica pelo aquecimento do SRC é detectada.

A análise quantitativa de elementos químicos do SRC com e sem enzimas pela técnica de EDS está apresentada na Tabela 11. O SRC é composto basicamente de carbono (C), oxigênio (O) e cálcio (Ca). Apenas uma pequena porcentagem de magnésio (Mg) foi detectada no SRC em um dos pontos analisados. A presença de Ca no SRC pode ser atribuída ao carbonato de cálcio adicionado ao substrato para a neutralização da acidez. Alhujaly et al. (2018) também verificaram que C, O e Ca são os elementos presentes em maior quantidade no SRC.

Figura 14 - Fotografias de MEV do SRC sem enzimas, aumento de 200x (A) e 1000x (B). SRC com enzimas, aumento de 200x (C), 1000x (D).



Fonte: Elaborado pela autora.

Tabela 11 - Análise de EDS do SRC com e sem enzimas.

Elemento	Ponto	Porcentagens em massa (%)	
		SRC sem enzima	SRC com enzima
C	1	78,92	83,96
	2	82,47	87,44
O	1	8,36	6,14
	2	6,52	5,99
Ca	1	12,71	9,26
	2	11,00	6,12
Mg	1	-	0,64
	2	-	0,45

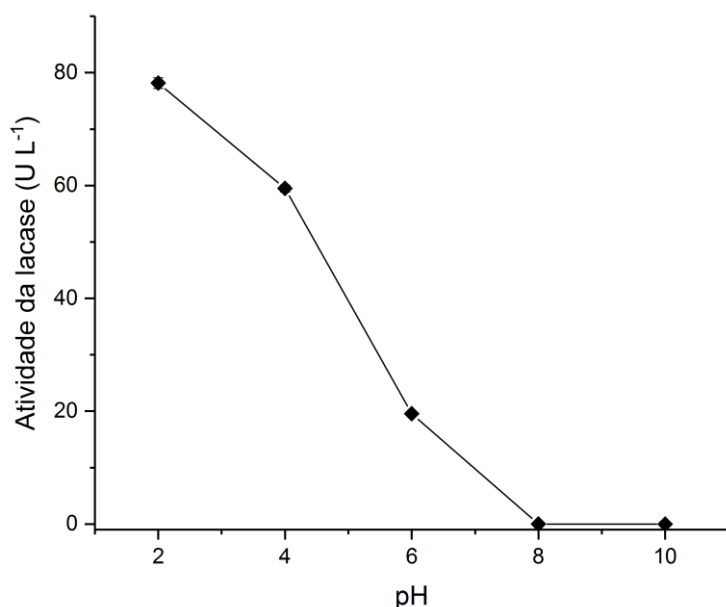
Fonte: Elaborado pela autora.

## 4.2 CARACTERIZAÇÃO DA LACASE

A atividade da lacase proveniente do SRC foi avaliada na faixa de pH 2 a 10 com o substrato ABTS (Figura 15). Os resultados indicam que a lacase apresenta atividade em níveis de pH ácidos (2 a 6) e é inativada em pH básicos (8 a 10). A atividade da lacase reduziu de 78,14 U L<sup>-1</sup> em pH 2 a 19,58 U L<sup>-1</sup> em pH 6. Já é consolidado que as enzimas lacase

necessitam de um ambiente ácido para a sua atividade catalítica ideal, assim como verificado no presente estudo.

Figura 15 - Efeito do pH na atividade da lacase.



Fonte: Elaborado pela autora.

O efeito do pH na atividade da lacase é resultado das alterações na reação ocasionadas pelo substrato, oxigênio ou pela própria enzima (EL-BATAL et al., 2015). A ausência de atividade da lacase em pH básico pode ser atribuída aos ânions hidróxido (OH<sup>-</sup>) presentes em maior quantidade, os quais se ligam ao T2/T3 da lacase, interrompendo a transferência interna de elétrons entre os centros T1 e T2/T3 (Figura 3) (ZHUO et al., 2018).

Tanto o excesso de OH<sup>-</sup> como de H<sup>+</sup> podem causar o rompimento das ligações de hidrogênio e as pontes de dissulfeto nos sítios carregados da lacase, reduzindo a capacidade funcional da enzima. Esses efeitos opostos induzem a um perfil do pH da lacase em forma típica de um sino, com baixa atividade em valores extremos de pH (SAOUDI; GHAOUAR, 2019). No entanto, este estudo mostrou que em pH 2,0 a lacase mantém sua atividade no nível mais alto.

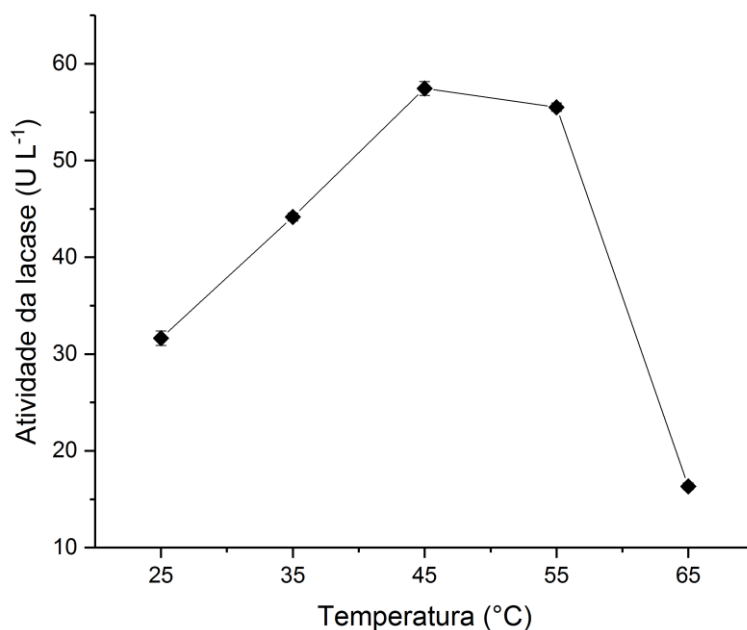
O pH ideal da lacase também é altamente depende do substrato e para o ABTS o pH ótimo geralmente está entre 3 e 5 (HEINZKILL et al., 1998). Entretanto, outras lacases apresentaram um pH ótimo inferior a 3 com ABTS, corroborando com a lacase proveniente do SRC. Uma das isoenzimas recombinantes de *Pleurotus ostreatus* apresentou pH ótimo igual a 2,5 (ZHUO et al., 2018), semelhante à isoenzima produzida por *Pleurotus sajor-caju* que teve maior atividade em pH 2,4 (BETTIN et al., 2019). A lacase do fungo de

podridão branca *Cerrena unicolor* obteve um pH ótimo de 2,6 e foi totalmente inativa em pH superior a 6,6.

Embora o pH 2 tenha promovido a mais alta atividade da lacase, o pH extremo pode reduzir a estabilidade da enzima e não é característico de efluentes têxteis (Tabela 4). Assim, o pH 4 foi escolhido como o valor de pH ideal para experimentos posteriores.

A Figura 16 apresenta o efeito da temperatura de 25°C a 65°C na atividade da lacase. A maior faixa de atividade da lacase (57,45 U L<sup>-1</sup> a 55,50 U L<sup>-1</sup>) foi obtida com temperaturas de 45°C a 55°C. Esses valores estão de acordo com as temperaturas ótimas de 40-70°C para as enzimas ligninolíticas fúngicas (ZHUO et al., 2018). A temperatura do efluente têxtil é muito variável, mas a temperatura típica fica na faixa de 35°C a 45°C, incluindo a temperatura de maior atividade enzimática da lacase do SRC (GHALY et al., 2013).

Figura 16 - Efeito da temperatura na atividade da lacase.



Fonte: Elaborado pela autora.

A redução da atividade da lacase em temperatura superior a 55°C pode estar associada à interrupção da estrutura terciária e alteração conformacional do sítio ativo da enzima. A atividade de uma lacase de *Pleurotus ostreatus* MTCC 142 também reduziu em temperaturas superiores a 55°C, mas apresentou alta atividade na faixa de 35°C a 55°C (DAS et al., 2016). A temperatura ideal da lacase de *Pleurotus ostreatus* estava na faixa de 30-50°C e uma rápida perda da atividade em temperaturas superiores a 60°C foi atribuída à ruptura da

estrutura da lacase (EL-BATAL et al., 2015). Semelhante à lacase do SRC, a atividade da lacase de *Agaricus bisporus* aumentou gradualmente com a elevação da temperatura até atingir a máxima atividade em 55°C. Esse comportamento foi associado ao aumento da energia cinética das moléculas pela elevação da temperatura, o que resultou na maior interação do substrato ABTS com os sítios ativos da enzima (OTHMAN et al., 2018).

O modelo de Michaelis-Menten foi avaliado utilizando o substrato ABTS (0,1 a 2 mM) em pH 4 e 45°C na ausência e presença de diferentes concentrações dos inibidores NaCl e Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, e os parâmetros cinéticos estão apresentados na Tabela 12. A lacase proveniente do SRC apresentou um K<sub>m</sub> de 0,264 mM e V<sub>máx</sub> de 117,95 μmol L<sup>-1</sup> min<sup>-1</sup>. O baixo valor de K<sub>m</sub> infere alta afinidade da lacase com o substrato ABTS e está na faixa de 0,004 a 0,77 mM para a oxidação de ABTS por lacases fúngicas (BALDRIAN, 2006).

Tabela 12 - Parâmetros cinéticos da lacase usando ABTS como substrato.

	<b>Inibidor</b>	<b>K<sub>i</sub> (mM)</b>	<b>K<sub>m</sub> (mM)</b>	<b>V<sub>máx</sub> (μmol L<sup>-1</sup> min<sup>-1</sup>)</b>	<b>R<sup>2</sup></b>	<b>Inibição (%)</b>
NaCl	0 mM	-	0,313	119,03	0,99562	-
	1 mM	4,440	0,384	116,05	0,999	4,12
	2,5 mM	6,371	0,436	112,33	0,99976	7,67
	5 mM	10,169	0,468	108,04	0,99813	11,81
	7,5 mM	7,960	0,609	106,07	0,99716	17,02
	10 mM	8,959	0,663	101,31	0,99544	21,61
Na <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	0 mM	-	0,215	116,88	0,99425	-
	1 mM	-	0,199	117,85	0,994	-
	2,5 mM	-	0,210	119,12	0,99252	-
	5 mM	-	0,195	117,07	0,9933	-
	7,5 mM	-	0,194	117,57	0,99175	-
	10 mM	-	0,190	117,38	0,99165	-
Média	0 mM	-	0,264	117,95	0,994935	-

Fonte: Elaborado pela autora.

Segundo Das et al. (2016) a reação entre o ABTS e a lacase de *Pleurotus ostreatus* resultou em um valor de K<sub>m</sub> superior (0,52 mM). Um valor de Km inferior (0,157 mM) foi obtido para a lacase de *Pleurotus pulmonarius* (BEHRENS et al., 2017). Valores próximos ao K<sub>m</sub> de 0,264 mM obtido para lacase do SRC foram verificados para a lacase do fungo basidiomiceto *Steccherinum murashkinskyi* (0,275 mM) (GLAZUNOVA et al., 2018) e *Trametes versicolor* (0,29 mM) (LI et al., 2014).



A alta  $V_{\text{máx}}$  ( $117,95 \mu\text{mol L}^{-1} \text{min}^{-1}$ ) da lacase do SRC indica que as enzimas são ativas no processo de conversão do substrato em produto. Menores  $V_{\text{máx}}$  foram obtidos pela lacase de *Pleurotus ostreatus* ( $22 \mu\text{mol min}^{-1}$ ) (DAI et al., 2016) e de *Pleurotus florida* ( $0,07 \mu\text{mol min}^{-1}$ ) (KALAIARASAN; ARULKUMAR; PALVANNAN, 2014). Valores elevados de  $V_{\text{máx}}$  foram obtidos para a lacase de *Pleurotus ostreatus* ( $303,25 \text{ mmol min}^{-1}$ ) (LIU et al., 2009) e de *Trametes pubescens* ( $9921 \mu\text{mol min}^{-1}$ ) (LASSOUANE et al., 2019).

As Figura 17 e Figura 18 apresentam o modelo de Michelis-Menten em concentrações de NaCl e de  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  que variaram de 0 a 10 mM, respectivamente. A velocidade inicial de reação aumentou rapidamente em baixas concentrações de substrato, tendendo à saturação em altas concentrações de ABTS.

Em relação aos sais avaliados como inibidores, o NaCl promoveu uma inibição da atividade da lacase, com maior intensidade à medida que a concentração de NaCl foi aumentada (Figura 17). A inibição da lacase pelo NaCl pode estar associada ao fato de que o cloreto impede a transferência de elétrons do substrato para o cobre do Tipo 1 ou deste para o cobre do Tipo 3 da estrutura da lacase (CHAMPAGNE; NESHEIM; RAMSAY, 2013). Enquanto a velocidade de reação foi a mesma na ausência e na presença de diferentes concentrações de  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ , o que infere que este sal não se caracteriza como um inibidor da lacase (Figura 18).

Assim como nesse estudo, Zilly et al. (2011) também verificaram que o NaCl inibiu a lacase do fungo *Ganoderma lucidum* mesmo em baixas concentrações e o  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  promoveu uma estimulação leve. Os autores atribuíram esse estímulo ao aumento da afinidade da enzima pelo substrato devido a uma pequena diminuição no valor de  $K_m$ , mas não interferiu na aceleração da reação catalítica, pois o  $V_{\text{máx}}$  não foi afetado. Diferentemente desse estudo, para a lacase do SRC,  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  promoveu uma breve diminuição do  $K_m$  e um aumento da  $V_{\text{máx}}$  (Tabela 12).

Zilly et al. (2011) também afirmaram que a inibição causada pelo NaCl foi do tipo misto, que envolve a inibição competitiva e a não-competitiva, pois ao mesmo tempo que reduziu a afinidade da lacase pelo ABTS (aumento do  $K_m$ ) diminuiu a velocidade da reação (decréscimo do  $V_{\text{máx}}$ ). Conforme apresentado na Tabela 12 verifica-se que esse comportamento também pode ser observado no presente estudo. Da mesma forma, Yang et al. (2016) constataram que o NaCl foi um inibidor do tipo misto para lacase livre e imobilizada.

Em contrapartida, na representação de Lineweaver-Burk as linhas referentes às concentrações de NaCl e à ausência de inibidor se cruzam na mesma área da abscissa, mas

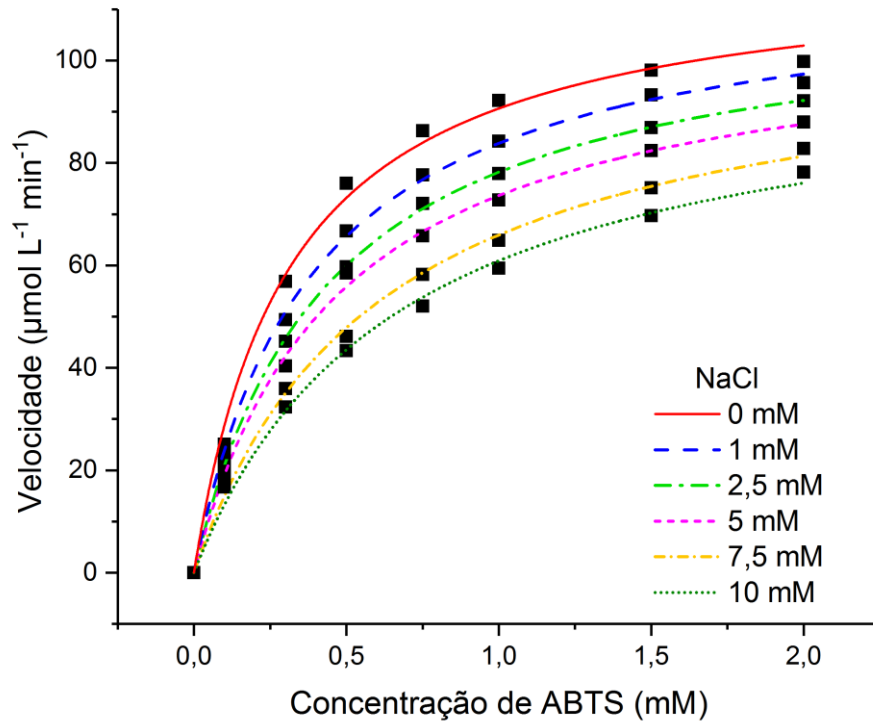
interceptam diferentes áreas da ordenada, inferindo uma inibição não-competitiva (Figura 19). Nesse tipo de inibição, o inibidor se liga à enzima em um sítio diferente do sítio ativo, permitindo a ligação normal do substrato com a enzima, no entanto ocorre a inativação completa da enzima, o que impede a conversão do substrato em produto. Com a diminuição da quantidade de enzimas ativas no meio à medida que o inibidor se liga à enzima, o  $V_{m\acute{a}x}$  é reduzido, enquanto a  $K_m$  não é afetado, pois o inibidor não bloqueia o sítio ativo da enzima (PELLEY, 2012). No entanto, verificou-se que o  $K_m$  da lacase aumentou na presença de NaCl. Em contraste, Enaud et al. (2011) constataram uma inibição competitiva entre o ABTS e NaCl pela representação de Lineweaver-Burk, mas uma inibição mista conforme o modelo de Cornish Bowden.

A inibição da lacase foi de 4,12% em 1 mM a 21,61% em 10 mM de NaCl, com ABTS na concentração de 2 mM. Em comparação com esses resultados, maiores percentuais de inibição, aproximadamente 40% e 60%, foram verificados para a lacase comercial de *Trametes versicolor* nas concentrações de 5 e 10 mM de NaCl, respectivamente (CHAIRIN et al., 2014). Duas isoenzimas de lacase produzidas pelo fungo de podridão branca *Pycnoporus* sp. também foram inibidas em maior extensão (19,16% e 8,48%) com 1 mM de NaCl. (WANG et al., 2010).

Os valores de  $K_i$  variaram de 4,44 a 10,169 mM para concentrações de 1 mM e 5 mM de NaCl, respectivamente (Tabela 12). Enquanto o percentual de inibição aumentou à medida que a concentração de NaCl foi aumentada, o  $K_i$  não seguiu uma tendência e apresentou maior valor na concentração média de NaCl testada (5 mM). Maiores valores de  $K_i$  indicam uma menor afinidade da lacase com o NaCl.

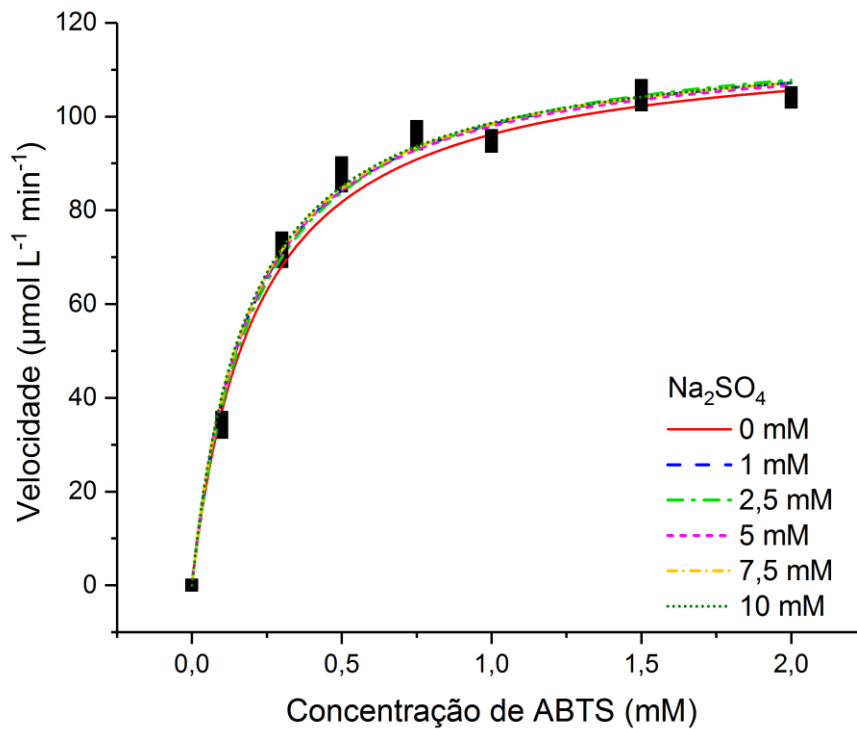
A concentração de cloretos nos efluentes têxteis é variável e a maior parte está associada ao uso de NaCl no processo produtivo. Conforme relatado por Valh et al. (2011) a concentração de cloretos nos efluentes têxteis está na faixa de 200 a 6000 mg L<sup>-1</sup> (Tabela 4). O efluente têxtil sintético utilizado nesse estudo apresentava uma concentração de 250 mg L<sup>-1</sup>, que corresponde a 4,3 mM de NaCl, portanto presume-se que possa ter ocorrido uma inibição entre 7,67 e 11,81%. Considerando a maior concentração de NaCl estudada para a inibição da lacase, 10 mM que equivalem a 584,4 mg L<sup>-1</sup>, seria obtida uma inibição de apenas 21,61% da atividade da lacase, assumindo apenas o efeito do NaCl. Porcentagens mais altas de inibição podem ser evitadas dispondo a etapa de degradação do corante por enzimas SRC após a remoção dos sais na estação de tratamento.

Figura 17 - Modelo de Michaelis-Menten com diferentes concentrações de NaCl.



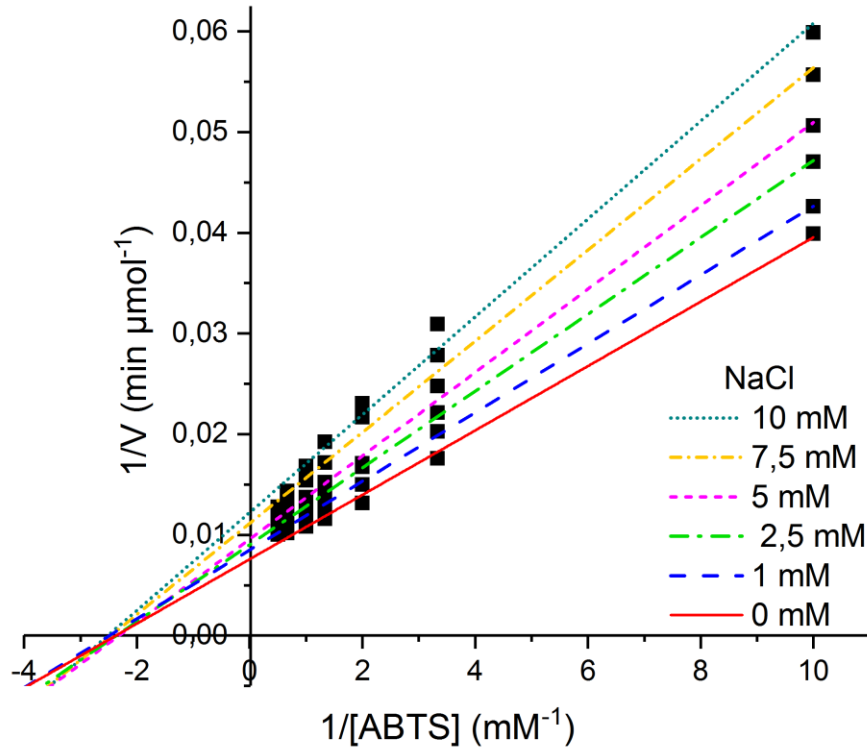
Fonte: Elaborado pela autora.

Figura 18 - Modelo de Michaelis-Menten com diferentes concentrações de  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ .



Fonte: Elaborado pela autora.

Figura 19 – Diagrama de Lineweaver-Burk.



Fonte: Elaborado pela autora.

### 4.3 ENSAIOS DE DESCOLORAÇÃO

#### 4.3.1 Planejamento fatorial

Um delineamento fatorial foi realizado para avaliar o efeito dos fatores pH, temperatura e concentração de SRC e suas interações na adsorção e degradação enzimática dos corantes têxteis e na atividade da lacase. A Tabela 13 apresenta as condições de cada ensaio e os respectivos resultados. Uma comparação visual entre as diferentes condições testadas pode ser observada na Figura 20.

Utilizando o SRC como adsorvente e fonte de enzimas foi obtido um percentual máximo de remoção de 57,22% em pH 8, 25°C e 100 g L<sup>-1</sup> (ensaio 6). Uma remoção semelhante de 56,41% foi constatada na mesma condição exceto com uma temperatura de 45°C (ensaio 8). No entanto, nessas condições a adsorção foi o único mecanismo responsável pela remoção dos corantes e nenhum percentual de degradação enzimática foi detectado.

Tabela 13 - Matriz do delineamento fatorial e os resultados da eficiência de remoção de corantes e atividade da lacase.

Ensaio	pH	Temperatura (°C)	SRC (g L <sup>-1</sup> )	Remoção de cor (%)			Atividade da lacase (U L <sup>-1</sup> )
				Adsorção + Degradação enzimática	Adsorção	Degradação enzimática	
1	4	25	30	23,29	16,50	6,79	23,91
2	8	25	30	30,14	27,05	3,09	23,00
3	4	45	30	14,26	14,18	0,07	9,48
4	8	45	30	25,58	25,58	0	10,83
5	4	25	100	50,94	36,42	14,52	52,15
6	8	25	100	57,22	57,22	0	58,09
7	4	45	100	42,35	37,72	4,64	49,11
8	8	45	100	56,41	56,40	0,01	26,42
9	6	35	65	38,06	37,48	0,57	30,30

Fonte: Elaborado pela autora.

Figura 20 - Comparação visual da remoção de cor resultante do planejamento fatorial (A: Adsorção, A+D: Adsorção e Degradação Enzimática, e B: Efluente Bruto).



Fonte: Elaborada pela autora.

A maior contribuição da degradação enzimática na remoção dos corantes têxteis foi de 14,18% em pH 4, 25°C e 100 g L<sup>-1</sup> (ensaio 5), seguida de 6,79% nas mesmas condições de pH e temperatura, mas com 30 g L<sup>-1</sup> de SRC (ensaio 1). A maior atividade da lacase foi de 58,09 U L<sup>-1</sup> no ensaio 6, justamente no qual não foi identificada a degradação enzimática, enquanto 52,15 U L<sup>-1</sup> correspondeu a maior degradação enzimática (ensaio 5).

Não há correlação direta entre a atividade da lacase e a degradação do corante devido às complexas interações que as variáveis estudadas têm na reação. Assim, altas atividades enzimáticas podem resultar em baixa degradação do corante porque as condições experimentais impediram as enzimas de usar os corantes como substrato em pH 8 mas não afetam a atividade enzimática em pH 4,5 e com o ABTS como substrato, que são as condições otimizadas para os ensaios de atividade da lacase. Este aspecto mostra a importância de

avaliar a atividade enzimática e a catálise enzimática utilizando substratos reais como corantes industriais.

Uma equação do modelo foi desenvolvida com base nos coeficientes de regressão (Apêndices A, C, E e F). A remoção total (adsorção + degradação enzimática) é representada pela Equação 20, a adsorção pela Equação 21, degradação enzimática pela Equação 22 e a atividade da lacase pela Equação 23. A interação T x SRC foi rejeitada para a atividade da lacase e os mecanismos isolados de adsorção e degradação por ser estatisticamente não significativa e causar uma diminuição do coeficiente de determinação ( $R^2$ ) ajustado do modelo. Pelos mesmos motivos, para a atividade da lacase o efeito do pH e da interação pH x SRC também não foram considerados. Outros efeitos mesmo não significativos foram mantidos, pois causavam uma redução do  $R^2$  ajustado quando removidos.

Os  $R^2$  e os  $R^2$  ajustados foram de 0,996 e 0,986 para remoção total, 0,993 e 0,982 para adsorção, 0,930 e 0,814 para degradação enzimática, 0,921 e 0,873 para a atividade da lacase. Os valores de  $R^2$  para ambos os modelos foram maiores que 0,9, o que indica uma alta correlação e um bom ajuste entre as respostas observadas e previstas. Portanto, o modelo é confiável para a obtenção dos percentuais de remoção para ambos os mecanismos e a atividade da lacase. Os altos valores de  $R^2$  ajustado também confirmam a significância do modelo. Os resultados do ANOVA para os modelos experimentais estão apresentados nos Apêndices B, D, F e H.

$$\begin{aligned} \text{Remoção (\%)}_{\text{Adsorção+Degradação}} & \quad (20) \\ & = 37,17 + 4,35 \times \text{pH} - 3,34 \times T + 14,67 \times \text{SRC} + 1,06 \times \text{pH} \times T \\ & \quad + 0,74 \times \text{pH} \times \text{SRC} + 0,99 \times T \times \text{SRC} \end{aligned}$$

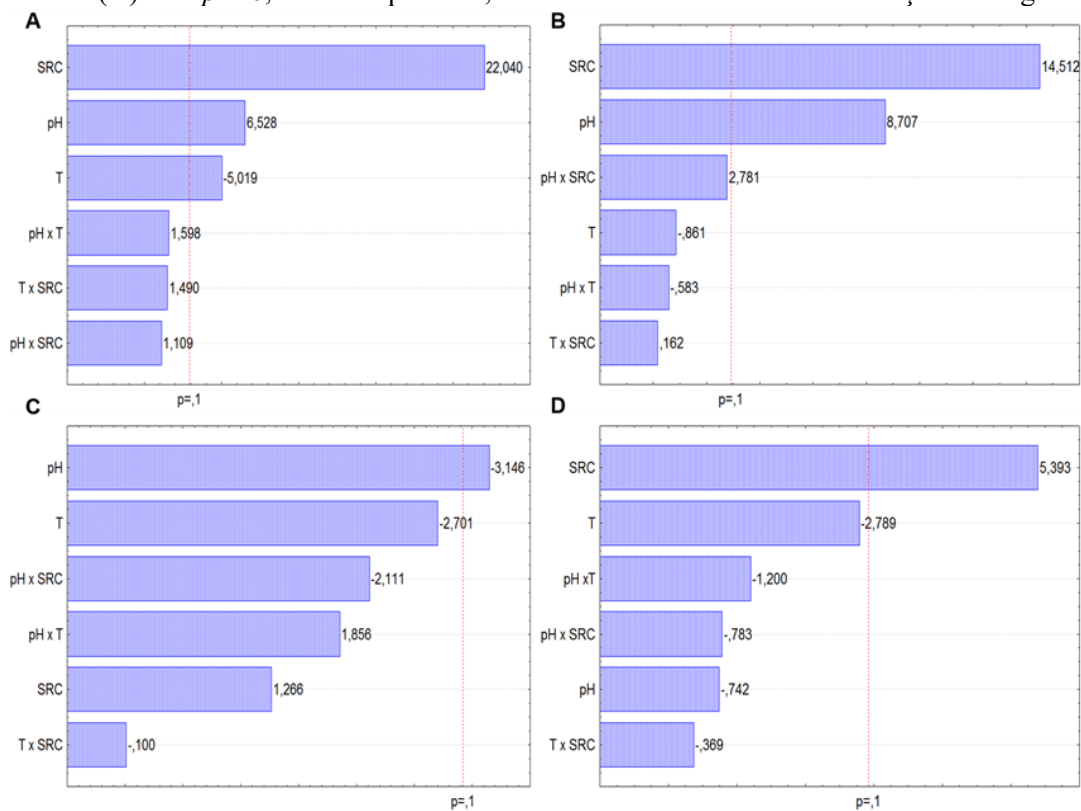
$$\begin{aligned} \text{Remoção (\%)}_{\text{Adsorção}} & \quad (21) \\ & = 34,63 + 8,06 \times \text{pH} - 0,79 \times T + 13,44 \times \text{SRC} - 0,54 \times \text{pH} \times T \\ & \quad + 2,57 \times \text{pH} \times \text{SRC} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Remoção (\%)}_{\text{Degradação}} & \quad (22) \\ & = 3,30 - 2,86 \times \text{pH} - 2,46 \times T + 1,15 \times \text{SRC} + 1,69 \times \text{pH} \times T \\ & \quad - 1,92 \times \text{pH} \times \text{SRC} \end{aligned}$$

$$\text{Atividade da lacase (U L}^{-1}\text{)} = 31,48 - 7,66 \times T + 14,82 \times \text{SRC} + 3,30 \times \text{pH} \times T \quad (23)$$

A Figura 21 apresenta o gráfico de Pareto que permite a identificação dos efeitos significativos a um nível de significância de 90% ( $p = 0,1$ ). Tanto para a remoção total (adsorção + degradação enzimática) como para os mecanismos separados de adsorção e degradação enzimática e para a atividade da lacase, as interações das variáveis não foram significativas, apenas as variáveis isoladas causaram alterações significativas nas respostas. Para a remoção total com o SRC, as variáveis que exerceram um efeito significativo e positivo foram a concentração de SRC seguida do pH e a temperatura que causou um efeito negativo. Da mesma forma para a adsorção, porém a temperatura não foi significativa e a interação do pH com o SRC estava próxima de causar um efeito positivo significativo.

Figura 21 - Diagrama de pareto para os valores absolutos dos efeitos para a remoção dos corantes pela Adsorção e Degradação enzimática (A), Adsorção (B), Degradação enzimática (C) e Atividade da Lacase (D) com  $p = 0,1$ . T: Temperatura, SRC: Substrato Residual da Produção de Cogumelos.



Fonte: Elaborado pela autora.

Para a degradação enzimática e a atividade da lacase apenas um efeito foi significativo, o pH e a concentração de SRC, respectivamente. Apesar dos efeitos não serem significativos, uma correlação entre a atividade da lacase e a degradação enzimática pode ser constatada, pois as variáveis causaram o mesmo efeito tanto na lacase como na degradação dos corantes por essas enzimas, com exceção do pH x T que na degradação causou um efeito positivo e na atividade da lacase um efeito negativo. As variáveis isoladas pH e T e as interações pH x SRC e SRC x T promoveram um efeito negativo, já a concentração de SRC um efeito positivo.

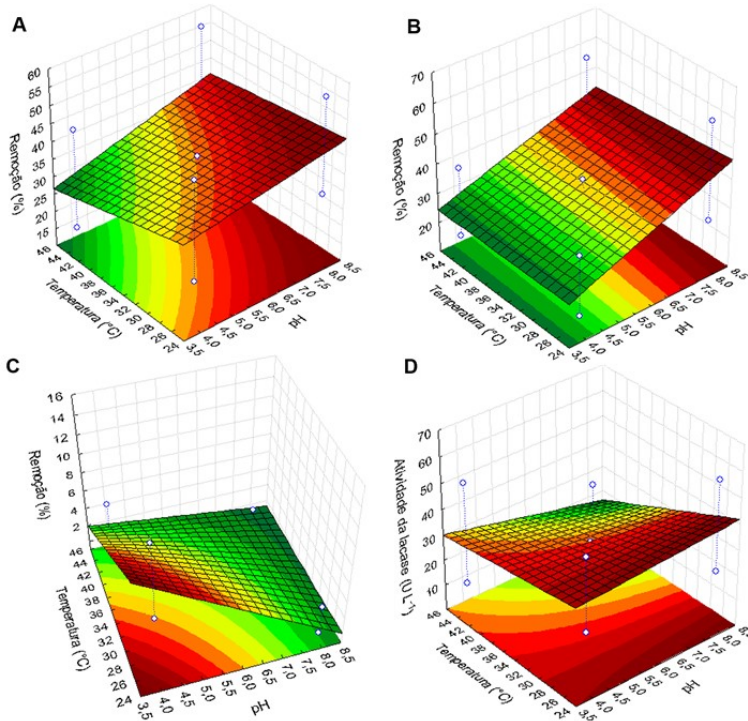
Em comparação, a concentração do SRC e a temperatura causaram um efeito positivo tanto para a adsorção como para a degradação enzimática. Porém, o pH causou um efeito positivo para a adsorção, enquanto a degradação enzimática é favorecida em baixos valores de pH. Como o efluente têxtil pode sofrer oscilações de pH devido aos diferentes processos e corantes envolvidos no processo industrial, o uso de SRC pode proporcionar a remoção do corante em uma faixa mais ampla de pH, pois o favorecimento da adsorção ou degradação em função do pH complementam a remoção total.

As superfícies de resposta plotadas mostram os efeitos da interação de dois fatores com o terceiro mantido no nível zero. A Figura 22 apresenta o efeito da interação dos fatores pH e temperatura para cada resposta avaliada com  $65 \text{ g L}^{-1}$  de SRC. Uma remoção total de aproximadamente 45% dos corantes têxteis pode ser obtida em pH alto e baixa temperatura. Para a adsorção, maiores percentuais de remoção são observados também em pH elevado, mas independe da temperatura. Já a degradação enzimática é favorecida em baixas temperaturas com pH ácido. A atividade da lacase na presença do corante é elevada em uma ampla faixa de pH e temperatura, porém a máxima atividade é alcançada em temperatura e pH baixos.

A Figura 23 ilustra as superfícies de resposta para a interação das variáveis concentração de SRC e pH em uma temperatura de  $35^\circ\text{C}$ . Tanto a remoção total como a adsorção foram maiores com o aumento da concentração de SRC e do pH, obtendo um percentual de remoção dos corantes acima de 60%. O aumento da concentração de SRC e a redução do pH favoreceram a degradação enzimática, resultando em uma remoção aproximada de 12%. Maiores concentrações de SRC também contribuíram para uma elevada atividade da lacase ( $55 \text{ U L}^{-1}$ ) em baixo pH, apesar da menor influência desse fator.

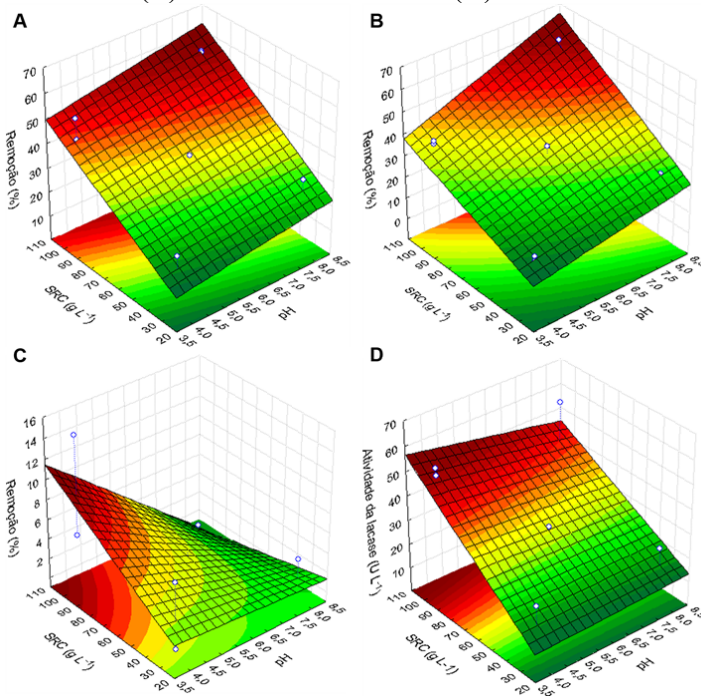


Figura 22 - Superfícies de resposta com a interação das variáveis pH e temperatura para as respostas remoção de cor pela Adsorção e Degradação enzimática (A), Adsorção (B), Degradação Enzimática (C) e Atividade da Lacase (D).



Fonte: Elaborado pela autora.

Figura 23 - Superfícies de resposta com a interação das variáveis concentração de SRC e pH para as respostas remoção de cor pela Adsorção e Degradação enzimática (A), Adsorção (B), Degradação Enzimática (C) e Atividade da Lacase (D).

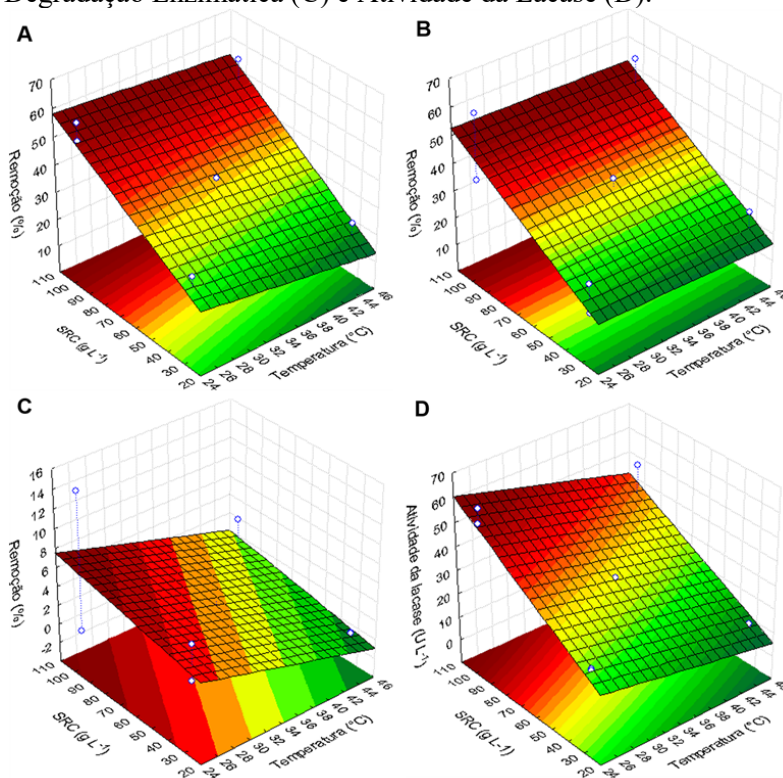


Fonte: Elaborado pela autora.

As superfícies de respostas apresentadas na Figura 24 ilustram os efeitos da interação dos fatores concentração de SRC e temperatura em pH 6. A remoção total foi de aproximadamente 60% em maiores concentrações de SRC e baixa temperatura. Uma adsorção próxima de 50% foi obtida em maiores concentrações de SRC, mas sem efeito da temperatura. Com o aumento da concentração de SRC e diminuição da temperatura, a degradação enzimática é favorecida, assim como a atividade da lacase.

Considerando que as interações dos fatores avaliados não influenciaram significativamente em ambas as respostas e que é necessário melhor compreender e identificar a contribuição precisa da adsorção e da degradação enzimática em diferentes condições, um estudo do efeito das variáveis isoladas pH, temperatura e concentração de SRC foi realizado posteriormente.

Figura 24 - Superfície de resposta com a interação das variáveis concentração de SRC e Temperatura para as respostas remoção de cor pela Adsorção e Degradação enzimática (A), Adsorção (B), Degradação Enzimática (C) e Atividade da Lacase (D).

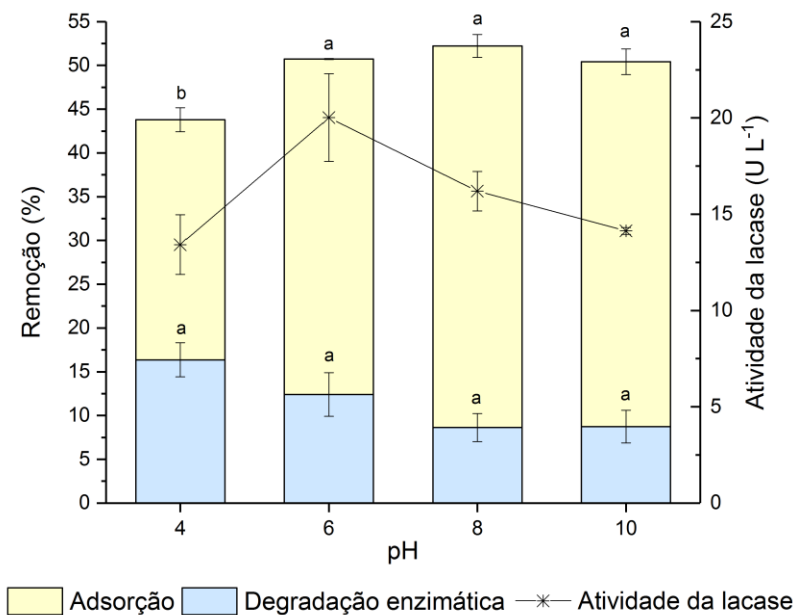


Fonte: Elaborado pela autora.

### 4.3.2 Efeito das variáveis isoladas

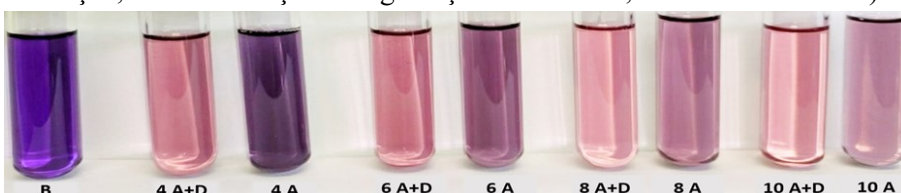
O efeito do pH na adsorção e degradação enzimática dos corantes têxteis utilizando o SRC foi avaliado em  $65 \text{ g L}^{-1}$  de SRC,  $25^\circ\text{C}$  e os resultados estão apresentados na Figura 25. A remoção total dos corantes variou de 43,79 a 52,24% em pH 4 e 8, respectivamente. O maior percentual de degradação enzimática foi 16,36% em pH 4 e diminuiu com o aumento do pH, mas não ocorreu diferença significativa, enquanto que a atividade da lacase não apresentou grande variação apenas um acréscimo no pH 6 ( $20 \text{ U L}^{-1}$ ). Ao contrário da degradação, a adsorção foi favorecida em pH alcalino e atingiu uma remoção máxima de 43,60% em pH 8, sem diferença significativa entre pH 6 a 10. Uma comparação visual entre a cor das amostras tratadas por ambos os processos simultâneos de adsorção e degradação enzimática e somente adsorção pode ser observada na Figura 26.

Figura 25 - Efeito do pH na adsorção e degradação enzimática dos corantes têxteis utilizando o SRC.



Fonte: Elaborado pela autora.

Figura 26 - Comparação visual da remoção dos corantes têxteis em diferentes valores de pH (A: Adsorção, A+D: Adsorção e Degradação Enzimática, e B: Efluente Bruto).



Fonte: Elaborado pela autora.

Considerando que os azo corantes utilizados neste estudo são menos suscetíveis à degradação enzimática devido à estrutura química complexa dos corantes, os percentuais de degradação obtidos são considerados promissores, uma vez que foram submetidos a uma mistura de dois corantes azo sem qualquer tipo de purificação ou concentração enzimática.

A maior degradação enzimática dos corantes em pH 4 pode ser associada ao fato da lacase proveniente do SRC apresentar alta atividade nesse pH, como verificado no ensaio de caracterização da enzima em que o ABTS foi utilizado como substrato (Figura 15), apesar desse comportamento não ser observado na presença do corante (Figura 25). Esse resultado pode ser explicado pela medição da atividade da lacase ter sido realizada após duas horas de contato, portanto não corresponde necessariamente a atividade da lacase que resultou nos percentuais de degradação detectados. Além disso, outras enzimas presentes no SRC podem estar envolvidas no processo de degradação dos corantes.

Corroborando com esses resultados, as enzimas extraídas do SRC de *Pleurotus sajor-caju* (LiP como enzima principal) apresentaram pH ótimo na faixa de 4 e 4,5 para degradação dos corantes azo vermelho do congo, azul tripano e preto amido (SINGH et al., 2010) e para a lacase de *Trametes trogiies* o pH 4 era ideal para a degradação do corante preto reativo 5 (DAÂSSI et al., 2012). Já o caldo enzimático bruto contendo lacase e MnP de *Pleurotus sajor-caju* degradou o preto reativo 5 em maior extensão no pH 5 (FERNANDES et al., 2020). Para o corante *levafix brilliant red* E4BA, uma preparação enzimática bruta contendo lacase de *Pleurotus sajor-caju* ( $30 \text{ U L}^{-1}$ ) não foi capaz de degradá-lo em nenhum dos pH avaliados (2,4 a 5,0) (BETTIN et al., 2019).

Como o  $\text{pH}_{\text{PCZ}}$  do SRC é 5,5 (Figura 12), a superfície do adsorvente era carregada positivamente quando o pH do efluente era menor que 5,5, favorecendo a adsorção dos corantes aniônicos devido à atração das cargas, o que explica os altos percentuais de remoção em pH 4. No entanto, ocorreu maior adsorção em valores de pH acima do  $\text{pH}_{\text{PCZ}}$ , indicando que a interação eletrostática não é o único fator envolvido e outros mecanismos também estão promovendo a adsorção. Outros estudos também constataram que a adsorção de corantes têxteis pelo SRC não se deve apenas à interação eletrostática (ALHUJAILY ET AL., 2018; YAN e WANG, 2013).

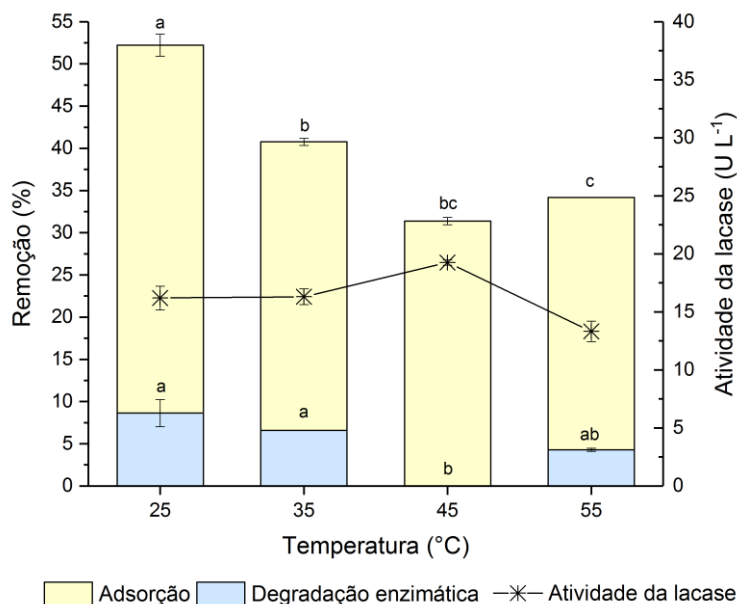
No presente estudo, a adsorção de corantes pela SRC aumentou de 27,43% para 43,60% com aumento do pH de 4 a 8 e diminuiu para 41,69% no pH 10. Já a adsorção de

corantes aniônicos por SRC modificado por surfactante catiônico aumentou no pH 3 a 5 e diminuiu levemente no pH 7 a 10 (ALHUJAILY et al., 2018).

Toptas et al. (2014) verificaram que a adsorção do corante reativo aniônico *levafix braun* E-RN é favorecida em pH ácido, apesar da superfície do SRC estar carregada negativamente. Os autores atribuíram esse resultado ao aumento nos locais de ligação devido à protonação tanto do adsorvente como do corante, resultando na adsorção por interação não eletrostática. Uma remoção de 40% desse corante foi obtida em pH 2 após duas horas de contato. Alhujaily et al. (2020) também verificaram que os corantes aniônicos, inclusive o preto reativo 5, foram adsorvidos em maior extensão em pH ácido, pois o SRC é carregado positivamente favorecendo a interação eletrostática com o grupo  $\text{SO}_3^-$  dos corantes.

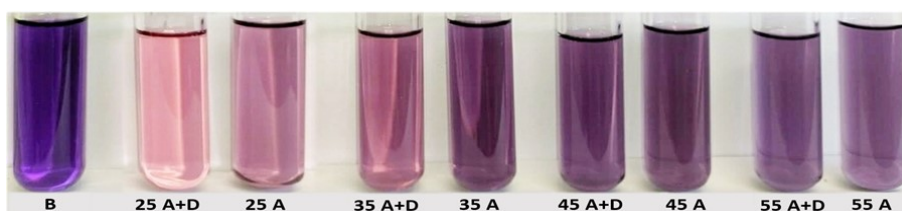
A Figura 27 apresenta o efeito da temperatura na adsorção e degradação enzimática dos corantes presentes no efluente têxtil sintético em pH 8 e  $65 \text{ g L}^{-1}$  de SRC. Tanto para a adsorção como a degradação enzimática, o aumento da temperatura promoveu uma redução no percentual de remoção. A adsorção aumentou significativamente de 29,90% a 43,60% nas temperaturas de  $55^\circ\text{C}$  a  $25^\circ\text{C}$ , respectivamente. A degradação enzimática diminuiu significativamente de 8,63% em  $25^\circ\text{C}$  a zero em  $45^\circ\text{C}$ , enquanto a atividade da lacase apresentou pouca variação e permaneceu entre 13,32 e  $19,25 \text{ U L}^{-1}$ . Uma comparação visual da cor das amostras após tratamento com o SRC em diferentes temperaturas pode ser observada na Figura 28.

Figura 27 - Efeito da temperatura na adsorção e degradação enzimática dos corantes utilizando o SRC.



Fonte: Elaborado pela autora.

Figura 28 - Comparação visual da remoção dos corantes têxteis em diferentes temperaturas (A: Adsorção, A+D: Adsorção e Degradação Enzimática, e B: Efluente Bruto).



Fonte: Elaborado pela autora.

A temperatura ótima de 25°C para a remoção dos corantes pode ser vantajosa, pois está próxima da temperatura ambiente, principalmente em efluentes têxteis que chegam nas estações de tratamento em temperaturas menores do que as habituais. Já para os efluentes mais quentes, será necessário que a etapa de descoloração do efluente com o SRC seja disposta após o resfriamento do efluente para a obtenção de melhores resultados.

Singh et al. (2010) verificaram que a temperatura ideal para a degradação de diferentes corantes pelas enzimas extraídas do SRC estava no intervalo de 30°C a 35°C e uma diminuição da taxa de descoloração foi constatada em temperaturas acima de 35°C. Igualmente, um caldo enzimático de lacase de *Pleurotus sajor-caju* promoveu maior degradação de diferentes classes de corantes nas temperaturas de 30°C e 35°C, resultando em uma remoção de 53,2% do corante *Levafix Brilliant Red E-4BA* em pH 3,2 (BETTIN et al., 2019). Esses autores atribuíram os baixos percentuais de remoção em temperaturas acima de 35°C à desnaturação térmica das enzimas, o que foi observado na lacase do SRC desse estudo já em temperaturas superiores a 25°C no processo de descoloração. Esse resultado indica que na presença do efluente têxtil sintético a lacase é mais sensível a altas temperaturas, pois com o substrato ABTS apenas temperaturas superiores a 55°C levaram a desnaturação das enzimas (Figura 16).

Em contrapartida, maiores percentuais de degradação enzimática de corantes foram obtidos em altas temperaturas. Fernandes et al. (2020) constataram que o caldo enzimático bruto de *Pleurotus sajor-caju* promoveu altos índices de descoloração do corante Preto Reativo 5 (85 a 90%) em uma temperatura entre 35 e 40°C. Para o mesmo corante, maior percentual de degradação enzimática foi obtido a 60°C pela lacase bruta de *Trametes trogii* (DAÂSSI et al., 2012) e a 40°C pela lacase purificada de *Armillaria* sp. F022 (0,5 U mL<sup>-1</sup>) (HADIBARATA et al., 2012).

Em relação à adsorção, sabe-se que o aumento da temperatura promove um aumento da taxa de difusão das moléculas do corante, que ultrapassam a camada limite externa e atingem os poros internos do adsorvente, permitindo que uma maior quantidade de moléculas sejam adsorvidas (AL-QODAH, 2000). Porém, a adsorção dos corantes pelo SRC não foi favorecida pelo aumento da temperatura, o que pode indicar uma natureza exotérmica do processo de adsorção (CHANG et al., 2013). A diminuição do percentual de adsorção com o aumento da temperatura é atribuída ao enfraquecimento das forças adsortivas entre as moléculas do corante e o adsorvente. Além disso, o processo de dessorção pode resultar na obstrução dos poros do SRC pela formação de uma camada de corante na superfície do adsorvente (DALLEL; KESRAOUI; SEFFEN, 2018; KUMAR et al., 2014).

Ao avaliar o potencial dos SRC dos fungos *Pleurotus eryngii* e de *Ganoderma lucidum* como adsorvente dos corantes verde malaquita, safranina T e azul de metileno foi verificado que o aumento da temperatura ocasionou uma redução do percentual de remoção, obtendo máxima eficiência em 15°C (WU et al., 2018, 2019). Diferentemente, um SRC modificado com surfactante catiônico promoveu maior adsorção em temperaturas mais elevadas, no entanto esse aumento foi de apenas 5% de 20°C a 50°C para o corante preto reativo 5 (ALHUJAILY et al., 2018).

O efeito da concentração de SRC de *Pleurotus ostreatus* na adsorção e degradação enzimática dos corantes têxteis está apresentado na Figura 29 e foi realizado nas condições ótimas determinadas anteriormente para a remoção total (pH 8 e 25°C). Concentrações mais altas de SRC resultaram no aumento significativo da adsorção de 43,60% em 65 g L<sup>-1</sup> a 62,86% em 155 g L<sup>-1</sup>, porém não houve diferença significativa nas concentrações de 95 a 155 g L<sup>-1</sup>. Embora a degradação enzimática tenha aumentado de 8,63% em 65 g L<sup>-1</sup> a 12,81% em 155 g L<sup>-1</sup>, essa diferença não foi significativa. Corroborando com os resultados de degradação, a atividade da lacase variou de 16,20 a 34,29 U L<sup>-1</sup> em 65 a 155 g L<sup>-1</sup> de SRC, respectivamente. Uma comparação visual da cor do efluente tratado com diferentes concentrações de SRC pode ser observada na Figura 30.

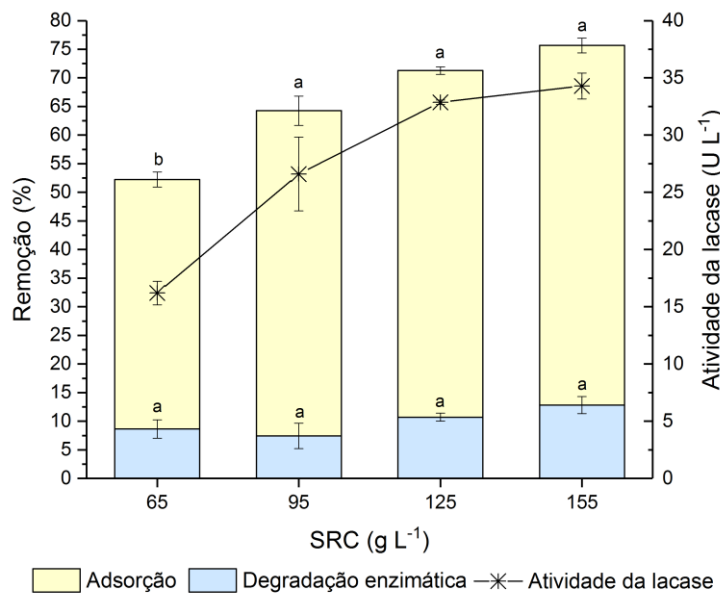
Para diferentes corantes diretos e reativos, a adsorção aumentou em concentrações mais altas do adsorvente SRC. Para o preto reativo 5, a remoção foi de 44% a 100% com o aumento da dose de 8 para 30 g de SRC seco L<sup>-1</sup>, respectivamente (ALHUJAILY et al., 2020). Uma adsorção máxima de aproximadamente 60% do corante reativo *levafix braun* E-RN foi obtida em 2 g de SRC seco L<sup>-1</sup> (TOPTAS et al., 2014). Para comparação com o



presente estudo, as concentrações de SRC em peso seco são de 27,3 (65 g L<sup>-1</sup>) a 65 g de SRC L<sup>-1</sup> (155 g L<sup>-1</sup>).

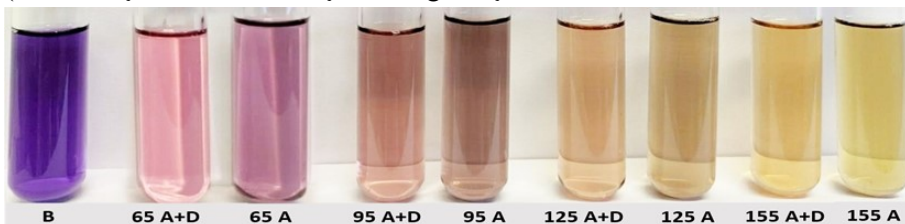
Esses estudos obtiveram maiores percentuais de remoção mesmo em menores concentrações de SRC, o que pode ser atribuído ao fato de o SRC ter sido lavado e seco, o que facilita o contato do corante com os sítios ativos do adsorvente. Além disso, o SRC foi triturado e usado em tamanhos menores, o que resulta em uma maior área superficial, exigindo uma quantidade menor de adsorvente para altas porcentagens de remoção. Porém, o objetivo deste estudo é utilizar SRC sem nenhum tipo de tratamento para preservar e aproveitar a atividade enzimática do resíduo e facilitar sua aplicação em escala real, sendo possível obter uma remoção total de 75,67% com 65 g de SRC seco L<sup>-1</sup>.

Figura 29 - Efeito da concentração de SRC na adsorção e degradação enzimática dos corantes têxteis.



Fonte: Elaborado pela autora.

Figura 30 - Comparação visual da remoção dos corantes têxteis em diferentes concentrações de SRC (A: Adsorção, A+D: Adsorção e Degradação Enzimática, e B: Efluente Bruto).



Fonte: Elaborado pela autora.

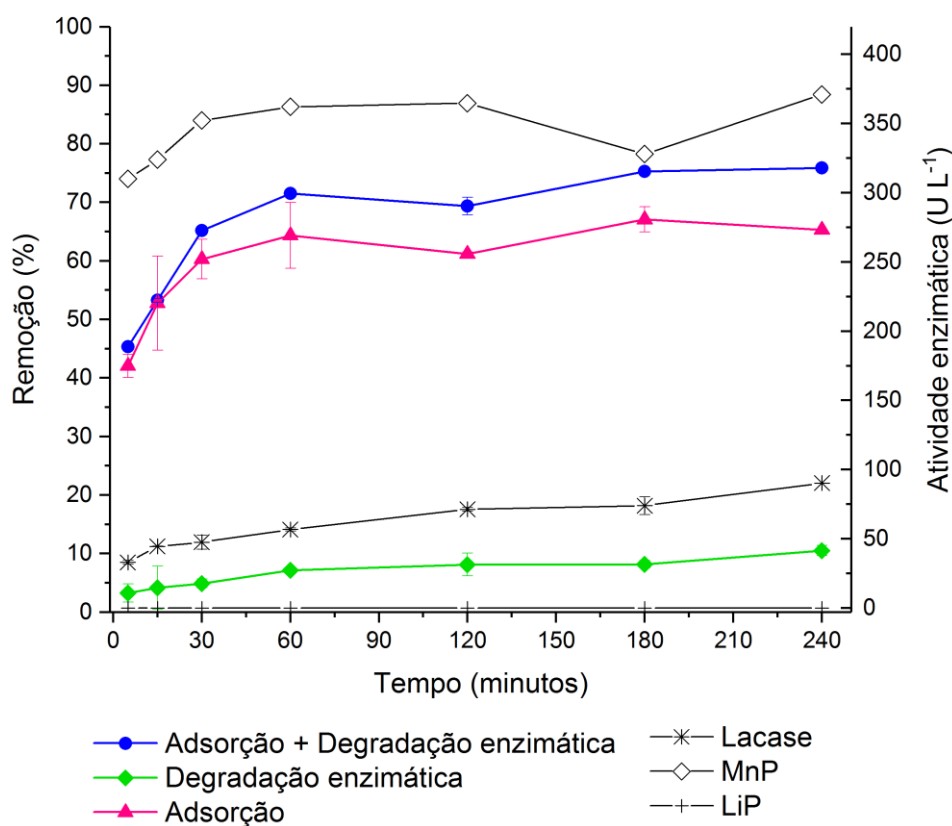


### 4.3.3 Ensaios cinéticos

As Figura 31 e Figura 33 apresentam os percentuais de remoção obtidos para diferentes tempos de contato de 5 a 240 minutos em dois pH, o ótimo para a degradação (pH 4) e o para a adsorção (pH 8) sob 25°C e 125 g L<sup>-1</sup> de SRC, respectivamente. Nesses ensaios, além da atividade da lacase foi determinada a atividade das enzimas peroxidases LiP e MnP. Uma comparação da cor das amostras após os ensaios cinéticos pode ser visualizada na Figura 32 em pH 4 e Figura 34 em pH 8.

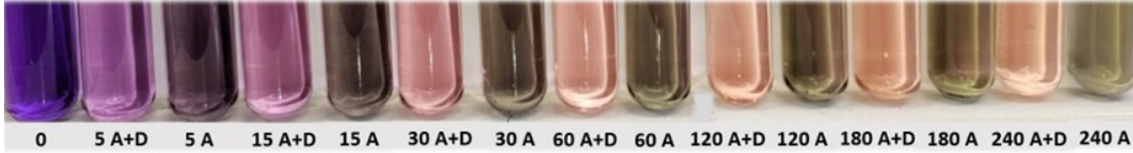
A remoção total foi 31,81% a 63,92% no pH 8 e de 45,44 a 75,85% no pH 4 após 5 e 240 minutos de contato. A degradação enzimática ocorreu apenas em pH 4 e contribuiu com 10,53% de remoção em 240 minutos. Maior atividade enzimática da lacase (90,25 U L<sup>-1</sup>) e de MnP (371,04 U L<sup>-1</sup>) foram constatadas em pH 4 ao final da reação, enquanto que a atividade da LiP não foi detectada em ambos os pH.

Figura 31 - Ensaio cinético de descoloração em pH 4.



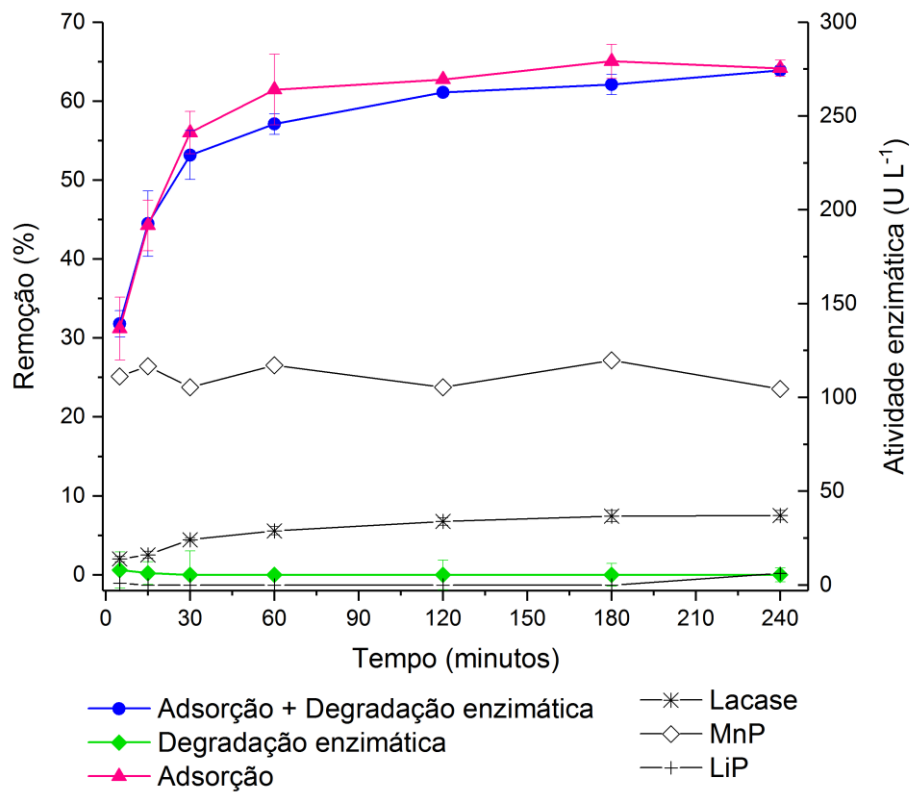
Fonte: Elaborado pela autora.

Figura 32 - Comparação visual da remoção dos corantes têxteis em diferentes tempos de contato em pH 4 (A: Adsorção, A+D: Adsorção e Degradação Enzimática, e 0: Efluente Bruto).



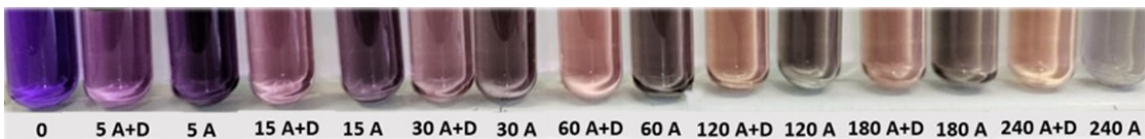
Fonte: Elaborado pela autora.

Figura 33 - Ensaio cinético de descoloração em pH 8.



Fonte: Elaborado pela autora.

Figura 34 - Comparação visual da remoção dos corantes têxteis em diferentes tempos de contato em pH 8 (A: Adsorção, A+D: Adsorção e Degradação Enzimática, e 0: Efluente Bruto).



Fonte: Elaborado pela autora.

De acordo com a cinética a adsorção aumentou abruptamente nos primeiros 60 minutos e estabilizou, provavelmente devido à saturação dos poros do adsorvente. Por outro lado, a atividade da lacase e a degradação enzimática aumentaram linearmente até 240 minutos. Esse comportamento sugere que a adsorção é um processo rápido e a degradação enzimática ocorre de forma lenta.

Da mesma forma, Alhujaily et al. (2020) também verificaram que a adsorção pelo SRC dos corantes diretos preto 22, vermelho 5b e azul 71 e o reativo preto 5 aumentou rapidamente nos primeiros 60 minutos e aumentou gradualmente até 240 minutos, quando alcançou a adsorção máxima. Para a adsorção do corante azul de metileno pelo SRC, Yan e Wang (2013) também constataram que a maior adsorção ocorre nos 60 minutos iniciais da reação. Uma adsorção ainda mais rápida ao SRC foi observada para os corantes verde malaquita, safranina T e azul de metileno, em que 78% dos corantes foram adsorvidos nos primeiros 5 minutos e aumentou lentamente até 30 minutos (WU et al., 2018). A degradação do corante antraquinona remazol azul brilhante R pelo extrato do SRC também apresentou um comportamento quase linear com o tempo de contato até alcançar a máxima remoção (LIM; LEE; KANG, 2013).

Esse comportamento está associado ao grande número de sítios ativos disponíveis no início da reação. Posteriormente poucos sítios permanecem acessíveis, o que resulta em uma lenta adsorção, além do efeito das forças repulsivas entre o corante adsorvido e as moléculas livres que dificultam o contato com os sítios.

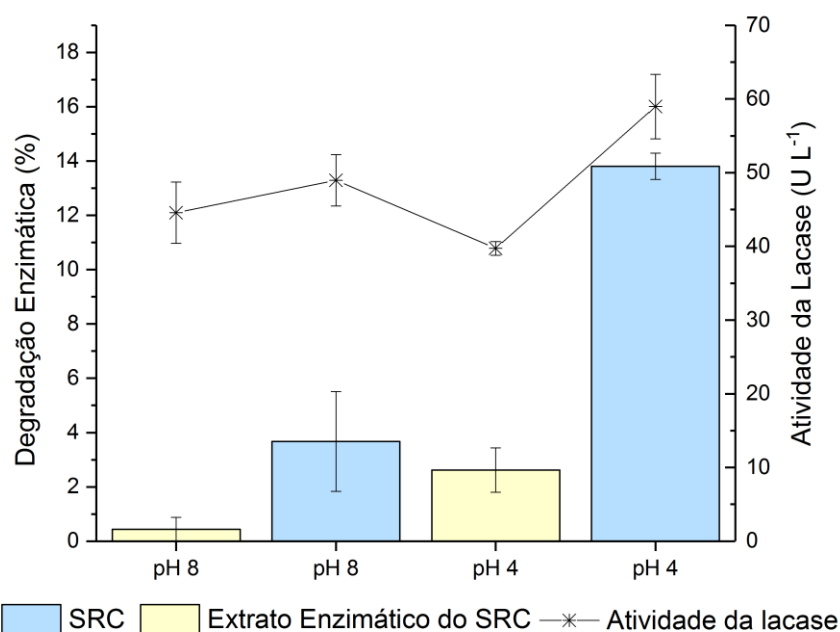
#### **4.3.4 Ensaio comparativo da degradação enzimática**

Para verificar a hipótese de que a degradação enzimática dos corantes têxteis foi potencializada com o uso das enzimas juntamente com o SRC realizou-se uma análise comparativa com o extrato enzimático proveniente do SRC em efluente têxtil sintético de pH 4 e 8 nas condições otimizadas (25°C, 125 g L<sup>-1</sup> e duas horas de contato), e os resultados da degradação estão presentes na Figura 35. Uma comparação visual da cor das amostras após tratamento com extrato enzimático (somente degradação enzimática) e com o SRC (adsorção + degradação enzimática) pode ser observada na Figura 36.

Em pH 8, a degradação enzimática e a atividade da lacase foram de 0,44% e 44,58 U L<sup>-1</sup> com o extrato enzimático a 3,67% e 48,98 U L<sup>-1</sup> com o SRC. Esses valores são inferiores aos obtidos em pH 4, o que já era esperado com base nos resultados dos ensaios anteriores.

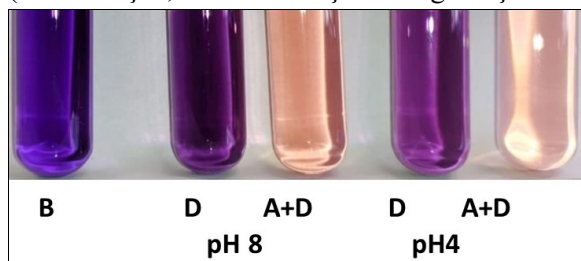
Em pH 4, o extrato foi capaz de degradar 2,61%, enquanto que na presença do SRC o percentual de remoção foi de 15,43%, em concordância com a atividade da lacase que aumentou de 39,72 a 48,98 U L<sup>-1</sup>. Esses resultados indicam que quando as enzimas são aplicadas juntamente com o SRC elas são mais eficientes na degradação dos corantes têxteis, principalmente em pH 4.

Figura 35 - Comparação da degradação enzimática com o SRC e o extrato enzimático proveniente do SRC.



Fonte: Elaborado pela autora.

Figura 36 - Cor das amostras após tratamento com o SRC e o extrato enzimático proveniente do SRC. (A: Adsorção, A+D: Adsorção e Degradação Enzimática, e B: Efluente Bruto).



Fonte: Elaborado pela autora.

Esse aumento na degradação dos corantes pelas enzimas com o SRC pode ser atribuído ao contato direto com os compostos fenólicos que são gerados durante a degradação da lignina pelos fungos da podridão branca, como acetosiringona, siringaldeído, ácido p-

cúmarico, vanilina, acetovanilona e seringa de metila, que podem atuar como mediadores naturais da lacase na degradação de corantes (CHRISTOPHER; YAO; JI, 2014). Além disso, as hifas fúngicas atuam como uma matriz que mantém as enzimas extracelulares ligadas à estrutura do material. As moléculas de corante adsorvidas ficam mais próximas das enzimas imobilizadas na estrutura do SRC, possivelmente aumentando a probabilidade de contato com os sítios ativos da lacase, em comparação com as enzimas e moléculas de corantes diluídas na fração líquida.

Durante o crescimento dos micélios fúngicos em substrato sólido como o SRC, as substâncias poliméricas extracelulares são produzidas naturalmente, com a função de evitar a desidratação, o armazenamento de nutrientes e a aderência das enzimas à matriz externa. A imobilização de enzimas fúngicas é amplamente proposta como técnica eficaz para a degradação de corantes. A presença de sais, agentes quelantes, subprodutos e surfactantes em efluentes têxteis reais pode afetar a aplicação de enzimas para fins de tratamento desses efluentes. Porém, enzimas imobilizadas naturais como a encontrada no SRC combinadas com o mecanismo físico-químico de adsorção podem superar essas limitações, conforme apresentado neste trabalho.

#### 4.4 ESTUDO DA ADSORÇÃO

##### 4.4.1 Modelos cinéticos

A Figura 37 exibe os dados experimentais e os ajustes dos modelos cinéticos, com exceção do modelo de difusão intrapartícula que está demonstrado na Figura 38. Os parâmetros cinéticos obtidos pelos modelos estão apresentados na Tabela 14. Todos os coeficientes de determinação ( $R^2$ ) dos modelos aplicados foram superiores a 0,90, o que indica que ambos os mecanismos regem a cinética de adsorção, o mesmo foi observado por Toptas et al. (2014) na adsorção de corantes pelo SRC.

No entanto, o modelo de pseudo-segunda ordem apresentou o maior coeficiente de determinação (0,998) e a capacidade de adsorção no equilíbrio fornecida pelo modelo ( $q_{e \text{ mod}}$ ) é igual à obtida experimentalmente ( $q_{e \text{ exp}}$ ), sugerindo que este é o mecanismo cinético predominante no processo de adsorção. A adequação ao modelo de pseudo-segunda ordem infere a natureza química da adsorção, que pode ser atribuída à ligação covalente entre os corantes aniônicos e o adsorvente por meio do compartilhamento de elétrons. Outros estudos

verificaram que o principal mecanismo cinético envolvido na adsorção de corantes pelo SRC é o de pseudo-segunda ordem (ALHUJAILY et al., 2020; LIU et al., 2017; TIAN et al., 2011; YAN; WANG, 2013; ZHOU et al., 2011).

Tabela 14 - Parâmetros obtidos pelos modelos cinéticos.

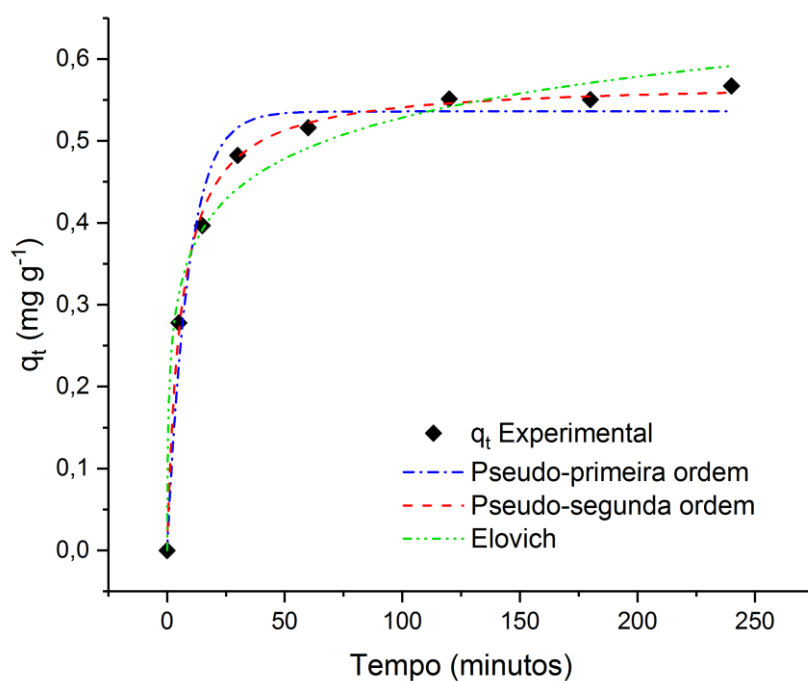
Modelo	Parâmetros			
Pseudo-primeira ordem	$q_{e \text{ exp}}$ ( $\text{mg g}^{-1}$ )	$q_{e \text{ mod}}$ ( $\text{mg g}^{-1}$ )	$K_1$ ( $\text{min}^{-1}$ )	$R^2$
	$0,57 \pm 0,005$	$0,536 \pm 0,016$	$0,110 \pm 0,017$	0,974
Pseudo-segunda ordem	$q_{e \text{ exp}}$ ( $\text{mg g}^{-1}$ )	$q_{e \text{ mod}}$ ( $\text{mg g}^{-1}$ )	$K_2$ ( $\text{g mg}^{-1} \text{min}^{-1}$ )	$h$ ( $\text{mg g}^{-1} \text{min}^{-1}$ )
	$0,57 \pm 0,005$	$0,57 \pm 0,006$	$0,302 \pm 0,021$	0,098
Difusão intrapartícula	Estágio 1	$q_{e \text{ exp}}$ ( $\text{mg g}^{-1}$ )	$K_d$ ( $\text{mg g}^{-1} \text{min}^{-0,5}$ )	$C$ ( $\text{mg g}^{-1}$ )
		$0,57 \pm 0,005$	$0,242 \pm 0,006$	$-0,08 \pm 0,01$
Difusão intrapartícula	Estágio 2	$q_{e \text{ exp}}$ ( $\text{mg g}^{-1}$ )	$K_d$ ( $\text{mg g}^{-1} \text{min}^{-0,5}$ )	$C$ ( $\text{mg g}^{-1}$ )
		$0,57 \pm 0,005$	$0,04 \pm 0,001$	$0,4057 \pm 0,03$
Elovich	$q_{e \text{ exp}}$ ( $\text{mg g}^{-1}$ )	$\beta$ ( $\text{mg g}^{-1}$ )	$\alpha$ ( $\text{mg g}^{-1} \text{min}^{-1}$ )	$R^2$
	$0,57 \pm 0,005$	$13,85 \pm 1,58$	$1,09 \pm 0,72$	0,983

Fonte: Elaborado pela autora.

A constante da taxa de adsorção de pseudo-primeira ordem ( $K_1$ ) e a constante de velocidade de pseudo-segunda ordem ( $K_2$ ) foram  $0,110 \text{ min}^{-1}$  e  $0,302 \text{ g mg}^{-1} \text{ min}^{-1}$ , respectivamente. Em comparação com os estudos presentes na Tabela 15, o  $K_1$  obtido é superior tanto para o SRC como para os outros adsorventes, com exceção do constatado por Yan e Wang (2013), mas está próximo ao  $K_1$  da adsorção do azul de metileno pelo SRC ( $0,095 \text{ min}^{-1}$ ) (WU et al., 2019) e do preto reativo 5 pelo SRC modificado ( $0,094 \text{ min}^{-1}$ ) (ALHUJAILY et al., 2018). Do mesmo modo, o  $K_2$  também é maior em contraste com os demais estudos, exceto para a adsorção do verde malaquita e azul de metileno pelo SRC (WU et al., 2019). Maiores valores de  $K_1$  e  $K_2$  indicam que um menor tempo é necessário para atingir a condição de equilíbrio.

A adequação dos dados experimentais ao modelo de Elovich ( $R^2$  de 0,983) confirma que a adsorção se deve às ligações químicas entre os corantes e o adsorvente. A taxa de adsorção inicial ( $\alpha$ ) fornecida por esse modelo foi de  $1,09 \text{ mg g}^{-1}\text{min}^{-1}$ , um menor valor comparado com os obtidos nos estudos presentes na Tabela 15, corroborando com a baixa velocidade inicial ( $h$ ) de  $0,098 \text{ mg g}^{-1}\text{min}^{-1}$  do modelo de pseudo-segunda ordem. O modelo de Elovich forneceu um alto valor de constante de dessorção ( $\beta$ ) ( $13,85 \text{ mg g}^{-1}$ ) em relação a outros estudos (Tabela 15), o que indica uma maior extensão da cobertura da superfície.

Figura 37 - Modelos cinéticos de adsorção.



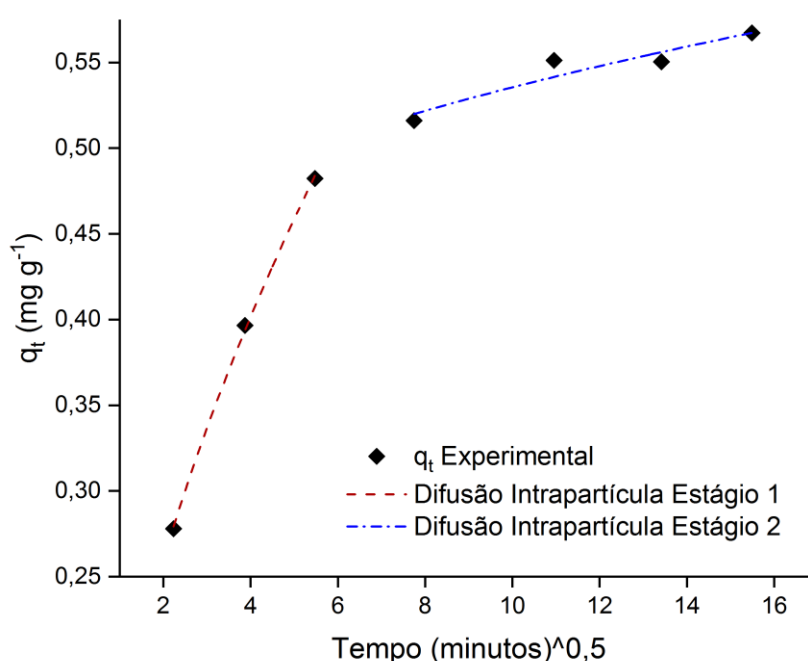
Fonte: Elaborado pela autora.

Conforme o gráfico de difusão intrapartícula apresentado na Figura 38 o primeiro segmento da reta não corta a origem e o coeficiente linear ( $C$ ) é diferente de zero (Tabela 14), portanto a difusão intrapartícula não é a única etapa limitante e o processo também é controlado por outros mecanismos (PODDER; MAJUMDER, 2017). A partir dos dados experimentais foi verificada a presença de dois estágios de adsorção, sendo o primeiro estágio correspondente à rápida adsorção em que a difusão intrapartícula tem maior efeito, visto que o valor de  $K_d$  ( $0,242 \text{ mg g}^{-1}\text{min}^{-0,5}$ ) é maior e o  $C$  é menor que zero ( $-0,08 \text{ mg g}^{-1}$ ). No segundo estágio, a adsorção ocorre gradativamente, o  $C$  torna-se positivo ( $0,406 \text{ mg g}^{-1}$ ) e o  $K_d$  diminui

( $0,04 \text{ mg g}^{-1} \text{ min}^{-0,5}$ ), indicando o maior efeito da camada limite e a menor contribuição da difusão intrapartícula.

O valor de  $R^2$  mais alto (0,999) para o primeiro estágio em comparação com o segundo estágio (0,9003) revela que a adsorção é regulada principalmente pela difusão intrapartícula. Em comparação com os parâmetros encontrados por outros autores (Tabela 15), os valores de  $K_d$  são menores, exceto os constatados por Alhujaily et al. (2020). Os valores de  $C$  obtidos nesse estudo também são inferiores, o que indica um menor efeito da difusão intrafilme.

Figura 38 - Modelo cinético de difusão intrapartícula.



Fonte: Elaborado pela autora.

Aplicando o modelo de difusão intrapartícula para a adsorção de corantes têxteis pelo SRC, Alhujaily et al. (2020) identificaram a presença de três estágios: difusão intrafilme, difusão intrapartícula e estado de equilíbrio, enquanto Yan e Wang (2013) verificaram apenas dois estágios: difusão intrapartícula e estado de equilíbrio. Para a serragem como adsorvente, produto que compõe o SRC, também foi constatado duas etapas, difusão intrafilme seguida de difusão intrapartícula (STAVRINOU; AGGELOPOULOS; TSAKIROGLOU, 2018). No presente estudo foi identificado que inicialmente a adsorção é controlada pela difusão intrapartícula e somente na etapa seguinte pela difusão intrafilme, diferentemente dos demais estudos.



Tabela 15 - Parâmetros cinéticos obtidos em outros estudos.

Referência	Adsorvente	Corante	$K_1$ ( $\text{min}^{-1}$ )	$K_2$ ( $\text{g mg}^{-1} \text{min}^{-1}$ )	$\beta$ ( $\text{mg g}^{-1}$ )	$\alpha$ ( $\text{mg g}^{-1} \text{min}^{-1}$ )	$K_d$ ( $\text{mg g}^{-1} \text{min}^{-0,5}$ )	C ( $\text{mg g}^{-1}$ )
Zhou et al. (2011)	SRC	Azul de metileno	0,023	0,013	-	-	-	-
Toptas et al. (2014)	SRC	Vermelho ácido 111	-	0,117	-	-	-	-
		Vermelho básico 18	-	0,003	-	-	-	-
		<i>Levafix Braun</i> E-RN	0,002	-	-	-	0,19	3,13
Alhujaily et al. (2020)	SRC	Preto reativo 5	0,082	0,055	3,921	27,69	E1: 0,107 E2: 0,021 E3: 0,005	E1: 1,612 E2: 2,232 E3: 2,408
Yan e Wang (2013)	SRC	Azul de metileno	3,153	0,007	-	-	E1: 1,472 E2: 0,087	E1: 23,79 E2: 34,19
Tian et al. (2011)	SRC	Vermelho do congo	0,0156	0,0645	-	-	E1: 0,437 E2: 0,051	E1: 16,983 E2: 18,643
Wu et al. (2018)	SRC	Verde malaquita	0,081	0,131	-	-	-	-
		Safranina T	0,039	0,149	-	-	-	-
		Azul de metileno	0,066	0,134	-	-	-	-
Wu et al. (2019)	SRC	Verde malaquita	0,089	0,595	-	-	-	-
		Safranina T	0,085	0,259	-	-	-	-
		Azul de metileno	0,095	0,503	-	-	-	-
Liu et al. (2017)	SRC	Rondamina B	0,051	0,070	-	-	-	-
Alhujaily et al. (2018)	SRC modificado	Preto reativo 5	0,094	0,006	0,45	696,8	E1: 10,83 E2: 23,30	E1: 1,60 E2: 0,079
Nirmaladevi e Palanisamy (2020)	Biochar da serragem	Vermelho reativo 2	0,043	0,004	-	-	7,02	1,24
Pérez-Calderón, Santos e Zaritzky (2020)	Hidrogéis	Vermelho reativo 195	0,4	0,004	0,04	64	E1: 17,5 E2: 1,2	E1: 69,1 E2: 69,1
Stavrinou, Aggelopoulos e Tsakiroglou (2018)	Casca de pepino	Laranja G	0,009	0,002	3,44	42,33	E1: 1,62 E2: 0,54	E1: 11,16 E2: 18,94
Akhouairi e Ouachtak (2019)	Serragem	Preto de eriocromo T	0,035	0,032	-	-	-	-

E1: Estágio 1; E2: Estágio 2; E3: Estágio 3. Fonte: Elaborado pela autora.

#### 4.4.2 Isotermas de adsorção

Os testes para determinação das isotermas de adsorção foram realizados com 125 g L<sup>-1</sup> de SRC, pH 8 e duas horas de contato. Os dados obtidos experimentalmente foram ajustados pelos modelos e os resultados são apresentados na Tabela 16 e na Figura 39. Valores de R<sup>2</sup> próximos a 1 foram constatados para ambos os modelos, no entanto maiores R<sup>2</sup> foram obtidos para a isoterma de Sips, indicando que esse modelo representa melhor os dados experimentais.

Tabela 16 - Parâmetros obtidos pelas isotermas de adsorção.

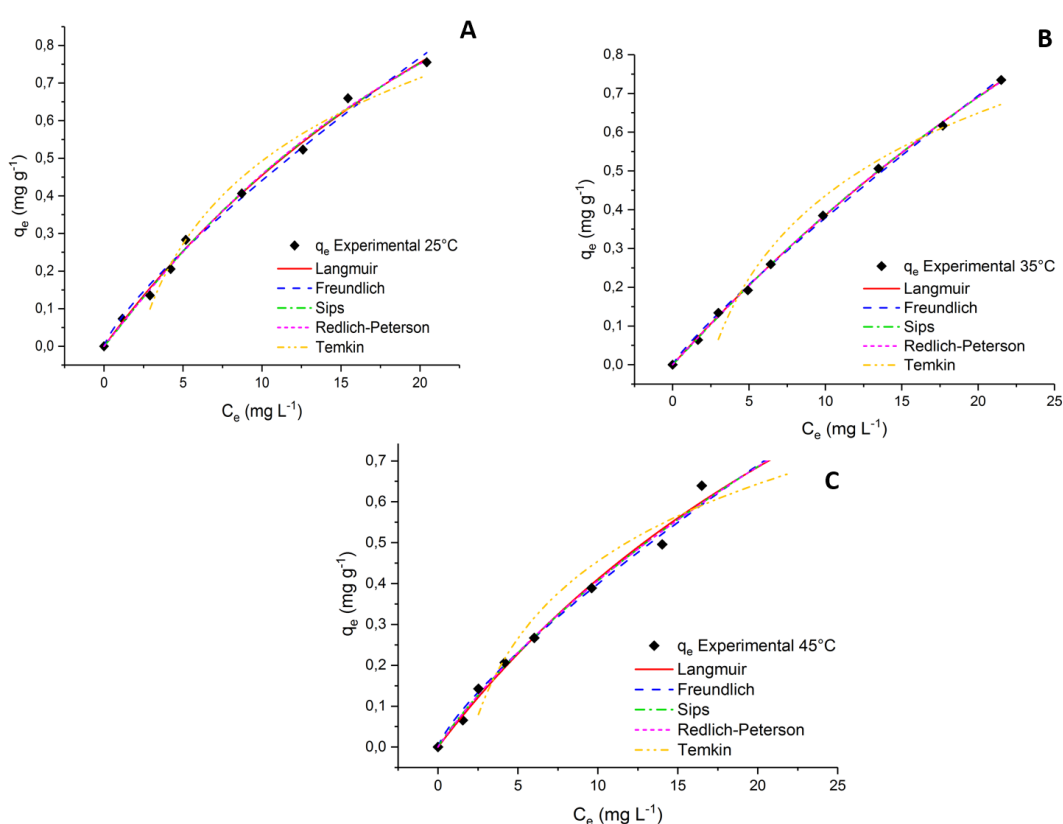
Modelo	Parâmetros	Temperatura (°C)		
		25	35	45
Langmuir	$q_{\max}$ (mg g <sup>-1</sup> )	2,226 ± 0,317	3,303 ± 0,335	2,055 ± 0,376
	$K_L$ (L mg <sup>-1</sup> )	0,026 ± 0,005	0,013 ± 0,002	0,025 ± 0,006
	R <sup>2</sup>	0,99579	0,99929	0,99269
Freundlich	$K_F$ (mg <sup>1-(1/n)</sup> L <sup>-1/n</sup> g <sup>-1</sup> )	0,070 ± 0,007	0,051 ± 0,003	0,065 ± 0,007
	n	1,251 ± 0,060	1,144 ± 0,026	1,269 ± 0,067
	R <sup>2</sup>	0,9934	0,9985	0,99219
Sips	$K_S$ (L g <sup>-1</sup> )	0,053 ± 0,010	0,042 ± 0,004	0,057 ± 0,012
	$\beta_S$	1,052 ± 0,141	1,030 ± 0,061	0,917 ± 0,169
	$a_S$ (L mg <sup>-1</sup> )	0,028 ± 0,008	0,015 ± 0,004	0,019 ± 0,017
	R <sup>2</sup>	0,99588	0,99932	0,99298
Redlich-Peterson	$K_{RP}$ (L g <sup>-1</sup> )	0,053 ± 0,006	0,043 ± 0,003	0,060 ± 0,09
	$a_{RP}$ (L mg <sup>-1</sup> )	0,008 ± 0,019	0,008 ± 0,014	0,107 ± 0,321
	g	1,327 ± 0,703	1,154 ± 0,520	0,655 ± 0,630
	R <sup>2</sup>	0,99594	0,9993	0,99298
Temkin	$K_T$ (L mg <sup>-1</sup> )	0,470 ± 0,047	0,355 ± 0,049	0,530 ± 0,099
	b (J g mol <sup>-2</sup> )	7783,15 ± 524,05	5924,39 ± 704,31	9702,77 ± 1095,03
	R <sup>2</sup>	0,97805	0,93461	0,94069

Fonte: Elaborado pela autora.

A isoterma de Sips é uma combinação dos modelos de Langmuir e Freundlich, que define o coeficiente de heterogeneidade adimensional ( $\beta_S$ ). Os valores de  $\beta_S$  para a adsorção dos corantes pelo SRC foram de 1,05, 1,03 e 0,97 para as temperaturas de 25, 35 e 45°C, respectivamente. Essa tendência de redução do valor de  $\beta_S$  pode inferir que a superfície se

torna mais heterogênea em altas temperaturas. Quando os valores de  $\beta_s$  são iguais a 1, a isoterma de Sips se reduz ao modelo de Langmuir e revela que a superfície do adsorvente é homogênea, o que pode ser observado no presente estudo pois os valores de  $\beta_s$  estão muito próximos de 1. Corroborando com esse resultado, os  $R^2$  do modelo de Langmuir são maiores do que os de Freundlich.

Figura 39 - Isotermas de adsorção de corantes têxteis pela SRC em diferentes temperaturas: 25°C (A), 35°C (B) e 45°C (C).



Fonte: Elaborado pela autora.

O coeficiente de afinidade de Sips ( $a_s$ ) foi maior em 25°C (0,028 L mg<sup>-1</sup>) em comparação com os valores obtidos em 35°C (0,015 L mg<sup>-1</sup>) e 45°C (0,019 L mg<sup>-1</sup>), o que indica que a interação entre os corantes e o adsorvente é maior em baixas temperaturas. Ao aumentar a temperatura de 25°C para 35°C, a constante de Sips ( $K_S$ ) diminuiu de 0,053 para 0,042 L g<sup>-1</sup>, mas aumentou novamente em 45°C (0,057 L g<sup>-1</sup>). Esse comportamento também foi observado nas constantes dos outros modelos ( $K_L$ ,  $K_F$ ,  $K_{RP}$  e  $K_T$ ), que após a diminuição

com o aumento da temperatura de 25°C a 35°C, em 45°C atingem valores superiores ou muito próximos dos obtidos em 25°C.

Tabela 17 - Valores de  $q_{\text{máx}}$  obtidos pela isoterma de Langmuir para diferentes adsorventes na remoção de corantes têxteis.

Referência	Adsorvente	Corante	$q_{\text{máx}}$ (mg g <sup>-1</sup> )	T(°C)
Esse estudo	SRC	<i>Levafix Brilliant Red E4BA e Remazol Black B 133%</i>	3,303	35
			117,2	20
Zhou et al. (2011)	SRC	Azul de metileno	117,3	30
			121,3	40
			140,9	
Toptas et al. (2014)	SRC	Vermelho ácido 111 Vermelho básico 18 <i>Levafix Braun E-RN</i>	400,0	25
			169,5	
Alhujaily et al. (2020)	SRC	Preto reativo 5	14,612	25
			149,25	30
Yan e Wang (2013)	SRC	Azul de metileno	105,26	40
			94,34	50
			96,15	60
Tian et al. (2011)	SRC	Vermelho do Congo	147,1	25
Wu et al. (2018)	SRC	Verde malaquita	40,65	
		Safranina T	33,00	NI
		Azul de metileno	22,37	
Wu et al. (2019)	SRC	Verde malaquita	19,23	
		Safranina T	42,02	30
		Azul de metileno	18,45	
Liu et al. (2017)	SRC	Rondamina B	107,527	25
Alhujaily et al. (2018)	SRC modificado por surfactante catiônico	Preto reativo 5	265,01	30
Pérez-Calderón, Santos e Zaritzky (2020)	Hidrogéis reticulados de quitosana/ácido oxálico	Vermelho reativo 195	97,2	25
			108,1	35
			110,7	45
Stavrinou, Aggelopoulos e Tsakiroglou (2018)	Casca de pepino	Laranja G	37,8	25
Akhouairi e Ouachtak (2019)	Serragem	Preto de eriocromo T	42,49	NI

NI: Não informado; T: Temperatura.

Fonte: Elaborado pela autora.

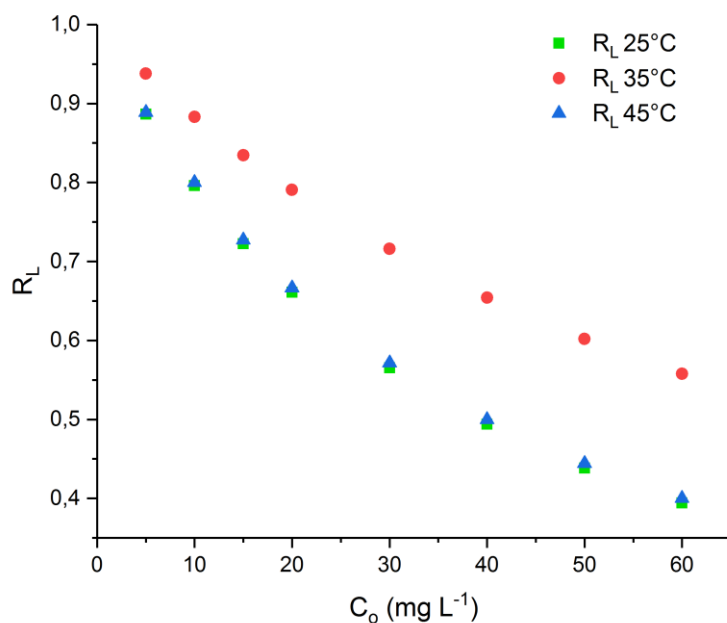
A adequação ao modelo de Langmuir indica que há uma cobertura de monocamada de corantes sobre a superfície homogênea do SRC. O maior valor de  $q_{\text{máx}}$  foi de 3,303 mg g<sup>-1</sup> a 35°C, enquanto que nessa temperatura foi verificada uma menor afinidade do corante com

os sítios do adsorvente devido ao menor valor de  $K_L$  ( $0,013 \text{ L mg}^{-1}$ ). O valor de  $q_{\text{máx}}$  constatado no presente estudo é inferior aos encontrados pelos autores citados na Tabela 17. Esse resultado era esperado já que o SRC não foi submetido a nenhum procedimento que poderia aumentar a capacidade de adsorção, como limpeza, secagem, moagem ou modificação. Isso se deve ao foco da pesquisa que é a aplicação direta do SRC visando o aproveitamento das enzimas e a eliminação de etapas onerosas que encarecem e inviabilizam a utilização e manipulação desse resíduo pelas próprias estações de tratamento.

Geralmente, uma adsorção favorável apresenta um valor de  $n$  da isoterma de Freundlich entre 1 e 10, o que pode ser constatado na adsorção dos corantes pelo SRC, pois os valores de  $n$  foram de 1,144 a 1,269 (FEBRIANTO et al., 2009). Em relação ao modelo de Redlich-Peterson, os valores do expoente  $g$  estão próximos de 1, indicando que há uma condição de baixa concentração de adsorvato e a isoterma se reduz à equação de Langmuir, assim como constatado no modelo de Sips (FOO; HAMEED, 2010). A diminuição do parâmetro  $b$  da isoterma de Temkin com aumento da temperatura de  $25^\circ\text{C}$  para  $35^\circ\text{C}$  indica que a adsorção é exotérmica, e o aumento de  $b$  de  $35^\circ\text{C}$  para  $45^\circ\text{C}$  revela que o processo é endotérmico (AKTAS et al., 2017).

Os fatores de separação ( $R_L$ ) apresentados na Figura 40 são resultantes do modelo de Langmuir e correspondem ao grau de desenvolvimento do processo de adsorção. Em ambas as temperaturas os valores de  $R_L$  se adequam a relação  $0 < R_L < 1$ , o que infere que o adsorvato prefere a fase sólida à líquida e, portanto, a adsorção é favorável (ANNADURAI; LING; LEE, 2008). Em comparação com outras temperaturas é possível verificar que em  $35^\circ\text{C}$  os valores de  $R_L$  são maiores, indicando uma adsorção menos favorável nessa temperatura.

A Tabela 18 apresenta os parâmetros termodinâmicos referentes à adsorção dos corantes têxteis pelo SRC. Os valores negativos de  $\Delta G^\circ$  indicam que a reação ocorre de forma espontânea, ou seja, não necessitam de energia externa para converter reagentes em produtos. Nas temperaturas de  $298,15 \text{ K}$  e  $308,15 \text{ K}$ , a  $\Delta H^\circ$  é negativa, indicando que ocorre a liberação de calor e a reação é exotérmica, enquanto que em  $318,15 \text{ K}$  acontece a absorção de calor e o processo é endotérmico. Esse comportamento corrobora com os resultados constatados pela variação do parâmetro  $b$  da isoterma de Temkin. Os valores de  $\Delta H^\circ$  para  $298,15 \text{ K}$  e  $308,15 \text{ K}$  estão entre a faixa de  $80$  a  $200 \text{ kJ mol}^{-1}$ , o que indica que a adsorção é de natureza química, já para  $318,15 \text{ K}$ ,  $\Delta H^\circ$  está entre  $2,1$  e  $20,9 \text{ kJ mol}^{-1}$  inferindo a ocorrência de fisissorção. Os valores negativos de  $\Delta S^\circ$  em  $298,15 \text{ K}$  e  $308,15 \text{ K}$  sugerem uma redução da aleatoriedade na interface sólido-líquido (SAHA; CHOWDHURY, 2011).

Figura 40 - Valores do coeficiente de separação  $R_L$  para diferentes temperaturas.

Fonte: Elaborado pela autora.

Tabela 18 - Parâmetros termodinâmicos.

Temperatura (K)	$\Delta H^\circ$ (kJ mol <sup>-1</sup> )	$\Delta S^\circ$ (J.K <sup>-1</sup> mol <sup>-1</sup> )	$\Delta G^\circ$ (kJ mol <sup>-1</sup> )
298,15	-189,53	-513,14	-36,54
308,15	-80,93	-145,59	-36,07
318,15	20,84	187,84	-38,92

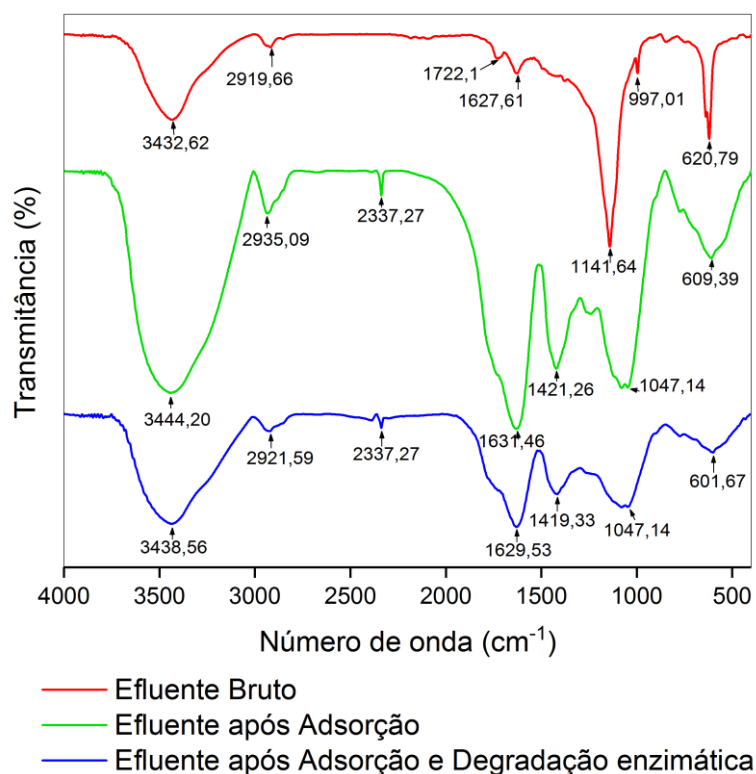
Fonte: Elaborado pela autora.

#### 4.5 ANÁLISES DO EFLUENTE TRATADO

A Figura 41 apresenta o FTIR do efluente sintético bruto e após duas horas de tratamento com o SRC (adsorção + degradação enzimática) e o SRC sem enzimas (adsorção). O pico associado ao grupo funcional OH<sup>-</sup> foi encontrado no efluente bruto (3432,62 cm<sup>-1</sup>) e deslocado para um número de onda maior no efluente após adsorção (3444,20 cm<sup>-1</sup>) e no tratado pelo SRC com enzimas (3438,56 cm<sup>-1</sup>) (SENTHILKUMAR et al., 2014). O aumento da intensidade desse pico após o tratamento do efluente pode ser atribuído à liberação de OH<sup>-</sup> presente no SRC para o efluente. O pico de 2919,66 cm<sup>-1</sup> referente à ligação C-H presente no efluente têxtil bruto também foi deslocado para números de onda maiores depois do tratamento (2935,09 e 2921,59 cm<sup>-1</sup>) (SENTHILKUMAR et al., 2018). Após o tratamento do

efluente, um pequeno pico apareceu em  $2.337,27 \text{ cm}^{-1}$ , que corresponde à vibração de alongamento de  $\text{CO}_2$  (XU et al., 2018).

Figura 41 - FTIR do efluente bruto e após tratamento com o SRC.



Fonte: Elaborado pela autora.

Um aumento significativo da intensidade do pico em torno de  $1627,61 \text{ cm}^{-1}$  foi observado após o tratamento. Números de onda de  $1500$  a  $1700 \text{ cm}^{-1}$  estão associados a proteínas, especificamente ao alongamento da ligação  $\text{C}=\text{O}$  do peptídeo, portanto esse aumento de intensidade provavelmente está associado às proteínas liberadas pela SRC (SANTOS; CORSO, 2014; WHARFE et al., 2010). Picos de  $1421,26$  e  $1419,33 \text{ cm}^{-1}$  surgiram após o tratamento do efluente têxtil, os quais se referem à seção  $\text{C}=\text{C}-\text{H}$  na curvatura  $\text{C}-\text{H}$  do plano (PARSHETTI et al., 2010). Os picos em  $1141,64 \text{ cm}^{-1}$  (grupo sulfonato) e  $997,01 \text{ cm}^{-1}$  (alongamento simétrico dos grupos sulfônicos) identificados no efluente têxtil bruto desapareceram após o tratamento com SRC (SHEN et al., 2019; TANG et al., 2016). Nos efluentes tratados, surgiram picos de  $1047,14 \text{ cm}^{-1}$ , atribuídos ao modo de alongamento  $\text{S}=\text{O}$  do grupo  $\text{SO}_3$  (IARK et al., 2019). O número de onda de  $620,79 \text{ cm}^{-1}$  presente no efluente bruto, que corresponde ao  $\text{C}-\text{H}$ , diminuiu a intensidade e foi deslocado para números de onda menores após o tratamento (AYED et al., 2010).

A Tabela 19 apresenta os resultados obtidos para os parâmetros de qualidade do efluente bruto e tratado em pH 4, 125 g L<sup>-1</sup> de SRC, 25°C e tempo de contato de duas horas. Nesse ensaio a remoção dos corantes têxteis foi de 65,78% e a atividade da lacase de 39,79 U L<sup>-1</sup>. O tratamento com o SRC promoveu o aumento da DQO, cor aparente, P total, turbidez e pH do efluente. O aumento da DQO no efluente tratado é atribuído ao alto teor de matéria orgânica no SRC.

A maior cor aparente do efluente tratado em relação ao bruto corrobora com os valores de turbidez que também aumentaram após o tratamento. Entretanto, a cor verdadeira do efluente tratado reduziu em 28,75%, o que está associado à adsorção e degradação enzimática dos corantes. As partículas dissolvidas e suspensas liberadas pelo SRC resultaram em uma cor amarelada e turva do efluente, o que explica a alta turbidez e a verdadeira cor do efluente tratado. O tratamento com o SRC promoveu um aumento do pH do efluente têxtil sintético, o que está relacionado à presença de carbonato de cálcio no SRC.

A concentração de amônia no efluente tratado estava abaixo da gama de medição, ou seja, era inferior a 0,4 mg L<sup>-1</sup> NH<sub>3</sub>-N, portanto a liberação de amônia do SRC para o efluente é baixa. Já em relação ao P total, o SRC contribuiu com 82 mg L<sup>-1</sup> para o efluente. Esse resultado pode estar relacionado à presença desses nutrientes no SRC, conforme encontrado por outros autores (BECHER; PAKUŁA, 2014; CORRAL-BOBADILLA et al., 2019; SUN et al., 2013).

Em relação aos padrões de lançamento de efluentes exigidos pela legislação, a CONAMA n° 430 de 2011 estabelece limite máximo para nitrogênio amoniacal total de 20 mg L<sup>-1</sup>, e pH entre 5 e 9. No Estado de Santa Catarina, o Código Estadual de Meio Ambiente instituído pela Lei 14.675 de 2009 exige um limite máximo de 4 mg L<sup>-1</sup> de fósforo total para o lançamento em lagoas, lagunas e estuários e o pH entre 6 a 9.

Diante desses resultados, para viabilizar a remoção de corantes pelo SRC as demais etapas do tratamento de efluentes têxteis devem ser consideradas. A carga orgânica liberada por SRC é facilmente removida por processos biológicos convencionais e a remoção de corantes antes dessa etapa atenua o impacto na comunidade biológica. A remoção de nutrientes é um processo consolidado na maioria das estações de tratamento, não exigindo grandes esforços. Também são necessários o estudo e o desenvolvimento de novas formas de aplicação do SRC que preservem a atividade enzimática e reduzam a liberação de compostos, como a imobilização da SRC em uma coluna.



Tabela 19 - Análises de qualidade do efluente bruto e tratado com o SRC.

<b>Parâmetro</b>	<b>Bruto</b>	<b>Tratado</b>
<b>DQO</b> (mg L <sup>-1</sup> )	251 ± 0	4605 ± 125
<b>Amônia</b> (mg L <sup>-1</sup> NH <sub>3</sub> -N)	0	Ab*
<b>Cor Aparente</b> (mg L <sup>-1</sup> PtCo)	1215 ± 25	1900 ± 30
<b>Cor Verdadeira</b> (mg L <sup>-1</sup> PtCo)	1165 ± 5	830 ± 10
<b>P total</b> (mg L <sup>-1</sup> PO <sub>4</sub> <sup>3-</sup> )	0	82
<b>Turbidez</b> (NTU)	0,56	378 ± 21
<b>pH</b>	4,04	5,18 ± 0,035
<b>Corante</b> (mg L <sup>-1</sup> )	50,01	20,66 ± 0,94
<b>Atividade da lacase</b> (U L <sup>-1</sup> )	0	39,79 ± 6,84

\*Abaixo da gama de medição

Fonte: Elaborado pela autora.

A Tabela 20 apresenta os resultados dos ensaios de toxicidade com a *Daphnia magna* para o efluente bruto, tratado e água destilada (controle) após duas horas de contato com 125 g SRC L<sup>-1</sup>. Os ensaios de descoloração foram realizados com o pH do efluente bruto ajustado para 4, a fim de considerar a atuação das enzimas na degradação dos corantes. Dessa forma, as amostras de efluente bruto e tratado apresentaram valores de pH inferiores ao intervalo de confiança de 5 a 9 estabelecido pela ABNT 12.713/2016 para evitar interferências nos ensaios de toxicidade com *Daphnia magna*, portanto, o pH das amostras foi ajustado para 7 ± 0,2 com adição de NaOH 1 M (ABNT, 2016).

Nos ensaios com correção do pH não houve a imobilização dos organismos mesmo na concentração equivalente a 100% das amostras, tanto para o efluente bruto e tratado como para a amostra controle. Porém, sem correção do pH, uma imobilização média de 23±11% dos organismos foi observada em 100% da amostra após 48 horas de contato com o efluente bruto e 20±07% com o efluente tratado. O cálculo do CE<sub>50,48h</sub> não pôde ser realizado pois não houve imobilização superior a 50% dos organismos. Assim como na amostra com pH corrigido para 7,0±0,2, a amostra controle não provocou a imobilização do organismo, inferindo que o SRC não libera compostos tóxicos para a *Daphnia magna*.

Considerando que a imobilização dos organismos nos ensaios sem correção do pH foi detectada apenas nos efluentes têxteis infere-se que nos pH de 4,05 e 4,71 podem ocorrer alterações nas moléculas dos corantes ou nos produtos auxiliares que resultam em efeitos tóxicos para as *Daphnia magna*. O tratamento com SRC não aumentou a toxicidade do efluente têxtil, inclusive apresentou tendência de queda. Os resultados estão de acordo com a

Portaria FATMA n° 017/02 do Estado de Santa Catarina que estabelece o FD 2 como o limite máximo de toxicidade aguda à *Daphnia magna* para o descarte de efluente têxtil.

Tabela 20 – Resultados toxicológicos com *Daphnia magna*.

<b>Amostra</b>	<b>pH</b>	<b>CE<sub>50,48h</sub></b> <b>(%)</b>	<b>FD</b>	<b>Média de imobilização em</b> <b>100% da amostra (% ± DP)</b>
Efluente bruto	7,0 ± 0,2	NT	1	0
Efluente tratado	7,0 ± 0,2	NT	1	0
Água destilada + SRC (controle)	7,0 ± 0,2	NT	1	0
Efluente bruto	4,05	NT	1	<b>23 ± 11</b>
Efluente tratado	4,71	NT	1	<b>20 ± 07</b>
Água destilada + SRC (controle)	4,95	NT	1	0

NT: Não tóxico; DF: Fator de diluição; CE: Concentração efetiva; NC: Não calculável; DP: Desvio padrão.

Com base nos resultados obtidos neste estudo, o SRC pode ser utilizado no tratamento de efluentes têxteis visando a remoção de corantes através dos mecanismos simultâneos de adsorção e degradação enzimática. Apesar da necessidade de novas pesquisas considerando diversos aspectos, a utilização do SRC proposto neste estudo promove a recuperação e valorização do resíduo e evita impactos ambientais, além de reduzir custos com a produção de enzimas e adsorventes.



## 5 CONCLUSÕES

A aplicação de SRC sem qualquer tipo de tratamento promoveu a adsorção e degradação enzimática dos corantes presentes nos efluentes têxteis, com maior contribuição do processo de adsorção do que da degradação enzimática. Adsorção e degradação enzimática foram favorecidas em maiores concentrações de SRC e baixa temperatura. Enquanto uma maior adsorção ocorre em pH básico, a degradação enzimática é beneficiada em pH ácido.

O SRC apresentou alta atividade das enzimas lacase e MnP e estas promovem a degradação de corantes têxteis. A lacase apresentou alta atividade em pH ácido e foi inativada em pH básico. O sal  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  usado na indústria têxtil não promoveu a inibição da lacase, enquanto que a inibição causada pelo NaCl é considerada baixa.

A degradação enzimática foi aumentada com o uso de SRC em comparação com o extrato enzimático devido à presença de compostos mediadores da lacase e a atuação do SRC como uma matriz de imobilização.

O modelo de Pseudo-segunda ordem representou melhor a cinética de adsorção e a isoterma de Sips promoveu o melhor ajuste dos dados experimentais. A adsorção de corantes têxteis pelo SRC é um processo exotérmico e químico nas menores temperaturas (25 e 35°C) e endotérmico e físico na temperatura mais alta (45°C).

O tratamento com SRC promoveu a remoção da cor verdadeira, mas aumentou a DQO, cor aparente, P total, turbidez e pH do efluente tratado, indicando a necessidade de um pós-tratamento. O tratamento do efluente têxtil com SRC não aumentou a toxicidade para o organismo *Daphnia magna*, inclusive apresentou uma tendência de redução.

### 5.1 SUGESTÕES E RECOMENDAÇÕES

Durante a realização desse trabalho e com base nos resultados obtidos foram verificados alguns aspectos que devem ser avaliados em trabalhos futuros. Considerando que o SRC ficará armazenado até a aplicação efetiva na estação de tratamento, a atividade enzimática no SRC deve ser analisada durante esse período, visando as melhores formas de armazenamento para manutenção das enzimas por um maior tempo. A caracterização da enzima MnP é essencial para obter as melhores condições para sua atividade e verificar o efeito dos inibidores, uma vez que a MnP esteve presente no SRC em elevada quantidade.

Os percentuais de degradação enzimática dos corantes apesar de promissores podem ser intensificados e, para isso, novos estudos devem explorar alternativas viáveis para o aumento da eficiência, como a utilização de mediadores naturais. Da mesma forma, diferentes maneiras de aplicação do SRC devem ser avaliadas objetivando a menor liberação de compostos que influenciam negativamente nos demais parâmetros de qualidade do efluente, como a imobilização em colunas.

As vias de degradação enzimática dos corantes é uma avaliação importante para o melhor entendimento de como a reação acontece e como ela pode ser potencializada, assim como para a determinação dos produtos formados e sua toxicidade. Para o aproveitamento máximo do SRC na remoção dos corantes e economia de recursos, a reutilização do SRC em ciclos sucessivos também deve ser avaliada e considerada. É primordial para a sustentabilidade processo que uma destinação ambientalmente adequada para o SRC resultante do tratamento seja definida. Por fim, a avaliação da eficiência do SRC na adsorção e degradação enzimática de corantes em efluentes têxteis reais em laboratório e nas estações de tratamento de efluente das indústrias.

## REFERÊNCIAS

- ABIT - ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DA INDÚSTRIA TÊXTIL E DE CONFECÇÃO. **Perfil do Setor**, 2018a. Disponível em: <<http://www.abit.org.br/cont/perfil-do-setor>>. Acesso em: 10 nov. 2019
- ABIT - ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DA INDÚSTRIA TÊXTIL E DE CONFECÇÃO. **Comércio Exterior**, 2018b. Disponível em: <<https://www.abit.org.br/cont/dados-comercio-exterior>>. Acesso em: 10 nov. 2019
- AMARAL, A. P. P. **Avaliação da utilização de carvão ativado em pó superfino (s-cap) associado a membrana de microfiltração (mf) na remoção de atrazina de água de abastecimento**. 2016. 189 f. Tese (Doutorado em Engenharia Ambiental). Programa de PósGraduação em Engenharia Ambiental, Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC). Florianópolis, 2016
- ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. **NBR 12.713: Ecotoxicologia aquática – Toxicidade aguda - Método de ensaio com *Daphnia* spp. (Cladocera, Crustacea)**. Rio de Janeiro, 2016.
- AHARONI, C.; UNGARISH, M. Kinetics of activated chemisorption. Part 2. Theoretical models. **Journal of the Chemical Society**, v. 73, p. 456–464, 1977.
- AHLAWAT, O. P.; SINGH, R. Influence of pH, temperature and cultural media on decolorization of synthetic dyes through spent substrate of different mushrooms. **Journal of Scientific and Industrial Research**, v. 68, n. 12, p. 1068–1074, 2009.
- AKHOUAIRI, S. et al. Natural sawdust as adsorbent for the Eriochrome Black T dye removal from aqueous solution. **Water Air Soil Pollut**, v. 230, p. 181, 2019.
- AKTAS, D. et al. The adsorption and fenton behavior of iron rich Terra Rosa soil for removal of aqueous anthraquinone dye solutions : kinetic and thermodynamic studies. **Water Science & Technology**, v. 76, n. 11, p. 3114–3125, 2017.
- AL-QODAH, Z. Adsorption of dyes using shale oil ash. **Wat. Res.**, v. 34, n. 17, p. 4295–4303, 2000.
- ALAM, Z.; MANSOR, M. F.; JALAL, K. C. A. Optimization of decolorization of methylene blue by lignin peroxidase enzyme produced from sewage sludge with *Phanerocheate chrysosporium*. **Journal of Hazardous Materials**, v. 162, p. 708–715, 2009.
- ÂLCANTARA, M. R.; DALTIM, D. A química do processamento têxtil. **Química nova**, v. 19, n. 3, p. 320–330, 1996.
- ALEXOPOULOS, C. J.; MINS, C. W.; BLACKWELL, M. **Introductory Mycology**. 4. ed. New York: John Wiley, 1996.
- ALHUJAILY, A. et al. Highly efficient and sustainable spent mushroom waste adsorbent based on surfactant modification for the removal of toxic dyes. **Int. J. Environ. Res. Public Health**, v. 15, p. 1421, 2018.
- ALHUJAILY, A. et al. Adsorptive removal of anionic dyes from aqueous solutions using

spent mushroom waste. **Applied Water Science**, v. 10, p. 138–184, 2020.

ALI, H. Biodegradation of synthetic dyes - A review. **Water, Air, and Soil Pollution**, v. 213, p. 251–273, 2010.

ALI, N.; HAMEED, A.; AHMED, S. Physicochemical characterization and bioremediation perspective of textile effluent, dyes and metals by indigenous Bacteria. **Journal of Hazardous Materials**, v. 164, p. 322–328, 2009.

ANDRADES, M. S. Assessment of spent mushroom substrate as sorbent of fungicides: influence of sorbent and sorbate properties. **Journal of Environmental Quality**, v. 41, p. 814–822, 2012.

ANNADURAI, G.; LING, L. Y.; LEE, J. Adsorption of reactive dye from an aqueous solution by chitosan: isotherm, kinetic and thermodynamic analysis. **Journal of Hazardous Materials**, v. 152, p. 337–346, 2008.

ANPC - ASSOCIAÇÃO NACIONAL DOS PRODUTORES DE COGUMELOS. **O setor de cogumelos no Brasil**. Disponível em: <<https://www.anpccogumelos.org/cogumelos>>. Acesso em: 13 ago. 2019.

ARAÚJO, M.; CASTRO, E. M. M. **Manual de Engenharia Têxtil**. Lisboa: Fundação Calouste Gulbenkian, 1987.

ASADA, C. et al. Characterization of the steam-exploded spent Shiitake mushroom medium and its efficient conversion to ethanol. **Bioresource Technology**, v. 102, n. 21, p. 10052–10056, 2011.

ASGHER, M.; RAMZAN, M.; BILAL, M. Purification and characterization of manganese peroxidases from native and mutant *Trametes versicolor* IBL-04. **Chinese Journal of Catalysis**, v. 37, n. 4, p. 561–570, 2016.

AYED, L. et al. Biodegradation and decolorization of triphenylmethane dyes by *Staphylococcus epidermidis*. **Desalination journal**, v. 260, p. 137–146, 2010.

BABIĆ, B. M. et al. Point of zero charge and intrinsic equilibrium constants of activated carbon cloth. **Carbon**, v. 37, p. 477–481, 1999.

BALDRIAN, P. Fungal laccases - occurrence and properties. **FEMS Microbiol Rev**, v. 30, p. 215–242, 2006.

BALL, S. B.; JACKSON, A. M. The recovery of lignocellulose-degrading enzymes from spent mushroom compost. **Bioresource Technology**, v. 54, p. 311–314, 1995.

BANAT, I. M. et al. Microbial decolorization of textile-dye-containing effluents: A review. **Bioresource Technology**, v. 58, n. 3, p. 217–227, 1996.

BECHER, M.; PAKUŁA, K. Nitrogen fractions in spent mushroom substrate. **Journal of Elementology**, v. 19, n. 4, p. 947–958, 2014.

BEHRENS, C. J. et al. Variants of PpuLcc, a multi-dye decolorizing laccase from *Pleurotus pulmonarius* expressed in *Pichia pastoris*. **Protein Expression and Purification**, v. 137, p. 34–42, 2017.

- BELLETTINI, M. B. et al. Factors affecting mushroom *Pleurotus* spp. **Saudi Journal of Biological Sciences**, v. 26, p. 633–646, 2019.
- BELTRAME, L. T. C. **Caracterização de Efluente Têxtil e Proposta de Tratamento**. Natal, 2000. 179 f. Dissertação (Mestrado em Pesquisa e Desenvolvimento de Tecnologias Regionais) – Universidade Federal do Rio Grande do Norte.
- BETTIN, F. et al. Effects of pH, temperature and agitation on the decolourisation of dyes by laccase-containing enzyme preparation from *Pleurotus sajor-caju*. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v. 62, n. 1, p. 12, 2019.
- BHATIA, D. et al. Physicochemical assessment of industrial textile effluents of Punjab (India). **Applied Water Science**, v. 8, n. 83, p. 1–12, 2018.
- BOX, G. E. P.; HUNTER, J. S.; HUNTER, W.G. **Statistics for experimenters: Design Innovation and Discovery**. John Wiley & Sons, 2005.
- BOGONI, L. L. **Avaliação da eficiência do composto residual da produção de fungo pleurotus ostreatus na remoção de corantes em efluentes têxteis**. Florianópolis, 2018. 67 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Engenharia Sanitária e Ambiental) - Universidade Federal de Santa Catarina..
- BONONI, V. L. et al. **Cultivo de cogumelos comestíveis**. 2. ed. São Paulo: Ícone, 1999.
- BOURBONNAIS, R.; PAICE, M. C. Oxidation of non-phenolic substrates: An expanded role for laccase in lignin biodegradation. **FEBS Letters**, v. 267, n. 1, p. 99–102, 1990.
- BOYSEN, R. I. et al. Observations on the origin of the non-linear Van't Hoff behaviour of polypeptides in hydrophobic environments. **Biophysical Chemistry**, v. 77, p. 79–97, 1999.
- BUSWELL, J. A. et al. Lignocellulolytic enzyme profiles of edible mushroom fungi. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, v. 12, n. 5, p. 537–542, 1996.
- CAMPOS, A. C. DE; PAULA, N. M. DE. A indústria têxtil brasileira em um contexto de transformações mundiais. **Revista Econômica do Nordeste**, v. 37, n. 4, p. 592–608, 2006.
- CARLILE, M. J.; WATKINSON, S. C. **The Fungi**. 4. ed. London: Academic Press, 1994.
- CASTRO, R. I. L.; DELMASTRO, S.; CURVETTO, N. R. Spent oyster mushroom substrate in a mix with organic soil for plant pot cultivation. **Micologia aplicada internacional**, v. 20, n. 1, p. 17–26, 2008.
- CATANHO, M.; MALPASS, G. R. P.; MOTHEO, A. D. J. Avaliação dos tratamentos eletroquímico e fotoeletroquímico na degradação de corantes têxteis. **Química nova**, v. 29, n. 5, p. 983–989, 2006.
- CHAIRIN, T. et al. Purification and characterization of the extracellular laccase produced by *Trametes polyzona* WR710–1 under solid-state fermentation. **Journal of Basic Microbiology**, v. 54, p. 35–43, 2014.
- CHAMPAGNE, P. P.; NESHEIM, M. E.; RAMSAY, J. A. A mechanism for NaCl inhibition of Reactive Blue 19 decolorization and ABTS oxidation by laccase. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 97, p. 6263–6269, 2013.



- CHANG, B. et al. Removal of emerging contaminants using spent mushroom compost. **Science of the Total Environment**, v. 634, p. 922–933, 2018.
- CHANG, G. et al. Salt-enhanced removal of 2-ethyl-1-hexanol from aqueous solutions by adsorption on activated carbon. **Journal of Colloid And Interface Science**, v. 412, p. 7–12, 2013.
- CHOCKALINGAM, N.; BANERJEE, S.; MURUHAN, S. Characterization of physicochemical parameters of textile effluents and its impacts on environment. **The Environment and Natural Resources Journal**, v. 17, n. 2, p. 41–53, 2019.
- CHOUDHURY, A. K. R. Pre-treatment and preparation of textile materials prior to dyeing. In: **Handbook of textile and industrial dyeing: Principles, processes and types of dyes**. 1. ed. India: Woodhead Publishing Limited, 2011. p. 64–149.
- CHOWDHARY, P. et al. Ligninolytic Enzymes: An Introduction and Applications in the Food Industry. In: MOHAMMED, K. (Ed.). **Enzymes in Food Biotechnology**. Elsevier Inc., 2019. v. 2, p. 181–195.
- CHRISTIE, R. M. **Colour Chemistry**. 2. ed. Cambridge: The Royal Society of Chemistry, 2015.
- CHRISTOPHER, L. P.; YAO, B.; JI, Y. Lignin biodegradation with laccase-mediator systems. **Frontiers in Energy Research | Bioenergy and Biofuels**, v. 2, n. March, p. 1–13, 2014.
- CLARK, M. **Handbook of textile and industrial dyeing**. Cambridge: Woodhead Publishing, 2011.
- CLARKE, E. A.; STEINLE, D. Health and environmental safety aspects of organic colorants. **Review of Progress in Coloration and Related Topics**, v. 25, p. 1–5, 1995.
- CNI - CONFEDERAÇÃO NACIONAL DA INDÚSTRIA. **O setor têxtil e de confecção e os desafios da sustentabilidade**. Brasília CNI/ABIT, 2017. Disponível em: <[https://bucket-gw-cni-static-cms-si.s3.amazonaws.com/media/filer\\_public/bb/6f/bb6fdd8d-8201-41ca-981d-deef4f58461f/abit.pdf](https://bucket-gw-cni-static-cms-si.s3.amazonaws.com/media/filer_public/bb/6f/bb6fdd8d-8201-41ca-981d-deef4f58461f/abit.pdf)>. Acessado em 10 nov. 2019.
- CONWAY, R. Technical textile finishing. In: **Handbook of technical textiles**. 2. ed. Cambridge: Elsevier Ltd., 2016. p. 189–210.
- COONEY, D. O. **Adsorption design for wastewater treatment**. Florida: CRC Press, 1998.
- COPELAND, R. A. **Enzymes: A practical introduction to structure, mechanism, and data analysis**. 2. ed. New York: Wiley-VCH, 2000.
- CORRAL-BOBADILLA, M. et al. Bioremediation of waste water to remove heavy metals using the spent mushroom substrate of *Agaricus bisporus*. **Water**, v. 11, p. 454, 2019.
- CORREIA, V. M.; STEPHENSON, T.; JUDD, S. J. Characterisation of textile wastewaters - a review. **Environmental Technology**, v. 15, n. 10, p. 917–929, 1994.
- CRINI, G. et al. Conventional and non-conventional adsorbents for wastewater treatment. **Environmental Chemistry Letters**, v. 17, p. 195–213, 2019.

- DAÂSSI, D. et al. Application of response surface methodology to optimize decolorization of dyes by the laccase-mediator system. **Journal of Environmental Management**, v. 108, p. 84–91, 2012.
- DAI, J. et al. Immobilization of laccase from *Pleurotus ostreatus* on magnetic separable SiO<sub>2</sub> support and excellent activity towards azo dye decolorization. **Journal of Environmental Chemical Engineering**, v. 4, n. 2, p. 2585–2591, 2016.
- DALLEL, R.; KESRAOUI, A.; SEFFEN, M. Biosorption of cationic dye onto “*Phragmites australis*” fibers: Characterization and mechanism. **Journal of Environmental Chemical Engineering**, v. 6, p. 7247–7256, 2018.
- DAS, A. et al. Production, characterization and Congo red dye decolorizing efficiency of a laccase from *Pleurotus ostreatus* MTCC 142 cultivated on co-substrates of paddy straw and corn husk. **Journal of Genetic Engineering and Biotechnology**, v. 14, n. 2, p. 281–288, 2016.
- DI GREGORIO, S. et al. Sustainable discoloration of textile chromo-baths by spent mushroom substrate from the industrial cultivation of *Pleurotus ostreatus*. **Journal of Environmental Protection**, v. 01, n. 02, p. 85–94, 2010.
- DOOLEY, D. M. et al. Spectroscopic studies of *Rhus vernicifera* and *Polyporus versicolor* laccase. electronic structures of the copper sites. **Journal of the American Chemical Society**, v. 101, n. 17, p. 5038–5046, 1979.
- ESTERBAUER, H. et al. Production of *Trichoderma* cellulase in laboratory and pilot scale. **Bioresour. Technol**, v. 36, p. 51–65, 1991.
- EL-BATAL, A. I. et al. Laccase production by *Pleurotus ostreatus* and its application in synthesis of gold nanoparticles. **Biotechnology Reports**, v. 5, p. 31–39, 2015.
- ELANGO, G.; RATHIKA, G.; ELANGO, S. Physico-chemical parameters of textile dyeing effluent and its impacts with case study. **Int. J. Res. Chem. Environ**, v. 7, n. 1, p. 17–24, 2017.
- ELLILÄ, S. et al. Development of a low - cost cellulase production process using *Trichoderma reesei* for Brazilian biorefineries. **Biotechnology for Biofuels**, v. 10, p. 30, 2017.
- ELLOUZE, M.; SAYADI, S. White-rot fungi and their enzymes as a biotechnological tool for xenobiotic bioremediation. In: SALEH, H. E. M.; RAHMAN, R. O. A. (Eds.). **Management of Hazardous Wastes**. London: Intech, 2016. p. 104–120.
- ESTADO DE SANTA CATARINA. Portaria da Fundação do Meio Ambiente nº 17, de 18 de abril de 2002. **Estabelece os Limites Máximos de Toxicidade Aguda para efluentes de diferentes origens e dá outras providências**. Fundação do Meio Ambiente de Santa Catarina (FATMA).
- ENAUD, E. et al. Laccase chloride inhibition reduction by an anthraquinonic substrate. **Enzyme and Microbial Technology**, v. 49, p. 517–525, 2011.
- ESPOSITO, E.; AZEVEDO, J. L. **Fungos: uma introdução a biologia, bioquímica e**

**biotecnologia.** Caxias do Sul: EDUCS, 2004.

FALADE, A. O. et al. Lignin peroxidase functionalities and prospective applications. **MicrobiologyOpen**, v. 6, n. 1, p. 1–14, 2017.

FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION. **FAOSTAT**. Disponível em: <<http://www.fao.org/faostat/en/#data/QC>>. Acesso em: 13 ago. 2019.

FEBRIANTO, J. et al. Equilibrium and kinetic studies in adsorption of heavy metals using biosorbent : A summary of recent studies. **Journal of Hazardous Materials**, v. 162, p. 616–645, 2009.

FEITOSA, I. C. **Produção de enzimas lipolíticas utilizando bactéria isolada de solo com histórico de contato com petróleo em fermentação submersa.** Aracaju, 2009. 89 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Processo) - Universidade Tiradentes.

FERNANDES, D. C. et al. Fungal biosynthesis of lignin-modifying enzymes from pulp wash and *Luffa cylindrica* for azo dye RB5 biodecolorization using modeling by response surface methodology and artificial neural network. **Journal of Hazardous Materials**, v. 399, n. June, p. 123094, 2020.

FINNEY, K. N. et al. The reuse of spent mushroom compost and coal tailings for energy recovery: Comparison of thermal treatment technologies. **Bioresource Technology**, v. 100, n. 1, p. 310–315, 2009.

FOO, K. Y.; HAMEED, B. H. Insights into modeling of adsorption isotherm systems. **Chemical Engineering Journal**, v. 156, p. 2–10, 2010.

FREUNDLICH, H. Over the adsorption in the solution. **Journal Physical Chemistry**, v. 57, p. 384–410, 1906.

GHALY, A. E. et al. Production, characterization and treatment of textile effluents: A critical review. **Journal of Chemical Engineering & Process Technology**, v. 05, n. 01, p. 1–18, 2013.

GLAZER, A. N.; NIKAIDO, H. **Microbial Biotechnology: fundamentals of applied microbiology.** New York: W. H. Freeman, 1995.

GLAZUNOVA, O. A. et al. Structure-function study of two new middle-redox potential laccases from basidiomycetes *Antrodiaella faginea* and *Steccherinum murashkinskyi*. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 118, p. 406–418, 2018.

GIMENEZ, A. R. **Estudo do potencial das conchas de moluscos para o tratamento da drenagem ácida de mineração de carvão.** 2018. 143 p. Dissertação (Mestrado em Engenharia Ambiental), Programa de Pós-graduação em Engenharia Ambiental, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2018.

GÓMEZ, D. N. **Potencial da casca de camarão para remediação de águas contaminadas com drenagem ácida mineral visando seu reuso secundário não potável.** 2014. 152 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Ambiental), Programa de Pós-graduação em Engenharia Ambiental, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2014.

GÓMEZ, D. N. **Valorização da casca de camarão para tratamento da drenagem ácida**

**mineral visando a obtenção de água de reuso.** 2018. Tese (Doutorado em Engenharia Ambiental), Programa de Pós-graduação em Engenharia Ambiental, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2018.

GOLD, M. H.; WARIISHI, H.; VALLI, K. Extracellular peroxidases involved in lignin degradation by the white rot: Basidiomycete *Phanerochate chrysosporium*. In: WHITAKER, J. R.; SONNET, P. E. (Eds.). **Biocatalysis in Agricultural Biotechnology**. Washington: American Chemical Society, 1989. p. 127–140.

GOMARE, S. S.; JADHAV, J. P.; GOVINDWAR, S. P. Degradation of sulfonated azo dyes by the purified lignin peroxidase from *Brevibacillus laterosporus* MTCC 2298. **Biotechnology and Bioprocess Engineering**, v. 13, p. 136–143, 2008.

GREGORY, P. Toxicology of textile dyes. In: CHRISTIE, R. M. (Ed.). . **Environmental Aspects of Textile Dyeing**. Cambridge: Woodhead Publishing Limited, 2007. p. 44–73.

GUARATINI, C. C. I.; ZANONI, V. B. Corantes têxteis. **Química nova**, v. 23, n. 1, p. 71–78, 2000.

GUIMARÃES, L. R. C. et al. Laccases. In: PANDEY, A.; NEGI, S.; SOCCOL, C. R. (Eds.). . **Current Developments in Biotechnology and Bioengineering: Production, Isolation and Purification of Industrial Products**. Elsevier B.V., 2016. p. 199–216.

GUO, M.; CHOROVER, J. Leachate migration from spent mushroom substrate through intact and repacked subsurface soil columns. **Waste Management**, v. 26, p. 133–140, 2006.

HADIBARATA, T. et al. Decolorization of azo, triphenylmethane and anthraquinone dyes by laccase of a newly isolated *Armillaria* sp. F022. **Water Air Soil Pollut**, v. 223, p. 1045–1054, 2012.

HAMMEL, K. E.; CULLEN, D. Role of fungal peroxidases in biological ligninolysis. **Current Opinion in Plant Biology**, v. 11, n. 3, p. 349–355, 2008.

HANAFI, F. H. M. et al. Environmentally sustainable applications of agro-based spent mushroom substrate (SMS): an overview. **Journal of Material Cycles and Waste Management**, v. 20, n. 3, p. 1383–1396, 2018.

HATAKKA, A.; HAMMEL, K. E. Fungal Biodegradation of Lignocelluloses. In: HOFRICHTER, M. (Ed.). **Industrial Applications**. 2. ed. Heidelberg: Springer-Verlag, 2011. p. 319–340.

HEINZKILL, M. et al. Characterization of Laccases and Peroxidases from Wood-Rotting Fungi (Family *Coprinaceae*). **Applied And Environmental Microbiology**, v. 64, n. 5, p. 1601–1606, 1998.

HIGHLEY, T. L.; KIRK, T. K. Mechanisms of wood decay and the unique features of heartrots. **Phytopathology**, v. 69, n. 10, p. 1151–1157, 1979.

HIKOROKURO, Y. Chemistry of Lacquer (urushi). Part I. Communication from the Chemical Society of Tokio. **Journal of the Chemical Society, Transactions**, v. 43, p. 472–486, 1883.

HO, Y. S.; MCKAY, G. A kinetic study of dye sorption by biosorbent waste product pith.

**Resources, Conservation and Recycling**, v. 25, p. 171–193, 1999.

HOFRICHTER, M. Review: Lignin conversion by manganese peroxidase (MnP). **Enzyme and Microbial Technology**, v. 30, p. 454–466, 2002.

HÖLKER, U.; HÖFER, M.; LENZ, J. Biotechnological advantages of laboratory-scale solid-state fermentation with fungi. **Appl Microbiol Biotechnol**, v. 64, p. 175–186, 2004.

HOSSAIN, L.; SARKER, S. K.; KHAN, M. S. Evaluation of present and future wastewater impacts of textile dyeing industries in Bangladesh. **Environmental Development**, v. 26, n. March, p. 23–33, 2018.

HOUCK, M. M.; SIEGEL, J. A. Textile fibers. In: **Fundamentals of Forensic Science**. 3. ed. Elsevier Ltd, 2015. p. 381–404.

HUNGER, K. **industrial dyes: chemistry, properties, applications**. Weinheim: Wiley-VCH Publishers, 2003.

HUSSEIN, F. H. Chemical properties of treated textile dyeing wastewater. **Asian Journal of Chemistry**, v. 25, n. 16, p. 9393–9400, 2013.

IARK, D. et al. Enzymatic degradation and detoxification of azo dye Congo red by a new laccase from *Oudemansiella canarii*. **Bioresource Technology**, v. 289, p. 1–7, 2019.

IRBE, I. et al. Impact of biodeterioration on structure and composition of waterlogged foundation piles from Riga Cathedral (1211 CE), Latvia. **Journal of Archaeological Science: Reports**, v. 23, p. 196–202, 2019.

ISLAM, M. M. et al. **Assessment of environmental impacts for textile dyeing industries in Bangladesh**. Proceedings of the International Conference on Green Technology and Environmental Conservation, GTEC-2011. **Anais...Índia: IEEE**, 2011

JING, Z. et al. Cellulose chemistry and technology liquefaction and characterization of enzymatic hydrolysis lignin with phosphotungstic acid. **Cellulose Chemistry And Technology**, v. 52, n. 5–6, p. 387–391, 2018.

JOSHI, M.; BANSAL, R.; PURWAR, R. Colour removal from textile effluents. **Indian Journal of Fibre and Textile Research**, v. 29, p. 239–259, 2004.

KALAIARASAN, E.; ARULKUMAR, M.; PALVANNAN, T. Aqueous thermostabilization of *Pleurotus florida* NCIM 1243 laccase and its potential application in Acid Black 10BX dye decolorization: Process optimization. **Journal of the Taiwan Institute of Chemical Engineers**, v. 45, p. 2403–2410, 2014.

KAMTHAN, R.; TIWARI, I. Agricultural wastes- potential substrates for mushroom cultivation. **European Journal of Experimental Biology**, v. 7, n. 5, p. 31, 2017.

KANG, H. Potential utilization in dye decolorization of spent mushroom substrates. **International Journal of Bioscience and Biotechnology**, v. 3, n. 2, p. 91–96, 2016.

KAPICH, A. N.; JENSEN, K. A.; HAMMEL, K. E. Peroxyl radicals are potential agents of lignin biodegradation. **FEBS Letters**, v. 461, p. 115–119, 1999.

KARMAKAR, S. R. **Chemical Technology in the Pre-Treatment Processes of Textiles**. 1.

ed. Serampore: Elsevier Science, 1999.

KATHERESAN, V.; KANSEDO, J.; LAU, S. Y. Efficiency of various recent wastewater dye removal methods: A review. **Journal of Environmental Chemical Engineering**, v. 6, n. 4, p. 4676–4697, 2018.

KERSTEN, P. J. et al. Comparison of lignin peroxidase, horseradish peroxidase and laccase in the oxidation of methoxybenzenes. **Biochemical Journal**, v. 268, n. 2, p. 475–480, 1990.

KHATRI, A. et al. A review on developments in dyeing cotton fabrics with reactive dyes for reducing effluent pollution. **Journal of Cleaner Production**, v. 87, n. 1, p. 50–57, 2015.

KIRK, T. K.; CULLEN, D. Enzymology and molecular genetics of wood degradation by white-rot fungi. In: YOUNG, R. A.; AKHTAR, M. (Eds.). **Environmentally friendly technologies for the pulp and paper industry**. [s.l.] John Wiley & Sons, 1998. p. 273–307.

KOLTUNIEWICZ, A. Integrated Membrane Operations in Various Industrial Sectors. In: DRIOLI, E.; GIORNO, L. (Eds.). **Comprehensive Membrane Science and Engineering**. Elsevier, 2010. p. 109–164.

KUMAR, D. et al. Perspectives, scope, advancements, and challenges of microbial technologies treating textile industry effluents. In: SHAH, M. P.; RODRIGUEZ-COUTO, S. (Eds.). **Microbial Wastewater Treatment**. Elsevier Inc., 2019. p. 237–260.

KUMAR, P. S. et al. effect of temperature on the adsorption of methylene blue dye onto sulfuric acid – treated orange peel. **Chem. Eng. Comm**, v. 201, p. 1526–1547, 2014.

KUMAR, P. S.; GUNASUNDARI, E. Sustainable wet processing — an alternative source for detoxifying supply chain in textiles. In: MUTHU, S. (Ed.). **Detox Fashion**. Singapore: Springer, 2017. p. 37–60.

KUNZ, A. et al. Novas tendências no tratamento de efluentes têxteis. **Química Nova**, v. 25, n. 1, p. 78–82, 2002.

LACASSE, K.; BAUMANN, W. **Textile Chemicals: Environmental Data and Facts**. 1. ed. Berlin: Springer-Verlag, 2004.

LAFIS. **Têxtil e Confecções**. São Paulo, 2017. Disponível em: <<https://www.lafis.com.br/analise-de-mercado/estudos-e-relatorios>>. Acesso em: 10 nov. 2019.

LAGERGREN, S. Zur theorie der sogenannten adsorption gelöster stoffe, Kungliga Svenska Vetenskapsakademiens. **Handlingar**, v. 24, p. 1–39, 1898.

LANGMUIR, I. The adsorption of gases on plane surfaces of glass, mica and platinum. **Journal of the American Chemical Society**, v. 40, p. 1362–1403, 1918.

LASSOUANE, F. et al. A promising laccase immobilization approach for Bisphenol A removal from aqueous solutions. **Bioresource Technology**, v. 271, p. 360–367, 2019.

LAW, W. M. et al. Removal of biocide pentachlorophenol in water system by the spent mushroom compost of *Pleurotus pulmonarius*. **Chemosphere**, v. 52, p. 1531–1537, 2003.

LEÃO, M. M. D.; CARNEIRO, E. V.; SOARES, A. F. S. **Controle ambiental na indústria**

**têxtil: acabamento de malhas.** Belo Horizonte: SEGRAC Editora e Gráfica, 2002.

LEE, S. K. et al. Nature of the intermediate formed in the reduction of O<sub>2</sub> to H<sub>2</sub>O at the trinuclear copper cluster active site in native laccase. **Journal of the American Chemical Society**, v. 124, n. 21, p. 6180–6193, 2002.

LEGERSKÁ, B.; CHMELOVÁ, D.; ONDREJOVI, M. Decolourization and detoxification of monoazo dyes by laccase from the white-rot fungus *Trametes versicolor*. **Journal of Biotechnology**, v. 285, p. 84–90, 2018.

LI, G. et al. Comparison of two laccases from *Trametes versicolor* for application in the decolorization of dyes. **Journal of Microbiology and Biotechnology**, v. 24, n. 4, p. 545–555, 2014.

LI, Z. et al. Improved performance of immobilized laccase on Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>@C-Cu<sup>2+</sup> nanoparticles and its application for biodegradation of dyes. **Journal of Hazardous Materials**, v. 399, p. 1–7, 2020.

LIM, S. H.; LEE, Y. H.; KANG, H. W. Efficient recovery of lignocellulolytic enzymes of spent mushroom compost from oyster mushrooms, *Pleurotus* spp., and potential use in dye decolorization. **Mycobiology**, v. 41, n. 4, p. 214–220, 2013.

LIU, J. et al. decolorization of rhodamine-b from aqueous solutions by spent mushroom substrate. **BioResources**, v. 12, n. 4, p. 8612–8628, 2017.

LIU, L. et al. Fermentation optimization and characterization of the laccase from *Pleurotus ostreatus* strain 10969. **Enzyme and Microbial Technology**, v. 44, p. 426–433, 2009.

LOU, Z. et al. Composition variability of spent mushroom substrates during continuous cultivation, composting process and their effects on mineral nitrogen transformation in soil. **Geoderma**, v. 307, p. 30–37, 2017.

MACIEL, M. J. M.; SILVA, A. C.; RIBEIRO, H. C. T. Industrial and biotechnological applications of ligninolytic enzymes of the basidiomycota: A review. **Electronic Journal of Biotechnology**, v. 13, n. 6, p. 1–13, 2010.

MASSUDA, E. M. Transformações recentes da indústria têxtil brasileira (1992-1999). **Acta Scientiarum, Human and Social Sciences**, v. 24, p. 243–251, 2002.

MCCABE, W. L.; SMITH, J. C.; HARRIOT, P. **Units operations of chemical engineering.** McGraw Hill, 1993.

MENDES JUNIOR, B. O. Setor têxtil. **Caderno Setorial ETENE**, v. 2, n. 16, p. 1–18, 2017.

MESSERSCHMIDT, A.; LUECKE, H.; HUBER, R. X-ray structures and mechanistic implications of three functional derivatives of ascorbate oxidase from Zucchini: Reduced, peroxide and azide forms. **J. Mol. Biol.**, v. 230, p. 997–1014, 1992.

MO, J. et al. Pretreatment of a dyeing wastewater using chemical coagulants. **Dyes and Pigments**, v. 72, p. 240–245, 2007.

MOHAN, S. et al. A case study on-textile industrial process, characterization and impacts of textile Effluent. **Indian J. Sci. Res.**, v. 17, n. 1, p. 80–084, 2017.

- MOJISOV, K.; JANEVSKI, A.; GABER, S. The application of enzymes for the removal of dyes from textile effluents. **Advanced technologies**, v. 5, n. 1, p. 81–86, 2016.
- MONDAL, P. K.; CHAUHAN, B. Biodegradation of azo dyes from wastewater. In: LICHTFOUSE, E.; SCHWARZBAUER, J.; ROBERT, D. (Eds.). **Environmental Chemistry for a Sustainable World: Remediation of Air and Water Pollution**. Springer Science + Business Media, 2012. v. 2, p. 1–546.
- MURTHY, M. V. R.; KARANTH, N. G.; RAO, K. S. M. S. R. Biochemical engineering aspects of solid-state fermentation. **Advances in Applied Microbiology**, v. 38, p. 99–147, 1993.
- MUTHURAMAN, G.; ELUMALAI, S. Recovery of Levafix brilliant red E-4BA and Levafix brilliant red E-6BA from aqueous solution by supported liquid membrane. **Membrane Water Treatment**, v. 4, n. 4, p. 277, 2013.
- NAKAJIMA, V. M.; SOARES, F. E. F.; QUEIROZ, J. H. Screening and decolorizing potential of enzymes from spent mushroom composts of six different mushrooms. **Biocatalysis and Agricultural Biotechnology**, v. 13, p. 58–61, 2018.
- NASCIMENTO, R. F. et al. **Adsorção: aspectos teóricos e aplicações ambientais**. Fortaleza: Imprensa Universitária, 2014.
- NIGAM, P. S.; PANDEY, A. Solid-state fermentation technology for bioconversion of biomass and agricultural residues. In: NIGAM, P. S.; PANDEY, A. (Eds.). **Biotechnology for Agro-Industrial Residues Utilisation: Utilisation of Agro-Residues**. Dordrecht: Springer Science + Business Media, 2009. p. 1–466.
- NILADEVI, K. N. Enzymes degrading agro-industrial residues and their production. In: NIGAM, P. S.; PANDEY, A. (Eds.). **Biotechnology for Agro-Industrial Residues Utilisation: Utilisation of Agro-Residues**. Springer, 2009. p. 462.
- NIRMALADEVI, S.; PALANISAMY, N. A comparative study of the removal of cationic and anionic dyes from aqueous solutions using biochar as an adsorbent. **Desalination and Water Treatment** [www.deswater.com](http://www.deswater.com), v. 175, p. 282–292, 2020.
- OH, S. Y. et al. Crystalline structure analysis of cellulose treated with sodium hydroxide and carbon dioxide by means of X-ray diffraction and FTIR spectroscopy. **Carbohydrate Research**, v. 340, p. 2376–2391, 2005.
- OTHMAN, A. M. et al. Purification and biochemical characterization of two isolated laccase isoforms from *Agaricus bisporus* CU13 and their potency in dye decolorization. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 113, p. 1142–1148, 2018.
- PALANI, M. et al. Physico chemical analysis of textile industrial effluents from Tirupur City, Tn, India. **International Journal of Advance Research In Science And Engineering**, v. 4, n. 02, p. 93–104, 2015.
- PANDEY, A. Recent process developments fermentation in solid-state fermentation. **Process Biochemistry**, v. 27, p. 109–117, 1992.
- PANDI, A.; MARICHETTI, G.; NUMBI, K. A sustainable approach for degradation of leather dyes by a new fungal laccase. **Journal of Cleaner Production**, v. 211, p. 590–597,



2019.

PANG, Y. L.; ABDULLAH, A. Z. Current status of textile industry wastewater management and research progress in malaysia: A review. **Clean - Soil, Air, Water**, v. 41, n. 8, p. 751–764, 2013.

PAPINUTTI, L.; FORCHIASSIN, F. Adsorption and decolorization of dyes using solid residues from *Pleurotus ostreatus* mushroom production. **Biotechnology and Bioprocess Engineering**, v. 15, n. 6, p. 1102–1109, 2010.

PARSHETTI, G. K. et al. Decolorization and detoxification of sulfonated azo dye methyl orange by *Kocuria rosea* MTCC 1532. **Journal of Hazardous Materials**, v. 176, p. 503–509, 2010.

PARSHETTI, G. K. et al. Industrial dye decolorizing lignin peroxidase from *Kocuria rosea* MTCC 1532. **Annals of Microbiology**, v. 62, p. 217–223, 2012.

PATEL, H.; VASHI, R. T. **Characterization and Treatment of Textile Wastewater**. Elsevier, 2015.

PELLEY, J. W. Enzymes and Energetics. In: PELLEY, J. W. (Ed.). **Elsevier's Integrated Review Biochemistry**. 2. ed. Elsevier Inc., 2012. p. 29–37.

PEREIRA, L.; ALVES, M. Dyes-environmental impact and remediation. In: MALIK, A.; GROHMANN, E. (Eds.). **Environmental Protection Strategies for Sustainable Development**. Springer Science + Business Media, 2012. p. 111–162.

PÉREZ-CALDERÓN, J.; SANTOS, M. V.; ZARITZKY, N. Synthesis, characterization and application of cross-linked chitosan/oxalic acid hydrogels to improve azo dye (Reactive Red 195) adsorption. **Reactive and Functional Polymers**, v. 155, p. 1–18, 2020.

PERMINOVA, I. V.; HATFIELD, K.; HERTKORN, N. **Use of humic substances to remediate polluted environments: From theory to practice**. Dordrecht: Springer, 2002. v. 52.

PHAN, C.; SABARATNAM, V. Potential uses of spent mushroom substrate and its associated lignocellulosic enzymes. **Appl Microbiol Biotechnol**, v. 96, p. 863–873, 2012.

PODDER, C. B.; MAJUMDER, M. S. Biosorption of As (III) and As (V) on the surface of TW/MnFe<sub>2</sub>O<sub>4</sub> composite from wastewater: kinetics, mechanistic and thermodynamics. **Applied Water Science**, v. 7, p. 2689–2715, 2017.

PUVANESWARI, N.; MUTHUKRISHNAN, J.; GUNASEKARAN, P. Toxicity assessment and microbial degradation of azo dyes. **Indian Journal of Experimental Biology**, v. 44, p. 618–626, 2006.

RAJA, A. S. M. et al. Water requirement and sustainability of textile processing industries. In: **Water in Textiles and Apparel**. Mumbai: Elsevier Ltd, 2019. p. 155–173.

RATHER, L. J. et al. **Advances in the sustainable technologies for water conservation in textile industries**. Elsevier Ltd, 2019.

RECH, S. R. Estrutura da cadeia produtiva da moda. **ModaPalavra e-periódico**, v. 1, n. 1, p.

7–20, 2008.

REDLICH, O.; PETERSON, D. L. A useful adsorption isotherm. **Journal of Physical Chemistry**, v. 63, n. 6, p. 1024–1026, 1959.

REID, I. D. Biodegradation of lignin. **Can. J. Bot.**, v. 73, n. 1, p. 1011–1018, 1995.

RENGANATHAN, V.; GOLD, M. H. Spectral characterization of the oxidized states of lignin peroxidase, an extracellular heme enzyme from the white rot basidiomycete *Phanerochaete chrysosporium*. **Biochemistry**, v. 25, n. 7, p. 1626–1631, 1986.

RIBEIRO, L. G. **Introdução à Tecnologia Têxtil**. 1. ed. Rio de Janeiro: CETIQT/SENAI, 1984.

RITTER, M. T. **Estudo do lodo de ETA contendo alumínio para a adsorção de fósforo de esgotos sanitários previamente tratados em wetlands construídos**. 2020. 80 p. Dissertação (Mestrado em Engenharia Ambiental) – Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2020.

RINKER, D. L. Spent Mushroom Substrate Uses. In: ZIED, D. C.; PARDO-GIMÉNEZ, A. (Eds.). **Edible and Medicinal Mushrooms: Technology and Applications**. 1. ed. John Wiley & Sons Ltd, 2017. p. 427–454.

ROBINSON, T. et al. Remediation of dyes in textile effluent: a critical review on current. **Bioresource Technology**, v. 77, p. 247–255, 2001.

ROGINSKY, S. Z.; ZELDOVICH, J. The catalytic oxidation of carbon monoxide on manganese dioxide. **Acta Phys. Chem. USSR**, v. 1, p. 554, 1934.

ROYSE, D. J.; BAARS, J.; TAN, Q. Current overview of mushroom production in the world. In: ZIED, D. C.; PARDO-GIMÉNEZ, A. (Eds.). **Edible and Medicinal Mushrooms: Technology and Applications**. 1. ed. John Wiley & Sons Ltd, 2017. p. 5–13.

RUTHVEN, D. M. **Principles of Adsorption and Adsorption Process**. New York: John Wiley & Sons, 1984.

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

SAHA, P.; CHOWDHURY, S. Insight Into Adsorption Thermodynamics. In: TADASHI, M. (Ed.). **Thermodynamics**. IntechOpen, 2011. p. 349–364.

SALEM, V. **Tingimento têxtil: fibras, conceitos e tecnologias**. São Paulo: Edgard Blucher, 2010.

SAMANTA, K. K. et al. Water consumption in textile processing and sustainable approaches for its conservation. In: **Water in Textiles and Apparel**. Elsevier Ltd., 2019. p. 41–59.

SÁNCHEZ, C. Cultivation of *Pleurotus ostreatus* and other edible mushrooms. **Appl. Microbiol. Biotechnol.**, v. 85, p. 1321–1337, 2010.

SANTOS, G. C.; CORSO, C. R. Comparative analysis of azo dye biodegradation by *Aspergillus oryzae* and *Phanerochaete chrysosporium*. **Water Air and Soil Pollution**, v. 225,

p. 1–12, 2014.

SAOUDI, O.; GHAOUAR, N. Biocatalytic characterization of free and immobilized laccase from *Trametes versicolor* in its activation zone. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 128, p. 681–691, 2019.

SCHMIDT, B. et al. Lignin peroxidases are oligomannose type glycoproteins. **Journal of Biotechnology**, v. 13, n. 2–3, p. 223–228, 1990.

SENTHILKUMAR, R. et al. Improved sorption of reactive black 5 by date seed-derived biochar : isotherm, kinetic and thermodynamic studies. **Separation Science and Technology**, p. 1–10, 2018.

SENTHILKUMAR, S. et al. Optimization of process parameters for efficient decolorization of Congo red by novel fungus *Curvularia* sp . using Box – Behnken design. **Desalination and Water Treatment**, p. 1–9, 2014.

SHAIKH, M. A. Water conservation in textile industry. **Pakistan Textile Journal**, v. 58, p. 48–51, 2009.

SHANG, S. M. Process control in dyeing of textiles. In: **Process control in textile manufacturing**. 1. ed. Cambridge: Woodhead Publishing Limited, 2013. p. 300–338.

SHARMA, K. Water and wastewater quantification in a cotton textile Industry. **International Journal of Innovative Science, Engineering & Technology**, v. 2, n. 6, p. 288–299, 2015.

SHEN, C. et al. A crosslinking-induced precipitation process for the simultaneous removal of poly (vinyl alcohol) and reactive dye: The importance of covalent bond forming and magnesium coagulation. **Chemical Engineering Journal**, v. 374, p. 904–913, 2019.

SINGH, A. D. et al. Decolourisation of chemically different dyes by enzymes from spent compost of *Pleurotus sajor-caju* and their kinetics. **African Journal of Biotechnology**, v. 9, n. 1, p. 41–54, 2010.

SINGH, A. D. et al. Enzymes from spent mushroom substrate of *Pleurotus sajor-caju* for the decolourisation and detoxification of textile dyes. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, v. 27, p. 535–545, 2011.

SINGH, A. D.; ABDULLAH, N.; VIKINESWARY, S. Optimization of extraction of bulk enzymes from spent mushroom compost. **Journal of Chemical Technology and Biotechnology**, v. 78, p. 743–752, 2003.

SINGH, R.; AHLAWAT, O. P.; RAJOR, A. Screening of mycelia and spent substrate of edible mushroom species for their dyes decolorization potential. **Mushroom Research**, v. 22, n. 2, p. 115–124, 2013.

SIPS, R. On the structure of a catalyst surface. **The Journal of Chemical Physics**, v. 16, p. 490–495, 1948.

SOLÍS, M. et al. Microbial decolouration of azo dyes: a review. **Process Biochemistry**, v. 47, n. 12, p. 1723–1748, 2012.

SOSA-MARTÍNEZ, J. D. et al. Synthetic dyes biodegradation by fungal ligninolytic

enzymes : Process optimization, metabolites evaluation and toxicity assessment. **Journal of Hazardous Materials**, v. 400, n. March, p. 12, 2020.

SOUSA, R. C. S. et al. Adsorção de alfa-lactalbumina do soro de leite em hidroxiapatita: efeito do pH e da temperatura e análise termodinâmica. **Química Nova**, v. 37, n. 6, p. 950–955, 2014.

SOUZA, C. G. M.; PERALTA, R. M. Purification and characterization of the main laccase produced by the white-rot fungus *Pleurotus pulmonarius* on wheat bran solid state medium. **Journal of Basic Microbiology**, v. 43, n. 4, p. 278–286, 2003.

STAVRINOU, A.; AGGELOPOULOS, C. A.; TSAKIROGLOU, C. D. Exploring the adsorption mechanisms of cationic and anionic dyes onto agricultural waste peels of banana, cucumber and potato: Adsorption kinetics and equilibrium isotherms as a tool. **Journal of Environmental Chemical Engineering**, v. 6, p. 6958–6970, 2018.

SUN, X. et al. Chemical composition of spent *Pleurotus eryngii* mushroom substrate and its reuse for *Volvariella volvacea* production. **Asian Journal of Chemistry**, v. 25, n. 18, p. 10504–10508, 2013.

TARPANI, R. R. Z. **Remoção de alumínio monomérico de água para abastecimento através da ação da carboximetilcelulose e da quitina**. 2012. 116 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Ambiental). Programa de Pós-Graduação em Engenharia Ambiental, Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC). Florianópolis, 2012.

TANG, R. et al. Synthesis and characterization of chitosan based dye containing quaternary ammonium group. **Carbohydrate Polymers**, v. 139, p. 191–196, 2016.

TEIXEIRA, R. S. S.; PEREIRA, M.; FERREIRA-LEITÃO, V. S. Extraction and application of laccases from shimeji mushrooms (*Pleurotus ostreatus*) residues in decolourisation of reactive dyes and a comparative study using commercial laccase from *Aspergillus oryzae*. **Enzyme Research**, p. 1–8, 2010.

TEMKIN, M.; PYZHEV, V. Kinetics of the synthesis of ammonia on promoted iron catalysts. **J. Phys. Chem.**, v. 13, n. 7, p. 851–867, 1939.

TIAN, X. et al. Spent mushroom : a new low-cost adsorbent for removal of Congo Red from aqueous solutions. **Desalination and Water Treatment**, v. 27, n. 1–3, p. 319–326, 2011.

TOMASSONI, F. **Remoção de cor de efluente têxtil sintético por processos de eletrocoagulação e adsorção com carvões ativados produzidos a partir de folhas de *Persea americana* Mill. e de *Cásia fistula* l.** 2019. 181 f. Tese (Doutorado em Engenharia Ambiental) – Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2019.

TOPTAS, A. et al. Spent mushroom compost as biosorbent for dye biosorption. **Clean - Soil, Air, Water**, v. 42, p. 1–8, 2014.

UDDIN, S. M. I. Impact of textile wastewater pollution on the environment. **Pakistan Textile Journal**, p. 38–39, 2018.

UNIDO - UNITED NATIONS INDUSTRIAL DEVELOPMENT ORGANIZATION. **INDSTAT 2 2020, ISIC Revision 3 (Demo): Textiles, 2018**. Disponível em: <<https://stat.unido.org/>>. Acesso em: 10 nov. 2019.

- UZUN, I. Use of spent mushroom compost in sustainable fruit production. **Journal of Fruit and Ornamental Plant Research**, v. 12, p. 157–165, 2004.
- VALH, J. V. et al. Water in the textile industry. In: WILDERER, P. (Ed.). **Treatise on Water Science**. 1. ed. Oxford: Elsevier, 2011. p. 685–703.
- VALLI, K.; WARIISHI, H.; GOLD, M. H. Oxidation of monomethoxylated aromatic compounds by lignin peroxidase: role of veratryl alcohol in lignin biodegradation. **Biochemistry**, v. 29, n. 37, p. 8535–8539, 1990.
- VILKOVSKÁ, T.; KLEMENT, I.; VÝBOHOVÁ, E. The effect of tension wood on the selected physical properties and chemical composition of beech wood (*Fagus sylvatica* L.). **Acta facultatis xylogologiae zvolen**, v. 60, n. 1, p. 31–41, 2018.
- VINIEGRA-GONZÁLEZ, G. et al. Advantages of fungal enzyme production in solid state over liquid fermentation systems. **Biochemical Engineering Journal** 13, v. 13, p. 157–167, 2003.
- VRSANSKA, M. et al. Influence of different inducers on ligninolytic enzyme activities. **Journal of Metallomics and Nanotechnologies**, v. 3, p. 64–70, 2015.
- WANG, Z. et al. Purification and characterization of two thermostable laccases with high cold adapted characteristics from *Pycnoporus* sp. SYBC-L1. **Process Biochemistry**, v. 45, p. 1720–1729, 2010.
- WARIISHI, H.; AKILESWARAN, L.; GOLD, M. H. Manganese peroxidase from the basidiomycete *Phanerochaete chrysosporium*: spectral characterization of the oxidized states and the catalytic cycle. **Biochemistry**, v. 27, n. 14, p. 5365–5370, 1988.
- WEBER, W. J.; MORRIS, J. C. Kinetics of adsorption on carbon from solution. **Journal of Sanitary Engineering Division**, v. 89, n. 2, p. 31–60, 1963.
- WESENBERG, D.; KYRIAKIDES, I.; AGATHOS, S. N. White-rot fungi and their enzymes for the treatment of industrial dye effluents. **Biotechnology Advances**, v. 22, p. 161–187, 2003.
- WHARFE, E. S. et al. Fourier transform infrared spectroscopy as a metabolite fingerprinting tool for monitoring the phenotypic changes in complex bacterial communities capable of degrading phenol. **Environmental Microbiology**, v. 12, n. 12, p. 3253–3263, 2010.
- WONG, D. W. S. Structure and action mechanism of ligninolytic enzymes. **Applied Biochemistry and Biotechnology**, v. 157, p. 174–209, 2009.
- WORCH, E. **Adsorption Technology in Water Treatment: fundamentals, processes and modeling**. Berlin: Walter de Gruyter GmbH, 2012.
- WU, J. et al. Spent substrate of *Ganoderma lucidum* as a new bio-adsorbent for adsorption of three typical dyes. **Bioresource Technology**, v. 266, n. June, p. 134–138, 2018.
- WU, J. et al. Adsorption thermodynamics and dynamics of three typical dyes onto bio-adsorbent spent substrate of *Pleurotus eryngii*. **International Journal of Environmental Research and Public Health**, v. 16, n. 5, p. 679, 2019.

XU, J. et al. Applied Surface Science Adsorptive removal of an anionic dye Congo red by flower-like hierarchical magnesium oxide (MgO)-graphene oxide composite microspheres. **Applied Surface Science**, v. 435, p. 1136–1142, 2018.

YADAV, M.; SINGH, S. K.; YADAV, K. D. S. Purification and characterization of lignin peroxidase from *Pleurotus sajor caju* MTCC – 141. **Journal of Wood Chemistry and Technology**, v. 29, n. 1, p. 37–41, 2009.

YADAV, M.; YADAV, H. S. Applications of ligninolytic enzymes to pollutants, wastewater, dyes, soil, coal, paper and polymers. **Environmental Chemistry Letters**, v. 13, n. 3, p. 309–318, 2015.

YAN, T.; WANG, L. Adsorptive removal of methylene blue from aqueous solution by spent mushroom substrate: equilibrium, kinetics, and thermodynamics. **BioResources**, v. 8, n. 3, p. 4722–4734, 2013.

YANG, J. et al. Cross-linked enzyme aggregates of *Cerrena* laccase: Preparation, enhanced NaCl tolerance and decolorization of Remazol Brilliant Blue Reactive. **Journal of the Taiwan Institute of Chemical Engineers**, v. 65, p. 1–7, 2016.

YAROLOV, A. I. et al. Laccase: Properties, Catalytic Mechanism, and Applicability. **Applied Biochemistry and Biotechnology**, v. 49, p. 257–280, 1994.

YASEEN, D. A.; SCHOLZ, M. Textile dye wastewater characteristics and constituents of synthetic effluents: a critical review. **International Journal of Environmental Science and Technology**, v. 16, p. 1193–1226, 2019.

YEHIA, R. S. Aflatoxin detoxification by manganese peroxidase purified from *Pleurotus ostreatus*. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 45, n. 1, p. 127–133, 2014.

ZANONI, M. V. B.; YAMANAKA, H. **Corantes Caracterização química, toxicológica, métodos de detecção e tratamento**. 1. ed. São Paulo: Cultura Acadêmica, 2016.

ZHANG, H. et al. Characterization of a manganese peroxidase from white-rot fungus *Trametes* sp.48424 with strong ability of degrading different types of dyes and polycyclic aromatic hydrocarbons. **Journal of Hazardous Materials**, v. 320, p. 265–277, 2016.

ZHOU, Q. et al. Biosorption of Methylene Blue onto spent corncob substrate: kinetics, equilibrium and thermodynamic studies. **Water Science & Technology**, v. 63, n. 12, p. 2775–2780, 2011.

ZHU, Y. et al. Covalent laccase immobilization on the surface of poly(vinylidene fluoride) polymer membrane for enhanced biocatalytic removal of dyes pollutants from aqueous environment. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v. 191, n. December 2019, p. 1–8, 2020.

ZHUO, R. et al. Heterologous expression and characterization of three laccases obtained from *Pleurotus ostreatus* HAUC 162 for removal of environmental pollutants. **Journal of Hazardous Materials**, v. 344, p. 499–510, 2018.

ZHUO, R. et al. Chemosphere The roles of *Pleurotus ostreatus* HAUC 162 laccase isoenzymes in decolorization of synthetic dyes and the transformation pathways. **Chemosphere**, v. 234, p. 733–745, 2019.

ZILLY, A. et al. Influence of NaCl and Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> on the kinetics and dye decolorization ability of crude laccase from *Ganoderma lucidum*. **International Biodeterioration and Biodegradation**, v. 65, p. 340–344, 2011.

ZOLLINGER, H. **Color chemistry: syntheses, properties, and applications of organic dyes and pigments**. 3. ed. Zürich: Verlag Helvetica Chimica Acta, 2003.

**APÊNDICE A – Estimativas de efeitos do modelo experimental para a remoção total  
(Adsorção + Degradação enzimática).**

	Ef	Erro P	t (2)	p	-90% LC	+90% LC	Coef	Erro P Coef	-90% LC	+90% LC
<b>Mean /Interc</b>	37,17	0,63	59,21	0,0003	35,34	39,00	37,17	0,63	35,34	39,0
<b>pH</b>	8,69	1,33	6,53	0,0227	4,80	12,58	4,35	0,67	2,40	6,3
<b>T</b>	-6,68	1,33	-5,02	0,0375	-10,57	-2,80	-3,34	0,67	-5,29	-1,4
<b>SRC</b>	29,35	1,33	22,04	0,0021	25,46	33,24	14,68	0,67	12,73	16,6
<b>pH x T</b>	2,13	1,33	1,60	0,2511	-1,76	6,02	1,06	0,67	-0,88	3,0
<b>pH x SRC</b>	1,48	1,33	1,11	0,3828	-2,41	5,37	0,74	0,67	-1,21	2,7
<b>T x SRC</b>	1,98	1,33	1,49	0,2746	-1,90	5,87	0,99	0,67	-0,95	2,9

Ef – Efeito; Erro P – Erro padrão; p – Probabilidade; LC – Limite de confiança; Coef – coeficiente de regressão; Erro P Coef – Erro padrão do coeficiente; t - t de Student.

**APÊNDICE B – Resultados da análise ANOVA do modelo experimental para a remoção total (Adsorção + Degradação enzimática).**

	SS	df	MS	F	p
<b>pH</b>	151,149	1	151,149	42,613	0,02267
<b>T</b>	89,347	1	89,347	25,189	0,03748
<b>SRC</b>	1723,010	1	1723,010	485,762	0,00205
<b>pH x T</b>	9,057	1	9,057	2,554	0,25115
<b>pH x SRC</b>	4,364	1	4,364	1,230	0,38284
<b>T x SRC</b>	7,878	1	7,878	2,221	0,27461
<b>Erro</b>	7,094	2	3,547		
<b>Total SS</b>	1991,900	8			

SS – Soma dos quadrados; df – Graus de liberdade; MS – Quadrados médios; F – teste de Fisher.



**APÊNDICE C – Estimativas de efeitos do modelo experimental para a adsorção.**

	Ef	Erro P	t (2)	p	-90% LC	+90% LC	Coef	Erro P Coef	-90% LC	+90% LC
<b>Mean /Interc</b>	34,63	0,72	48,26	0,00002	32,94	36,31	34,63	0,72	32,94	36,31
<b>pH</b>	16,12	1,52	10,59	0,00180	12,54	19,71	8,06	0,76	6,27	9,85
<b>T</b>	-1,59	1,52	-1,05	0,37186	-5,18	1,99	-0,80	0,76	-2,59	0,99
<b>SRC</b>	26,87	1,52	17,66	0,00040	23,29	30,46	13,44	0,76	11,65	15,23
<b>pH x T</b>	-1,08	1,52	-0,71	0,52921	-4,66	2,50	-0,54	0,76	-2,33	1,25
<b>pH x SRC</b>	5,15	1,52	3,38	0,04297	1,57	8,73	2,57	0,76	0,78	4,37

Ef – Efeito; Erro P – Erro padrão; p – Probabilidade; LC – Limite de confiança; Coef – coeficiente de regressão; Erro P Coef – Erro padrão do coeficiente; t - t de *Student*.

**APÊNDICE D – Resultados da análise ANOVA do modelo experimental para a adsorção.**

	SS	df	MS	F	p
<b>pH</b>	519,978	1	519,978	112,228	0,001797
<b>T</b>	5,083	1	5,083	1,097	0,371861
<b>SRC</b>	1444,516	1	1444,516	311,772	0,000396
<b>pH x T</b>	2,332	1	2,332	0,503	0,529214
<b>pH x SRC</b>	53,048	1	53,048	11,449	0,042974
<b>Erro</b>	13,900	3	4,633		
<b>Total SS</b>	2038,856	8			

SS – Soma dos quadrados; df – Graus de liberdade; MS – Quadrados médios; F – teste de Fisher.

**APÊNDICE E – Estimativas de efeitos do modelo experimental para a degradação enzimática.**

	Ef	Erro P	t (2)	p	-90% LC	+90% LC	Coef	Erro P Coef	-90% LC	+90% LC
<b>Mean /Interc</b>	3,30	0,70	4,71	0,018157	1,65	4,95	3,30	0,70	1,65	4,95
<b>pH</b>	-5,73	1,49	-3,85	0,030871	-9,23	-2,23	-2,86	0,74	-4,61	-1,12
<b>T</b>	-4,92	1,49	-3,31	0,045467	-8,42	-1,42	-2,46	0,74	-4,21	-0,71
<b>SRC</b>	2,31	1,49	1,55	0,218836	-1,19	5,80	1,15	0,74	-0,60	2,90
<b>pH x T</b>	3,38	1,49	2,27	0,107655	-0,12	6,88	1,69	0,74	-0,06	3,44
<b>pH x SRC</b>	-3,84	1,49	-2,59	0,081394	-7,34	-0,35	-1,92	0,74	-3,67	-0,17

Ef – Efeito; Erro P – Erro padrão; p – Probabilidade; LC – Limite de confiança; Coef – coeficiente de regressão; Erro P Coef – Erro padrão do coeficiente; t - t de *Student*.

**APÊNDICE F – Resultados da análise ANOVA do modelo experimental para a degradação enzimática.**

	SS	df	MS	F	p
<b>pH</b>	65,6529	1	65,65288	14,84831	0,030871
<b>T</b>	48,3791	1	48,37907	10,94160	0,045467
<b>SRC</b>	10,6279	1	10,62785	2,40364	0,218836
<b>pH x T</b>	22,8386	1	22,83858	5,16526	0,107655
<b>pH x SRC</b>	29,5563	1	29,55633	6,68457	0,081394
<b>Erro</b>	13,2647	3	4,42157		
<b>Total SS</b>	190,3194	8			

SS – Soma dos quadrados; df – Graus de liberdade; MS – Quadrados médios; F – teste de Fisher.

**APÊNDICE G – Estimativas de efeitos do modelo experimental para a atividade da lacase.**

	Ef	Erro P	t (2)	p	-90% LC	+90% LC	Coef.	Erro P Coef	-90% LC	+90% LC
<b>Mean /Interc</b>	31,48	2,10	14,96	0,000024	27,24	35,718	31,478	2,10	27,24	35,72
<b>T</b>	-15,33	4,46	-3,43	0,018568	-24,32	-6,331	-7,663	2,23	-12,16	-3,17
<b>SRC</b>	29,64	4,46	6,64	0,001168	20,65	38,634	14,820	2,23	10,32	19,32
<b>pH x SRC</b>	-6,59	4,46	-1,48	0,199717	-15,59	2,402	-3,296	2,23	-7,79	1,20

Ef – Efeito; Erro P – Erro padrão; p – Probabilidade; LC – Limite de confiança; Coef – coeficiente de regressão; Erro P Coef – Erro padrão do coeficiente; t - t de *Student*.

**APÊNDICE H – Resultados da análise ANOVA do modelo experimental para a atividade da lacase.**

	SS	df	MS	F	p
<b>T</b>	469,743	1	469,743	11,78784	0,018568
<b>SRC</b>	1757,030	1	1757,030	44,09131	0,001168
<b>pH x SRC</b>	86,932	1	86,932	2,18150	0,199717
<b>Erro</b>	199,249	5	39,850		
<b>Total SS</b>	2512,955	8			

SS – Soma dos quadrados; df – Graus de liberdade; MS – Quadrados médios; F – teste de Fisher.