



ORGANIZADORES

Rosane Marina Peralta

Adelar Bracht

José Rivaldo dos Santos Filho

Thaís Marques Uber

# BIORREMEDIACÃO ENZIMÁTICA



ORGANIZADORES

Rosane Marina Peralta

Adelar Bracht

José Rivaldo dos Santos Filho

Thaís Marques Uber

# BIORREMEDIACÃO ENZIMÁTICA

I São Paulo I

2026 I



DADOS INTERNACIONAIS DE CATALOGAÇÃO NA PUBLICAÇÃO (CIP)

B616

Biorremediação Enzimática / Organização Rosane Marina Peralta... [et al.] – São Paulo: Pimenta Cultural, 2026.

Demais organizadores: Adelar Bracht, José Rivaldo dos Santos Filho, Thaís Marques Uber.

Livro em PDF

ISBN 978-85-7221-472-8

DOI 10.31560/pimentacultural/978-85-7221-472-8

1. Biorremediação. 2. Enzimas. 3. Metabolismo microbiano. 4. Análise instrumental. 5. Poluentes. I. Peralta, Rosane Marina (Org.). II. Bracht, Adelar (Org.). III. Santos Filho, José Rivaldo dos (Org.). IV. Uber, Thaís Marques (Org.). V. Título

CDD 628.53

Índice para catálogo sistemático:

- I. Biorremediação
  - II. Análise instrumental de poluentes
- Simone Sales • Bibliotecária • CRB ES-000814/0

Copyright © Pimenta Cultural, alguns direitos reservados.

Copyright do texto © 2026 os autores e as autoras.

Copyright da edição © 2026 Pimenta Cultural.

Esta obra é licenciada por uma Licença Creative Commons:  
*Atribuição-NãoComercial-SemDerivações 4.0 Internacional - (CC BY-NC-ND 4.0).*

Os termos desta licença estão disponíveis em:

<<https://creativecommons.org/licenses/>>.

Direitos para esta edição cedidos à Pimenta Cultural.

O conteúdo publicado não representa a posição oficial da Pimenta Cultural.

---

Direção editorial	Patricia Bieging Raul Inácio Busarello
Editora executiva	Patricia Bieging
Gerente editorial	Landressa Rita Schiefelbein
Assistente editorial	Júlia Marra Torres
Estagiária editorial	Ana Flávia Pivisan Kobata
Diretor de criação	Raul Inácio Busarello
Assistente de arte	Naiara Von Groll
Editoração eletrônica	Andressa Karina Voltolini
Estagiária em editoração	Stela Tiemi Hashimoto Kanada
Imagens da capa	user1737462 - Freepik.com Guilherme de Souza Figueiredo
Tipografias	Acumin, Belarius Poster, Gobold Extra2, Magno Sans Variable
Revisão	Os autores e os organizadores
Organizadores	Rosane Marina Peralta Adelar Bracht José Rivaldo dos Santos Filho Thaís Marques Uber

---

**PIMENTA CULTURAL**

São Paulo • SP

+55 (11) 96766 2200

*livro@pimentacultural.com*

*www.pimentacultural.com*



2 0 2 6

# CONSELHO EDITORIAL CIENTÍFICO

## Doutores e Doutoras

**Adilson Cristiano Habowski**  
*Universidade La Salle, Brasil*

**Adriana Flávia Neu**  
*Universidade Federal de Santa Maria, Brasil*

**Adriana Regina Vettorazzi Schmitt**  
*Instituto Federal de Santa Catarina, Brasil*

**Aguimario Pimentel Silva**  
*Instituto Federal de Alagoas, Brasil*

**Alaim Passos Bispo**  
*Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Brasil*

**Alaim Souza Neto**  
*Universidade Federal de Santa Catarina, Brasil*

**Alessandra Knoll**  
*Universidade Federal de Santa Catarina, Brasil*

**Alessandra Regina Müller Germani**  
*Universidade Federal de Santa Maria, Brasil*

**Aline Corso**  
*Universidade do Vale do Rio dos Sinos, Brasil*

**Aline Wendpap Nunes de Siqueira**  
*Universidade Federal de Mato Grosso, Brasil*

**Ana Rosangela Colares Lavand**  
*Universidade Estadual do Norte do Paraná, Brasil*

**André Gobbo**  
*Universidade Federal da Paraíba, Brasil*

**André Tanus Cesário de Souza**  
*Faculdade Anhanguera, Brasil*

**Andressa Antunes**  
*Universidade Federal de Ouro Preto, Brasil*

**Andressa Wiebusch**  
*Universidade Federal de Santa Maria, Brasil*

**Andreza Regina Lopes da Silva**  
*Universidade Federal de Santa Catarina, Brasil*

**Angela Maria Farah**  
*Universidade de São Paulo, Brasil*

**Anísio Batista Pereira**  
*Universidade do Estado do Amapá, Brasil*

**Antonio Edson Alves da Silva**  
*Universidade Estadual do Ceará, Brasil*

**Antonio Henrique Coutelo de Moraes**  
*Universidade Federal de Rondonópolis, Brasil*

**Arthur Vianna Ferreira**  
*Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Brasil*

**Ary Albuquerque Cavalcanti Junior**  
*Universidade Federal de Mato Grosso, Brasil*

**Asterlindo Bandeira de Oliveira Júnior**  
*Universidade Federal da Bahia, Brasil*

**Bárbara Amaral da Silva**  
*Universidade Federal de Minas Gerais, Brasil*

**Bernadette Beber**  
*Universidade Federal de Santa Catarina, Brasil*

**Bruna Carolina de Lima Siqueira dos Santos**  
*Universidade do Vale do Itajaí, Brasil*

**Bruno Rafael Silva Nogueira Barbosa**  
*Universidade Federal da Paraíba, Brasil*

**Caio Cesar Portella Santos**  
*Instituto Municipal de Ensino Superior de São Manuel, Brasil*

**Carla Wanessa do Amaral Caffagni**  
*Universidade de São Paulo, Brasil*

**Carlos Adriano Martins**  
*Universidade Cruzeiro do Sul, Brasil*

**Carlos Jordan Lapa Alves**  
*Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, Brasil*

**Caroline Chioqueta Lorenetz**  
*Universidade Federal de Santa Catarina, Brasil*

**Cassia Cordeiro Furtado**  
*Universidade Federal do Maranhão, Brasil*

**Cássio Michel dos Santos Camargo**  
*Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Brasil*

**Cecília Machado Henriques**  
*Universidade Federal de Santa Catarina, Brasil*

**Christiano Martino Otero Avila**  
*Universidade Federal de Pelotas, Brasil*

**Cláudia Samuel Kessler**  
*Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Brasil*

**Cristiana Barcelos da Silva**  
*Universidade do Estado de Minas Gerais, Brasil*

**Cristiane Silva Fontes**  
*Universidade Federal de Minas Gerais, Brasil*

**Daniela Susana Segre Guertzenstein**  
*Universidade de São Paulo, Brasil*

**Daniele Cristine Rodrigues**  
*Universidade de São Paulo, Brasil*

**Dayse Centurion da Silva**  
*Universidade Anhanguera, Brasil*

**Dayse Sampaio Lopes Borges**  
*Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, Brasil*

**Deilson do Carmo Trindade**  
*Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Amazonas, Brasil*

**Diego Pizarro**  
*Instituto Federal de Brasília, Brasil*

**Dorama de Miranda Carvalho**  
*Escola Superior de Propaganda e Marketing, Brasil*

**Edilson de Araújo dos Santos**  
*Universidade de São Paulo, Brasil*

**Edson da Silva**  
*Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri, Brasil*

- Elena Maria Mallmann**  
*Universidade Federal de Santa Maria, Brasil*
- Eleonora das Neves Simões**  
*Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Brasil*
- Eliane Silva Souza**  
*Universidade do Estado da Bahia, Brasil*
- Elvira Rodrigues de Santana**  
*Universidade Federal da Bahia, Brasil*
- Estevão Schultz Campos**  
*Centro Universitário Adventista de São Paulo, Brasil*
- Everly Pegoraro**  
*Universidade Federal do Rio de Janeiro, Brasil*
- Fábio Santos de Andrade**  
*Universidade Federal de Mato Grosso, Brasil*
- Fabrícia Lopes Pinheiro**  
*Universidade Federal do Estado do Rio de Janeiro, Brasil*
- Fauston Negreiros**  
*Universidade de Brasília, Brasil*
- Felipe Henrique Monteiro Oliveira**  
*Universidade Federal da Bahia, Brasil*
- Fernando Vieira da Cruz**  
*Universidade Estadual de Campinas, Brasil*
- Flávia Fernanda Santos Silva**  
*Universidade Federal do Amazonas, Brasil*
- Gabriela Moysés Pereira**  
*Universidade Federal do Rio de Janeiro, Brasil*
- Gabriella Eldereti Machado**  
*Universidade Federal de Santa Maria, Brasil*
- Germano Ehler Pollnow**  
*Universidade Federal de Pelotas, Brasil*
- Geuciane Felipe Guerim Fernandes**  
*Universidade Federal do Pará, Brasil*
- Geymesson Brito da Silva**  
*Universidade Federal de Pernambuco, Brasil*
- Giovanna Ofretorio de Oliveira Martin Franchi**  
*Universidade Federal de Santa Catarina, Brasil*
- Handherson Leylton Costa Damasceno**  
*Universidade Federal da Bahia, Brasil*
- Hebert Elias Lobo Sosa**  
*Universidad de Los Andes, Venezuela*
- Helciclever Barros da Silva Sales**  
*Instituto Nacional de Estudos e Pesquisas Educacionais Anísio Teixeira, Brasil*
- Helena Azevedo Paulo de Almeida**  
*Universidade Federal de Ouro Preto, Brasil*
- Hendy Barbosa Santos**  
*Faculdade de Artes do Paraná, Brasil*
- Humberto Costa**  
*Universidade Federal do Paraná, Brasil*
- Igor Alexandre Barcelos Graciano Borges**  
*Universidade de Brasília, Brasil*
- Inara Antunes Vieira Willelding**  
*Universidade Federal de Santa Catarina, Brasil*
- Jaziel Vasconcelos Dorneles**  
*Universidade de Coimbra, Portugal*
- Jean Carlos Gonçalves**  
*Universidade Federal do Paraná, Brasil*
- Joao Adalberto Campato Junior**  
*Universidade Brasil, Brasil*
- Jocimara Rodrigues de Sousa**  
*Universidade de São Paulo, Brasil*
- Joelson Alves Onofre**  
*Universidade Estadual de Santa Cruz, Brasil*
- Jónata Ferreira de Moura**  
*Universidade São Francisco, Brasil*
- Jonathan Machado Domingues**  
*Universidade Federal de São Paulo, Brasil*
- Jorge Eschriqui Vieira Pinto**  
*Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, Brasil*
- Jorge Luís de Oliveira Pinto Filho**  
*Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Brasil*
- Juliana de Oliveira Vicentini**  
*Universidade de São Paulo, Brasil*
- Juliano Milton Kruger**  
*Instituto Federal do Amazonas, Brasil*
- Julianno Pizzano Ayoub**  
*Universidade Estadual de Ponta Grossa, Brasil*
- Julierme Sebastião Moraes Souza**  
*Universidade Federal de Uberlândia, Brasil*
- Junior César Ferreira de Castro**  
*Universidade de Brasília, Brasil*
- Katia Bruginski Mulik**  
*Universidade de São Paulo, Brasil*
- Laionel Vieira da Silva**  
*Universidade Federal da Paraíba, Brasil*
- Lauro Sérgio Machado Pereira**  
*Instituto Federal do Norte de Minas Gerais, Brasil*
- Leonardo Freire Marino**  
*Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Brasil*
- Leonardo Pinheiro Mozdzenski**  
*Universidade Federal de Pernambuco, Brasil*
- Letícia Cristina Alcântara Rodrigues**  
*Faculdade de Artes do Paraná, Brasil*
- Lucila Romano Tragtenberg**  
*Pontifícia Universidade Católica de São Paulo, Brasil*
- Lucimara Rett**  
*Universidade Metodista de São Paulo, Brasil*
- Luiz Eduardo Neves dos Santos**  
*Universidade Federal do Maranhão, Brasil*
- Maikel Pons Giralt**  
*Universidade de Santa Cruz do Sul, Brasil*
- Manoel Augusto Polastreli Barbosa**  
*Universidade Federal do Espírito Santo, Brasil*
- Marcelo Nicomedes dos Reis Silva Filho**  
*Universidade Estadual do Oeste do Paraná, Brasil*

- Márcia Alves da Silva**  
*Universidade Federal de Pelotas, Brasil*
- Marcio Bernardino Sírino**  
*Universidade Federal do Estado do Rio de Janeiro, Brasil*
- Marcos Pereira dos Santos**  
*Universidad Internacional Iberoamericana del Mexico, México*
- Marcos Uzel Pereira da Silva**  
*Universidade Federal da Bahia, Brasil*
- Marcus Fernando da Silva Praxedes**  
*Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, Brasil*
- Maria Aparecida da Silva Santadel**  
*Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, Brasil*
- Maria Cristina Giorgi**  
*Centro Federal de Educação Tecnológica Celso Suckow da Fonseca, Brasil*
- Maria Edith Maroca de Avelar**  
*Universidade Federal de Ouro Preto, Brasil*
- Marina Bezerra da Silva**  
*Instituto Federal do Piauí, Brasil*
- Marines Rute de Oliveira**  
*Universidade Estadual do Oeste do Paraná, Brasil*
- Mauricio José de Souza Neto**  
*Universidade Federal da Bahia, Brasil*
- Michele Marcelo Silva Bortolai**  
*Universidade de São Paulo, Brasil*
- Mônica Tavares Orsini**  
*Universidade Federal do Rio de Janeiro, Brasil*
- Nara Oliveira Salles**  
*Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Brasil*
- Neide Araujo Castilho Teno**  
*Universidade Estadual de Mato Grosso do Sul, Brasil*
- Neli Maria Mengalli**  
*Pontifícia Universidade Católica de São Paulo, Brasil*
- Patricia Biegling**  
*Universidade de São Paulo, Brasil*
- Patrícia Flavia Mota**  
*Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Brasil*
- Patrícia Helena dos Santos Carneiro**  
*Universidade Federal de Rondônia, Brasil*
- Rainei Rodrigues Jadejski**  
*Universidade Federal do Espírito Santo, Brasil*
- Raul Inácio Busarello**  
*Universidade Federal de Santa Catarina, Brasil*
- Raymundo Carlos Machado Ferreira Filho**  
*Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Brasil*
- Ricardo Luiz de Bittencourt**  
*Universidade do Extremo Sul Catarinense, Brasil*
- Roberta Rodrigues Ponciano**  
*Universidade Federal de Uberlândia, Brasil*
- Robson Teles Gomes**  
*Universidade Católica de Pernambuco, Brasil*
- Rodiney Marcelo Braga dos Santos**  
*Universidade Federal de Roraima, Brasil*
- Rodrigo Amancio de Assis**  
*Universidade Federal de Mato Grosso, Brasil*
- Rodrigo Sarruge Molina**  
*Universidade Federal do Espírito Santo, Brasil*
- Rogério Rauber**  
*Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, Brasil*
- Rosane de Fatima Antunes Obregon**  
*Universidade Federal do Maranhão, Brasil*
- Samuel André Pompeo**  
*Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, Brasil*
- Sebastião Silva Soares**  
*Universidade Federal do Tocantins, Brasil*
- Silmar José Spinardi Franchi**  
*Universidade Federal de Santa Catarina, Brasil*
- Simone Alves de Carvalho**  
*Universidade de São Paulo, Brasil*
- Simoni Urnau Bonfiglio**  
*Universidade Federal da Paraíba, Brasil*
- Stela Maris Vaucher Farias**  
*Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Brasil*
- Tadeu João Ribeiro Baptista**  
*Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Brasil*
- Taiane Aparecida Ribeiro Nepomoceno**  
*Universidade Estadual do Oeste do Paraná, Brasil*
- Taíza da Silva Gama**  
*Universidade de São Paulo, Brasil*
- Tania Micheline Miorando**  
*Universidade Federal de Santa Maria, Brasil*
- Tarcísio Vanzin**  
*Universidade Federal de Santa Catarina, Brasil*
- Tascieli Fetrin**  
*Universidade Federal de Santa Maria, Brasil*
- Tatiana da Costa Jansen**  
*Serviço Nacional de Aprendizagem Comercial, Brasil*
- Tayson Ribeiro Teles**  
*Universidade Federal do Acre, Brasil*
- Thiago Barbosa Soares**  
*Universidade Federal do Tocantins, Brasil*
- Thiago Camargo Iwamoto**  
*Universidade Estadual de Goiás, Brasil*
- Thiago Medeiros Barros**  
*Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Brasil*
- Tiago Mendes de Oliveira**  
*Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Brasil*
- Vanessa de Sales Marruche**  
*Universidade Federal do Amazonas, Brasil*
- Vanessa Elísabete Raue Rodrigues**  
*Universidade Estadual do Centro Oeste, Brasil*
- Vania Ribas Ulbricht**  
*Universidade Federal de Santa Catarina, Brasil*
- Vinicius da Silva Freitas**  
*Centro Universitário Vale do Cricaré, Brasil*

**Wellington Furtado Ramos**  
*Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, Brasil*

**Wellton da Silva de Fatima**  
*Instituto Federal de Alagoas, Brasil*

**Wenis Vargas de Carvalho**  
*Universidade Federal da Grande Dourados, Brasil*

**Yan Masetto Nicolai**  
*Universidade Federal de São Carlos, Brasil*

## PARECERISTAS E REVISORES(AS) POR PARES

### Avaliadores e avaliadoras Ad-Hoc

**Alcidinei Dias Alves**  
*Logos University International, Estados Unidos*

**Alessandra Figueiró Thornton**  
*Universidade Luterana do Brasil, Brasil*

**Alexandre João Appio**  
*Universidade do Vale do Rio dos Sinos, Brasil*

**Artur Pires de Camargos Júnior**  
*Universidade do Vale do Sapucaí, Brasil*

**Bianka de Abreu Severo**  
*Universidade Federal de Santa Maria, Brasil*

**Carlos Eduardo B. Alves**  
*Universidade Federal do Agreste de Pernambuco, Brasil*

**Carlos Eduardo Damian Leite**  
*Universidade de São Paulo, Brasil*

**Catarina Prestes de Carvalho**  
*Instituto Federal Sul-Rio-Grandense, Brasil*

**Davi Fernandes Costa**  
*Secretaria Municipal de Educação de São Paulo, Brasil*

**Denilson Marques dos Santos**  
*Universidade do Estado do Pará, Brasil*

**Domingos Aparecido dos Reis**  
*Must University, Estados Unidos*

**Edson Vieira da Silva de Camargos**  
*Logos University International, Estados Unidos*

**Edwins de Moura Ramires**  
*Serviço Nacional de Aprendizagem Comercial, Brasil*

**Elisiene Borges Leal**  
*Universidade Federal do Piauí, Brasil*

**Elizabeth de Paula Pacheco**  
*Universidade Federal de Uberlândia, Brasil*

**Elton Simomukay**  
*Universidade Estadual de Ponta Grossa, Brasil*

**Francisco Geová Goveia Silva Júnior**  
*Universidade Potiguar, Brasil*

**Indiamaris Pereira**  
*Universidade do Vale do Itajaí, Brasil*

**Jacqueline de Castro Rimá**  
*Universidade Federal da Paraíba, Brasil*

**Jonas Lacchini**  
*Pontifícia Universidade Católica de Minas Gerais, Brasil*

**Lucimar Romeu Fernandes**  
*Instituto Politécnico de Bragança, Brasil*

**Marcos de Souza Machado**  
*Universidade Federal da Bahia, Brasil*

**Michele de Oliveira Sampaio**  
*Universidade Federal do Espírito Santo, Brasil*

**Nívea Consuelo Carvalho dos Santos**  
*Serviço Nacional de Aprendizagem Comercial, Brasil*

**Pedro Augusto Paula do Carmo**  
*Universidade Paulista, Brasil*

**Rayner do Nascimento Souza**  
*Serviço Nacional de Aprendizagem Comercial, Brasil*

**Samara Castro da Silva**  
*Universidade de Caxias do Sul, Brasil*

**Sidney Pereira Da Silva**  
*Stockholm University, Suécia*

**Suélén Rodrigues de Freitas Costa**  
*Universidade Federal do Espírito Santo, Brasil*

**Thais Karina Souza do Nascimento**  
*Instituto de Ciências das Artes, Brasil*

**Viviane Gil da Silva Oliveira**  
*Universidade Federal do Amazonas, Brasil*

**Walmir Fernandes Pereira**  
*Miami University of Science and Technology, Estados Unidos*

**Weyber Rodrigues de Souza**  
*Pontifícia Universidade Católica de Goiás, Brasil*

**William Roslindo Paranhos**  
*Universidade Federal de Santa Catarina, Brasil*

### Parecer e revisão por pares

Os textos que compõem esta obra foram submetidos para avaliação do Conselho Editorial da Pimenta Cultural, bem como revisados por pares, sendo indicados para a publicação.

# SUMÁRIO

Prefácio .....	12
CAPÍTULO 1	
<i>José Rivaldo dos Santos Filho</i>	
<i>Amanda Rubia de Figueiredo Trindade</i>	
<i>Adelar Bracht</i>	
<i>Rosane Marina Peralta</i>	
<b>Biorremediação enzimática:</b>	
conceitos e principais enzimas utilizadas .....	14
CAPÍTULO 2	
<i>José Rivaldo dos Santos Filho</i>	
<i>Samanta Shiraishi Kagueyama</i>	
<i>Adelar Bracht</i>	
<i>Rosane Marina Peralta</i>	
<b>Técnicas de monitoramento</b>	
<b>da eficiência da biorremediação</b>	
<b>enzimática .....</b>	28
CAPÍTULO 3	
<i>Paulo Sérgio Alves Bueno</i>	
<i>Amanda Castro Comar</i>	
<i>Mariane Carneiro da Silva</i>	
<i>Rosane Marina Peralta</i>	
<b>Docking molecular em</b>	
<b>biorremediação enzimática.....</b>	67

CAPÍTULO 4

*Alex Graça Contato*  
*Carlos Adam Conte-Junior*

- O uso de enzimas imobilizadas nos processos de biorremediação.....93**

CAPÍTULO 5

*Luís Felipe Oliva dos Santos*  
*Sarah de Oliveira Vicente*  
*Cristina Giatti Marques de Souza*  
*Rosane Marina Peralta*

- Peroxidases na biorremediação enzimática:  
fontes, aplicações ambientais e gargalos tecnológicos.....133**

CAPÍTULO 6

*Thaís Marques Uber*  
*Danielly Maria Paixão Novi*  
*Isadora de Brito Hilário*  
*Rosane Marina Peralta*

- Lacases em biorremediação:  
mecanismos, aplicações e desafios.....158**

CAPÍTULO 7

*Vinícius Mateus Salvatori Cheute*  
*Adelar Bracht*  
*Rosane Marina Peralta*

- Potencial do citocromo P450  
e suas enzimas em biorremediação:  
tendências, oportunidades e desafios.....187**

CAPÍTULO 8

*Rita de Cássia Garcia Simão*

*Tiago Tognolli de Almeida*

*Rosane Marina Peralta*

**Enzimas hidrolíticas  
na biorremediação de poluentes  
orgânicos e metais pesados ..... 220**

CAPÍTULO 9

*José Rivaldo dos Santos Filho*

*Rúbia Carvalho Gomes Corrêa*

*Cristina Giatti Marques de Souza*

*Adelar Bracht*

*Rosane Marina Peralta*

**Contribuições relevantes  
do laboratório de bioquímica  
de microrganismos nas áreas  
de biorremediação enzimática  
e sustentabilidade ..... 249**

**Índice remissivo ..... 276**

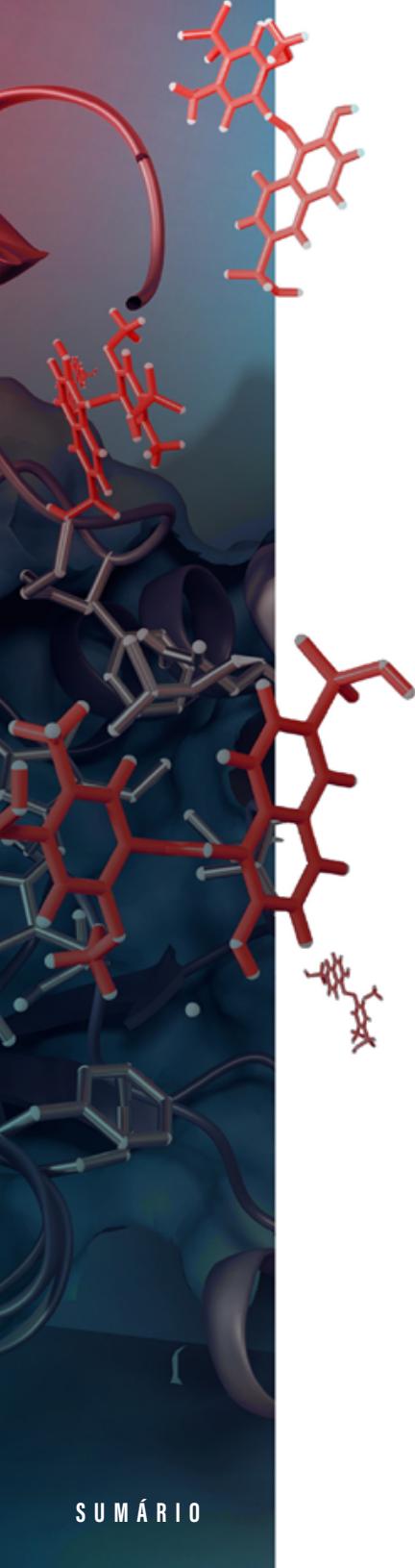
# PREFÁCIO

No ano de 2022 publicamos o e-book intitulado *Biorremediação e Biodegradação - Ênfase em Microrganismos*. Este livro foi escrito em parceria com alunos da disciplina Biodegradação e Biorremediação, que tem como objetivos i) avaliar o uso de microrganismos para a biodegradação e biorremediação de xenobióticos; ii) introduzir os principais conceitos relacionados com as vias metabólicas e transformações bioquímicas dos xenobióticos causadas pelos microrganismos; iii) discutir as técnicas utilizadas para a avaliação dos processos de biodegradação e biorremediação e as técnicas de avaliação de ecotoxicidade.

No início de 2025, oferecemos novamente a disciplina e surgiu a ideia de juntos, docentes e alunos dos Programas de Pós-Graduação em Bioquímica, Biotecnologia Ambiental e Ciência de Alimentos da Universidade Estadual de Maringá, publicarmos novamente um e-book que complementasse o primeiro. Assim foi a gênese desse título BIORREMEDIÇÃO ENZIMÁTICA. Esta obra está destinada especialmente a jovens pesquisadores, estudantes de graduação e pós-graduação primordialmente, mas não apenas, das áreas de bioquímica, biotecnologia ambiental e ciências de alimentos, que sejam apaixonados por enzimas e que se interessem pelo seu uso na solução de problemas ambientais.

Continuamos acreditando que os novos textos agora apresentados representam uma maneira fundamentada de dizer e propagar "CUIDEMOS DO PLANETA TERRA, NOSSA CASA!"

Os custos de edição da obra para que fosse possível torná-la de livre acesso a todos os interessados, foram cobertos por projeto financiado pelo Conselho de Pesquisa e Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq, Processo 404589/2023-5).



*Professora Dra. Rosane Marina Peralta*

*Professor Titular Sênior do  
Departamento de Bioquímica-UEM  
Programas de Pós-Graduação  
em Bioquímica, Biotecnologia Ambiental  
e Ciência de Alimentos-UEM*

*Professor Dr. Adelar Bracht*

*Professor Titular Sênior do  
Departamento de Bioquímica-UEM  
Programa de Pós-Graduação  
em Bioquímica-UEM*

*Dr. José Rivaldo dos Santos Filho*

*Bolsista PDJ do Programa de  
Pós-Graduação em Bioquímica-UEM*

*Dr. Thaís Marques Uber*

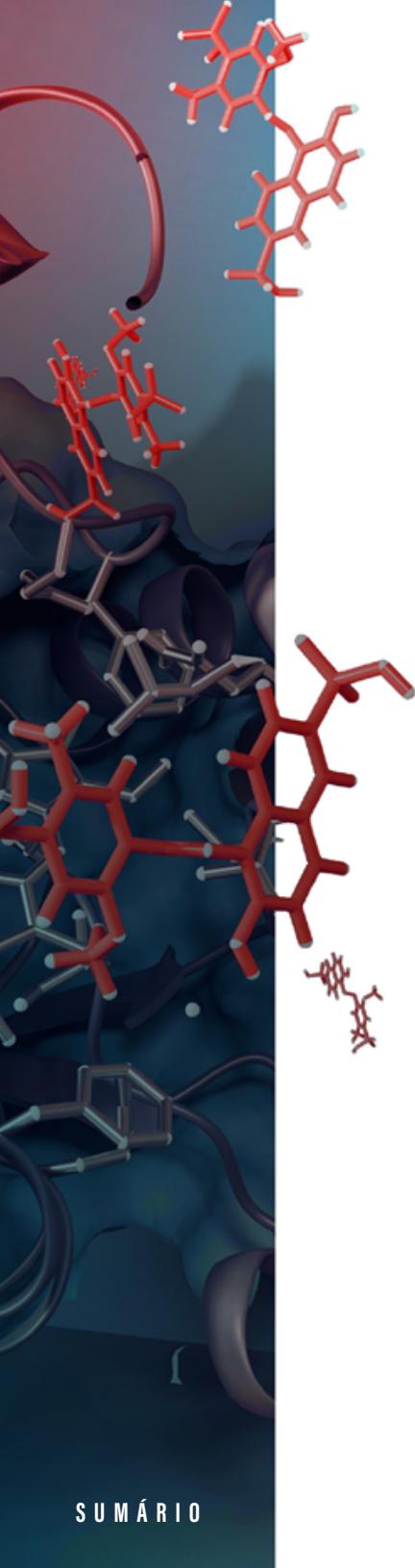
*Bolsista PDJ do Programa de  
Pós-Graduação em Bioquímica-UEM*

# 1

*José Rivaldo dos Santos Filho  
Amanda Rubia de Figueiredo Trindade  
Adelar Bracht  
Rosane Marina Peralta*

## **BIORREMEDIACÃO ENZIMÁTICA: CONCEITOS E PRINCIPAIS ENZIMAS UTILIZADAS**

*DOI: 10.31560/pimentacultural/978-85-7221-472-1*



## Ciclo de Biorremediação Enzimática



## RESUMO:

A biorremediação enzimática é uma técnica inovadora e sustentável utilizada para descontaminar ambientes poluídos por meio da ação de enzimas específicas que degradam ou transformam compostos tóxicos em substâncias menos nocivas. Diferente da biorremediação convencional, que depende da atividade de microrganismos vivos, a abordagem enzimática utiliza diretamente as enzimas, o que permite maior controle sobre as reações, independência das condições ambientais e redução de riscos ecológicos associados ao uso de organismos geneticamente modificados. A importância dessa técnica reside na sua eficiência, seletividade e menor impacto ambiental. Ela é amplamente empregada no tratamento de solos e águas contaminadas por hidrocarbonetos, pesticidas, corantes industriais, metais pesados e solventes orgânicos. Além disso, a biorremediação enzimática é uma alternativa promissora frente aos métodos físico-químicos tradicionais, que frequentemente são caros, geram resíduos

secundários e requerem alta demanda energética. As principais enzimas utilizadas incluem as óxido-redutases (como lacases e peroxidases), que promovem reações de oxidação de compostos aromáticos e fenólicos; as hidrolases (como lipases, esterases e proteases), que quebram ligações químicas específicas em contaminantes orgânicos; e as oxigenases, que incorporam oxigênio em moléculas alvo, facilitando sua degradação. A escolha da enzima depende do tipo de contaminante e das características do ambiente afetado. Por sua versatilidade, seletividade e compatibilidade com princípios da química verde, a biorremediação enzimática tem se destacado como uma ferramenta valiosa na promoção da sustentabilidade e na recuperação de ecossistemas degradados.

**Palavras-chave:** enzimas, hidrolases, microrganismos, óxido-redutases, oxigenases.

## INTRODUÇÃO

A poluição ambiental resulta da introdução de substâncias ou agentes poluentes no ambiente que causam efeitos adversos e comprometem a qualidade do ar, água e solo. Ela é consequência, principalmente, de atividades humanas, como a queima de combustíveis fósseis, o despejo inadequado de resíduos e a utilização excessiva de produtos químicos. A poluição afeta negativamente a saúde humana, a biodiversidade e os ecossistemas, provocando desequilíbrios que têm consequências a longo prazo para o planeta (SHETTY *et al.*, 2023).

Os poluentes ambientais podem ser classificados de diferentes maneiras, uma delas é por sua concentração e impacto sobre o ambiente. Nesse caso, podemos dividi-los em duas categorias: macropoluentes e micropoluentes. Os macropoluentes são os poluentes presentes em grandes quantidades no ambiente, com um impacto direto e imediato sobre a saúde humana e ecossistemas. Eles englobam dióxido de carbono ( $\text{CO}_2$ ), monóxido de carbono, óxidos de nitrogênio, partículas em suspensão (PM10 e PM2.5), compostos orgânicos voláteis e metais pesados (SHARMA *et al.*, 2023). Já os micropoluentes, são os poluentes encontrados em concentrações muito pequenas no ambiente, mas que podem ter impactos significativos ao longo do tempo, especialmente em organismos vivos. Nesse grupo incluem-se fármacos e produtos farmacêuticos, pesticidas e herbicidas, fertilizantes, bifenilos policlorados, produtos químicos industriais (dioxanas, ftalatos e bromo-difenil-éteres), plásticos e microplásticos (WOŁOWICZ *et al.*, 2025).

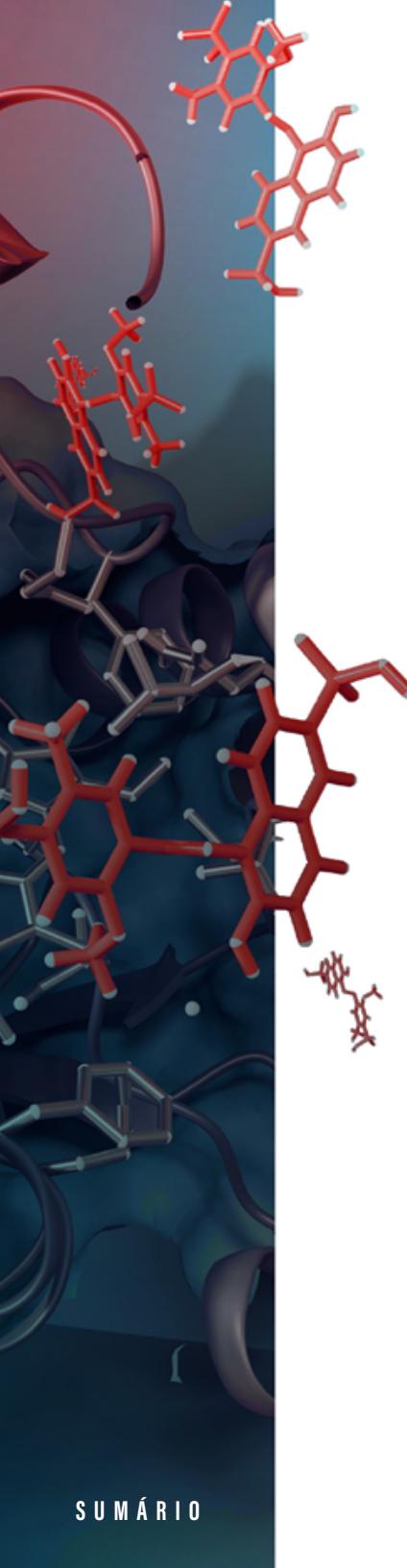
A degradação de poluentes ambientais, tanto macropoluentes quanto micropoluentes, é essencial para minimizar os impactos sobre o ambiente e sobre a saúde humana. Diversos métodos físicos, químicos e biológicos são empregados para tratar e reduzir a concentração desses poluentes (AHMED *et al.*, 2021). Os métodos

biológicos (biorremediação) são processos que usam bactérias, algas, fungos e leveduras para remover materiais contaminantes do ambiente. Os microrganismos adaptam-se facilmente às diferentes condições de cultivo, podendo desenvolver-se, inclusive, em condições bastante inóspitas (NARENDRA *et al.*, 2024).

Diversas bactérias e fungos vêm ganhando espaço na degradação de poluentes graças aos seus arsenais enzimáticos capazes de metabolizar parcial ou completamente diferentes xenobióticos (BALA *et al.*, 2022; MOUSAVID *et al.*, 2021). Os consórcios microbianos são mais eficientes na biodegradação de poluentes orgânicos em comparação com os microrganismos isolados devido ao seu potencial catabólico diversificado e forte capacidade enzimática (BALA *et al.*, 2022; MASSOT *et al.*, 2022). A degradação enzimática é, portanto, um processo-chave na biorremediação microbiana. Várias enzimas microbianas desempenham papéis de destaque no processo de biorremediação. Tanto fungos quanto bactérias exibem notável versatilidade no gerenciamento de poluentes devido aos seus sistemas enzimáticos exclusivos, que incluem enzimas extra e intracelulares. Consequentemente, as enzimas utilizadas na biorremediação enzimática provêm principalmente de microrganismos, bactérias como *Pseudomonas* e *Bacillus* e fungos como *Aspergillus niger*, *Pleurotus ostreatus* e *Phanerochaete chrysosporium* já associados à biodegradação microbiana (DINAKARKUMAR *et al.*, 2024).

## BIORREMEDIÇÃO ENZIMÁTICA VERSUS BIORREMEDIÇÃO MICROBIANA

O uso de enzimas em comparação com a célula inteira apresenta vantagens que incluem maior especificidade, atividade padronizável, maior mobilidade e atividade, mesmo na presença de



altas concentrações de compostos tóxicos, além de persistência e recalcitrância (MOUSAVID et al., 2021) (Tabela 1). Na biorremediação enzimática as enzimas são utilizadas para acelerar a decomposição especialmente de poluentes orgânicos, tais como hidrocarbonetos, solventes industriais, pesticidas e compostos fenólicos. As enzimas atuam quebrando as ligações químicas desses compostos o que facilita sua conversão em substâncias menos tóxicas ou atóxicas. A biorremediação enzimática surge como uma alternativa promissora utilizando principalmente enzimas extracelulares, não-dependentes de cofatores, para degradar poluentes de maneira eficiente e ecologicamente amigável.

Enzimas extracelulares como oxidorredutases, particularmente lacases, bem como peroxidases como lignina peroxidase e peroxidase dependentes de manganês, desempenham papéis críticos no processo de redução. Enquanto as lacases utilizam oxigênio como acceptor de elétrons, as peroxidases usam peróxido de hidrogênio para esta mesma finalidade (ABU-TAHON et al., 2025, BACKES et al., 2022). Dentro das células, vários citocromos, especialmente o citocromo P450, conduzem inúmeras atividades de oxidação. *Phanerochaete chrysosporium* possui aproximadamente 150 genes do citocromo P450 (SAKAI et al., 2018).

**Tabela 1 - Comparação do uso da biorremediação microbiana e da biorremediação enzimática**

Critério	Biorremediação microbiana (organismos naturais e geneticamente modificados)	Biorremediação enzimática
<b>Definição</b>	Uso de microrganismos vivos (bactérias, fungos) para degradar poluentes.	Uso direto de enzimas isoladas para degradar poluentes.
<b>Vantagens</b>	Autorreplicação dos microrganismos; adaptação a novos poluentes.	Alta especificidade e controle maior sobre a reação.
<b>Desvantagens</b>	Risco de morte dos microrganismos; contaminação cruzada.	Inativação da enzima com o tempo; necessidade de reposição.

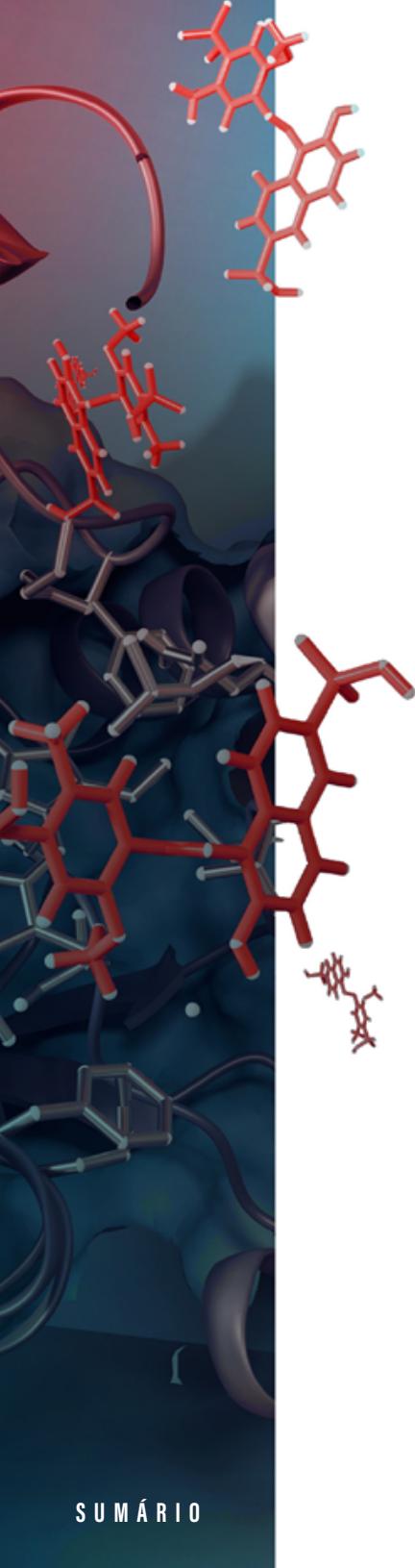
<b>Mecanismo de ação</b>	Microrganismos metabolizam contaminantes como fonte de carbono e energia, transformando-os em substâncias menos tóxicas. Produção natural de enzimas para degradar.	Ação catalítica direta das enzimas sobre o poluente, i.e., enzimas isoladas catalisam reações químicas para degradar poluentes sem a necessidade de microrganismos vivos.
<b>Controle do processo</b>	Difícil de controlar devido ao crescimento e adaptação dos microrganismos ao ambiente.	Maior controle, pois as enzimas podem ser aplicadas em concentrações específicas.
<b>Tempo de degradação</b>	Pode ser mais lento devido ao tempo necessário para crescimento e adaptação dos microrganismos.	Geralmente mais rápido, pois enzimas previamente selecionadas são postas a agir diretamente sobre os contaminantes.
<b>Especificidade</b>	Microrganismos podem degradar uma ampla variedade de contaminantes, mas podem ser sensíveis às condições ambientais.	As enzimas são altamente específicas para determinados compostos, o que exige, no entanto, combinação de várias enzimas para maior eficiência.
<b>Efeito ambiental</b>	Pode haver proliferação excessiva de microrganismos, impactando ecossistemas locais. Microrganismos geneticamente modificados podem apresentar riscos ecológicos.	Menor impacto ambiental, pois as enzimas não se reproduzem nem persistem no ambiente após a sua inativação.
<b>Resistência a condições adversas</b>	Microrganismos podem ser sensíveis a variações de temperatura, pH e presença de compostos tóxicos. Microrganismos geneticamente modificados podem ser mais resistentes.	Enzimas podem ser modificadas para maior resistência, mas algumas são mais facilmente degradadas ou inativadas.
<b>Aplicações</b>	Remediação de solos contaminados por petróleo, metais pesados, pesticidas e outros poluentes orgânicos.	Tratamento de águas residuais, remoção de corantes, degradação de compostos orgânicos específicos (como lignina e hidrocarbonetos).
<b>Custo</b>	Pode ser mais barato a longo prazo devido à capacidade dos microrganismos de se multiplicarem e atuarem continuamente.	Pode ser mais caro devido à necessidade de produção e estabilização das enzimas.
<b>Velocidade de atuação</b>	Pode ser lenta devido à adaptação dos microrganismos.	Geralmente mais rápida, pois evita a fase de adaptação.
<b>Sensibilidade</b>	Sensível a mudanças ambientais (pH, temperatura, toxicidade).	As enzimas também podem ser afetadas pelas condições ambientais, mas podem ser estabilizadas.

A biorremediação enzimática tem sido amplamente estudada e aplicada em diversos cenários, como o tratamento de águas contaminadas, solos poluídos por produtos petroquímicos, remediação de resíduos industriais e recuperação de áreas degradadas. A biodegradação de hidrocarbonetos do petróleo, é uma das áreas mais estudadas, visto que vazamentos de óleo podem causar sérios danos

ambientais. Nesse contexto, enzimas como a lipase e a peroxidase têm sido isoladas e aplicadas para acelerar a degradação do petróleo e seus derivados. Além disso, a utilização de enzimas em processos de biotecnologia para tratar águas residuais industriais também tem mostrado resultados promissores. Os compostos fenólicos presentes em efluentes industriais, como os originados da indústria têxtil, podem ser degradados por enzimas como a lacase e a peroxidase, que transformam esses poluentes em compostos não tóxicos ou de baixo impacto ambiental (ABU-TAHON *et al.*, 2025).

## PRINCIPAIS ENZIMAS EXTRACELULARES UTILIZADAS NA BIORREMEDIÇÃO ENZIMÁTICA

A biodegradação microbiana depende principalmente de processos enzimáticos oxidativos facilitados por diferentes oxidases e peroxidases, prosperando em ambientes tóxicos que suportam essas reações cruciais. Enzimas extracelulares como oxidorredutases, particularmente lacases, bem como peroxidases como lignina peroxidase e peroxidase de manganês, desempenham papéis críticos no processo de redução. Enquanto as peroxidases usam peróxido de hidrogênio como seu acceptor de elétrons, as lacases dependem de oxigênio. A produção de radicais hidroxila durante esses processos auxilia na quebra das estruturas alifáticas ou cílicas de poluentes em metabólitos mais simples (GARCÍA-MARTÍN *et al.*, 2024). Algumas das principais enzimas utilizadas em biorremediação enzimática são listadas na Tabela 2.

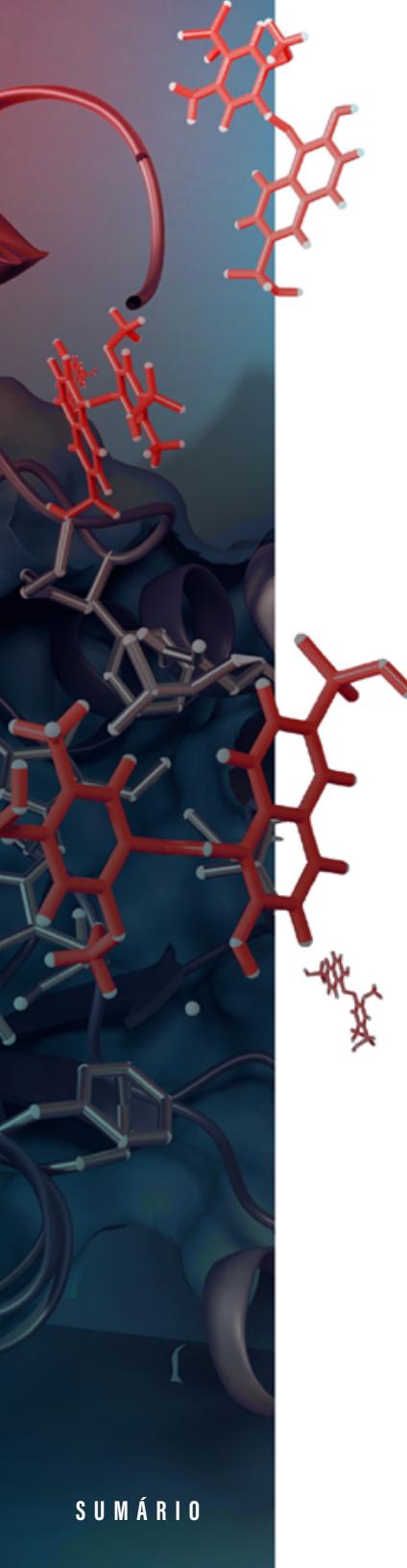
**Tabela 2 - Principais enzimas extracelulares utilizadas na biorremediação enzimática**

Enzimas	Reações envolvidas e poluentes degradados
<b>Lignina peroxidases</b>	Oxidam substratos aromáticos utilizando peróxido de hidrogênio ( $H_2O_2$ ) como doador de elétrons. Utilizadas na degradação de hidrocarbonetos aromáticos policíclicos, fenóis e corantes têxteis.
<b>Mn peroxidases</b>	Oxidam substratos aromáticos utilizando peróxido de hidrogênio como doador de elétrons <i>via</i> a oxidação de Mn(II) a Mn(III). Utilizadas na degradação de compostos aromáticos complexos como pesticidas, corantes e fenóis.
<b>Lacases</b>	Oxidam compostos aromáticos por meio da transferência de elétrons para o oxigênio molecular, gerando água como subproduto. Poluentes degradados: compostos fenólicos, pesticidas, corantes sintéticos
<b>Esterases e lipases</b>	Quebra de ligações éster e amida em ambientes aquosos, convertendo compostos tóxicos em subprodutos menos nocivos. Poluentes degradados: óleos, gorduras, ésteres e pesticidas organofosforados.
<b>Mono- e di-Oxigenases</b>	Inserção de oxigênio molecular em compostos aromáticos, promovendo sua clivagem. Poluentes degradados: hidrocarbonetos aromáticos, benzeno, tolueno, xileno. São importantes para a degradação de compostos orgânicos que contêm carbonos insaturados ou heteroátomos, como o enxofre.
<b>Amilases e proteases</b>	Degradam amidos e proteínas, respectivamente, sendo úteis no tratamento de efluentes ricos nestas moléculas
<b>Queratinases</b>	Proteases capazes de hidrolisar queratina. Em associação com dissulfito redutases são capazes de degradar principalmente as queratinas de aves
<b>Quitinases</b>	Hidrolisam a quitina, um polissacarídeo presente em exoesqueletos de insetos e paredes celulares de fungos e que também pode ser encontrado em alguns poluentes ambientais.
<b>Cutinases</b>	Atuam na biodegradação de cutina, um polímero lipídico encontrado no córtex de plantas e em outras estruturas vegetais (cascas de frutas, folhas e sementes). Desempenham um papel essencial na degradação de resíduos vegetais, mas seu uso pode ser estendido à biorremediação e biodegradação de materiais orgânicos mais complexos, incluindo plásticos.
<b>Desidrogenases</b>	Catalisam a remoção de átomos de hidrogênio de substratos com a ajuda de cofatores como NAD <sup>+</sup> ou FAD. São bastante utilizadas para a desidratação de hidrocarbonetos atuando na remoção de hidrogênios em compostos hidrogenados, como alcenos e hidrocarbonetos saturados, e na desidrogenação de ácidos graxos.

Enzimas	Reações envolvidas e poluentes degradados
<b>Nitro-redutases</b>	Catalisam a redução de compostos nitro-aromáticos, que são frequentemente encontrados em poluentes industriais, como solventes e explosivos.
<b>Nitrilases</b>	Catalisam a hidrólise de ligações triplas entre carbono e nitrogênio (grupo nitrila) de herbicidas, polímeros e plásticos com formação de ácidos carboxílicos e amônia.
<b>Amidases</b>	Hidrolisam amidas em ácidos carboxílicos e aminas. Essas reações são fundamentais para a detoxificação de poluentes industriais, como solventes e pesticidas, contribuindo para a limpeza ambiental de forma eficiente e sustentável.
<b>Organofosforilases</b>	Catalisam a quebra das ligações fosfato-carbono de compostos organofosforados (pesticidas e herbicidas), transformando-os em produtos menos tóxicos e mais facilmente assimiláveis pelo meio ambiente.

## ENZIMAS INTRACELULARES UTILIZADAS NA BIORREMEDIÇÃO ENZIMÁTICA: O CITOCHROMO P450

O citocromo P450 (EC 1.14.14.1) é uma superfamília de enzimas heme encontradas nos três domínios biológicos (Eucariotos, Bactérias e Archaea), responsáveis por uma ampla gama de funções que vão desde a síntese de produtos naturais complexos e metabolismo de fármacos nos sistemas vivos até à biotransformação de substâncias químicas tóxicas em ecossistemas (LI *et al.*, 2020). As P450s têm uma capacidade intrínseca de degradar xenobióticos por meio de transformações químicas como hidroxilações e epoxidações alifáticas, desalquilações, desalogenações e várias inativações baseadas em mecanismos que são centrais para a química da biorremediação (BHANDARI *et al.*, 2021). Dentro das células, vários citocromos conduzem inúmeras atividades de oxidação. *Phanerochaete chrysosporium*, por exemplo, possui cerca de 150 genes de variantes do citocromo P450 (FOUAD *et al.*, 2022).



A capacidade adaptativa de diversos microrganismos, aliada à versatilidade catalítica do citocromo P450, destaca seu potencial no desenvolvimento de estratégias biotecnológicas sustentáveis voltadas à recuperação de áreas impactadas por poluição orgânica. As enzimas do citocromo P450 catalisam reações de oxidação através de 4 passos (GUENGERICH, 2018; LI *et al.*, 2020): 1. o substrato, geralmente um composto orgânico, se liga ao centro ativo da enzima; 2. o citocromo P450 utiliza elétrons de cofatores como NADPH (nicotinamida adenina dinucleotídeo fosfato reduzido) para ativar uma molécula de oxigênio; 3. um átomo de oxigênio é transferido para o substrato, formando um produto oxidado; o outro átomo de oxigênio é liberado como água ou em outra forma, dependendo do contexto da reação; 4. o produto oxidado pode ser mais facilmente degradado por outras enzimas ou pode se tornar um intermediário que é mais biodegradável. Essas reações de oxidação podem envolver a quebra de ligações C-C ou C-heteroátomos (compostos contendo nitrogênio, enxofre ou cloro), transformando os substratos em produtos que podem ser mais facilmente metabolizados por outras enzimas ou por microrganismos do ambiente.

## DESAFIOS E PERSPECTIVAS

Embora a biorremediação enzimática já tenha demonstrado grande potencial em diversos contextos, sua aplicação em larga escala ainda enfrenta desafios importantes, como a estabilidade das enzimas em ambientes complexos e os custos de produção em larga escala. Nesse sentido, o desenvolvimento de coquetéis enzimáticos (misturas de diferentes enzimas com atividades complementares) tem se mostrado uma estratégia promissora para aumentar a eficiência da degradação de poluentes variados. A utilização de coquetéis permite abordar a complexidade química de contaminantes mistos,

acelerando a degradação e ampliando o espectro de atuação do processo. Aliada à engenharia de enzimas para aumentar sua resistência a variações de pH, temperatura e presença de inibidores, essa abordagem tende a consolidar a biorremediação enzimática como uma ferramenta cada vez mais robusta.

A evolução da biorremediação enzimática depende diretamente da integração de tecnologias emergentes, como a biologia sintética e a nanotecnologia, para o *design* de sistemas enzimáticos mais eficazes, versáteis e economicamente viáveis. A formulação de coquetéis enzimáticos específicos para diferentes tipos de contaminação, juntamente com o desenvolvimento de métodos de imobilização de enzimas que preservem sua atividade por períodos prolongados, aponta para um futuro em que a remediação ambiental poderá ser feita de maneira mais seletiva, rápida e sustentável. Investimentos contínuos em pesquisa e parcerias entre academia e indústria serão essenciais para transformar o potencial dessa tecnologia em soluções práticas para a descontaminação de solos, águas e ecossistemas afetados pela atividade humana.

## REFERÊNCIAS

ABU-TAHON, Medhat A. *et al.* A holistic perspective on the efficiency of microbial enzymes in bioremediation process: Mechanism and challenges: A review, **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 308, p. 142278, 2025. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2025.142278>.

AHMED S.F. *et al.* Recent developments in physical, biological, chemical, and hybrid treatment techniques for removing emerging contaminants from wastewater. **Journal of Hazardous Materials**, v. 416, p. 125912, 2021. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2021.125912>

BACKES, Emanueli *et al.* Production of fungal laccase on pineapple waste and application in detoxification of malachite green. **Journal of Environmental Science Health**, v. 57, p. 90-101, 2022. <https://doi.org/10.1080/03601234.2022.2025739>

BALA Saroj, *et al.* Recent Strategies for Bioremediation of Emerging Pollutants: A Review for a Green and Sustainable Environment. **Toxics**, v. 19, p. 484-508, 2022. <https://doi.org/10.3390/toxics10080484>

BHANDARI, Sobika *et al.* Microbial Enzymes Used in Bioremediation, **Journal of Chemistry**, v. 17, p. 8849512, 2021. <https://doi.org/10.1155/2021/8849512>

DINAKARKUMAR, Yuvaraj *et al.* Fungal bioremediation: An overview of the mechanisms, applications and future perspectives. **Environmental Chemistry and Ecotoxicology**, v. 6, p. 293-302, 2024. <https://doi.org/10.1016/j.enceco.2024.07.002>

FOUAD, Farida Ah *et al.* Role of Microorganisms in Biodegradation of Pollutants. In: Ali, G.A.M., Makhlof, A.S.H. (eds) **Handbook of Biodegradable Materials**. Springer, Cham. 2022 p. 221-260, 2022. [https://doi.org/10.1007/978-3-030-83783-9\\_11-1](https://doi.org/10.1007/978-3-030-83783-9_11-1)

GARCÍA-MARTÍN, Ana Belén *et al.* Induction of Extracellular Hydroxyl Radicals Production in the White-Rot Fungus *Pleurotus eryngii* for Dyes Degradation: An Advanced Bio-oxidation Process. **Journal of Fungi**, v. 10, p. 52-74, 2024. <https://doi.org/10.3390/jof10010052>

GUENGERICH F. Peter. Mechanisms of Cytochrome P450-Catalyzed Oxidations. **ACS Catalysis**, v. 8, p. 10964-10976, 2018. <https://doi.org/10.1021/acscatal.8b03401>.

LI, Zhong *et al.* Engineering cytochrome P450 enzyme systems for biomedical and biotechnological applications, **Journal of Biological Chemistry**, v. 295, p. 833-849, 2020. [https://doi.org/10.1016/s0021-9258\(17\)49939-x](https://doi.org/10.1016/s0021-9258(17)49939-x).

MASSOT, Francisco, *et al.* Microbial associations for bioremediation. What does "microbial consortia" mean? **Applied Microbiology Biotechnology**, v. 106, p. 2283-2297, 2022. <https://doi.org/10.1007/s00253-022-11864-8>

MOUSAVI, Seyyed Mojtaba *et al.* Recent Advances in Enzymes for the Bioremediation of Pollutants. **Biochemistry Research International**, v. 22, p. 5599204, 2021. <https://doi.org/10.1155/2021/5599204>

NARENDRA Kuppan *et al.* A comprehensive review of sustainable bioremediation techniques: Eco friendly solutions for waste and pollution management, **Waste Management Bulletin**, v. 2, p. 154-171, 2024. <https://doi.org/10.1016/j.wmb.2024.07.005>

SAKAI Kiyota, et al. Biochemical Characterization of CYP505D6, a Self-Sufficient Cytochrome P450 from the White-Rot Fungus *Phanerochaete chrysosporium*. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 84, p. e01091-18, 2018. <https://doi.org/10.1128/AEM.01091-18>

SHARMA, Amit Kumar et al. Mapping the impact of environmental pollutants on human health and environment: A systematic review and meta-analysis, **Journal of Geochemical Exploration**, v. 255, p. 107325, 2023. <https://doi.org/10.1016/j.gexplo.2023.107325>.

SHETTY Shilpa S, et al. Environmental pollutants and their effects on human health. **Helijon**, v. 9, p. e19496, 2023. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2023.e19496>.

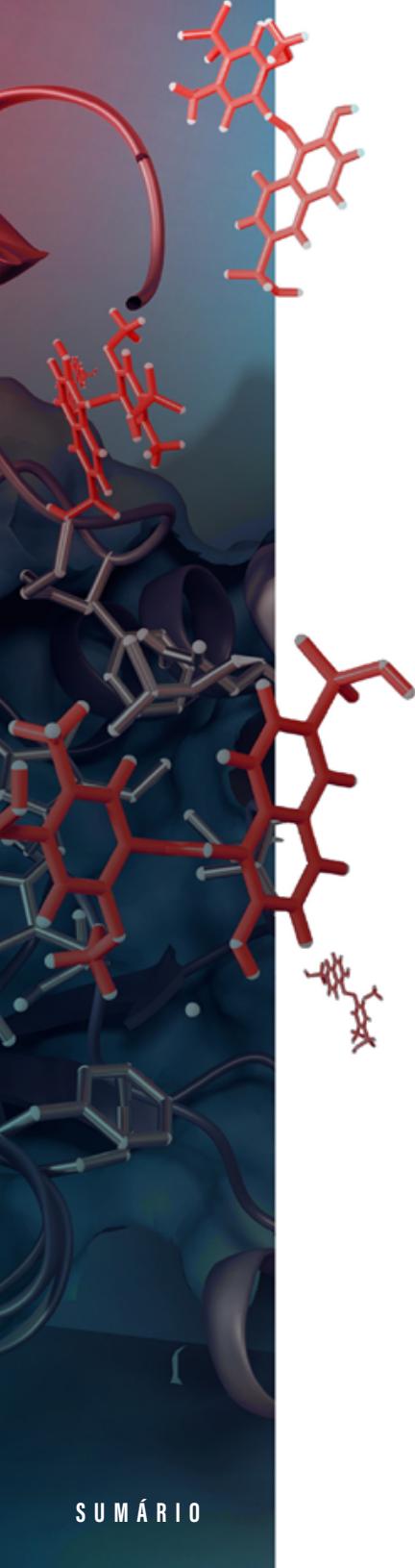
WOŁOWICZ, Anna et al. Emerging organic micropollutants as serious environmental problem: A comprehensive review, **Science of The Total Environment**, v. 958, p. 177948, 2025. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2024.177948>.

# 2

*José Rivaldo dos Santos Filho  
Samanta Shiraishi Kagueyama  
Adelar Bracht  
Rosane Marina Peralta*

## TÉCNICAS DE MONITORAMENTO DA EFICIÊNCIA DA BIORREMEDIAÇÃO ENZIMÁTICA

DOI: 10.31560/pimentacultural/978-85-7221-472-2



## Monitoramento da Biorremediação Enzimática



Avaliar a eficiência da degradação de poluentes e a toxicidade residual após tratamento enzimático

### 1 Técnicas Espectroscópicas



UV-Vis: Avalia redução de absorbância

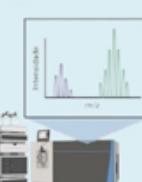
Degradação de corantes, pesticidas e outros poluentes.



FTIR: Identifica grupos funcionais

Mudanças estruturais nos poluentes

### 2 Técnicas Cromatográficas



GC-MS: Identifica poluentes e metabólitos com alta precisão



HPLC: Quantifica compostos degradados e intermediários em solução aquosa



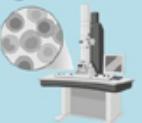
TOC: Mede a redução da carga orgânica nos sistemas tratados.

### 5 Bioensaios com Organismos-Teste



Bactérias, plantas, peixes  
Avaliação ecotoxicológica

### 4 Técnicas de Microscopia



MEV e AFM: Avalia alterações morfológicas em superfícies contaminadas

### Integração metodológica: Avaliação multidimensional

#### RESUMO:

A biorremediação enzimática constitui uma estratégia promissora para a degradação de contaminantes orgânicos e inorgânicos em ambientes impactados, utilizando enzimas extracelulares produzidas por microrganismos. No entanto, a avaliação de sua eficiência demanda metodologias analíticas robustas que permitam monitorar a degradação dos poluentes, a formação de subprodutos e a possível toxicidade residual. Este capítulo apresenta uma revisão sistematizada dos principais métodos empregados nesse monitoramento. Técnicas espectroscópicas,

como a espectrofotometria UV-Vis e a espectroscopia no infravermelho com transformada de Fourier (FTIR), são utilizadas para detectar alterações estruturais em compostos-alvo. Métodos cromatográficos, como a cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas (GC-MS) e a cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC), possibilitam a identificação e quantificação de poluentes e seus metabólitos com alta sensibilidade. A análise de carbono orgânico total (TOC) é empregada para mensurar a carga orgânica residual, sendo um indicativo indireto da mineralização de contaminantes. Técnicas de microscopia, como a eletrônica de varredura (MEV) e a de força atômica (AFM), auxiliam na avaliação de alterações morfológicas em superfícies contaminadas e biofilmes. Por fim, bioensaios com organismos-teste (bactérias, algas, sementes e peixes) são fundamentais para a avaliação da toxicidade ecotoxicológica dos produtos gerados. A integração desses métodos permite uma análise multidimensional da eficiência da biorremediação enzimática, assegurando sua aplicabilidade segura e eficaz no contexto da remediação ambiental.

**Palavras-chave:** biorremediação, biodegradação, métodos de monitoramento, técnicas analíticas.

## INTRODUÇÃO

A intensificação das atividades industriais e agrícolas ao longo das últimas décadas tem contribuído significativamente para o acúmulo de contaminantes orgânicos e inorgânicos em solos, águas e sedimentos, representando sérios riscos à saúde humana, aos ecossistemas e à sustentabilidade ambiental. Compostos como corantes sintéticos, hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (HPAs), pesticidas, solventes clorados e metais pesados são exemplos de poluentes com alta persistência e toxicidade, cuja remoção eficiente representa um dos principais desafios da remediação ambiental contemporânea.

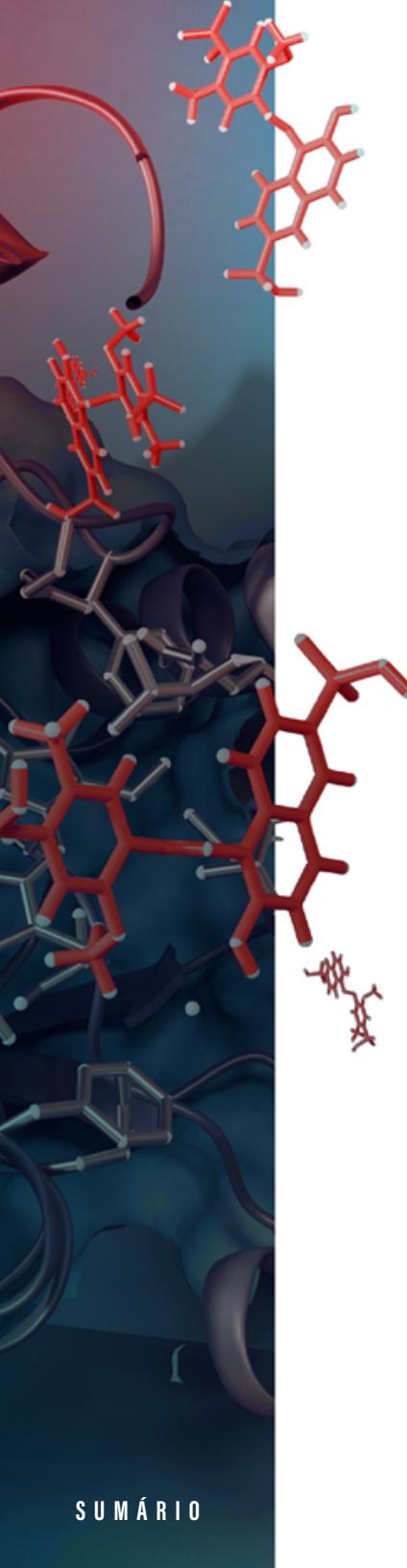
A crescente preocupação com a contaminação ambiental causada por esses compostos tem estimulado o desenvolvimento de tecnologias sustentáveis e eficazes para a descontaminação de solos, águas e efluentes. Nesse contexto, a biorremediação enzimática tem se destacado como uma alternativa promissora, sustentável e tecnicamente viável. Essa abordagem utiliza enzimas extracelulares isoladas ou produzidas *in situ* por microrganismos (principalmente fungos lignolíticos e bactérias), para promover a degradação, remoção do ambiente ou transformação desses poluentes em substâncias menos tóxicas ou inofensivas.

No entanto, avaliar a eficiência da biorremediação enzimática é uma tarefa complexa, que vai muito além da simples observação da redução visual da contaminação, uma vez que, nem sempre a remoção aparente de um poluente implica em sua completa degradação ou detoxificação. Para garantir que a degradação seja efetiva, segura e completa, é essencial utilizar métodos analíticos capazes de identificar, quantificar e caracterizar tanto os poluentes originais quanto seus produtos intermediários e finais. Além disso, é necessário verificar se os subprodutos da biotransformação não apresentam toxicidade residual, o que exige uma abordagem multidisciplinar.

Assim, torna-se fundamental empregar técnicas que permitam monitorar a evolução do processo, identificar subprodutos intermediários e finais, verificar alterações estruturais nas moléculas-alvo, quantificar a redução da carga orgânica e avaliar possíveis efeitos tóxicos residuais.

Diversas metodologias têm sido utilizadas com esse objetivo. Técnicas espectroscópicas, como a espectrofotometria UV-Vis, são úteis para acompanhar a degradação de compostos com absorção característica. Já a espectroscopia no infravermelho com transformada de Fourier (FTIR) permite detectar mudanças nos grupos funcionais dos contaminantes, fornecendo informações estruturais valiosas. Métodos cromatográficos como a cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas (GC-MS) e a cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC) são essenciais para a identificação e quantificação precisa de metabólitos e compostos alvo em níveis traço, revelando as etapas da biotransformação enzimática. A análise de carbono orgânico total (TOC) fornece dados quantitativos sobre a carga orgânica total presente no sistema antes e após o tratamento, funcionando como um indicador indireto da mineralização dos poluentes. Técnicas de microscopia eletrônica de varredura (MEV) e microscopia de força atômica (AFM) permitem visualizar alterações morfológicas em superfícies contaminadas, biofilmes e interações microrganismo-substrato. Por fim, os bioensaios com organismos-teste, são fundamentais para determinar a toxicidade residual dos produtos de degradação.

Portanto, este capítulo tem como objetivo apresentar uma análise abrangente dos principais métodos utilizados no monitoramento da eficiência da biorremediação enzimática, destacando seus princípios, aplicações e limitações. A integração desses métodos analíticos permite uma avaliação precisa e confiável do desempenho dos processos de biorremediação, contribuindo para o desenvolvimento de tecnologias mais eficazes, seguras e ambientalmente



responsáveis. Os principais métodos utilizados para avaliação da eficiência da biorremediação enzimática são apresentados na Tabela 1.

**Tabela 1** - Principais métodos utilizados para avaliação da eficiência da biorremediação enzimática

Método	Importância
Espectrofotometria UV-Vis	Avalia a degradação de compostos coloridos, como corantes industriais.
Espectroscopia no infravermelho com transformada de Fourier (FTIR)	Identifica mudanças estruturais principalmente grupos funcionais nos poluentes antes e após o tratamento enzimático.
Cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas (GC-MS)	Identificação dos principais produtos da degradação.
Cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC)	Quantifica compostos de degradação e intermediários gerados no processo de biorremediação.
Análise de carbono orgânico total (TOC)	Mede a redução da carga orgânica nos sistemas tratados.
Microscopia eletrônica de varredura (MEV) e microscopia de força atômica (AFM)	Avalia alterações morfológicas em superfícies contaminadas antes e após a tratamento enzimático.
Análises de toxicidade (bioensaios)	Utiliza organismos-teste (bactérias, algas, peixes, sementes) para avaliar a toxicidade dos produtos resultantes do tratamento enzimático.

## UTILIZAÇÃO DA ESPECTROMETRIA UV-VIS NA AVALIAÇÃO DA EFICIÊNCIA DA BIORREMEDIÇÃO ENZIMÁTICA

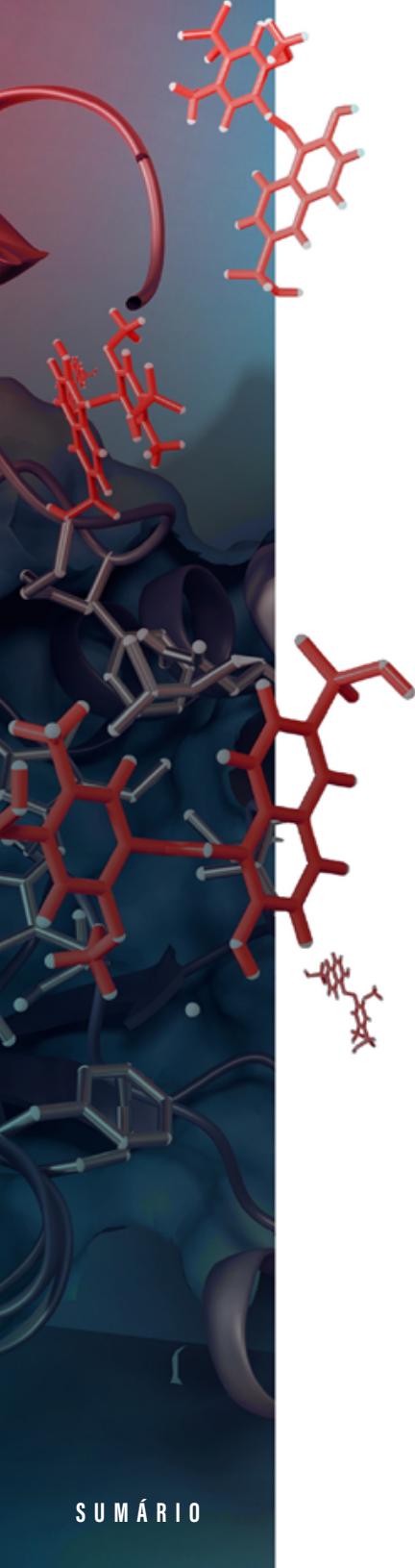
A espectrometria UV-Vis baseia-se na absorção de radiação eletromagnética por moléculas em solução, resultando em transições eletrônicas entre orbitais moleculares. A radiação UV/Vis (200–750 nm)

é considerada uma radiação energética que pode interagir com elétrons de valência de moléculas e íons, excitando-os a um nível de energia mais elevado. Assim, a absorção nessa região fornece informações importantes sobre a natureza eletrônica dos compostos (BARBOOTI, 2015).

Cada substância possui um padrão característico de absorção, expresso por meio do espectro UV-Vis. A Lei de Beer-Lambert relaciona a absorbância à concentração do analito, permitindo quantificar a degradação dos compostos-alvo (PASSOS; SARAIVA, 2019; TISSUE, 2002). Muitas metodologias UV/Vis importantes foram desenvolvidas para a determinação de estruturas orgânicas, inorgânicas e iônicas complexas em diversas matrizes. Como exemplo, a determinação de metais pesados pode ser realizada com sucesso após a formação de complexos com desenvolvimento de cores distintas por associação com ligantes selecionados (BARBOOTI, 2015; MARCZENKO, 1986).

A espectrometria de ultravioleta-visível (UV-Vis) é uma técnica amplamente utilizada para monitorar alterações na concentração de compostos orgânicos e inorgânicos em solução. No contexto da biorremediação enzimática, a UV-Vis permite avaliar a degradação de poluentes, como corantes, hidrocarbonetos e pesticidas, através da variação na absorção em comprimentos de onda característicos.

A espectrometria UV-Vis é empregada para avaliar a eficiência da biorremediação enzimática comparando espectros obtidos antes e depois do tratamento. Os principais indicadores incluem: redução da absorbância em picos característicos, indicando a degradação do poluente; deslocamento de bandas de absorção, sugerindo transformações estruturais na molécula do contaminante; aparecimento de novos picos, representando produtos de biotransformação. Alguns exemplos onde a espectrometria UV-Vis é largamente utilizada no monitoramento da degradação de poluentes estão arrolados a seguir.



**DEGRADAÇÃO DE CORANTES INDUSTRIALIS** - A espectrometria UV-Vis é utilizada para monitorar a perda de coloração e as quebras de ligações azo (-N=N) em corantes sintéticos.

**REMOÇÃO DE HIDROCARBONETOS POLICÍCLICOS AROMÁTICOS (HPAs)** - A análise espectrofotométrica permite verificar a oxidação de compostos aromáticos após o tratamento com enzimas oxidativas.

**DEGRADAÇÃO DE PESTICIDAS** - O desaparecimento de picos característicos de pesticidas organofosforados pode ser observado, indicando sua conversão em produtos menos tóxicos.

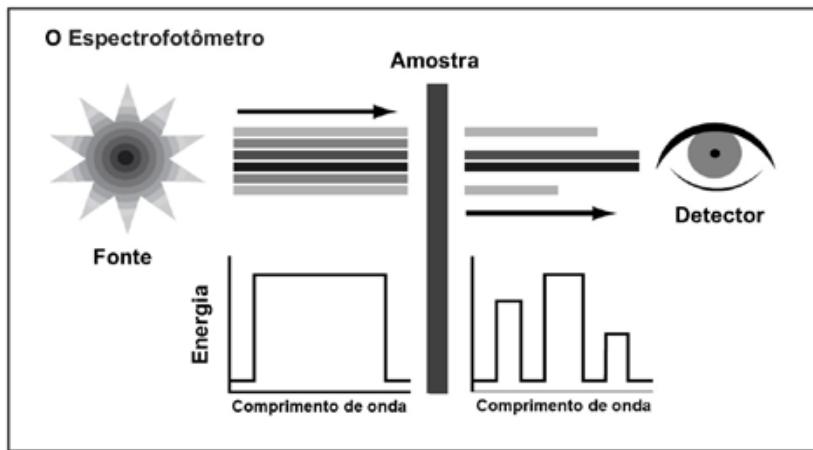
**ANÁLISE DE ÂNIONS INORGÂNICOS** - Fluoreto (presente nas águas superficiais em vários níveis); cianeto (listado como um dos poluentes tóxicos que precisam ser monitorados no meio ambiente); nitrito (ânions de nitrito e nitrato são comuns no meio ambiente, com altas concentrações de nitrito presentes em águas industriais, esgotos, efluentes biologicamente purificados e em córregos poluídos) (BARBOOTI, 2015).

**POLUENTES ORGÂNICOS** - Fenol (os níveis de fenol e compostos fenólicos indicam a presença de poluição de fontes industriais, como derivados de petróleo, resíduos de inseticidas, herbicidas, fungicidas e pesticidas); detergentes (os surfactantes não biodegradáveis representam um problema ambiental) (BARBOOTI, 2015).

## AVALIAÇÃO DA EFICIÊNCIA DA BIORREMEDIÇÃO ENZIMÁTICA UTILIZANDO ESPECTROSCOPIA NO INFRAVERMELHO COM TRANSFORMADA DE FOURIER (FTIR)

A Espectroscopia no Infravermelho por Transformada de Fourier (FTIR) é uma ferramenta poderosa para monitorar as transformações químicas que ocorrem em decorrência da biorremediação, pois fornece informações sobre as ligações químicas e os grupos funcionais dos compostos resultantes. A espectroscopia de transmissão é o método mais antigo e comumente utilizado para identificar substâncias químicas orgânicas ou inorgânicas, fornecendo informações específicas sobre a estrutura molecular, ligações químicas e ambiente molecular. Pode ser aplicada ao estudo de amostras sólidas, líquidas ou gasosas, sendo uma ferramenta poderosa para estudos qualitativos e quantitativos (SIMONESCU, 2012).

Na espectroscopia no infravermelho, a radiação infravermelha propaga-se através de uma amostra. Parte da radiação infravermelha é absorvida pela amostra e parte é transmitida. O espectro resultante representa a absorção e a transmissão molecular, criando uma impressão digital molecular da amostra (NICOLET, 2001) (Figura 1).

**Figura 1 - Espectroscopia infravermelha**

Fonte: Adaptado de NICOLET (2001).

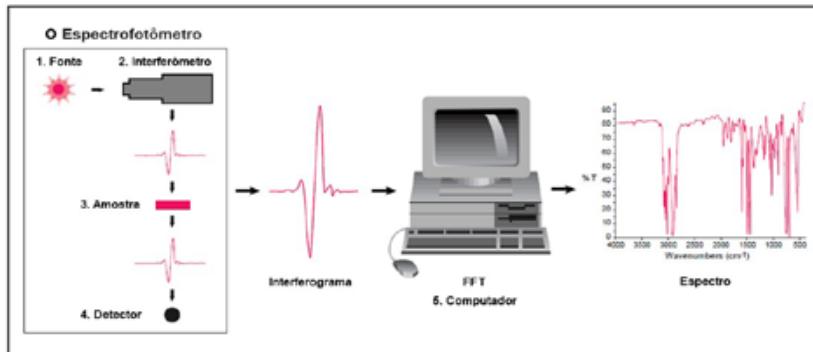
A espectroscopia no infravermelho tem sido uma técnica fundamental para análise de materiais em laboratório há mais de setenta anos. Um espectro infravermelho representa uma impressão digital de uma amostra com picos de absorção que correspondem às frequências de vibração entre as ligações dos átomos que compõem o material. Como cada material diferente tem uma combinação única de átomos, dois compostos não produzem exatamente o mesmo espectro infravermelho. Portanto, a espectroscopia de infravermelho pode resultar em uma identificação positiva (análise qualitativa) de todos os tipos de materiais. Além disso, o tamanho dos picos no espectro é uma indicação direta da quantidade de material presente (CHAKRABORTY; DAS, 2017; NICOLET, 2001).

A espectroscopia no infravermelho com transformada de Fourier (FTIR) é uma técnica amplamente utilizada para a caracterização de compostos orgânicos e inorgânicos. As informações que o FTIR pode fornecer são: identificação de materiais desconhecidos; determinação da qualidade ou consistência de uma amostra; determinação da quantidade de componentes em uma mistura (NICOLET, 2001).

O uso do FTIR para avaliar a eficiência da biorremediação enzimática é uma abordagem promissora para o monitoramento da degradação de poluentes ambientais. A FTIR permite identificar mudanças estruturais nos contaminantes antes e após o tratamento, proporcionando uma análise detalhada dos mecanismos de degradação enzimática. A espectroscopia de infravermelho pode identificar os tipos de interações entre o corante e a substância que o degrada, de acordo com suas unidades funcionais (SRINIVASAN; SADASIVAM, 2021).

A espectroscopia FTIR baseia-se na absorção de radiação infravermelha por moléculas, resultando na excitação de suas vibrações moleculares características. O espectro obtido revela picos específicos que correspondem a diferentes grupos funcionais, como carbonilas ( $\text{C}=\text{O}$ ), hidroxilos ( $\text{O}-\text{H}$ ) e ligações C-H. A técnica utiliza um interferômetro para transformar os sinais de absorção em um espectro de fácil interpretação, permitindo uma análise qualitativa e semiquantitativa dos compostos presentes na amostra. O processo instrumental está ilustrado na Figura 2.

**Figura 2 - Processo instrumental da FTIR. FFT: Transformada Rápida de Fourier**



Fonte: Adaptado de NICOLET (2001).

A biorremediação enzimática pode ser monitorada por FTIR comparando os espectros antes e após o tratamento. As principais alterações espectrais observadas incluem: (a) redução ou desaparecimento de bandas associadas a grupos funcionais característicos de poluentes, indicando degradação dos compostos; b) formação de novos picos, sugerindo a conversão dos poluentes em subprodutos menos tóxicos; c) mudanças na intensidade de bandas específicas, refletindo alterações na composição química da amostra.

Do ponto de vista ambiental, o FTIR auxilia na medição da frequência e intensidade da absorção da amostra, auxiliando no acesso à composição química dos grupos funcionais. Essa análise também determina a natureza dos poluentes, fornecendo informações composticionais e estruturais, bem como seus mecanismos de ligação, em caso de remoção de poluentes no processo de sorção (GRUBE *et al.*, 2008; SIMONESCU, 2012).

Alguns exemplos onde a técnica FTIR é largamente utilizada no monitoramento da degradação de poluentes são brevemente discutidos abaixo.

**DEGRADAÇÃO DE HIDROCARBONETOS** - Estudos mostram que a FTIR permite acompanhar a quebra de ligações C-H e a formação de grupos oxigenados durante a biodegradação de óleos e combustíveis (IMAM *et al.*, 2019).

**REMOÇÃO DE CORANTES TÊXTEIS** - Análises por FTIR demonstram a redução de grupos azo (-N=N-) em corantes sintéticos tratados com enzimas oxidativas, evidenciando sua degradação. FTIR foi utilizado para avaliar a degradação do corante têxtil vermelho do Congo pelo fungo *Ganoderma lucidum* (MOTA *et al.*, 2015). FTIR também foi utilizado para analisar a degradação do corante vermelho do Congo pelo fungo *Oudemansiella canarii* (IARK *et al.*, 2019) e para avaliar a degradação do corante antraquinônico Azul Brilhante de Remazol R (RBBR) pelo fungo *Oudemansiella canarii* (UBER *et al.*, 2022).

**BIOTRANSFORMAÇÃO DE PESTICIDAS** - FTIR detecta a clivagem de ligações P=O e C-Cl em pesticidas organofosforados, indicando sua conversão em produtos menos tóxicos. FTIR foi utilizado para avaliar a remoção do herbicida picloram de soluções aquosas pelos fungos *Ganoderma lucidum* e *Trametes* sp. (MACIEL *et al.*, 2013). Os grupos funcionais geralmente envolvidos nos processos de biossorção (isto é, carboxila, amino e fosfato) foram identificados em ambas as biomassas fúngicas.

Em estudos de remediação ambiental de metais pesados e metaloides por biossorção, a espectroscopia FTIR pode ser utilizada para caracterizar biomateriais, auxiliando na redução da poluição e em suas características de modificação química (MUNGASAVALLI *et al.*, 2007; SIMONESCU, 2012).

Muitos estudos têm sido realizados, como a caracterização do biomaterial após modificação química da quitosana com glutaraldeído, a fim de obter um produto com boas propriedades de sorção (DELEANU *et al.*, 2008). A espectroscopia FTIR utilizada para aplicações de biorremediação de metais tóxicos foi estudada por Dash *et al.* (2014), onde mudanças bruscas nos números de onda foram observadas na presença e ausência de mercúrio na biomassa de *Bacillus thuringiensis* PW-05.

A espectroscopia FTIR pode ser utilizada para identificar a natureza de possíveis interações entre sorventes (biossorventes) e poluentes. Em um estudo de Yee *et al.* (2004), o mecanismo de ligação entre cobre e biomassa foi determinado a partir do espectro de absorção no infravermelho.

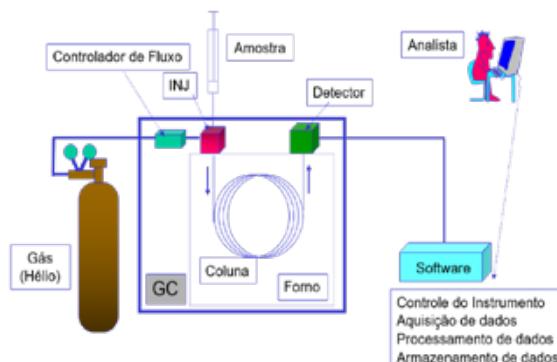
De acordo com Mecozzi *et al.* (2009), a espectroscopia FTIR é um método apropriado para obter informações confiáveis sobre a composição e estrutura de qualquer composto e para estudar modificações moleculares e desenvolvimento de modelos, avaliando mecanismos de efeitos tóxicos e degradação de polímeros.

Concluindo, a espectroscopia FTIR é uma ferramenta essencial para a avaliação da eficiência da biorremediação enzimática, permitindo monitorar mudanças estruturais nos contaminantes. Seu uso possibilita uma análise detalhada dos processos de degradação, auxiliando no desenvolvimento de estratégias mais eficazes para a descontaminação ambiental.

## USO DA CROMATOGRAFIA GASOSA ACOPLADA À ESPECTROMETRIA DE MASSAS (GC-MS) NA AVALIAÇÃO DA EFICIÊNCIA DA BIORREMEDIÇÃO ENZIMÁTICA

A cromatografia gasosa (GC) separa os compostos com base em suas propriedades voláteis e interações com a fase estacionária da coluna cromatográfica, e fornece resultados qualitativos e quantitativos (KANAUJIA, 2019). A Figura 3 mostra os principais componentes de um cromatógrafo gasoso.

**Figura 3 - Principais componentes de um cromatógrafo gasoso**



Fonte: TECNAL (2025).

As aplicações da GC são extensas em estudos envolvendo biorremediação por razões óbvias (IMAM *et al.*, 2019). É pertinente observar que a análise cromatográfica de hidrocarbonetos de petróleo é crucial em aplicações *upstream* e *downstream*. Métodos padrões de GC estão prontamente disponíveis para determinar a composição de vários fluxos de refinaria e produtos acabados, incluindo controle/garantia de qualidade e transferências de custódia. Esses protocolos analíticos são igualmente aplicáveis à determinação das classes e hidrocarbonetos individuais em derramamentos de óleo e em pesquisas de biorremediação.

Os pré-requisitos da análise por CG são a volatilidade dos analitos e a preparação adequada da amostra para extração com solventes ideais. A identificação de compostos geralmente é realizada por comparação com padrões de hidrocarbonetos individuais ou em mistura. Devido à versatilidade dessa técnica analítica, diversos detectores, como ionização de chama (FID), condutividade térmica (TCD) e espectrometria de massas (CG-EM), são utilizados rotineiramente (IMAM *et al.*, 2019). Dentre os diversos detectores, o espectrômetro de massas (CG-EM) é o mais potente e auxilia na identificação dos compostos (SPARKMAN; PENTON; KITSON, 2011).

A espectrometria de massas é uma técnica analítica altamente informativa que se torna ainda mais poderosa quando combinada com sistemas cromatográficos (GC ou HPLC) (IMAM *et al.*, 2019). A espectrometria de massas (MS) identifica os compostos separados pela GC com base na fragmentação molecular e na relação massa/carga ( $m/z$ ) (SPARKMAN; PRICE, 2006). Ela ioniza os compostos químicos para gerar moléculas carregadas com diferentes relações massa-carga. Essa técnica fornece informações qualitativas e quantitativas sobre os analitos após a conversão iônica. É usada para determinar a assinatura elementar ou isotópica de uma amostra, as massas de seus componentes e para elucidar as estruturas químicas das moléculas. A MS possui ampla gama de aplicações em monitoramento ambiental, análise forense, pesquisa

clínica, proteômica, genômica e análise de dados físico-químicos. A técnica é altamente sensível, precisa e pode ser acoplada à cromatografia gasosa (CG) e cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) (CHAKRABORTY; DAS, 2017).

A cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas (GC-MS) é uma técnica analítica altamente sensível e seletiva utilizada para a identificação e quantificação de compostos voláteis e semivoláteis. Ela proporciona uma determinação inequívoca de compostos orgânicos presentes em concentrações ultrabaixas, sem a necessidade de padrões químicos, sendo uma técnica ideal devido à existência de enormes bancos de dados espectrais de massa (IMAM *et al.*, 2019). A análise por GC-MS permite a obtenção de espectros característicos que auxiliam na identificação precisa dos poluentes e seus subprodutos de degradação.

No contexto da biorremediação enzimática, a GC-MS permite monitorar a degradação de poluentes orgânicos e identificar produtos intermediários e finais da biotransformação. Entre as principais aplicações, destacam-se: a) identificação e quantificação de poluentes antes e após o tratamento enzimático; b) detecção de produtos intermediários e finais da biodegradação; c) monitoramento da redução de compostos tóxicos e formação de metabólitos menos prejudiciais; d) determinação de mecanismos de degradação enzimática. Alguns exemplos onde CG-MS pode ser utilizada para avaliar a eficiência da biorremediação enzimática seriam:

**BIODEGRADAÇÃO DE HIDROCARBONETOS POLICÍCLICOS AROMÁTICOS (HPAs)** - A GC-MS permite acompanhar a quebra de anéis aromáticos e a formação de metabólitos oxigenados menos tóxicos.

**DEGRADAÇÃO DE PESTICIDAS ORGANOFOSFORADOS** - A técnica é utilizada para detectar a conversão de pesticidas tóxicos em produtos de menor impacto ambiental.

REMOÇÃO DE SOLVENTES INDUSTRIALIS - A análise por GC-MS permite monitorar a redução de solventes voláteis e a formação de metabólitos biodegradáveis.

A degradação de HPAs usando uma cepa bacteriana *Cronobacter sakazakii* foi relatada em solo contaminado com óleo de motor (IMAM *et al.*, 2019). Wu *et al.* (2017), relataram uma taxa de biodegradação de hidrocarbonetos totais de petróleo (HTPs), alcanos e HPAs presentes no solo contaminado com petróleo usando GC-MS. O potencial de degradação de hidrocarbonetos de fungos de podridão branca isolados de solo contaminado com alcatrão de hulha também é relatado, no qual vários HPAs foram determinados por meio de análise GC-MS (CANET *et al.*, 2001).

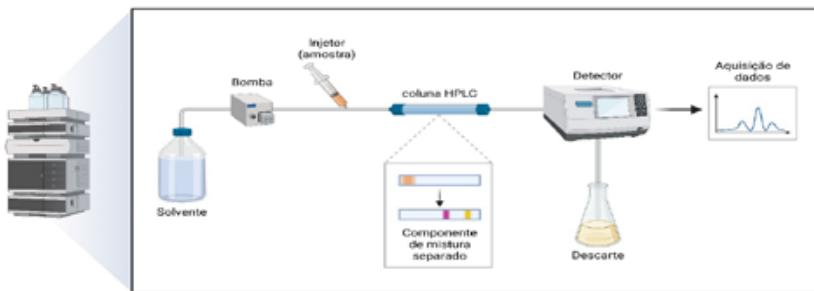
Em muitos estudos de biorremediação, a GC-MS tem sido utilizada na identificação e quantificação de hidrocarbonetos, incluindo HPAs, e na determinação dos metabólitos formados por meio de sua biodegradação. Foi utilizada também para a determinação do fenantreno juntamente com seus metabólitos (3,4-di-hidroxifenantreno, ácido ftálico, ácido pirúvico, ácido acético e ácido oxálico) (IMAM *et al.*, 2019). Da mesma forma, a degradação do pireno e seus metabólitos (cis-4,5-di-hidrodiol, 3,4-di-hidroxifenantreno, ácido ftálico, ácido pirúvico, ácido acético e ácido láctico) também foram identificados (UMAR *et al.*, 2017).

A biorremediação de HPAs (naftaleno, fenantreno, fluoreno, antraceno, pireno, benzo(e)pireno e benzo(k)fluoranteno) foi estudada em altas concentrações com cargas de até 1,5 g/L. Os resultados da análise GC-MS mostraram eficiências de degradação de 90% e 80% em 10 dias. Este estudo também determinou os metabólitos formados durante a degradação de todos os HAPs individualmente (PUGAZHENDI *et al.*, 2017). GC-MS também foi utilizado para avaliar a degradação do bisfenol A (BPA) e analisar a formação dos metabólitos gerados (DE FREITAS *et al.*, 2017). Neste trabalho foram identificados 13 metabólitos da degradação do BPA, incluindo compostos aromáticos e alifáticos.

Fica evidente que a técnica de GC-MS desempenha um papel relevante em diversos aspectos das investigações em biorremediação. Trata-se de uma ferramenta extremamente eficaz na detecção de analitos hidrocarbonetos em níveis de traços, o que seria inviável com outras técnicas analíticas. Outro ponto importante é sua capacidade de identificação qualitativa de metabólitos, utilizando-se de um banco de dados espectral de massas. Essas informações são valiosas para os pesquisadores, pois auxiliam no planejamento de experimentos com concentrações mais baixas de contaminantes. Além disso, a GC-MS permite a elucidação de mecanismos de biodegradação dos analitos e das vias metabólicas envolvidas, com base na atividade microbiana específica.

## APLICAÇÃO DA CROMATOGRAFIA LÍQUIDA DE ALTA EFICIÊNCIA (HPLC) NA AVALIAÇÃO DA BIORREMEDIÇÃO ENZIMÁTICA

A cromatografia líquida é um método para a separação de componentes sólidos ou líquidos com alto ponto de ebulição e de pesos moleculares relativamente altos de uma mistura para a determinação de sua composição. O método baseia-se na injeção de uma solução da amostra em uma coluna preenchida com determinados materiais (a fase estacionária) e na passagem de um líquido (fase móvel) através da coluna. Os componentes são retidos na fase estacionária de forma diferente, dependendo de suas propriedades e das condições analíticas (BARBOOTI, 2015). A Figura 4 apresenta um esquema da instrumentalização da cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC).

**Figura 4 - Instrumentalização da cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC)**

Fonte: Autoria própria.

A cromatografia líquida de alta eficiência baseia-se na separação de componentes de uma amostra por meio de interações com uma fase estacionária e uma fase móvel. Diferentes modos de separação, como fase reversa, fase normal e cromatografia de troca iônica, são aplicáveis de acordo com a polaridade e estrutura dos compostos a serem analisados. O HPLC permite a detecção em diversos comprimentos de onda, frequentemente utilizando detectores de ultravioleta-visível (UV-Vis) e de espectrometria de massas (MS).

No contexto da biorremediação enzimática, o HPLC permite avaliar a degradação de poluentes e a formação de produtos intermediários e finais. Sua alta sensibilidade e resolução possibilitam um monitoramento preciso da eficiência de processos enzimáticos aplicados à remediação ambiental. Dentre suas principais aplicações, destacam-se o monitoramento da degradação de compostos tóxicos, como pesticidas, fármacos e poluentes industriais; identificação e quantificação de metabólitos intermediários e finais da biotransformação enzimática; determinação da cinética de degradação de poluentes e eficiência das enzimas utilizadas; análise da persistência de compostos em diferentes condições ambientais. Alguns exemplos do uso do HPLC na análise da eficiência da biorremediação enzimática são:

DEGRADAÇÃO DE CORANTES INDUSTRIALIS - O HPLC permite quantificar a redução da concentração de corantes após tratamento enzimático e identificar produtos de biotransformação.

REMOÇÃO DE FÁRMACOS DE EFLUENTES - A técnica é utilizada para monitorar a degradação de antibióticos e outros fármacos em sistemas de tratamento biológico.

BIODEGRADAÇÃO DE HIDROCARBONETOS AROMÁTICOS - O HPLC auxilia na identificação dos produtos formados na degradação de compostos orgânicos persistentes.

Barbooti (2015), aborda a determinação de poluentes orgânicos em amostras ambientais que podem ser analisados por métodos de LC, sendo eles, aminas alifáticas, triazinas, compostos organofosforados, ftalatos, hidrocarbonetos aromáticos policíclicos (HAPs), esteróis, produtos farmacêuticos, compostos carbonílicos e compostos perfluorados.

A vantagem do HPLC é sua compatibilidade com amostras aquosas (ou extratos) o que ajuda a minimizar as etapas de pré-tratamento da amostra (PENA *et al.*, 2007). O detector de HPLC amplamente utilizado é baseado em UV (também chamado de DAD) que normalmente não detecta os hidrocarbonetos saturados, no entanto, os hidrocarbonetos aromáticos são facilmente detectados com o detector de matriz de diodos (DAD). Esses detectores envolvem interação de UV (absorção ou fluorescência) com os compostos. Por esse motivo, os HAPs são facilmente quantificados em amostras de solo ou água por meio de análise por HPLC, embora o limite de detecção seja maior que o da CG. A análise por HPLC em experimentos de biorremediação geralmente utiliza colunas C18 e eluição isocrática ou de gradiente para PAHs (IMAM *et al.*, 2019).

HPLC-MS é um procedimento de diagnóstico que combina a capacidade de análise de massa da espectrometria de massa (MS) com a capacidade de partição substancial da cromatografia líquida

(LC) (PITT, 2009). A cromatografia líquida usando espectrometria de massa (LCMS) permite que moléculas não voláteis, termicamente reativas e polares sejam separadas antes de serem introduzidas em um espectrômetro de massa para detecção. Esta metodologia em tandem pode ser utilizada para a análise de componentes orgânicos, bioquímicos e inorgânicos geralmente presentes em amostras amalgamadas de origem ecológica e orgânica. Portanto, a LCMS pode ser usada funcionalmente em uma ampla área que inclui monitoramento ambiental, biotecnologia, indústrias farmacêuticas, de processamento de alimentos e cosméticas e agroquímicas (BHATTACHARJEE *et al.*, 2022).

## APLICAÇÃO DA ANÁLISE DE CARBONO ORGÂNICO TOTAL (TOC) NA AVALIAÇÃO DA BIORREMEDIACÃO ENZIMÁTICA

TOC (do inglês, *Total Organic Carbon*) representa a quantidade total de carbono presente em compostos orgânicos em uma determinada matriz (água, solo ou sedimento). Essa métrica é frequentemente utilizada como indicador indireto da presença de poluentes orgânicos ou matéria orgânica biodisponível. Durante a biorremediação, a redução dos níveis de TOC ao longo do tempo pode indicar a degradação dos compostos orgânicos contaminantes, como hidrocarbonetos de petróleo, solventes clorados, pesticidas e compostos fenólicos, refletindo a eficácia do processo biológico.

Além disso, a análise de TOC pode ser útil para acompanhar a atividade microbiana. À medida que os microrganismos degradam os contaminantes, parte do carbono é mineralizado em CO<sub>2</sub> e outra parte é incorporada à biomassa microbiana, o que pode ser detectado por variações no TOC total ou particionado (carbono dissolvido

vs particulado). Em estratégias de bioestimulação, onde se adicionam nutrientes ou fontes de carbono para favorecer o crescimento microbiano, o TOC também pode ser usado para monitorar o equilíbrio entre oferta e consumo de carbono, auxiliando no ajuste das condições ambientais ideais para o processo.

Os métodos mais comuns de determinação do TOC incluem oxidação térmica com detecção por infravermelho não dispersivo (NDIR) e oxidação química com persulfato, ambos adequados para diferentes tipos de amostras. Contudo, é importante destacar que o TOC não fornece informações qualitativas sobre os compostos presentes, ou seja, não diferencia entre os diversos tipos de contaminantes orgânicos, sendo necessário complementar a análise com outras técnicas, como cromatografia (GC-MS ou HPLC), para uma avaliação mais específica. Apesar de suas limitações, sua aplicabilidade ampla, sensibilidade e rapidez tornam essa técnica uma aliada importante no gerenciamento e avaliação de projetos de recuperação ambiental.

A determinação de carbono orgânico total é realizada em diferentes áreas de pesquisa, contextos ambientais e industriais. Segundo Bisutti, Hilke e Raessler (2004), os exemplos de análises de TOC incluem: indicação de contaminação da água por compostos orgânicos sintéticos; caracterização química; grau de humidificação dos resíduos; estimativa do teor de carbono do solo; ciclagem de carbono do solo; fluxos de carbono em sistemas aquáticos. Concluindo, TOC é uma ferramenta valiosa no contexto da biorremediação, fornecendo informações quantitativas sobre a carga orgânica presente no ambiente e permitindo o acompanhamento da evolução do processo de descontaminação. Dentre as principais aplicações, destacam-se:

**MONITORAMENTO DA DEGRADAÇÃO DE CONTAMINANTES ORGÂNICOS -**  
Como muitos dos poluentes são compostos orgânicos, a redução no TOC ao longo do tempo indica que os contaminantes estão sendo metabolizados.

AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE MICROBIANA - Se o TOC diminui, mas o carbono inorgânico (como carbonatos) permanece estável, isso sugere que a matéria orgânica (incluindo os poluentes) está sendo biodegradada. Um aumento temporário no TOC pode indicar a produção de biomassa microbiana ou intermediários de degradação, o que também é um sinal de atividade biológica.

COMPARAÇÃO ENTRE ÁREAS TRATADAS E CONTROLE - Medições de TOC em áreas remediadas vs. não remediadas ajudam a deduzir se a biorremediação está acelerando a remoção de matéria orgânica poluente.

IDENTIFICAÇÃO DE FONTES DE CARBONO NÃO RELACIONADAS AO POLUENTE - Às vezes, fontes externas de carbono (como matéria orgânica natural ou aditivos usados na biorremediação) podem interferir. A análise de TOC ajuda a diferenciar entre o carbono do poluente e outras fontes.

BALANCEAMENTO DE CARBONO EM SISTEMAS DE REMEDIAÇÃO - Permite o acompanhamento do destino do carbono durante a biodegradação: se está sendo mineralizado a CO<sub>2</sub> ou incorporado à biomassa.

MONITORAMENTO DA DEGRADAÇÃO DE HIDROCARBONETOS DE PETRÓLEO - Em solos contaminados com óleo diesel ou gasolina, o TOC diminui à medida que bactérias (ex.: *Pseudomonas*, *Rhodococcus*) metabolizam os hidrocarbonetos. Estudos mostram a correlação que há entre redução de TOC e remoção de BTEX (benzeno, tolueno, etilbenzeno e xilenos).

AVALIAÇÃO DA BIORREMEDIÇÃO DE PESTICIDAS E HERBICIDAS - Compostos como atrazina e organoclorados possuem carbono em sua estrutura; sua degradação pode ser rastreada via TOC. Em alguns casos, intermediários de degradação podem aumentar temporariamente o TOC antes da mineralização completa.

TRATAMENTO DE EFLUENTES INDUSTRIAS - Em águas residuais com alta carga orgânica (ex.: indústrias têxteis ou alimentícias), o TOC ajuda a verificar a eficiência de biorreatores (ex.: lodos ativados).

A medição do TOC é realizada por dois métodos: direto ou indireto. A ideia é converter todas as diferentes formas de carbono em uma forma simples,  $\text{CO}_2$ , que é fácil de medir quantitativamente (PANIZ *et al.*, 2001). No método direto, o carbono orgânico presente na amostra é medido de duas maneiras. A primeira é remover o carbono inorgânico por meio de tratamento ácido antes da medição do carbono orgânico. O segundo método não remove o carbono orgânico. Em vez disso, a oxidação química é usada para determinar o teor de carbono orgânico (BISUTTI; HILKE; RAESSLER, 2004). No método indireto, o conteúdo de carbono orgânico é obtido pela subtração numérica do conteúdo de carbono inorgânico do conteúdo de carbono total.

Segundo Shetty e Goyal (2022), o método universal usado para medir TOC é pela oxidação do conteúdo orgânico na amostra de água para convertê-lo em formas quantificáveis. Com base na forma e concentração de matéria orgânica presente na amostra de água e especificações analíticas (rapidez, precisão), várias técnicas de oxidação e detecção podem ser usadas, conforme descrito abaixo:

**MÉTODO DE COMBUSTÃO** - Consiste em oxidar matéria orgânica em altas temperaturas ( $1200\text{ }^{\circ}\text{C}$ ). O  $\text{CO}_2$  liberado é primeiro colocado em contato com tubos depuradores e, em seguida, o conteúdo orgânico é medido usando absorção infravermelha não dispersiva (NDIR). Em métodos de combustão, o  $\text{CO}_2$  é detectado e o carbono inorgânico precisa ser removido antes que o carbono orgânico possa ser quantificado (BISUTTI; HILKE; RAESSLER, 2004).

**MÉTODO DE OXIDAÇÃO CATALÍTICA** - No método de oxidação catalítica para análise de TOC, a decomposição do conteúdo orgânico em  $\text{CO}_2$  é alcançada em torno de  $720\text{ }^{\circ}\text{C}$ . O  $\text{CO}_2$  liberado é então detectado pela técnica NDIR. O método padrão de oxidação catalítica por combustão com um catalisador de platina opera a  $680\text{ }^{\circ}\text{C}$  e é mundialmente aceitável. Uma característica essencial deste método é sua abordagem para oxidar efetivamente substâncias orgânicas

que são comparativamente difíceis de degradar, como compostos orgânicos insolúveis e macromoleculares.

MÉTODO DE OXIDAÇÃO QUÍMICA - A oxidação termoquímica com persulfato, comumente conhecida como “persulfato aquecido”, usa a mesma técnica de geração de radicais livres com a oxidação auxiliada por uma combinação de UV e persulfato, mas aumenta a temperatura para aumentar o potencial de oxidação do persulfato. Essa abordagem usa o mesmo método de produção de radicais livres que a oxidação por UV/persulfato, mas adiciona calor para aumentar o potencial de oxidação do persulfato.

MÉTODO DE OXIDAÇÃO UV - Produtos químicos não são necessários apenas no caso de água ultrapura e aplicações farmacêuticas nas quais a oxidação UV direta pode ser feita. Nos últimos anos, dispositivos onde a oxidação UV direta pode ser feita tornaram-se muito populares para obtenção de água ultra-pura e na indústria farmacêutica. A razão da popularidade para monitoramento de TOC no setor farmacêutico é que essa técnica é rápida e confiável e não requer produtos químicos, além de ser uma operação direta e com uma adequada razão custo-benefício.

## USO DA MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA (MEV) E DA MICROSCOPIA DE FORÇA ATÔMICA (AFM) NA AVALIAÇÃO DA EFICIÊNCIA DA BIORREMEDIÇÃO ENZIMÁTICA

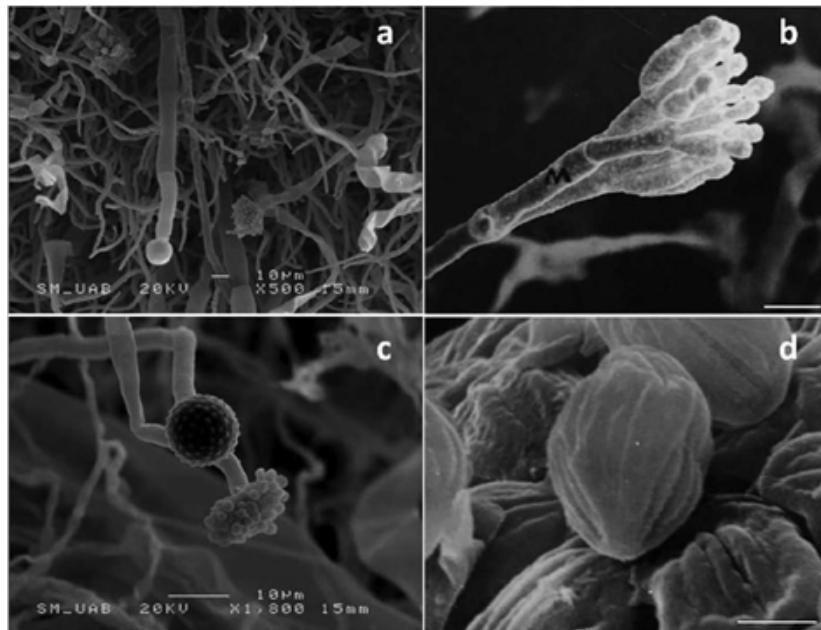
As técnicas de MEV e AFM representam uma abordagem poderosa para a avaliação da eficiência da biorremediação enzimática. Enquanto a MEV fornece informações detalhadas sobre a

morfologia e composição das superfícies tratadas, a AFM possibilita a análise de interações em escala nanométrica, permitindo um entendimento aprofundado dos mecanismos envolvidos na remediação ambiental. O uso dessas técnicas auxilia na otimização de processos biotecnológicos, promovendo estratégias mais eficientes para a recuperação de ambientes contaminados.

Até o momento, a maioria dos estudos de biorremediação envolvendo fungos tem se concentrado em experimentos laboratoriais com culturas de microrganismos isolados e caracterizados de ambientes poluídos com alta pressão seletiva. Os fungos interagem com metais e outros poluentes de diferentes maneiras, entre elas: processos de mobilização ou imobilização, sorção a células externamente (envelopes de exopolissacarídeos) ou ligação interna a componentes intracelulares (citoplasma) e transformação química entre espécies metálicas. Nesse sentido, embora o uso de técnicas de ME em estudos de biorremediação seja subvalorizado, elas constituem um conjunto de metodologias que têm sido aplicadas, principalmente em amostras poluídas com metais pesados, para obter novas informações sobre as interações metal-micélio fúngico e permitir um diagnóstico rápido sobre a capacidade dos fungos de adsorver e/ou acumular metais (SOLÉ; CALVO; JOSÉ, 2019).

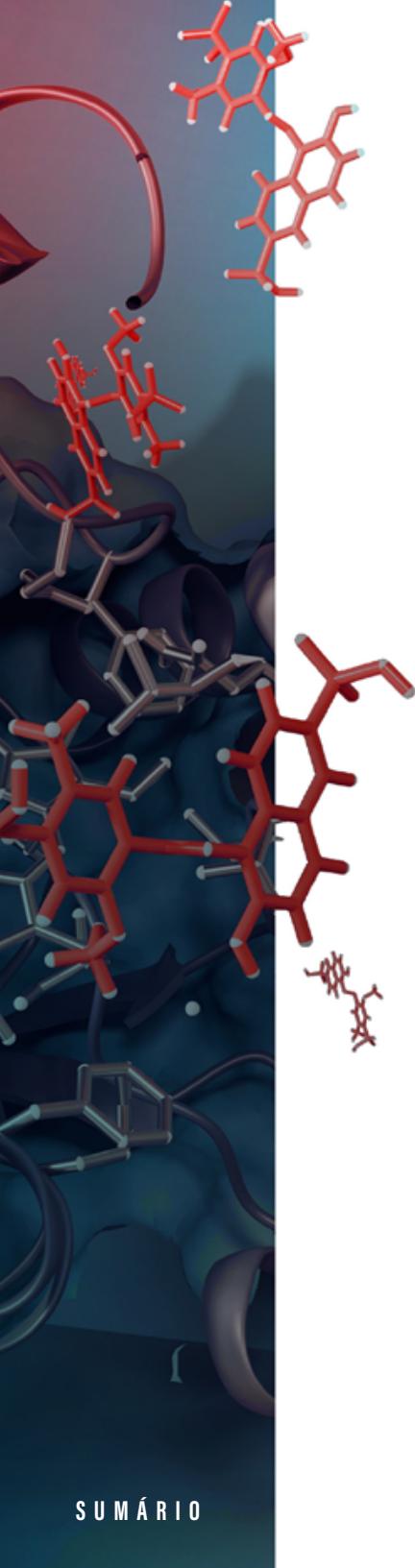
A microscopia eletrônica de varredura (MEV) é um tipo de microscopia eletrônica usada principalmente para estudar a morfologia de superfícies de amostras. As imagens são produzidas pela varredura da superfície da amostra com um feixe de elétrons focalizado, geralmente operando de menos de 1 kV a 30 kV. Os elétrons do feixe interagem com átomos da amostra e cada uma dessas interações pode ser visualizada com detectores específicos para explorar a morfologia da superfície e a composição elementar (Figura 5) (SOLÉ; CALVO; JOSÉ, 2019).

**Figura 5 - Microscopia eletrônica de varredura do micélio de *Aspergillus* sp. (a) e conídios típicos de *Penicillium* sp. (b), *Aspergillus* sp. (c) e *Rhizopus* sp (d). A barra de escala representa 1 µm**



Fonte: SOLÉ; CALVO; JOSÉ (2019).

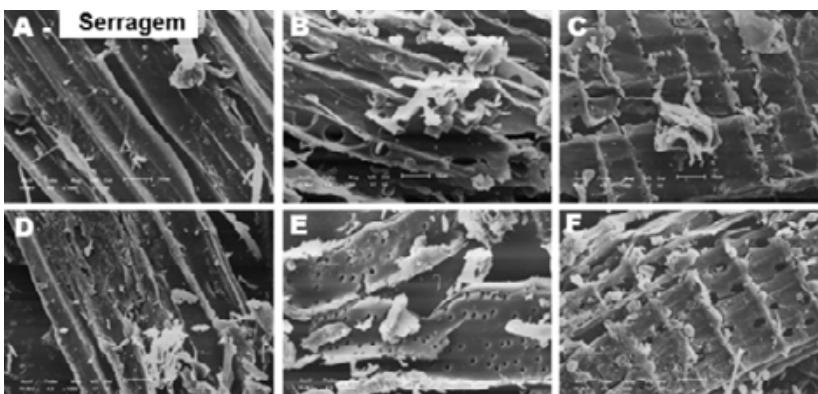
Nas últimas décadas, o desenvolvimento da MEV, em técnicas e resoluções de até menos de 1 nm, permitiu o estabelecimento de novas e eficazes aplicações para obter informações valiosas em nanoescala. Diferentes configurações e modos de uso da MEV permitem a obtenção de imagens de superfícies até o estado nativo e o estudo da composição e distribuição de elementos. Amostras secas podem ser observadas em alto vácuo convencional após o protocolo convencional de preparação, obtendo imagens 3D típicas de MEV. Em contraste, amostras hidratadas à temperatura ambiente (amostras úmidas) podem ser observadas em estado quase nativo ou nativo usando baixo vácuo de pressão variável ou ambiente (ESEM) (SOLÉ; CALVO; JOSÉ, 2019).



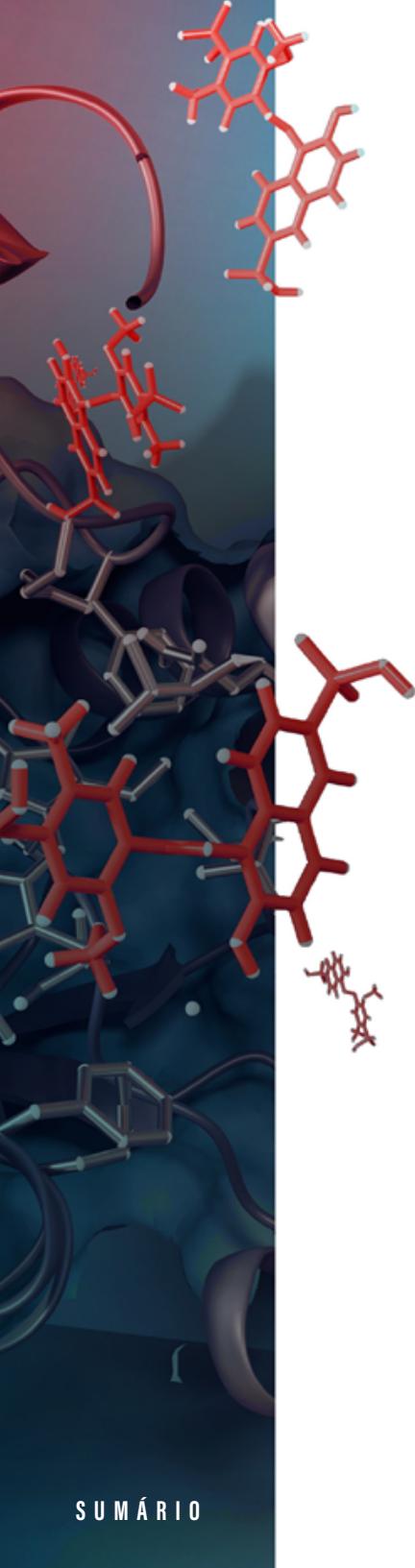
A MEV é uma técnica que utiliza um feixe de elétrons para fornecer imagens de alta resolução da superfície de uma amostra. Na biorremediação enzimática, a MEV pode ser aplicada a) na análise da morfologia de superfícies contaminadas antes e após a biotransformação; b) na avaliação de alterações morfológicas e estruturais nos fungos como consequência da interação com poluentes; c) na caracterização de biofilmes formados por microrganismos produtores de enzimas biorremediadoras; d) na avaliação da interação entre enzimas e poluentes adsorvidos; e, e) na determinação da remoção de metais pesados e outras substâncias nocivas em superfícies tratadas.

A MEV também permite avaliar a eficácia do pré-tratamento de resíduos lignocelulósicos por fungos da podridão branca. CASTOLDI *et al.* (2014), utilizou a MEV para verificar as mudanças estruturais causadas pelos pré-tratamentos biológicos da serragem de *Eucalyptus grandis* (Figura 6). As amostras não tratadas exibiram fibras rígidas e altamente ordenadas (Figura 6A). Após o pré-tratamento biológico, as estruturas foram fortemente modificadas para menos ordenadas com o desprendimento das fibras, colapso da parede celular e, em vários casos, com a formação de poros nas superfícies da parede celular variando de 1,5 a 10 µm (Figura 6 B-F).

**Figura 6.** Microscopia eletrônica de varredura da serragem de eucalipto (*E. grandis*). Controle (A); após pré-tratamento biológico com *G. lucidum* (B); *P. chrysosporium* (C); *P. ostreatus* (D); *P. pulmonarius* (E) *Trametes* sp (F). Nas imagens, barras = 10 µm

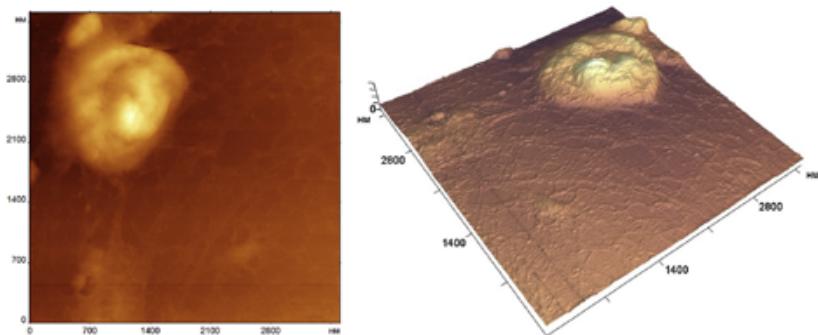


Fonte: CASTOLDI *et al.* (2014).



A AFM é uma técnica baseada na interação entre uma ponta nanométrica e a superfície da amostra, permitindo a obtenção de imagens tridimensionais em escala atômica (Figura 7). A AFM é a melhor ferramenta para caracterizar e visualizar o processo de degradação em detalhes. Ela tem sido aplicada a diversas investigações de processos de biorremediação (YAMINSKY; AKHMETOVA, 2020). No contexto da biorremediação enzimática, a AFM é utilizada: a) para o estudo da topografia e da rugosidade das superfícies antes e após o tratamento enzimático; b) na análise das forças intermoleculares entre enzimas e substratos poluentes; c) na detecção de alterações estruturais e químicas das superfícies tratadas; d) para a observação direta das interações biológicas no processo de remediação.

**Figura 7 - Imagem de microscopia de força atômica do esporo de *Brevibacillus laterosporus* Lat. 006: (esquerda) topografia, (direita) vista tridimensional (microscópio de sonda de varredura FemtoScan)**



Fonte: YAMINSKY; AKHMETOVA (2020).

Bell *et al.* (2005), usaram a AFM para compreender o mecanismo de interação entre polímeros de superfície da bactéria *Pseudomonas putida* KT2442, que é uma bactéria capaz de degradar hidrocarbonetos clorados em solos, e acredita-se que seu comportamento em subsuperfícies seja controlado por polímeros de superfície. A análise de força foi realizada por meio da AFM.

Li *et al.* (2008), usaram a AFM para avaliar as alterações na superfície bacteriana de *Ochrobactrum anthropi* durante a biossorção

de cromo. A análise morfológica da AFM, combinada com a análise da rugosidade da superfície, indicou que as superfícies bacterianas se tornaram mais rugosas durante o processo de absorção de Cr(VI).

AFM foi também usada para determinar a modificação morfológica da biomassa durante o processo de degradação do antraceno (DAS *et al.*, 2017). Qu *et al.* (2018), comprovou a degradação bacteriana do óxido de grafite por meio de AFM e outros métodos microscópicos, ajudando a revelar o mecanismo de degradação. Nag *et al.* (2018) usaram a AFM para caracterizar nanopartículas de ouro produzidas pela cepa bacteriana *Staphylococcus warneri*, para avaliação de poluentes nitroaromáticos tóxicos.

Xiaohong *et al.* (2011), investigaram o mecanismo de biossorção de Ni(II) por *B. cereus*. A análise de AFM mostrou que a rugosidade da superfície bacteriana aumentou de  $7,9 \pm 0,5$  nm para  $12,6 \pm 1,6$  nm durante esse processo. A rugosidade da superfície da parede celular bacteriana é um parâmetro muito importante na pesquisa de biodegradação. A rugosidade da superfície afeta o transporte bacteriano de substâncias. Gola *et al.* (2018), usaram a AFM para observar o crescimento de *Beauveria bassiana* na ausência e na presença de Pb(II). AFM foi realizada para determinar as alterações morfológicas influenciadas pela toxicidade do Pb(II). Os resultados obtidos mostraram um aumento na rugosidade da superfície em comparação com a célula controle. Alguns exemplos de uso dessas técnicas na biorremediação enzimática incluem:

**REMOÇÃO DE METAIS PESADOS DE SUPERFÍCIES CONTAMINADAS** - A MEV permite visualizar a deposição e remoção de partículas contaminantes, enquanto a AFM fornece informações sobre as interações físico-químicas envolvidas no processo.

**DEGRADAÇÃO DE COMPOSTOS ORGÂNICOS** - A AFM é empregada para avaliar a alteração na rugosidade das superfícies de substratos tratados, enquanto a MEV confirma a presença de biofilmes e estruturas enzimáticas ativas.

MONITORAMENTO DE BIOFILMES MICROBIANOS - A MEV permite caracterizar a formação e estrutura de biofilmes produzidos por microrganismos que expressam enzimas biorremediadoras, enquanto a AFM possibilita medir as forças de adesão entre células e superfícies contaminadas.

## USO E IMPORTÂNCIA DE MÉTODOS DE AVALIAÇÃO DA TOXICIDADE (BIOENSAIOS) UTILIZANDO ORGANISMOS-TESTE NA VERIFICAÇÃO DA EFICIÊNCIA DA BIORREMEDIÇÃO ENZIMÁTICA

Ficou claro ao longo deste capítulo que muitas variáveis estão envolvidas na biorremediação, como a biodegradabilidade intrínseca de cada contaminante (por exemplo, recalcitrância), o substrato de crescimento apropriado para cada classe de organismos degradantes, a presença de microrganismos com atividade enzimática suficiente para degradar a molécula-alvo e a temperatura correta para ativar e manter a degradação. Portanto, toda a biodegradação precisa ser rastreada em todas as etapas, para certificar sua eficácia e garantir a ausência de produtos intermediários que possam ser mais tóxicos do que o poluente original (DABROWSKA *et al.*, 2004; MAZZEO *et al.*, 2018).

A avaliação da eficácia da biorremediação de amostras ambientais pode ser realizada por meio de análises químicas convencionais. No entanto, essas análises fornecem apenas uma estimativa da concentração de elementos ou substâncias tóxicas presentes, sem refletir necessariamente sua biodisponibilidade real. Por essa razão, tem-se sugerido, nos últimos anos, a associação entre métodos químicos e bioensaios que avaliem diretamente a atividade biológica nos sistemas em tratamento. Os bioensaios são especialmente recomendados para monitorar alterações na toxicidade durante o processo de biorremediação, sobretudo quando os

contaminantes estão presentes sob a forma de misturas químicas complexas, sendo projetados para avaliar a eficácia e estabilidade da biorremediação em termos de toxicidade residual (MAZZEO *et al.*, 2018). Para isso, bioensaios utilizando organismos-teste, como bactérias, algas, peixes e sementes, são ferramentas úteis na verificação da eficiência do processo. Este tópico discute a relevância dos bioensaios na avaliação da toxicidade antes e após a biorremediação enzimática, destacando seus principais métodos e aplicações.

Bioensaios são testes biológicos que utilizam organismos-teste para medir os efeitos tóxicos de substâncias ou misturas químicas. Esses ensaios permitem verificar se a biorremediação enzimática foi eficaz na degradação de compostos perigosos e se os metabólitos formados ainda apresentam toxicidade. Os principais métodos incluem:

**BIOENSAIO COM BACTÉRIAS (TESTE DE INIBIÇÃO DE CRESCIMENTO)** - Entre os ensaios baseados em procariontes, bactérias como *Escherichia coli*, *Salmonella typhimurium* e *Vibrio fischeri* são as espécies mais empregadas para testar a eficácia da biorremediação. Esses organismos-teste merecem destaque principalmente pela sua facilidade de cultivo em laboratório, rapidez e eficácia na detecção de atividades biológicas de metabólitos tóxicos gerados durante o processo de biotransformação (MAZZEO *et al.*, 2018).

O Teste de Ames (*Salmonella*/microsome, *S. typhimurium*) é considerado uma ferramenta clássica para avaliar a mutagenicidade de diversos agentes químicos. Este teste é caracterizado por ser simples, rápido e com altos índices de sensibilidade e reprodutibilidade (FERRAZ *et al.*, 2011; MAZZEO *et al.*, 2018). O teste permite a detecção de compostos perigosos em amostras ambientais, como aqueles presentes na água, no ar, no solo, em sedimentos e efluentes de diversas origens.

Testes como Mutatox® e Microtox® (*Vibrio fischeri*) baseiam-se na diminuição da bioluminescência que ocorre em bactérias expostas a uma determinada atividade biológica tóxica. A luminescência é produzida como resultado de uma reação química que ocorre entre

as enzimas luciferase, naturalmente presentes nessas bactérias, o aldeído de flavina reduzido e o oxigênio (SAGE, 2015). O ensaio usa a luminescência marina para detectar a toxicidade de substâncias puras, orgânicas e inorgânicas, e misturas incluídas em diferentes matrizes ambientais, como água, efluentes, sedimentos, solo, lodo de esgoto, pesticidas, incluindo amostras sólidas (MAZZEO *et al.*, 2018).

**BIOENSAIO COM PLANTAS SUPERIORES (TESTE DE AVALIAÇÃO GENÉTICA)** - Bioensaios baseados em plantas superiores já se consolidaram como modelos genéticos para avaliar os efeitos de poluentes, sendo amplamente aplicados na avaliação da qualidade ambiental e no monitoramento ambiental (STANTON; KRUSZEWSKI, 2016; MAZZEO *et al.*, 2018). Entre as espécies vegetais, as mais utilizadas para avaliar contaminantes ambientais são *Allium cepa* (cebola), *Arabidopsis thaliana*, *Capillaris crepis* (barba-de-falcão), *Glycine max* (soja), *Hordeum vulgare* (cevada), *Lactuca sativa* (alface), *Nicotiana tabacum* (tabaco), *Tradescantia sp.*, *Vicia faba* (fava) e *Zea mays* (milho). O teste de *Allium cepa* é um dos mais utilizados na avaliação ambiental, pois permite a avaliação de diferentes mecanismos genéticos (LEME; MARIN-MORALES, 2009).

**BIOENSAIO COM SEMENTES (TESTE DE GERMINAÇÃO E DESENVOLVIMENTO DE PLÂNTULAS)** - Além da avaliação da toxicidade genética, os bioensaios em plantas podem envolver testes de germinação e crescimento. Os ensaios que utilizam a velocidade de germinação de sementes identificam a fitotoxicidade de substâncias puras ou misturas complexas, enquanto aqueles que utilizam a medição do crescimento avaliam alterações na estabilidade e/ou maturidade dos organismos em decorrência da exposição a uma substância tóxica (MAZZEO *et al.*, 2018). O crescimento de sementes de *Lactuca sativa* (alface) e *Brassica napus* (canola) é utilizado para avaliar a toxicidade do solo e da água tratada. A inibição da germinação e a redução do crescimento radicular indicam presença de substâncias tóxicas remanescentes.

**BIOENSAIO COM ALGAS (TESTE DE CRESCIMENTO E FOTOSÍNTESE)** - Espécies como *Raphidocelis subcapitata* e *Chlorella vulgaris* são

empregadas para avaliar a toxicidade de efluentes tratados. A inibição do crescimento e redução na atividade fotossintética são indicadores de toxicidade residual.

**BIOensaio com peixes (teste de toxicidade aguda e subcrônica)** - Peixes como *Danio rerio* (zebrafish) e *Oreochromis niloticus* (tilápia) são usados para avaliar toxicidade letal e subletal. A presença de alterações comportamentais, histopatológicas e bioquímicas indica exposição a substâncias tóxicas após a biorremediação.

Os bioensaios descritos acima e outros a serem eventualmente desenvolvidos, são fundamentais para complementar análises químicas e espectroscópicas na verificação da eficiência da biorremediação enzimática. Algumas de suas principais vantagens incluem: a) avaliação ecotoxicológica integrada, fornecendo dados biológicos relevantes sobre a qualidade ambiental; b) detecção de efeitos cumulativos e sinérgicos, permitindo identificar a toxicidade de misturas complexas de poluentes e seus metabólitos; c) facilidade de aplicação e baixo custo, tornando-os acessíveis para diferentes tipos de amostras ambientais.

A aplicação de bioensaios na avaliação da biorremediação enzimática é essencial para determinar a efetividade do tratamento e garantir que os compostos degradados não gerem subprodutos tóxicos. O uso de organismos-teste como bactérias, algas, peixes e sementes fornece uma visão abrangente dos impactos ambientais residuais, contribuindo para o desenvolvimento de estratégias mais seguras e sustentáveis para a remediação de áreas contaminadas.

## CONCLUSÕES E PERSPECTIVAS

A biorremediação enzimática constitui uma abordagem promissora e ambientalmente sustentável para a degradação de poluentes orgânicos e inorgânicos em ambientes contaminados. No entanto, a eficácia e a segurança desse processo dependem diretamente da

aplicação de métodos analíticos adequados que permitam avaliar, de forma integrada, a transformação química dos contaminantes, a geração de subprodutos e os impactos ecotoxicológicos associados. A integração das diversas ferramentas analíticas aplicáveis ao monitoramento da biorremediação enzimática, incluindo técnicas espectroscópicas (UV-Vis, FTIR), cromatográficas (GC-MS, HPLC), análise de carbono orgânico total (TOC), métodos de microscopia (MEV, AFM) e bioensaios com organismos-teste, permitem uma avaliação abrangente dos processos de degradação e uma melhor compreensão das vias metabólicas envolvidas, além de garantir que os produtos formados sejam menos tóxicos ou inofensivos.

A aplicação combinada dessas metodologias fortalece a confiabilidade dos dados gerados, contribuindo para o desenvolvimento e a validação de sistemas de remediação mais eficazes e seguros. Assim, o monitoramento sistemático da biorremediação enzimática não apenas assegura sua eficiência técnico-ambiental, como também promove sua consolidação como uma ferramenta estratégica no enfrentamento da poluição ambiental e na promoção de tecnologias limpas.

## AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem os apoios financeiros ofertados pela Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) e Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico – Brasil (CNPq).

## REFERÊNCIAS

- BARBOOTI, Mahmood (Ed.). Environmental applications of instrumental chemical analysis. 2015.
- BELL, Caitlin H.; ARORA, Bhupinder S.; CAMESANO, Terri A. Adhesion of *Pseudomonas putida* KT2442 is mediated by surface polymers at the nano-and microscale. **Environmental engineering science**, v. 22, n. 5, p. 629-641, 2005.
- BHATTACHARJEE, Joyasree; MISHRA, Sunanda; DAS, Alok Prasad. Recent advances in sensor-based detection of toxic dyes for bioremediation application: a review. **Applied Biochemistry and Biotechnology**, v. 194, n. 10, p. 4745-4764, 2022.
- BISUTTI, Isabella; HILKE, Ines; RAESSLER, Michael. Determination of total organic carbon—an overview of current methods. **TrAC Trends in Analytical Chemistry**, v. 23, n. 10-11, p. 716-726, 2004.
- CANET, Rodolfo *et al.* Biodegradation of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) by native microflora and combinations of white-rot fungi in a coal-tar contaminated soil. **Bioresource technology**, v. 76, n. 2, p. 113-117, 2001.
- CASTOLDI, Rafael *et al.* Biological pretreatment of *Eucalyptus grandis* sawdust with white-rot fungi: study of degradation patterns and saccharification kinetics. **Chemical Engineering Journal**, v. 258, p. 240-246, 2014.
- CHAKRABORTY, Jaya; DAS, Surajit. Application of spectroscopic techniques for monitoring microbial diversity and bioremediation. **Applied Spectroscopy Reviews**, v. 52, n. 1, p. 1-38, 2017.
- DABROWSKA, D.; KOT-WASIK, Agata; NAMIESNIK, J. The Importance of Degradation in the Fate of Selected Organic Compounds in the Environment. Part II. Photodegradation and Biodegradation. **Polish Journal of Environmental Studies**, v. 13, n. 6, 2004.
- DAS, Momita *et al.* Enhanced biodegradation of anthracene by *Bacillus cereus* strain JMG-01 isolated from hydrocarbon contaminated soils. **Soil and Sediment Contamination: An International Journal**, v. 26, n. 5, p. 510-525, 2017.
- DASH, Hirak R.; MANGWANI, Neelam; DAS, Surajit. Characterization and potential application in mercury bioremediation of highly mercury-resistant marine bacterium *Bacillus thuringiensis* PW-05. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 21, p. 2642-2653, 2014.
- DE FREITAS, E. Neiverth *et al.* Removal of bisphenol A by laccases from *Pleurotus ostreatus* and *Pleurotus pulmonarius* and evaluation of ecotoxicity of degradation products. **Chemical Engineering Journal**, v. 330, p. 1361-1369, 2017.

DELEANU, C.; SIMONESCU, C. M.; CĂPĂȚINĂ, C. Comparative study on the adsorption of Cu (II) ions onto chitosan and chemical modified chitosans. In: **Proceedings of 12th Conference on Environment and Mineral Processing**. 2008. p. 201-207.

FERRAZ, E. R. A. et al. Differential toxicity of Disperse Red 1 and Disperse Red 13 in the Ames test, HepG2 cytotoxicity assay, and Daphnia acute toxicity test. **Environmental toxicology**, v. 26, n. 5, p. 489-497, 2011.

GOLA, Deepak et al. Removal of industrial dyes and heavy metals by *Beauveria bassiana*: FTIR, SEM, TEM and AFM investigations with Pb (II). **Environmental Science and Pollution Research**, v. 25, n. 21, p. 20486-20496, 2018.

GRUBE, Mara et al. Application of FT-IR spectroscopy for control of the medium composition during the biodegradation of nitro aromatic compounds. **Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology**, v. 35, n. 11, p. 1545-1549, 2008.

IARK, Daiane et al. Enzymatic degradation and detoxification of azo dye Congo red by a new laccase from *Oudemansiella canarii*. **Bioresource technology**

IMAM, Arfin et al. Analytical approaches used in monitoring the bioremediation of hydrocarbons in petroleum-contaminated soil and sludge. **TrAC Trends in Analytical Chemistry**, v. 118, p. 50-64, 2019.

KANAUJIA, Pankaj K. Gas chromatography| Petroleum and petrochemical applications. **Encyclopedia of Analytical Science**, p. 217-231, 2019.

LEME, Daniela Morais; MARIN-MORALES, Maria Aparecida. Allium cepa test in environmental monitoring: a review on its application. **Mutation research/reviews in mutation research**, v. 682, n. 1, p. 71-81, 2009.

LI, Bin et al. Microscopic investigations of the Cr (VI) uptake mechanism of living *Ochrobactrum anthropi*. **Langmuir**, v. 24, n. 17, p. 9630-9635, 2008.

MACIEL, Giselle Maria et al. Biosorption of herbicide picloram from aqueous solutions by live and heat-treated biomasses of *Ganoderma lucidum* (Curtis) P. Karst and *Trametes* sp. **Chemical Engineering Journal**, v. 215, p. 331-338, 2013. <https://doi.org/10.1016/j.cej.2012.09.127>.

MARCZENKO, Zygmunt. Separation and spectrophotometric determination of elements. 1986.

MAZZEO, Dânia EC et al. Bioassays used to assess the efficacy of biodegradation. **Toxicity and biodegradation testing**, p. 215-239, 2018.

MECOZZI, M. et al. Application of FTIR spectroscopy in environmental studies supported by two dimensional correlation analysis. **Global nest. The international journal**, v. 11, n. 4, p. 593-600, 2009.

MOTA, Thatiane Rodrigues *et al.* Decolourization of Congo red by *Ganoderma lucidum* laccase: evaluation of degradation products and toxicity. **Water, Air, & Soil Pollution**, v. 226, p. 1-11, 2015. <https://doi.org/10.1007/s11270-015-2612-2>

MUNGASAVALLI, Deepa Prabhu; VIRARAGHAVAN, Thiruvenkatachari; JIN, Yee-Chung. Biosorption of chromium from aqueous solutions by pretreated *Aspergillus niger*: batch and column studies. **Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects**, v. 301, n. 1-3, p. 214-223, 2007.

NAG, Sudip *et al.* Green-fabrication of gold nanomaterials using *Staphylococcus warneri* from Sundarbans estuary: an effective recyclable nanocatalyst for degrading nitro aromatic pollutants. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 25, n. 3, p. 2331-2349, 2018.

NICOLET, Thermo; ALL, C. Introduction to fourier transform infrared spectrometry. **Thermo Nicolet Corporation**, v. 3, p. 45-50, 2001.

QU, Yuanyuan *et al.* A novel environmental fate of graphene oxide: Biodegradation by a bacterium Labrys sp. WJW to support growth. **Water Research**, v. 143, p. 260-269, 2018.

PANIZ, José Neri Gottfried *et al.* Flow injection turbidimetric determination of total organic carbon with a gas-liquid transfer microreactor. **Analytica Chimica Acta**, v. 445, n. 2, p. 139-144, 2001.

PASSOS, Marieta LC; SARAIVA, M. Lúcia MFS. Detection in UV-visible spectrophotometry: Detectors, detection systems, and detection strategies. **Measurement**, v. 135, p. 896-904, 2019.

PENA, M. T. *et al.* Optimization of the matrix solid-phase dispersion sample preparation procedure for analysis of polycyclic aromatic hydrocarbons in soils: comparison with microwave-assisted extraction. **Journal of Chromatography A**, v. 1165, n. 1-2, p. 32-38, 2007.

PUGAZHENDI, Arulazhagan *et al.* Role of a halothermophilic bacterial consortium for the biodegradation of PAHs and the treatment of petroleum wastewater at extreme conditions. **International Biodeterioration & Biodegradation**, v. 121, p. 44-54, 2017.

PITT, James J. Principles and applications of liquid chromatography-mass spectrometry in clinical biochemistry. **The Clinical Biochemist Reviews**, v. 30, n. 1, p. 19, 2009.

SAGE, Andrew P. **Risk modeling, assessment, and management**. John Wiley & Sons, 2015.

SHETTY, Akhil; GOYAL, Ajay. Total organic carbon analysis in water-A review of current methods. **Materials Today: Proceedings**, v. 65, p. 3881-3886, 2022.

SIMONESCU, Claudia Maria. Application of FTIR spectroscopy in environmental studies. In: **Advanced aspects of spectroscopy**. IntechOpen, 2012.

SOLÉ, Antoni; CALVO, María Àngels; JOSÉ, María. Electron Microscopy Techniques Applied to Bioremediation and Biodeterioration Studies with Moulds. **Fungal Bioremediation: Fundamentals and Applications**, p. 354, 2019.

SPARKMAN, O. David; PENTON, Zelda; KITSON, Fulton G. **Gas chromatography and mass spectrometry: a practical guide**. Academic press, 2011.

SPARKMAN, O. David; PRICE, Phil. **Mass spectrometry desk reference**. 2006.

SRINIVASAN, Shantkriti; SADASIVAM, Senthil Kumar. Biodegradation of textile azo dyes by textile effluent non-adapted and adapted *Aeromonas hydrophila*. **Environmental Research**, v. 194, p. 110643, 2021.

STANTON, Kathleen; KRUSZEWSKI, Francis H. Quantifying the benefits of using read-across and in silico techniques to fulfill hazard data requirements for chemical categories. **Regulatory Toxicology and Pharmacology**, v. 81, p. 250-259, 2016.

TECNAL, 2025. **Cromatografia a gás: poderosa técnica de separação e quantificação de compostos orgânicos**. Disponível em: <https://lnq.com/mlF3z>. (Acessado 5 de maio de 2025).

TISSUE, Brian M. Ultraviolet and visible absorption spectroscopy. **Characterization of Materials**, 2002.

UBER, Thais Marques et al. Comparative detoxification of Remazol Rrilliant Blue R by free and immobilized laccase of *Oudemansiella canarii*. **Biocatalysis and Biotransformation**, v. 40, n. 1, p. 17-28, 2022.

UMAR, Zubairu Darma et al. Rapid biodegradation of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) using effective *Cronobacter sakazakii* MM045 (KT933253). **Methods X**, v. 4, p. 104-117, 2017.

WU, Manli et al. Bioremediation of hydrocarbon degradation in a petroleum-contaminated soil and microbial population and activity determination. **Chemosphere**, v. 169, p. 124-130, 2017.

XIAOHONG, Pan et al. The analysis of the immobilization mechanism of Ni (II) on *Bacillus cereus*. **Journal of Nanoscience and Nanotechnology**, v. 11, n. 4, p. 3597-3603, 2011.

YAMINSKY, Igor V; AKHMETOVA, Assel I. The role of scanning probe microscopy in bacteria investigations and bioremediation. In: **Abatement of Environmental Pollutants**. Elsevier, 2020. p. 287-312.

YEE, Nathan et al. Characterization of metal– cyanobacteria sorption reactions: a combined macroscopic and infrared spectroscopic investigation. **Environmental Science & Technology**, v. 38, n. 3, p. 775-782, 2004.

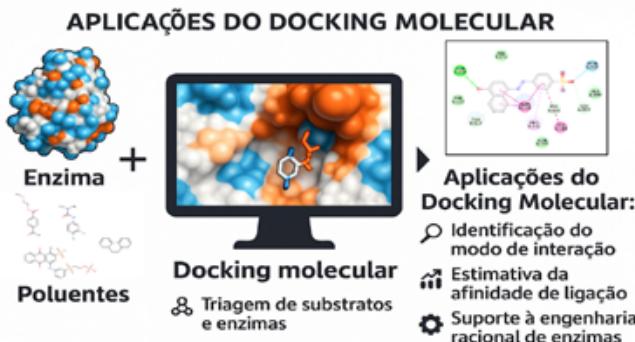
# 3

*Paulo Sérgio Alves Bueno  
Amanda Castro Comar  
Mariane Carneiro da Silva  
Rosane Marina Peralta*

## DOCKING MOLECULAR EM BIORREMEDIACÃO ENZIMÁTICA

*DOI: 10.31560/pimentacultural/978-85-7221-472-3*

## RESUMO GRÁFICO



## RESUMO:

A biorremediação aproveita o potencial catalítico de enzimas para transformar poluentes ambientais em produtos que não agrideem o meio ambiente. Paralelamente aos avanços experimentais, simulações computacionais baseadas na metodologia de docking molecular têm contribuído para prever os mecanismos de interação entre enzimas e esses substratos. As análises auxiliam na identificação de compostos com maior afinidade nas reações, bem como resíduos-chave que podem ser modificados para aumentar a interação e, consequentemente, a eficiência catalítica. Neste capítulo, são apresentados os fundamentos do docking molecular e exemplos de sua aplicação com enzimas oxidorredutases na biorremediação de corantes têxteis, antibióticos, pesticidas, hidrocarbonetos aromáticos e derivados de plásticos. Na parte final, inclui-se um tutorial prático, voltado para iniciantes no uso da ferramenta.

**Palavras-chave:** biodegradação, enzimas, mecanismo de interação, poluentes.

## INTRODUÇÃO

A biorremediação enzimática representa uma estratégia sustentável e promissora para o tratamento de contaminantes ambientais. As pesquisas revelam diferentes enzimas com capacidade de utilizar os poluentes como substrato e gerar produtos menos tóxicos ou inertes. Com o avanço das ferramentas de biotecnologia, cresce o interesse em compreender os mecanismos moleculares envolvidos na interação entre eles. Nesse contexto, simulações de docking molecular emergem como uma ferramenta promissora (LIU *et al.*, 2018).

O docking molecular é uma técnica computacional (ou *in silico*) utilizada para investigar interações entre moléculas, especialmente ligantes pequenos e macromoléculas biológicas, como as enzimas. Seu principal objetivo é prever, de forma teórica, como elas se encaixam umas nas outras, simulando o processo de ligação e estimando a afinidade (PAGGI; PANDIT; DROR, 2024). São diversas as áreas de aplicação, como no desenvolvimento de fármacos, engenharia de enzimas e, mais recentemente, na biorremediação.

Diferentes enzimas têm se destacado pela capacidade de atuar sobre uma ampla variedade de poluentes, incluindo corantes industriais, antibióticos, pesticidas, hidrocarbonetos aromáticos e derivados de plásticos. O estudo de como elas interagem com os contaminantes tem sido conduzido frequentemente com o auxílio de simulações de docking, permitindo analisar detalhadamente essas interações, auxiliar na seleção de variantes enzimáticas com maior afinidade por substratos de interesse e orientar modificações pontuais que aprimorem sua eficiência e seletividade (LIU *et al.*, 2018).

Neste capítulo, são inicialmente apresentados os fundamentos do docking molecular. Em seguida, discutimos estudos de casos envolvendo diferentes classes de poluentes e enzimas oxidorredutases aplicadas à biorremediação utilizando esse tipo de simulação.

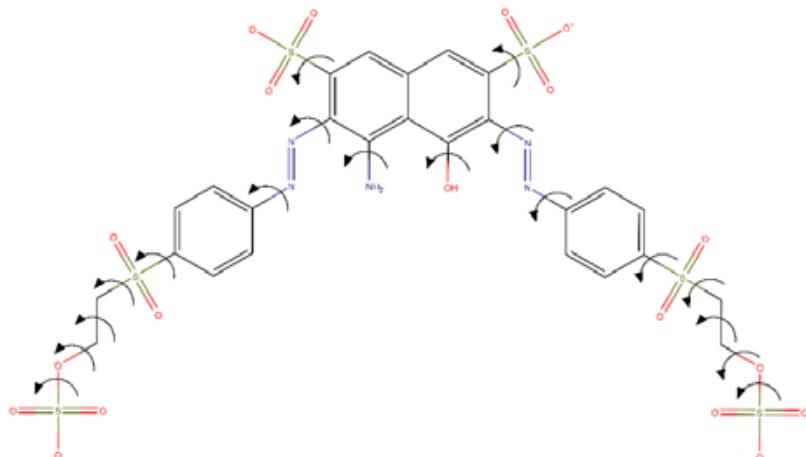
Por fim, é proposto um tutorial prático voltado a iniciantes, com o objetivo de facilitar o seu uso.

## FUNDAMENTOS DE DOCKING MOLECULAR - PRINCÍPIOS, ALGORITMOS E PROGRAMAS

O docking molecular ou ancoragem molecular (do inglês *molecular docking*) é um método computacional utilizado para prever o modo de interação entre receptores e ligantes. Os programas que realizam esse tipo de simulação têm a capacidade de explorar múltiplas conformações moleculares do ligante em complexo com o receptor alvo, permitindo identificar prováveis poses assumidas experimentalmente e fornecer parâmetros energéticos relacionados à afinidade de ligação (PAGGI; PANDIT; DROR, 2024).

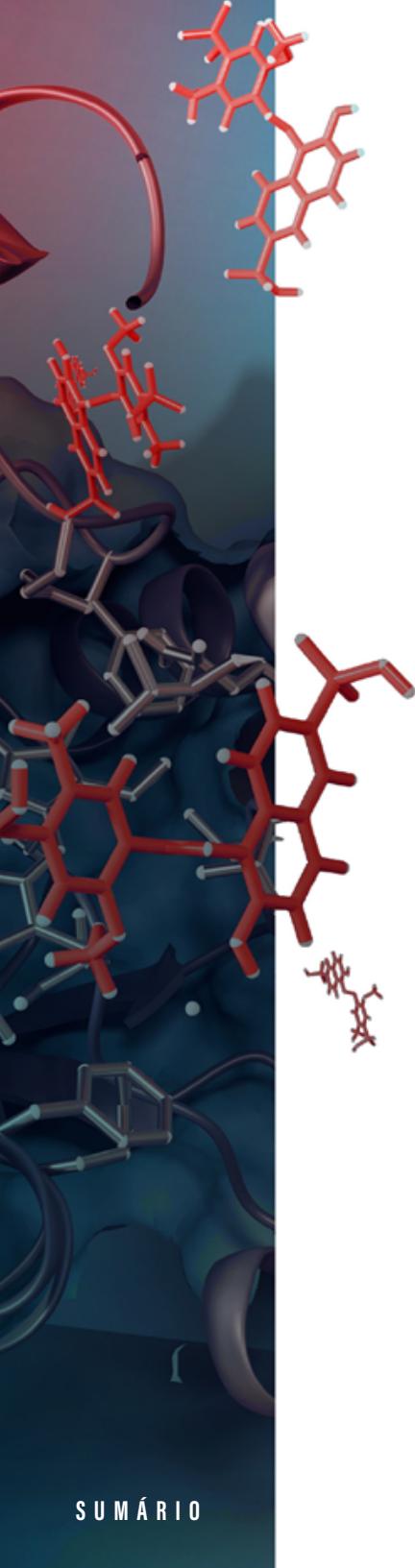
Os receptores e ligantes mais utilizados são, respectivamente, proteínas (como as enzimas) e moléculas de baixa massa molecular (em geral com menos de 100 átomos). Nesse caso, geralmente há mais informações estruturais disponíveis, além de um menor grau de liberdade, o que gera um número pequeno de conformações possíveis assumidas pelos ligantes, facilitando o processo de busca computacional por interações estáveis (PAGGI; PANDIT; DROR, 2024). Aqui, “conformações” referem-se às diferentes disposições espaciais que uma mesma molécula pode assumir devido à rotação em torno de suas ligações simples (Figura 1). Em menor escala, também são utilizadas abordagens voltadas à compreensão da interação entre macromoléculas, como proteína-proteína (SUNNY; JAYARAJ, 2022) e proteína-ácidos nucleicos (DNA e RNA) (FENG *et al.*, 2022). No entanto, devido ao grande número de átomos envolvidos, o espaço conformacional aumenta drasticamente, o que muitas vezes impede a obtenção de boas previsões.

**Figura 1 - Graus de liberdade conformacional do corante preto de remazol B, representados por setas**



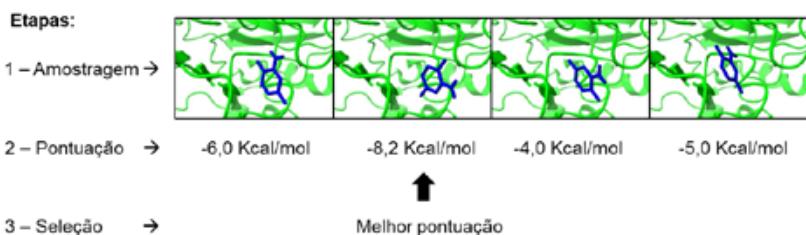
Existem basicamente três variações dos métodos, que se diferenciam pela liberdade conformacional considerada durante a simulação. São eles: os métodos rígido, semiflexível e flexível. No docking rígido, as ligações covalentes do ligante e do receptor são consideradas inflexíveis, havendo apenas a possibilidade de interação das estruturas nas conformações iniciais introduzidas. Essa prática reduz significativamente o custo computacional, mas também diminui a acurácia, especialmente quando alterações conformacionais são importantes para a interação. No semiflexível, o método mais utilizado, a proteína é mantida rígida enquanto o ligante é tratado como flexível, permitindo sua adaptação ao sítio de ligação. Já no flexível, tanto o receptor proteico quanto o ligante possuem liberdade conformacional, o que possibilita a modelagem de fenômenos como o encaixe induzido (*induced fit*), tornando as simulações mais realistas, porém com maior custo computacional (VERLI, 2014).

Os programas utilizados nas simulações, de forma geral, seguem duas etapas principais: amostragem de poses e avaliação de afinidade (Figura 2). Na primeira, o algoritmo explora diferentes



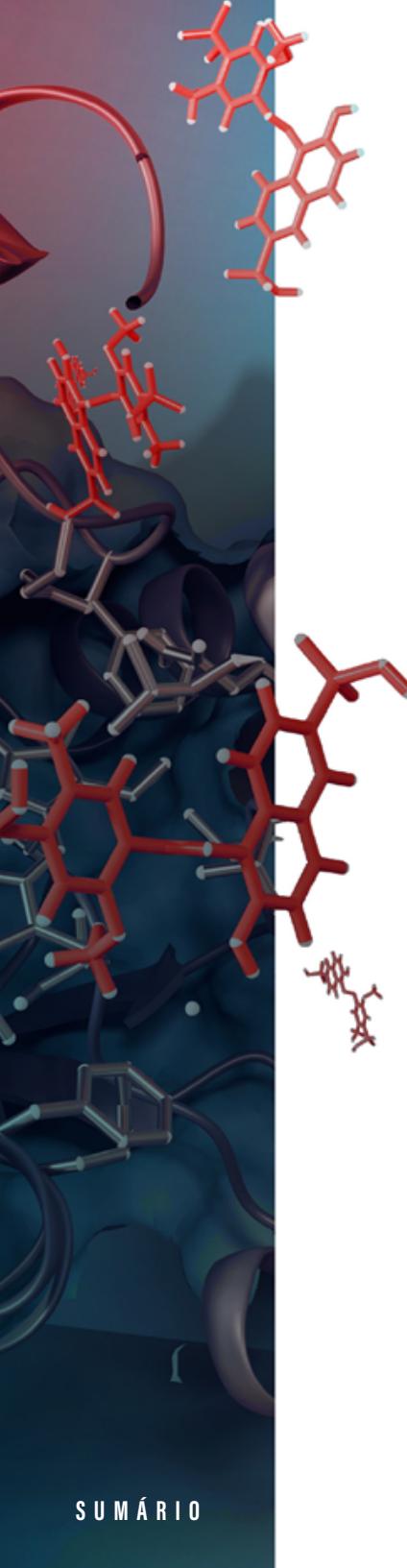
orientações, posições e conformações do ligante no receptor. Em seguida, para cada pose no sítio de ligação ou complexo receptor-ligante gerado, uma função de pontuação estima o quão favorável são as interações, com base em critérios energéticos associados às forças envolvidas (AGU *et al.*, 2023).

**Figura 2** - Etapas do processo de docking molecular, através do programa Autodock Vina. Valores mais negativos, indicam maior afinidade.



A pontuação não é um valor real da variação de energia livre ( $\Delta G$ ), mas um parâmetro que classifica diferentes poses do ligante no sítio de ligação que incluem termos de interação eletrostática, hidrofóbica, ligações de hidrogênio, entre outros, mas geralmente não consideram de forma completa todos os efeitos termodinâmicos envolvidos na formação do complexo, como solvatação e reorganização conformacional (AGU *et al.*, 2023). Vale ressaltar ainda que, embora a maioria dos programas utilizem valores de pontuações negativos e unidades de medida em kcal/mol para indicar uma boa interação, outros adotam escalas diferentes, como unidades arbitrárias de energia, o que pode dificultar comparações diretas entre diferentes ferramentas. Por isso, é fundamental compreender a base metodológica de cada programa para interpretar corretamente os resultados e evitar conclusões equivocadas.

Diferentes algoritmos podem ser utilizados para essas etapas, dependendo do programa, e é comum empregar mais de uma ferramenta para comparar os resultados. Quando diferentes programas,



com algoritmos distintos de amostragem e pontuação, convergem para a mesma pose como sendo a mais provável, aumenta-se a confiança de que aquele complexo gerado representa, de fato, a forma assumida experimentalmente (PHILIPPSEN; SEIXAS, 2025).

Existem diversos programas disponibilizados para uso comercial e acadêmico e desenvolvidos para distintos sistemas operacionais como Linux e Windows. Cada um deles incorpora algoritmos de amostragem e pontuação, que visam o aumento da eficiência preditiva, custo computacional e a flexibilidade entre receptor e ligante. Alguns dos programas são Autodock (MORRIS *et al.*, 2009), Autodock Vina (TROTT; OLSON, 2010), GOLD (VERDONK *et al.*, 2003), DockThor (GUEDES *et al.*, 2024), Molegro Virtual Docker (BITENCOURT-FERREIRA; DE AZEVEDO, 2019) e Glide (FRIESNER *et al.*, 2004). Muitos possuem interfaces gráficas próprias que facilitam a realização das análises. Outros, por serem baseados em linha de comando, dependem de interfaces auxiliares. É o caso do AutoDock e do AutoDock Vina, que podem ser executados por meio de plataformas como o PyRx (DALLAKYAN; OLSON, 2015) ou integrados a softwares de visualização molecular, como o UCSF Chimera (PETTERSEN *et al.*, 2021).

## OBTEÇÃO E PREPARO DAS ESTRUTURAS TRIDIMENSIONAIS – PROTEÍNAS E LIGANTES

Os arquivos iniciais necessários para simulações de docking molecular são as estruturas tridimensionais do receptor proteico e do ligante. A qualidade estrutural e o preparo adequado do sistema a ser estudado são cruciais, pois impactam diretamente na predição das interações moleculares. Atualmente, há diversos bancos de dados disponíveis para a obtenção dessas estruturas, bem como programas dedicados à sua preparação adequada.

Os receptores proteicos alvos são geralmente obtidos no *Protein Data Bank* (PDB) (BERMAN *et al.*, 2000), um banco de dados que armazena estruturas determinadas experimentalmente, obtidas principalmente por cristalografia de raios X, ressonância magnética nuclear (RMN) ou criomicroscopia eletrônica. Outras fontes são programas que geram modelos tridimensionais utilizando inteligência artificial como o AlphaFold (JUMPER *et al.*, 2021) e o Modeller que aplica fundamentos de homologia estrutural (WEBB; SALI, 2016).

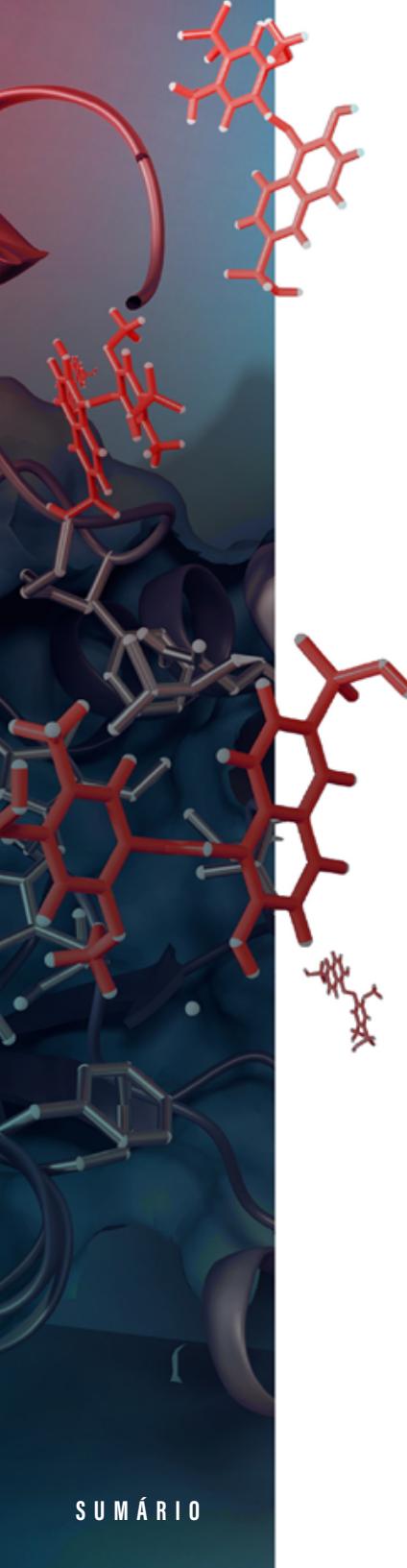
Durante a escolha da estrutura proteica deve-se levar em conta a melhor resolução disponível, conformação biologicamente ativa e a presença de ligantes cocristalizados que auxiliam na identificação de sítios de ligação. De posse da estrutura, a retirada de íons e solventes pode ser realizada. Além disso, é necessário a adição de hidrogênios e ajustes do estado de protonação, e em muitos casos, o ajuste da geometria estrutural é realizado por simulações de minimização de energia (PHILIPPSEN; SEIXAS, 2025).

Já os ligantes utilizados, podem ser obtidos a partir de bases de dados químicas, como ZINC (IRWIN *et al.*, 2020) e PubChem (KIM *et al.*, 2016). Eles são geralmente disponibilizados em formatos como sdf e mol2 ou convertidos para os formatos exigidos pelos programas de docking. Antes da simulação, quando necessário, o preparo dos ligantes envolve o ajuste do estado de protonação e minimização de energia da estrutura. Para isso, são comumente empregadas ferramentas gratuitas como Open Babel (O'BOYLE *et al.*, 2011) ou através da própria interface gráfica dos programas de docking molecular.

## APLICAÇÕES DO DOCKING MOLECULAR EM BIORREMEDIÇÃO - ASPECTOS GERAIS

Uma diversidade de enzimas demonstra potencial na degradação de poluentes ambientais. Dentre elas, destacam-se diferentes oxidorredutases (DONG *et al.*, 2023), que atuam na transformação de corantes têxteis, antibióticos, derivados de petróleo, pesticidas, entre outros compostos. Apesar do grande volume de resultados, poucos estudos elucidam, tal como ocorrem em nível molecular, as interações entre essas enzimas e os poluentes. Nesse contexto, o método de docking molecular tem sido aplicado constantemente.

O docking molecular pode ser aplicado antes e/ou depois de ensaios laboratoriais de biorremediação. No primeiro caso, geralmente o objetivo é selecionar substratos para uma enzima-alvo, por meio do *screening* de bibliotecas virtuais geradas contendo vários poluentes. Ao analisar a pontuação obtida para cada complexo enzima-poluento formado na simulação, é possível optar por aqueles com maior afinidade (PANT *et al.*, 2025). Essa estratégia é utilizada recorrentemente na descoberta de novos fármacos, onde milhares de moléculas são ancoradas em um receptor proteico de interesse para a seleção dos melhores candidatos a serem testados experimentalmente (PHILIPPSEN; SEIXAS, 2025), diminuindo custos com reagentes e tempo com testes. Por outro lado, se os ensaios laboratoriais já foram realizados, com resultados positivos envolvendo a enzima de interesse, o docking pode evidenciar os principais resíduos de aminoácidos envolvidos na interação. Essa análise permite que o pesquisador proponha mutações pontuais primeiramente *in silico* para melhorar ainda mais a afinidade de ligação, e com o melhor modelo enzimático proposto, produzir essa proteína por meio de métodos de biologia molecular (MA *et al.*, 2020).



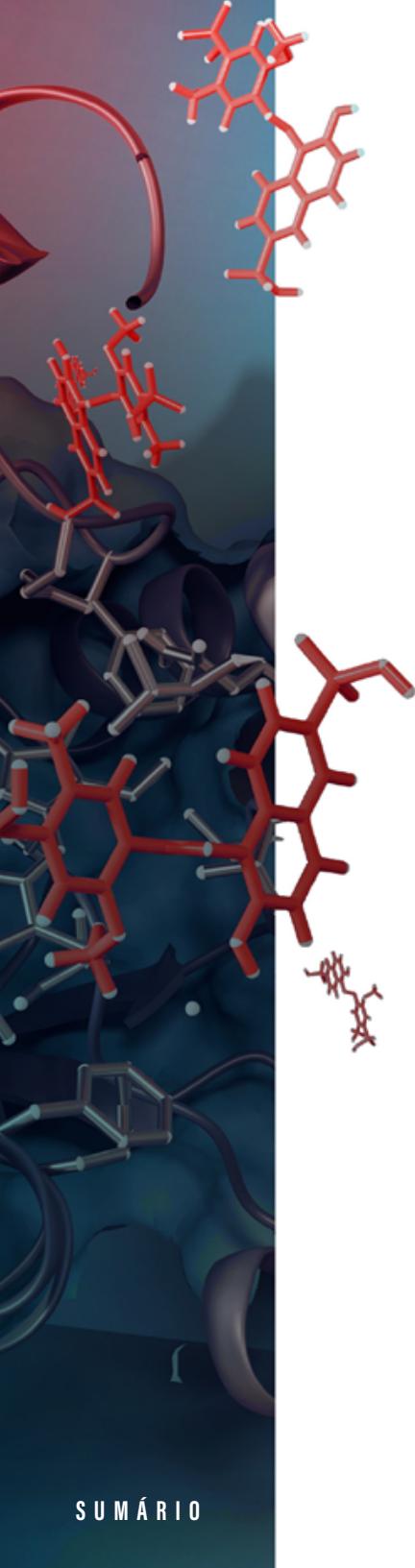
Nas seções seguintes, são apresentados casos (Tabela 1) em que o docking molecular foi aplicado nos estudos. Dada a ampla utilização de oxidorredutases, essa seção foca nos casos em que elas foram empregadas. A ideia na apresentação das informações é informar sobre os aspectos relacionados à interação entre poluentes e enzimas, bem como discutir estratégias adotadas nas simulações.

**Tabela 1** - Classes de poluentes e respectivas enzimas estudadas por docking molecular

Classe de poluente	Enzimas	Referências
Corantes têxteis	Lacase	(JIA <i>et al.</i> , 2022), (COELHO <i>et al.</i> , 2024), (MA <i>et al.</i> , 2020).
	Peroxidase	(DUAN; PI; TANG, 2024)
	Azoredutases	(DEHGHANIAN; KAY; KAHRIZI, 2015)
Antibióticos	Lacase	(BUZZO <i>et al.</i> , 2023), (HAN <i>et al.</i> , 2023), (NAWAZ <i>et al.</i> , 2024).
Plásticos e microplásticos	Lacase	(DU <i>et al.</i> , 2024)
	Lignina peroxidase	(HOANG <i>et al.</i> , 2024), (SANTACRUZ-JUAREZ <i>et al.</i> , 2021)
Hidrocarbonetos aromáticos	Monoxigenase do citocromo P450	(SURESHKUMAR; THOMAS; POORNIMA, 2018)
	Dioxigenase	(AJAO <i>et al.</i> , 2012)
	Naftaleno <a href="https://doi.org/10.1016/j.ijoxigenase.2019.05.001">https://doi.org/10.1016/j.ijoxigenase.2019.05.001</a>	(LI <i>et al.</i> , 2019)
Pesticidas	Lacase	(VIEIRA <i>et al.</i> , 2015), (PANT <i>et al.</i> , 2025), (BHATT <i>et al.</i> , 2023).

## OXIRREDUTASES E BIORREMEDIÇÃO DE CORANTES TÊXTEIS

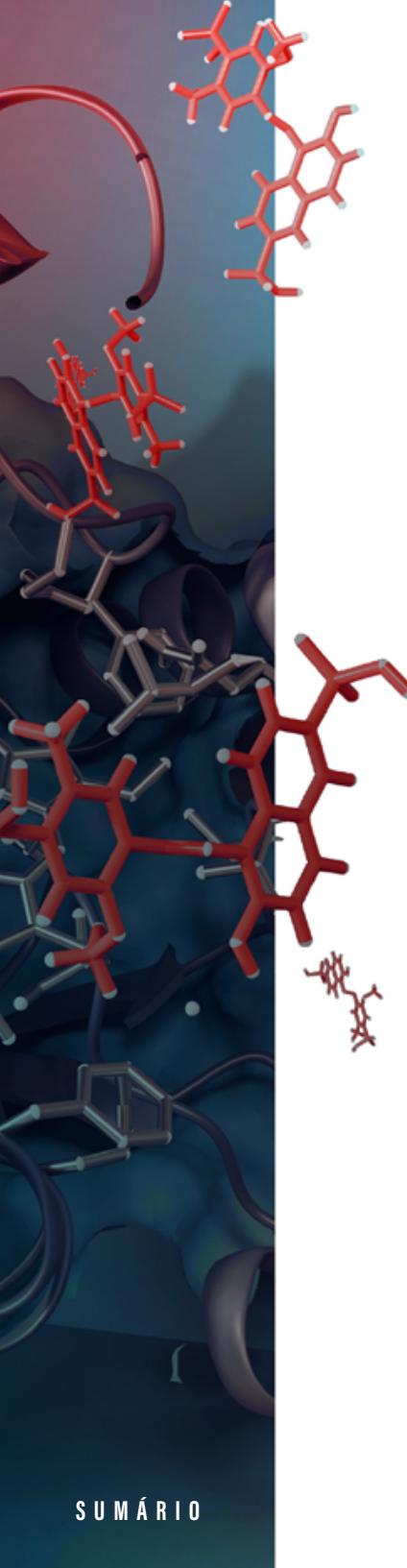
As oxirredutases (E.C.: 1) constituem uma classe de enzimas responsáveis por catalisar reações de transferência de elétrons entre um doador (agente redutor) e um aceptor (agente oxidante). A maioria delas possuem coenzimas como NAD<sup>+</sup>, NADP<sup>+</sup> e FAD, ou ainda



cofatores metálicos, para auxiliar nas reações de oxidação (EKEOMA *et al.*, 2023). Na biorremediação destacam-se diferentes lacases, peroxidases e oxigenases que demonstram a capacidade de agir contra poluentes que incluem corantes têxteis, antibióticos, pesticidas, hidrocarbonetos aromáticos e derivados de plásticos entre outros. Através de ensaios e simulações de docking molecular, os modos de interação entre essas enzimas com os poluentes têm sido previstos, como discutido com maiores detalhes na sequência a seguir.

A enzima laccase proveniente do fungo *Trametes hirsuta* MX2, demonstrou potencial de descoloração de quatro corantes: azul brilhante de remazol R (RBBR), vermelho ácido 1 (AR1), violeta cristal (CV) e o vermelho neutro (NR), com taxas de remoção de 92,57%, 15,3%, 14,2% e 12,3%, respectivamente. Utilizando uma enzima homóloga de *Trametes versicolor* (PDB: 1GYC), foi inferida a interação dos corantes com o sítio ativo, através do programa Autodock. As pontuações obtidas foram de -6,8 kcal/mol, -6,4 kcal/mol, -6,5 kcal/mol e -5,1 kcal/mol para o RBBR, AR1, CV e NR, respectivamente. Verificou-se que o RBBR interage por ligações de hidrogênio principalmente com os resíduos de aminoácidos Asn208, Gln237, Asn264, Gly392 e Ala393 (JIA *et al.*, 2022). No mesmo sentido, o vermelho congo (CR) foi avaliado como possível substrato da laccase de *Lentinus sp* (PDB: 3X1B) com o servidor PatchDock (<https://bioinfo3d.cs.tau.ac.il/PatchDock/>). A enzima foi utilizada na forma dimérica e análises por possíveis sítios de ligação indicaram que as duas subunidades são envolvidas na interação, mantendo o corante em uma posição favorável para sofrer a catálise (COELHO *et al.*, 2024).

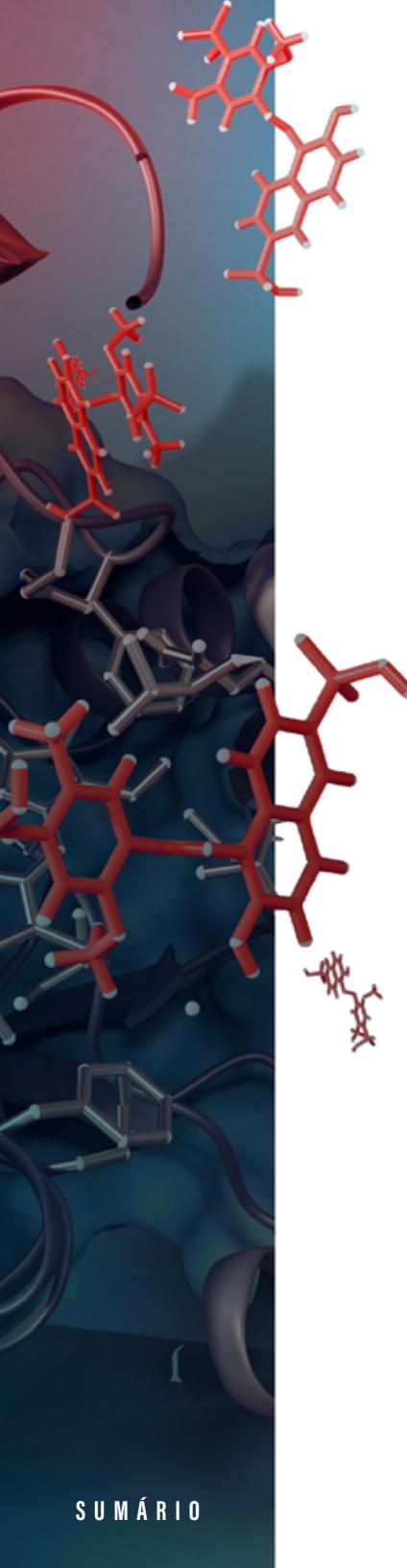
Outro exemplo relevante envolveu a laccase de *Bacillus pumilus* (PDB: 1GSK) na degradação do corante preto reativo 5 (RB5). Neste estudo, tanto a forma selvagem quanto variantes mutantes foram analisadas. As formas mutantes T415D/Q442A e T418K/Q442A apresentaram taxas de descoloração de 43,94% e 52,64%, respectivamente, sendo 3,7 e 4,43 vezes superiores às da forma selvagem. Conforme os resultados obtidos nas simulações através do



programa Autodock, o corante RB5 estabeleceu interações por ligações de hidrogênio com diversos resíduos de aminoácidos, incluindo Lys373, Asp390, Thr418 e His497. Além disso, na enzima mutante T415D/Q442A observou-se que o grupo carboxila da cadeia lateral de Asp415 participa de uma ligação de hidrogênio adicional com o grupo amina presente em RB5, o que pode justificar a melhora na degradação (MA *et al.*, 2020).

Estudos com outras enzimas oxidativas revelaram seu potencial para a biorremediação. Uma peroxidase de *Rhodococcus jostii* (RhDyPB) foi analisada quanto à sua capacidade de degradar quatro corantes: azul reativo 19, eosina Y, índigo carmim e verde malaquita (DUAN; PI; TANG, 2024). A identificação do sítio catalítico baseou-se na comparação com enzimas homólogas, destacando o resíduo Tyr257 como chave para a atividade. Os corantes apresentaram afinidades entre -5,8 e -6,2 kcal/mol, e os resultados experimentais de descoloração seguiram a mesma ordem, com destaque para o verde malaquita, que obteve mais de 90% de remoção em pH 6,0. Análises por espectrometria de massas permitiu propor um mecanismo de degradação, enquanto ensaios com células inteiras expressando RhDyPB confirmaram a atividade enzimática.

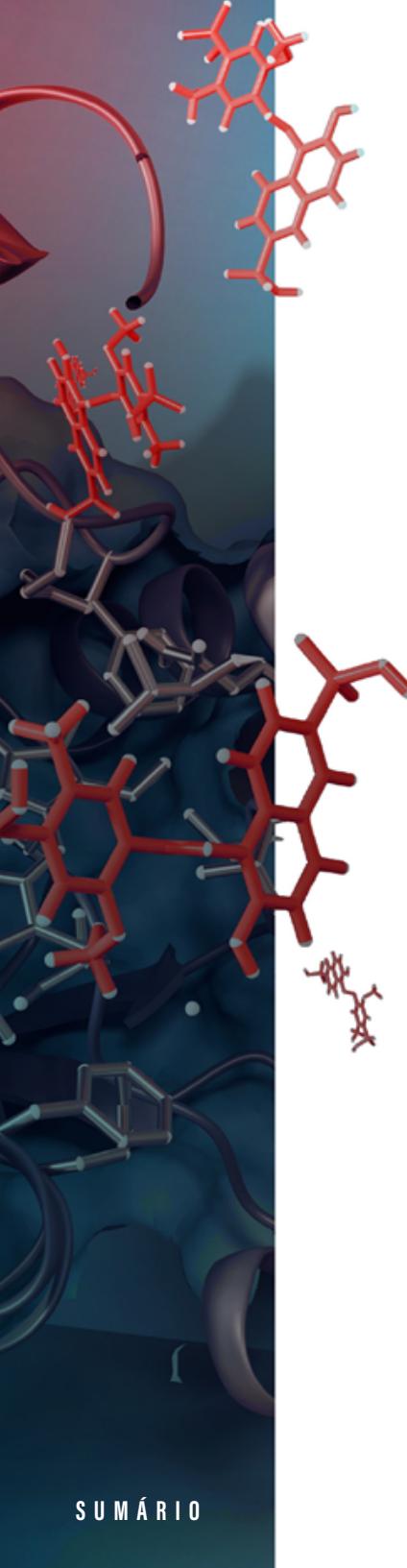
Além disso, uma nova azorredutase de *Bacillus* sp. foi avaliada em estudos *in silico* contra quatro corantes azo: vermelho de metila (MR), laranja I (OI), laranja II (OII), laranja G (OG) e vermelho ácido 88 (AR) (DEHGHANIAN; KAY; KAHRIZI, 2015). Para os estudos foram geradas computacionalmente combinações de mutações no sítio de ligação da enzima (PDB: 3W79) que é formado por um homodímero (cadeias A e B), para melhorar a interação com os corantes. Nas simulações com o AutoDock, verificou que a combinação das mutações W60(B)F, A119(B)I, A121(B)I e P132(B)F aumentou a afinidade de ligação com os quatro corantes em comparação com a do tipo selvagem. A inserção desses resíduos na estrutura gerou um bolsão mais hidrofóbico, acomodando melhor os corantes. No entanto, ensaios experimentais não foram realizados para validar os resultados.



O corante verde malaquita foi avaliado também com uma enzima artificial baseada em mioglobina com atividade de oxirredução. Foi demonstrado que duas mutações (F43H/H64A) podem favorecer a aplicação da enzima na degradação do corante, com eficiência de 13 a 18 vezes maior que a peroxidase e a lacase. Os resultados de docking através do programa Autodock indicaram pontuação de -5,35 kcal/mol. O corante se acomoda entre duas hélices da proteína, próximo ao grupo heme. Interações hidrofóbicas ocorrem com resíduos Phe138, Ile75 e Leu89, além de uma possível ligação de hidrogênio com o grupo carbonila da Pro88, contribuindo para a estabilidade do complexo. Esses dados sugerem que o corante pode se ligar de forma favorável à proteína, favorecendo sua oxidação (XIANG *et al.*, 2021).

## OXIRREDUTASES E BIORREMEDIAMENTO DE ANTIBIÓTICOS

A lacase da bactéria *Chitinophaga* sp. CB10 (Lac\_CB10) foi modelada para ser investigada quanto à sua interação, através do programa Autodock Vina, com os antibióticos sulfisoxazol, tetraciclina e trimetoprima (BUZZO *et al.*, 2023). Durante as simulações foi realizado o que é chamado de docking cego, no qual toda a proteína é incluída na simulação, possibilitando identificar regiões com maior afinidade, e não forçando a interação em apenas um local pré-determinado. Os resultados apontaram que todos os antibióticos possuem afinidade com a enzima. Além disso, a tetraciclina demonstrou pontuação superior ao ligante de referência ABTS (-8,0 kcal/mol e -6,9 kcal/mol, respectivamente), interagindo por interações hidrofóbicas e ligações de hidrogênio. Esses dados são apoiados por experimentos *in vitro*, onde 40 U/mL da lacase imobilizada do



fungo *Cerrena unicolor* removeu 100 mg/mL de tetraciclina em solução a pH 6,0 e temperatura ambiente (YANG *et al.*, 2017). Estudo semelhante demonstrou a afinidade dos antibióticos tetraciclina, doxiciclina (DC) e tigeciclina (TGC) para com a lacase de *Bacillus amyloliquefaciens* LC02, com pontuações de -7,7, -7,8 e -8,2 kcal/mol, respectivamente. Os resíduos Thr262 e Ile494 foram identificados como comuns nas interações com todos os ligantes por meio de ligações de hidrogênio e forças de van der Waals, respectivamente, sendo esses resultados consistentes com os dados experimentais de degradação (HAN *et al.*, 2023).

Além das lacases, a enzima catalase-peroxidase de *Bacillus ligniniphilus* L1 foi avaliada quanto à sua capacidade de interagir com 18 antibióticos por meio do AutoDock (NAWAZ *et al.*, 2024). Foram adotados dois critérios para a seleção dos melhores complexos: afinidade de ligação inferior a -6,5 kcal/mol e valores de RMSD (*Root Mean Square Deviation*) abaixo de 1,5 Å, que indicariam interações energeticamente favoráveis e modos de ligação confiáveis, respectivamente. Quatro antibióticos atenderam a esses critérios: vancomicina, linezolida, tobramicina e clindamicina, com pontuações de -9,2, -7,9, -7,9 e -7,5 kcal/mol, e RMSDs de 0,437, 1,14, 1,10 e 1,44 Å, respectivamente. As interações envolvidas incluíram ligações de hidrogênio, interações hidrofóbicas e iônicas. Com base nesses resultados, a eficiência da catalase-peroxidase L1 na degradação dos antibióticos foi comparada à de uma peroxidase comercial. Os ensaios demonstraram que a enzima de *B. ligniniphilus* apresentou maior capacidade de degradação para vancomicina (57,73% vs. 50,80%), linezolida (46,12% vs. 46,31%), tobramicina (9,49% vs. 11,08%) e clindamicina (40,64% vs. 33,67%).

## OXIRREDUTASES E BIORREMEDIÇÃO DE PESTICIDAS

A estrutura da lacase-1 de *Ceriporiopsis subvermispora* foi modelada para avaliar sua interação com o herbicida diuron (VIEIRA *et al.*, 2015). Ela foi obtida a partir de modelagem por homologia utilizando como molde a lacase de *Coriolopsis trogii* (PDB: 2HRG), a qual se encontra cocrystalizada com o resíduo industrial *p*-metilbenzoato. O diuron apresenta uma certa similaridade com esse ligante e, consequentemente, as simulações de docking foram realizadas no mesmo sítio de ligação. Através do programa Autodock, verificou-se que ele possui afinidade com a enzima modelada ( $-3,46$  kcal/mol) e a pose assumida é comparável à do ligante de referência *p*-metilbenzoato, onde uma His457 desempenha um importante papel catalítico.

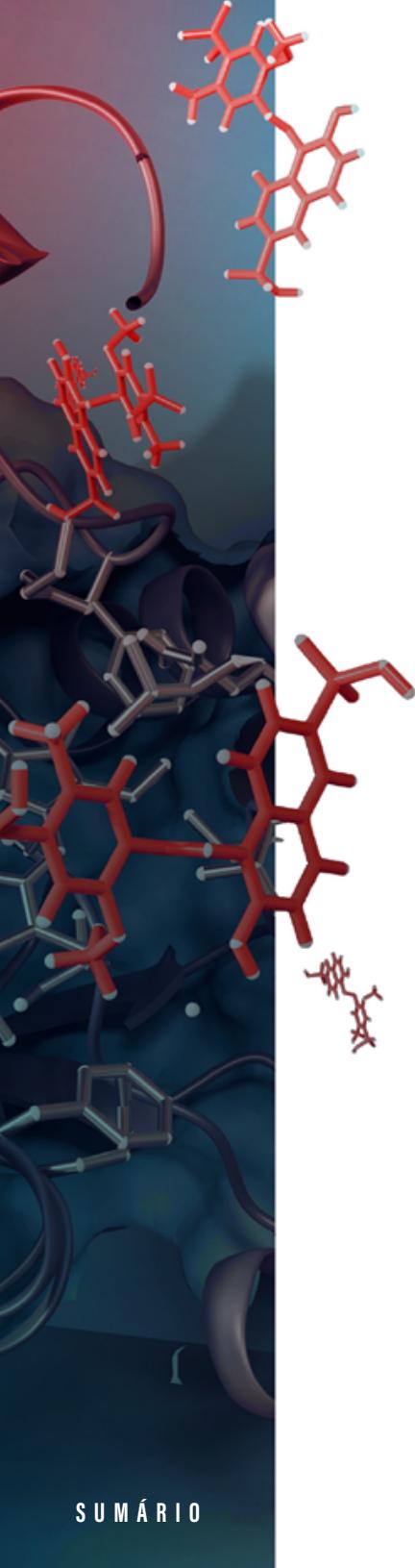
Em outra investigação, a lacase de *Halalkalibacterium halodurans* foi utilizada para avaliar a interação com uma biblioteca de 121 agrotóxicos, incluindo herbicidas, fungicidas e raticidas (PANT *et al.*, 2025). A predição do sítio de ligação indicou o sítio com maior volume para docking com Autodock Vina. Os compostos endosulfan (inseticida) e clorofacinona (raticida) apresentaram maiores afinidades, com valores de  $-8,1$  e  $-8,0$  kcal/mol, respectivamente.

A lacase de *Trametes versicolor* também foi utilizada para avaliar a degradação do inseticida paration e herbicidas glifosato e isoproturon (BHATT *et al.*, 2023). Os resultados indicaram maior afinidade de ligação para paration e isoproturon em comparação ao glifosato, o que refletiu também as eficiências de degradação observadas: 60,96%, 54,51% e 48,34%, respectivamente.

## OXIRREDUTASES E BIORREMEDIÇÃO DE HIDROCARBONETOS AROMÁTICOS (PAHS)

Um estudo utilizou a monoxigenase do citocromo P450 (CYP) das microalgas *Haematococcus pluvialis*, *Parachlorella kessleri* e *Auxenochlorella protothecoides*, para avaliar o encaixe com o programa Glide de 38 hidrocarbonetos, agrupados de acordo com o número de anéis em suas estruturas (1, 2, 4 e 6). Os compostos com apenas um anel foram os mais bem ranqueados, com destaque especial à CYP de *P. kessleri* complexada com ácido ciclohexanobutírico que obteve a melhor pontuação, de -10,23 kcal/mol. Além disso, os demais hidrocarbonetos apresentaram afinidades progressivamente menores (entre -9,00 e -4,00 kcal/mol, aproximadamente) com o aumento no número de anéis na estrutura. A análise dos complexos revelou que os resíduos Lys69, Trp96, Gln397, Arg398 e Phe87, presentes nessa enzima, foram determinantes no ancoramento dos ligantes, formando interações específicas como ligações de hidrogênio, interações hidrofóbicas e π-π. Tais resíduos compõem o sítio ativo da enzima e proporcionam uma cavidade favorável à acomodação de compostos aromáticos. Em especial, Arg398 mostrou-se recorrente nas interações com diversos ligantes, contribuindo significativamente para a estabilização dos complexos. Essas interações explicam a maior afinidade do CYP de *P. kessleri* quando comparado com as outras enzimas, cujos principais resíduos de ancoramento foram Thr282, Ala337, Ser404, Lys407, Arg408 e Phe403, associados a menores pontuações de docking (SURESHKUMAR; THOMAS; POORNIMA, 2018).

Outros estudos avaliaram o potencial biotecnológico da enzima dioxigenase. Ajao *et al.* (2012) realizaram simulações



pelo Autodock envolvendo a enzima catecol 2,3-dioxigenase de *Burkholderia cepacia*. Essa enzima, que contém um átomo de ferro em seu sítio ativo, demonstrou capacidade para degradar diversos hidrocarbonetos aromáticos presentes no petróleo bruto. Os resultados revelaram que esses compostos interagem com resíduos-chave do sítio ativo, His150, Leu152, Trp198, His206, His220, His252, Ile254, Thr255, Tyr261, Glu271, Leu276 e Phe309, formando ligações de hidrogênio e interações de Van der Waals, além de interações π-π com o resíduo His252. Embora as estimativas de energias de ligação variem de -20 a -4,63 kcal/mol, os autores sugerem que o posicionamento adequado dos ligantes no sítio catalítico, o contato próximo com o átomo de ferro (1,67 a 2,43 Å, exceto para o pireno) sustentam o mecanismo proposto (AJAO *et al.*, 2012).

A enzima naftaleno dioxigenase (NDO), proveniente de *Pseudomonas* sp. (PDB ID: 1O7G), destaca-se como um biocatalisador promissor na degradação de hidrocarbonetos aromáticos persistentes. No estudo conduzido por Li *et al.* (2019), a NDO foi modificada por meio de modelagem por homologia, guiada por simulações de docking molecular. O docking molecular, realizado com o módulo Surflex-Dock do SYBYL-X 2.0, permitiu identificar os resíduos críticos do sítio de ligação (Asn201, Asp205, His208, His213, His295 e Asn297), cujas substituições por resíduos hidrofóbicos (como Ala, Ile, Leu, Trp e Met) visaram aumentar a afinidade da enzima por substratos igualmente hidrofóbicos como naftaleno, antraceno, pireno e benzo(α)pireno. As simulações revelaram que tais substituições aumentaram a interação hidrofóbica com os ligantes, resultando em 14 variantes com maior afinidade de ligação em relação à enzima selvagem (LI *et al.*, 2019).

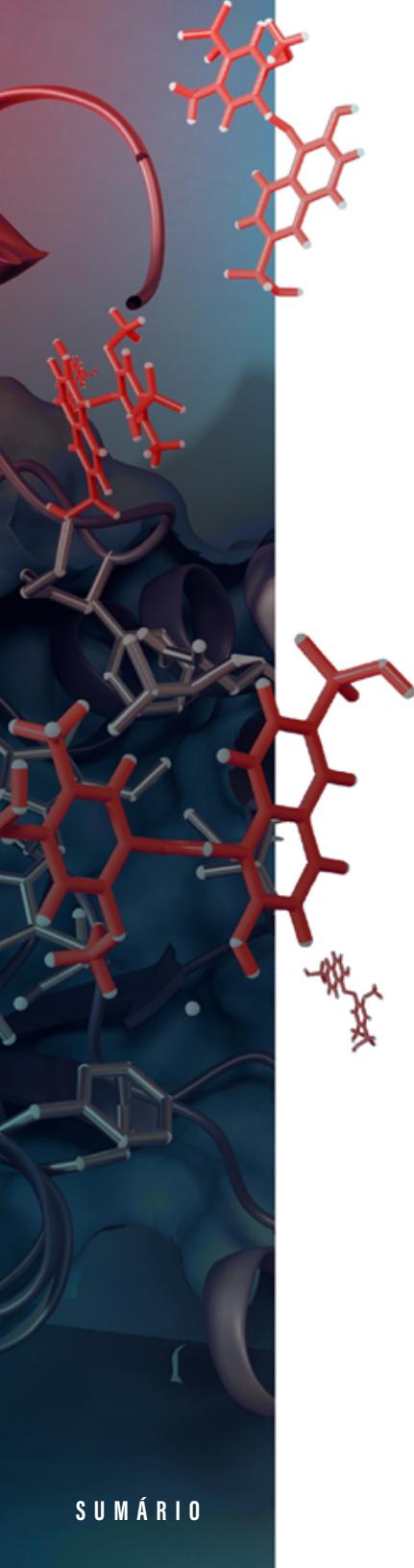
## BIORREMEDIÇÃO DE PLÁSTICOS E MICROPLÁSTICOS

Focados na biodegradação do poliestireno (PS), pesquisadores isolaram uma cepa bacteriana do intestino de *Tenebrio molitor* e utilizaram docking molecular para investigar as interações entre enzimas degradadoras e o PS. Foi identificada uma nova proteína com atividade semelhante à lacase, denominada LacQ1, que desempenhou um papel crucial na degradação do PS. As simulações revelaram interações estáveis entre a enzima e o substrato, elucidando os mecanismos catalíticos envolvidos (DU *et al.*, 2024). Outro estudo desenvolvido por Hoang *et al.* (2024) explorou o mecanismo de degradação do polietileno (PE) utilizando o docking molecular. Eles investigaram a lignina peroxidase, e observaram que essa enzima apresentou a interação mais forte com o PE, com uma energia de ligação de -4,69 kcal/mol (HOANG *et al.*, 2024).

Por fim, estudos como o de Santacruz-Juárez e colaboradores (2021) analisaram a degradação do polietileno por enzimas fúngicas. As simulações indicaram que a lignina peroxidase apresentou a interação mais significativa com o PE, com uma energia de ligação de -4,69 kcal/mol e um desvio padrão quadrático médio (RMSD) de 0,93 Å. Esses resultados destacam o potencial de enzimas fúngicas na biodegradação de plásticos (SANTACRUZ-JUAREZ *et al.*, 2021).

## TUTORIAL BÁSICO SOBRE DOCKING MOLECULAR - ASPECTOS PRELIMINARES

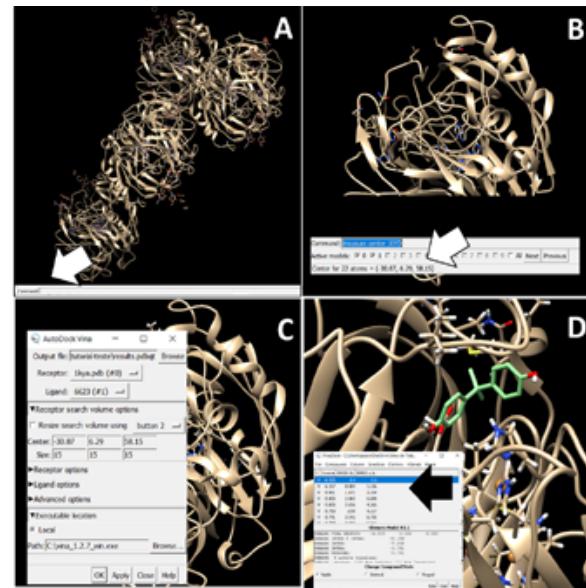
Com o objetivo de facilitar o acesso às simulações de docking molecular por parte de iniciantes, foi elaborado um tutorial prático.



Embora o uso de ferramentas de simulação de biomoléculas ainda não faça parte da rotina da maioria dos pesquisadores, iniciativas como essa buscam promover sua popularização.

O tutorial desenvolvido (Figura 3) apresenta um passo a passo para a realização das simulações através do programa AutoDock Vina, implementado na interface gráfica do UCSF Chimera. Como exemplo, foi empregado o poluente bisfenol A (BPA) como ligante e a enzima lacase de *Trametes versicolor* (PDB ID: 1KYA) como receptor. Esta estrutura foi determinada experimentalmente e cocristalizada com o substrato 2,5-xilidina (XYD) em seu sítio ativo. Para fins didáticos, algumas etapas do protocolo foram otimizadas ou suprimidas, de forma a tornar o processo mais acessível ao público iniciante.

**Figura 3 - Fluxo de trabalho nas simulações de docking molecular pelo programa Autodock Vina implementado na interface Chimera.**  
A) Etapas para o preparo do receptor e ligante através do terminal.  
B) Localização de onde será realizada a simulação. C) Adição dos arquivos no programa Autodock Vina. D) Análise dos resultados.

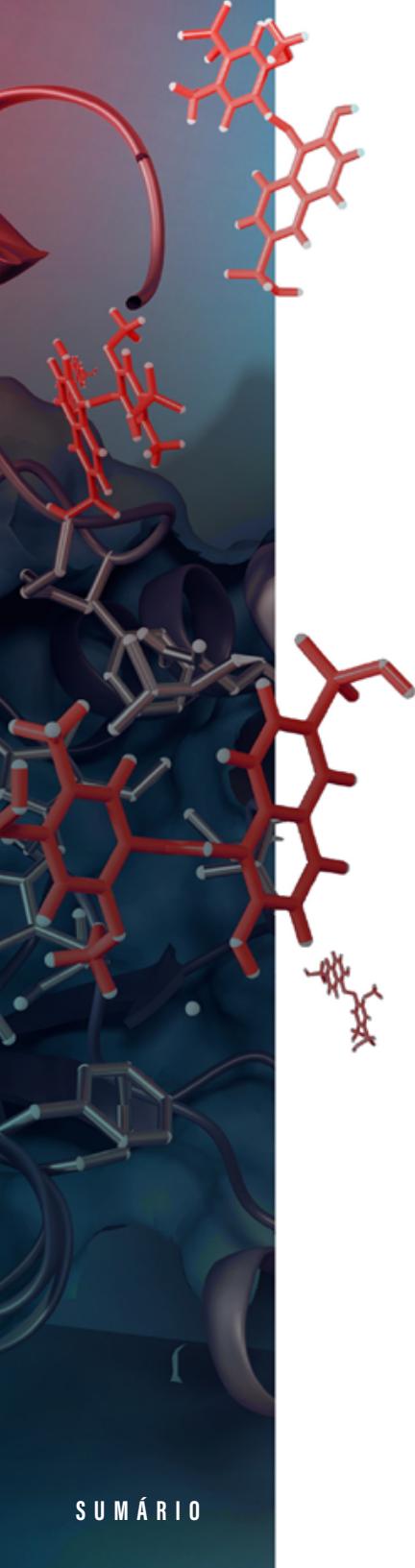


## REQUISITOS

- UCSF Chimera instalado: <https://www.cgl.ucsf.edu/chimera/download.html>
- AutoDock Vina instalado: <https://github.com/ccsb-scripps/AutoDock-Vina/releases>
- Receptor: enzima lacase de *T. versicolor* obtida no PDB (PDB: 1KYA).
- Ligante: BPA em 3D no formato sdf obtido no Pubchem (Pubchem: 6623).

## ETAPAS DAS SIMULAÇÕES

- Criar uma pasta de trabalho e adicionar os arquivos da estrutura e ligante.
- Iniciar o Chimera e abrir o arquivo da proteína e do ligante:
  - File → Open → selecione 1kyA.pdb e Conformer3D\_COMPOUND\_CID\_6623.sdf
- Ativar o terminal de comando (*command*):
  - Favorites → Command Line
- Remover cadeias B, C e D (ficar apenas com A) digitando sem aspas no *Command*:  
*"delete :B :C :D"*
- apagar heteroátomos e águas desnecessárias:  
*"delete :PYE :NAG :HOH"*



- Adicionar hidrogênios:  
*"addh"*
- Usar o comando para obter o centro da caixa de docking (anote as coordenadas fornecidas, como na Figura 3B):  
*"measure center :XYD"*
- Deletar o ligante XYD:  
*"delete :XYD"*
- Executar Vina no Chimera:
- Tools → Surface/Binding analysis → Autodock Vina
  - Selecionar a pasta em que os arquivos de saída (output file) serão salvos, nomear (file name) como *results* e clicar em Set Output Location;
  - Selecionar o Receptor: 1kya.pdb (#0)
  - Selecionar o ligante: 6623 (#1)
  - Adicionar as coordenadas de centro obtidas anteriormente (-30.87, 6.29, 58.15).
  - Adicionar o tamanho de caixa que ocupe a região do sítio ativo: 15, 15, 15.
  - Executable location: procurar o programa Autodock Vina que foi baixado em seu computador e clicar em open. Obs: Recomenda-se que o arquivo do programa vina esteja na mesma pasta que os arquivos de docking, pois o programa Chimera pode exigir permissão para executar caso o local seja diferente.
  - Por fim, clique em "OK".
- Análise dos Resultados:
  - Visualize as poses geradas e ranqueadas pelo AutoDock Vina.
  - Avalie as pontuações de afinidade, lembrando que valores mais negativos indicam melhor interação entre ligante e receptor.

## DESAFIOS E PERSPECTIVAS FUTURAS

O docking molecular se apresenta como uma ferramenta importante para análises de interações entre poluentes e enzimas envolvidas na biorremediação. No entanto, existem poucas dessas estruturas proteicas em complexo com os poluentes determinadas experimentalmente. Como muitos dos contaminantes compartilham uma analogia estrutural, é mais fácil encontrar o local correto onde se realiza o encaixe. Com o aumento dessas informações, essa ferramenta pode se tornar ainda melhor para prever os mecanismos de interação.

Além disso, o rápido avanço das técnicas de inteligência artificial (IA) tem impulsionado melhorias significativas nos algoritmos utilizados. Com a incorporação delas, os métodos de predição estão se tornando mais sofisticados, capazes de lidar com a flexibilidade molecular, solventes e efeitos dinâmicos, o que aumenta consideravelmente a confiabilidade e a precisão dos resultados. A tendência é que, em um futuro próximo, as ferramentas baseadas em IA proporcionem previsões ainda mais fiéis às condições biológicas reais, acelerando o desenvolvimento de soluções biotecnológicas mais eficientes para tratar a poluição ambiental.

## REFERÊNCIAS

AGU, Peter Chinedu *et al.* Molecular docking as a tool for the discovery of molecular targets of nutraceuticals in diseases management. **Scientific Reports**, v. 13, n. 1, p. 13398, 2023. <https://doi.org/10.1038/s41598-023-40160-2>

AJAO, A. *et al.* Homology modeling, simulation and molecular docking studies of catechol-2,3-dioxygenase from *Burkholderia cepacia*: involved in degradation of petroleum hydrocarbons. **Bioinformation**, v. 8, n. 18, p. 848-854, 2012. <https://doi.org/10.6026/97320630008848>.

BERMAN, Helem M. et al. The Protein Data Bank. **Nucleic Acids Research**, v. 28, n. 1, p. 235-242, 1 jan. 2000. <https://doi.org/10.1093/nar/28.1.235>.

BHATT, Pankaj et al. Bioremediation potential of laccase for catalysis of glyphosate, isoproturon, lignin, and parathion: molecular docking, dynamics, and simulation.

**Journal of Hazardous Materials**, v. 443, p. 130319, 2023. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2022.130319>

BITENCOURT-FERREIRA, Gabriela; DE AZEVEDO JR, Walter Filgueira. Molegro Virtual Docker for Docking. **Methods in Molecular Biology**. New York: Humana Press, 2019. p. 149-167. [https://doi.org/10.1007/978-1-4939-9752-7\\_10](https://doi.org/10.1007/978-1-4939-9752-7_10).

BUZZO, Bárbara Bonfá et al. Molecular docking of Lac\_CB10: highlighting the great potential for bioremediation of recalcitrant chemical compounds by one predicted *Bacteroidetes* CopA-laccase. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 24, n. 12, 2023. <https://doi.org/10.3390/ijms24129785>.

COELHO, Glauclane Danusa et al. *In silico* and *in vitro* assays suggests Congo red dye degradation by a *Lentinus* sp. laccase enzyme. **Journal of Biomolecular Structure and Dynamics**, v. 42, n. 7, p. 3802-3813, 2024. <https://doi.org/10.1080/07391102.2023.2216282>

DALLAKYAN, Sargis; OLSON, Arthur J. Small-molecule library screening by docking with PyRx. **Methods in Molecular Biology**, v. 1263, p. 243-250, 2015. [https://doi.org/10.1007/978-1-4939-2269-7\\_19](https://doi.org/10.1007/978-1-4939-2269-7_19).

DEHGHANIAN, Fariba; KAY, Maryam; KAHRIZI, Dania. A novel recombinant AzrC protein proposed by molecular docking and *in silico* analyses to improve azo dye's binding affinity. **Gene**, v. 569, n. 2, p. 233-238, 2015. <https://doi.org/10.1016/j.gene.2015.05.063>.

DONG, Cheng-Di et al. Laccase: a potential biocatalyst for pollutant degradation. **Environmental Pollution**, v. 319, p. 120999, 2023. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2023.120999>.

DU, Jia et al. Ecotoxicological effects of microplastics combined with antibiotics in the aquatic environment: recent developments and prospects. **Environmental Toxicology and Chemistry**, v. 43, n. 9, p. 1950-1961, 2024. <https://doi.org/10.1002/etc.5950>.

DUAN, Xiaoyan; PI, Qian; TANG, Lei. pH-dependent and whole-cell catalytic decolorization of dyes using recombinant dye-decolorizing peroxidase from *Rhodococcus jostii*. **Bioprocess and Biosystems Engineering**, v. 47, n. 3, p. 355-366, 2024. <https://doi.org/10.1007/s00449-024-02968-8>.

EKEOMA, Bernard Chukwuemeka *et al.* Recent advances in the biocatalytic mitigation of emerging pollutants: a comprehensive review. **Journal of Biotechnology**, v. 369, p. 14-34, 2023. <https://doi.org/10.1016/j.jbiotec.2023.05.003>.

FENG, Yuyu *et al.* Docking and scoring for nucleic acid-ligand interactions: principles and current status. **Drug Discovery Today**, v. 27, n. 3, p. 838-847, 2022. <https://doi.org/10.1016/j.drudis.2021.10.013>

FRIESNER, Richard A. *et al.* Glide: a new approach for rapid, accurate docking and scoring. 1. Method and assessment of docking accuracy. **Journal of Medicinal Chemistry**, v. 47, n. 7, p. 1739-1749, 2004. <https://doi.org/10.1021/jm0306430>.

GUEDES, Isabella Alvim *et al.* DockThor-VS: a free platform for receptor-ligand virtual screening. **Journal of Molecular Biology**, v. 436, n. 17, p. 168548, 2024. <https://doi.org/10.1016/j.jmb.2024.168548>.

HAN, Zhiwei *et al.* Ultrafast synthesis of laccase-copper phosphate hybrid nanoflowers for efficient degradation of tetracycline antibiotics. **Environmental Research**, v. 216, n. Pt 3, p. 114690, 2023. <https://doi.org/10.1016/j.envres.2022.114690>

HOANG, Hong-Giang *et al.* Investigating the polyethylene degradation mechanism using docking and molecular dynamics simulations. **Environmental Science and Pollution Research International**, v. 31, n. 56, p. 64857-64869, 2024. <https://doi.org/10.1007/s11356-024-35547-1>

IRWIN, John J. *et al.* ZINC20-A free ultralarge-scale chemical database for ligand discovery. **Journal of Chemical Information and Modeling**, v. 60, n. 12, p. 6065-6073, 2020. <https://doi.org/10.1021/acs.jcim.0c00675>.

JIA, Yitong *et al.* Characterization of a recombinant Laccase B from *Trametes hirsuta* MX2 and its application for decolorization of dyes. **Molecules**, v. 27, n. 5, 2022. <https://doi.org/10.3390/molecules27051581>.

JUMPER, John. *et al.* Highly accurate protein structure prediction with AlphaFold. **Nature**, v. 596, n. 7873, p. 583-589, 2021. <https://doi.org/10.1038/s41586-021-03819-2>.

KIM, Sunghwan *et al.* PubChem Substance and Compound databases. **Nucleic Acids Research**, v. 44, n. D1, p. D1202-D123, 2016. <https://doi.org/10.1093/nar/gkv951>.

KUHLMAN, Brian; BRADLEY, Philip. Advances in protein structure prediction and design. **Nature Reviews Molecular Cell Biology**, v. 20, n. 11, p. 681-697, 2019. <https://doi.org/10.1038/s41580-019-0163-x>

LI, Xingchum *et al.* Combined molecular docking, homology modelling and density functional theory studies to modify dioxygenase to efficiently degrade aromatic hydrocarbons. **RSC Advances**, v. 9, n. 20, p. 11465-11475, 2019. <https://doi.org/10.1039/C8RA10201A>.

LIU, Zhifeng *et al.* Application of molecular docking for the degradation of organic pollutants in the environmental remediation: a review. **Chemosphere**, v. 203, p. 139-150, 2018. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2018.03.173>.

MA, Hui *et al.* Enhancing the decolorization activity of *Bacillus pumilus* W3 CotA-laccase to Reactive Black 5 by site-saturation mutagenesis. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 104, n. 21, p. 9193-9204, 2020. <https://doi.org/10.1007/s00253-020-10891-7>

MORRIS, Garrett M. *et al.* AutoDock4 and AutoDockTools4: automated docking with selective receptor flexibility. **Journal of Computational Chemistry**, v. 30, n. 16, p. 2785-2791, 2009. <https://doi.org/10.1002/jcc.21256>.

NAWAZ, Muhammad Zohaib *et al.* Elucidating the bioremediation potential of laccase and peroxidase enzymes from *Bacillus ligniniphilus* L1 in antibiotic degradation: a computationally guided study. **Bioresource Technology**, v. 413, p. 131520, 2024. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2021.125118>.

O'BOYLE, Noel M. *et al.* Open Babel: an open chemical toolbox. **Journal of Cheminformatics**, v. 3, n. 1, p. 33, 2011. <https://doi.org/10.1186/1758-2946-3-33>.

PAGGI, Joseph M.; PANDIT, Ayush; DROR, Ron O. The Art and Science of Molecular Docking. **Annual Review of Biochemistry**, v. 93, n. 1, p. 389-410, 2024. <https://doi.org/10.1146/annurev-biochem-030222-120000>.

PANT, Rajat *et al.* Exploring the potential of *Halalkalibacterium halodurans* laccase for endosulfan and chlorophacinone degradation: insights from molecular docking and molecular dynamics simulations. **Journal of Biomolecular Structure and Dynamics**, v. 43, n. 2, p. 742-756, 2025. <https://doi.org/10.1080/07391102.2023.2283165>.

PETTERSEN, Eric F. *et al.* UCSF ChimeraX: Structure visualization for researchers, educators, and developers. **Protein Science**, v. 30, n. 1, p. 70-82, 2021. <https://doi.org/10.1002/pro.3943>.

SANTACRUZ-JUAREZ, Ericka *et al.* Fungal enzymes for the degradation of polyethylene: Molecular docking simulation and biodegradation pathway proposal. **Journal of Hazardous Materials**, v. 411, p. 125118, 2021. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2021.125118>.

PHILIPPSEN, Gisele Strieder; SEIXAS, Flávio Augusto Vicente. Computational approach based on freely accessible tools for antimicrobial drug design. **Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters**, v. 115, p. 130010, 2025. <https://doi.org/10.1016/j.bmcl.2024.130010>.

SUNNY, Sharon; JAYARAJ, P. B. Protein-Protein Docking: Past, Present, and Future. **Protein Journal**, v. 41, n. 1, p. 1-26, 2022. <https://doi.org/10.1007/s10930-021-10031-8>.

SURESHKUMAR, Pandian; THOMAS, Jibu; POORNIMA, Vasudevan. Structural insights on bioremediation of polycyclic aromatic hydrocarbons using microalgae: a modelling-based computational study. **Environmental Monitoring and Assessment**, v. 190, n. 2, p. 92, 2018. <https://doi.org/10.1007/s10661-017-6459-4>.

Trott, Oleg; Olson, Arthur J. AutoDock Vina: improving the speed and accuracy of docking with a new scoring function, efficient optimization, and multithreading. **Journal of Computational Chemistry**, v. 31, n. 2, p. 455-461, 2010. <https://doi.org/10.1002/jcc.21334>.

VERDONK, Marcel L. et al. Improved protein-ligand docking using GOLD. **Proteins: Structure, Function, and Bioinformatics**, v. 52, n. 4, p. 609-623, 2003. <https://doi.org/10.1002/prot.10465>.

VERLI, Hugo. Atracamento molecular. In: VERLI, H. (org.). **Bioinformática: da Biologia à Flexibilidade Molecular**. 1. ed. São Paulo: Sociedade Brasileira de Bioquímica e Biologia Molecular (SBBq), p. 188-208, 2014.

VIEIRA, Ana Carolina et al. Modeling Based Structural Insights into Biodegradation of the Herbicide Diuron by Laccase-1 from *Ceriporiopsis subvermispora*. **Bioinformation**, v. 11, n. 5, p. 224-228, 2015. <https://doi.org/10.6026/97320630011224>.

WEBB, Benjamin; SALI, Andrej. Comparative protein structure modeling using MODELLER. In: ANDREAS D. JACOB-LOPES; LEILA ZEPKA (Ed.). **Computational Approaches in Bioinformatics**. New York: Wiley, p. 5.6.1-5.6.37, 2016. <https://doi.org/10.1002/cpb.3>.

XIANG, Heng-Fang et al. Efficient biodegradation of malachite green by an artificial enzyme designed in myoglobin. **RSC Advances**, v. 11, n. 26, p. 16090-16095, 2021. <https://doi.org/10.1039/D1RA01785B>.

YANG, Jie et al. Degradation of tetracycline by immobilized laccase and the proposed transformation pathway. **Journal of Hazardous Materials**, v. 322, n. Pt B, p. 525-531, 2017. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2016.10.011>.

# 4

Alex Graça Contato  
Carlos Adam Conte-Junior

## O USO DE ENZIMAS IMOBILIZADAS NOS PROCESSOS DE BIORREMEDIAÇÃO

DOI: 10.31560/pimentacultural/978-85-7221-472-4

## Enzimas imobilizadas



### Vantagens

- Estabilidade aumentada
- Reutilização
- Resistência a condições extremas

### Desvantagens

- Perda de atividade
- Problemas de difusão
- Custo de produção

### RESUMO:

A imobilização de enzimas representa uma estratégia fundamental para a viabilização da catálise biológica em aplicações de biorremediação, oferecendo melhorias significativas em estabilidade estrutural, reusabilidade e eficiência operacional sob condições ambientais adversas. Este capítulo discute os principais métodos de imobilização enzimática — adsorção, ligação covalente, aprisionamento, encapsulamento e reticulação cruzada (CLEAs - Cross-Linked Enzyme Aggregates) — destacando os mecanismos físico-químicos envolvidos, os tipos de suportes utilizados e os efeitos sobre a atividade catalítica. Métodos emergentes baseados em nanotecnologia e engenharia de proteínas também são abordados, considerando seu impacto sobre a eficiência e seletividade dos sistemas imobilizados. As vantagens da imobilização são analisadas com base em parâmetros como meia-vida enzimática, tolerância a solventes, manutenção da atividade em ciclos reacionais sucessivos e aplicabilidade em reatores contínuos. Em contrapartida, discute-se as limitações relacionadas à difusão de substratos, custos de produção, perda de atividade catalítica e desafios na regeneração dos suportes. O capítulo compila ainda uma série

de aplicações documentadas de enzimas imobilizadas, incluindo lacases, peroxidases, lipases, nitrilases e organofosforilases, voltadas à degradação de xenobióticos, como corantes industriais, pesticidas organofosforados, hidrocarbonetos policíclicos aromáticos e resíduos farmacêuticos. Por fim, são apresentadas as principais tendências e perspectivas futuras, com ênfase na integração de tecnologias sustentáveis e sistemas enzimáticos imobilizados em escala industrial para a mitigação de impactos ambientais causados por poluentes recalcitrantes.

**Palavras-chave:** biodegradação; catálise ambiental; imobilização enzimática; poluentes ambientais; química verde; suportes funcionais

## INTRODUÇÃO

A crescente contaminação ambiental por poluentes orgânicos e inorgânicos, resultante de atividades industriais, agrícolas e urbanas, representa uma das principais ameaças à saúde humana e à sustentabilidade dos ecossistemas. Compostos como pesticidas, corantes sintéticos, hidrocarbonetos, metais pesados, plásticos e produtos farmacêuticos são lançados no meio ambiente em quantidades alarmantes, e muitos desses contaminantes são persistentes, bioacumulativos e tóxicos. Nesse contexto, a busca por alternativas eficazes, sustentáveis e economicamente viáveis para a mitigação desses poluentes tornou-se uma prioridade em nível global (DE ARAÚJO *et al.*, 2020; RATHI; KUMAR; VO, 2021; SARAVANAN *et al.*, 2021; SYBUIA *et al.*, 2024).

A biorremediação surge como uma estratégia promissora para o tratamento de ambientes contaminados, utilizando organismos vivos como bactérias, fungos, algas e plantas, ou seus componentes biológicos (enzimas, metabólitos, consórcios microbianos) para degradar, transformar ou remover substâncias nocivas do solo, da água ou do ar (BALA *et al.*, 2022; THAKUR; KUMAR, 2024). Entre as diversas abordagens biotecnológicas aplicadas à biorremediação, destaca-se o uso de enzimas isoladas, que permitem uma atuação direta e específica sobre os poluentes, promovendo sua degradação ou transformação em compostos menos tóxicos ou mais facilmente assimiláveis (SI *et al.*, 2021; SOMU *et al.*, 2022).

As enzimas são biocatalisadores altamente eficientes que operam sob condições amenas de temperatura e pH, apresentam alta especificidade e, em muitos casos, não geram subprodutos tóxicos. Entretanto, a aplicação de enzimas livres em sistemas de biorremediação apresenta limitações importantes, como baixa estabilidade frente a condições ambientais adversas, perda de atividade ao longo do tempo, dificuldades na recuperação e reutilização, além de custos

elevados para a produção em larga escala (SOMU *et al.*, 2022; JAISWAL *et al.*, 2024). Para superar essas limitações, a imobilização enzimática tem sido amplamente estudada e aplicada com o objetivo de tornar esses biocatalisadores mais estáveis, eficientes e economicamente viáveis para aplicação em processos ambientais (BIÉ *et al.*, 2022; MAGHRABY *et al.*, 2023).

A imobilização de enzimas refere-se à fixação física ou química das moléculas enzimáticas em suportes sólidos ou em matrizes tridimensionais, permitindo sua reutilização em múltiplos ciclos reacionais, maior resistência à desnaturação e, em muitos casos, melhora na atividade catalítica (BRUGNARI *et al.*, 2021; CONTATO *et al.*, 2022). Diversas técnicas de imobilização têm sido desenvolvidas, incluindo adsorção em suportes, ligação covalente, aprisionamento em géis poliméricos, encapsulamento em lipossomas ou microcápsulas e formação de agregados enzimáticos reticulados (CLEAs). A escolha do método e do suporte depende de fatores como o tipo de enzima, as características do substrato, o ambiente da reação e o objetivo específico do processo de remediação (MAGHRABY *et al.*, 2023; ROBESCU; BAVARO, 2025).

No contexto da biorremediação, as enzimas imobilizadas têm se mostrado particularmente úteis na degradação de compostos complexos, como corantes industriais, pesticidas organofosforados, fenóis, hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (HPAs), microplásticos e fármacos, entre outros (SOMU *et al.*, 2022; BORO *et al.*, 2025; UBER *et al.*, 2025). Enzimas como lacases, peroxidases, lipases, celulases, proteases e monooxigenases têm sido imobilizadas com sucesso e aplicadas em sistemas reacionais para tratamento de efluentes, solos contaminados e resíduos sólidos. Além disso, o uso de enzimas imobilizadas permite maior controle do processo, facilidade de separação do catalisador após a reação, e redução dos custos operacionais em processos contínuos (BRUGNARI *et al.*, 2018; BOLIVAR; WOODLEY; FERNANDEZ-LAFUENTE, 2022; MAGHRABY *et al.*, 2023).

Apesar das vantagens, o uso de enzimas imobilizadas também apresenta desafios, como a possível perda de atividade catalítica durante o processo de imobilização, difusão limitada de substratos e produtos na matriz de suporte, e custos adicionais associados à produção e regeneração dos suportes (MAGHRABY *et al.*, 2023; JIANG *et al.*, 2024). No entanto, os avanços recentes em nanotecnologia, ciência dos materiais e engenharia de proteínas têm contribuído significativamente para a superação dessas limitações, impulsionando a aplicação de sistemas enzimáticos imobilizados em escala piloto e industrial (MEENA *et al.*, 2021; CAPARCO; DAUTEL; CHAMPION, 2022).

Este capítulo tem como objetivo apresentar uma visão abrangente e atualizada do uso de enzimas imobilizadas nos processos de biorremediação. Serão abordados os principais métodos de imobilização, com destaque para suas características técnicas e aplicações específicas, bem como as vantagens e limitações do uso de enzimas imobilizadas em comparação com enzimas livres. Por fim, serão discutidos exemplos relevantes de enzimas imobilizadas empregadas na biorremediação de diversos poluentes, procurando evidenciar o potencial dessa abordagem no enfrentamento dos desafios ambientais contemporâneos.

## PRINCIPAIS MÉTODOS DE IMOBILIZAÇÃO - CARACTERÍSTICAS GERAIS

A imobilização de enzimas consiste na associação dessas biomoléculas a uma fase sólida ou a uma matriz polimérica, de modo a manter sua atividade catalítica e possibilitar sua reutilização em múltiplos ciclos reacionais. Essa abordagem tem sido amplamente empregada para melhorar a estabilidade térmica, operacional e estrutural das enzimas, além de facilitar sua separação dos

produtos ao final dos processos, tornando o uso industrial e ambiental mais eficiente e economicamente viável (GUISAN *et al.*, 2022; MAGHRABY *et al.*, 2023).

A escolha do método de imobilização ideal depende de múltiplos fatores, incluindo: as características estruturais e funcionais da enzima; o tipo de substrato ou poluente-alvo; as condições operacionais do processo (pH, temperatura, presença de solventes, etc.); e a necessidade de reusabilidade e recuperação do catalisador (BIÉ *et al.*, 2022; BOLIVAR; WOODLEY; FERNANDEZ-LAFUENTE, 2022).

A adequação técnica e econômica também deve sempre ser considerada, especialmente em aplicações ambientais, onde a simplicidade e o custo-benefício são fundamentais. O sucesso da biorremediação mediada por enzimas imobilizadas depende diretamente da eficiência do método de imobilização, sendo este um dos pontos-chave para a viabilidade de tecnologias limpas e sustentáveis (CAVALCANTE *et al.*, 2021; MAGHRABY *et al.*, 2023).

Diversos métodos de imobilização foram desenvolvidos ao longo das últimas décadas, sendo classificados de acordo com o tipo de interação entre a enzima e o suporte, a complexidade do procedimento e a aplicação desejada. Os métodos mais utilizados incluem: adsorção, ligação covalente, aprisionamento (ou encapsulamento), reticulação cruzada (*cross-linking*) e *entraptment* (aprisionamento físico em matriz polimérica) (IMAM; MARR; MARR, 2021; TAPDIGOV, 2021; MOHIDEM *et al.*, 2023). Esses métodos estão detalhados e organizados na Tabela 1, com as suas características, vantagens, desvantagens e os principais exemplos de suporte.

**Tabela 1 - Principais métodos de imobilização enzimática utilizados em processos de biorremediação**

Método de Imobilização	Características	Vantagens	Desvantagens	Exemplos de Suportes
<b>Adsorção</b>  (KHARRAT <i>et al.</i> , 2011; JESIONOWSKI; ZDARTA; KRAJEWSKA, 2014; LYU <i>et al.</i> , 2021; REMONATTO <i>et al.</i> , 2022; MAGHRABY <i>et al.</i> , 2023)	- Fixação física da enzima à superfície do suporte por interações não covalentes (eletrostáticas, hidrofóbicas, van der Waals, ligações de hidrogênio).  - Processo reversível e simples, sem necessidade de reagentes químicos.	1) Técnica rápida e de baixo custo.  2) Geralmente não altera a estrutura tridimensional da enzima.  3) Possibilita regeneração do suporte.  4) Boa preservação da atividade catalítica.	1) Enzima pode se desprender facilmente (dessorção), principalmente com alterações de pH ou força iônica.  2) Estabilidade limitada a condições ambientais brandas.  3) Menor eficiência em suportes com baixa área superficial.	Carvão ativado, argilas modificadas, sílica gel, zeólitas, fibras de celulose, óxidos metálicos ( $\text{TiO}_2$ , $\text{Al}_2\text{O}_3$ ), resinas poliméricas (Amberlite®, Dowex®).
<b>Ligação Covalente</b>  (KUJAWA <i>et al.</i> , 2021; GUISAN <i>et al.</i> , 2022; MAGHRABY <i>et al.</i> , 2023; MIRSAAMI; MIRSAAMI; GHODOUSIAN, 2024; ROBESCU; BAVARO, 2025)	- Fixação da enzima por meio de ligações químicas estáveis entre grupos funcionais da enzima ( $-\text{NH}_2$ , $-\text{COOH}$ , $-\text{SH}$ ) e grupos reativos do suporte.  - Frequentemente utiliza agentes ativadores como glutaraldeído, carbodiimidas ou epicloridrina.	1) Alta estabilidade operacional e térmica.  2) Enzima fortemente ligada ao suporte.  3) Pode ser usada em processos contínuos com elevada reusabilidade.  4) Resistência a variações de pH e à ação de solventes.	1) Processo mais complexo e custo mais elevado.  2) Possível inativação parcial da enzima se os grupos catalíticos estiverem envolvidos na ligação.  3) Dificuldade na regeneração do suporte.	Sepharose ativada com epóxidos, sílica funcionalizada com aminas ou carboxilas, esferas de agarose, celulose oxidada, nanopartículas magnéticas, polímeros com grupos epóxidos ou isotiocianato.
<b>Aprisionamento (Entrapment)</b>  (GANONYAN <i>et al.</i> , 2020; DEMIRC; SAHINER, 2021; IMAM; MARR; MARR, 2021; BIÉ <i>et al.</i> , 2022; MAGHRABY <i>et al.</i> , 2023)	- A enzima é aprisionada fisicamente em uma matriz porosa sem ligação química direta com o suporte.  - Permite a difusão de substratos e produtos, mas retém a enzima.	1) Boa preservação da atividade enzimática.  2) Evita desnaturação por ligação química.  3) Compatível com reatores contínuos e semicontínuos com ambientes agressivos.	1) Risco de vazamento da enzima, especialmente em matrizes com poros grandes.  2) Limitações difusoriais para substratos grandes.  3) Perda de atividade ao longo do tempo por difusão.	Alginato de sódio, quitosana, carragenina, gelatina, pectina, poliuretano poroso, poliacrilamida.

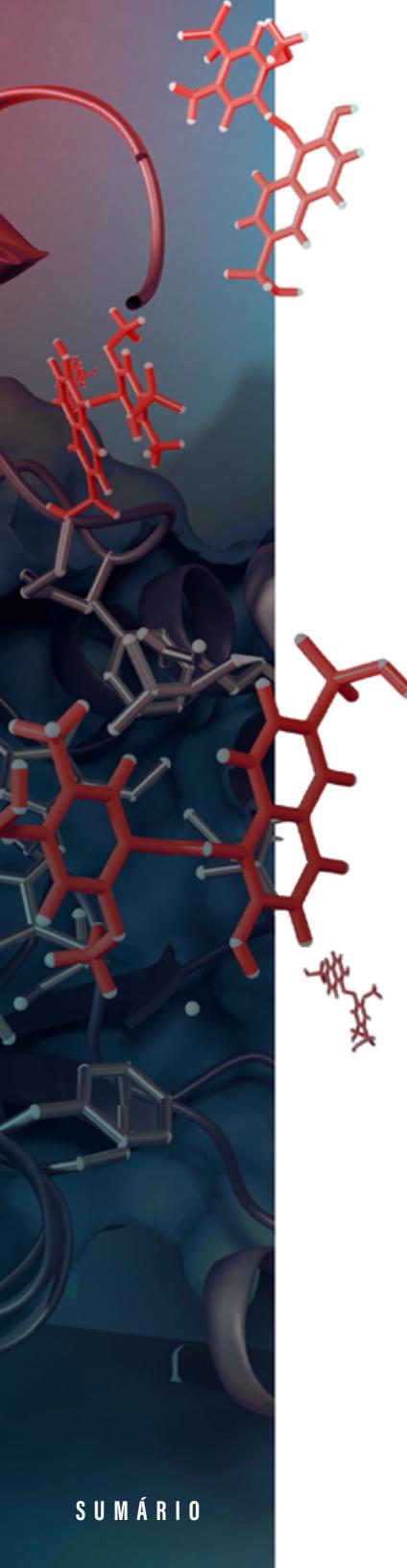
Método de Imobilização	Características	Vantagens	Desvantagens	Exemplos de Suportes
<b>Encapsulamento</b>  (CAVALCANTE <i>et al.</i> , 2021; WANG; LIAO, 2021; MAGHRABY <i>et al.</i> , 2023; SICARD, 2023; WENG <i>et al.</i> , 2023)	- A enzima é confinada dentro de cápsulas ou microvesículas com membranas semiipermeáveis.  - Protege a enzima de inativação ambiental.	1) Excelente proteção contra condições ambientais adversas. 2) Liberação controlada. 3) Alta estabilidade estrutural e funcional.	1) Processo elaborado. 2) Difusão limitada. 3) Dificuldade de escalonamento industrial.	Lipossomas, microcápsulas de alginato ou carragenina, microemulsões, nanopartículas poliméricas (PLGA, quitosana), géis de sílica sol-gel.
<b>Reticulação cruzada (CLEAs)</b>  (AMADI <i>et al.</i> , 2022; VELASCO-LOZANO; ROCHA-MARTIN; SANTOS, 2022; CHEN <i>et al.</i> , 2023; COSTA <i>et al.</i> , 2023; BOUGUERRA <i>et al.</i> , 2024)	- Formação de agregados enzimáticos por precipitação seguida de reticulação entre as moléculas enzimáticas com agente bifuncional.  - Método sem suporte externo.	1) Alta concentração de enzima ativa. 2) Elevada estabilidade térmica e operacional. 3) Redução de custos. 4) Boa reusabilidade.	1) Difusão limitada. 2) Otimização crítica. 3) Risco de inativação parcial por reticulação excessiva.	Agentes precipitantes: acetona, etanol, sulfato de amônio. Reticulante: glutaraldeído. Suportes opcionais: nanopartículas magnéticas, poliacrilamida.

CLEAs: agregados enzimáticos reticulados (cross linked enzyme aggregates);

PLGA: ácido(poli-lático-co-glicólico).

## IMOBILIZAÇÃO POR ADSORÇÃO

A adsorção é um dos métodos mais antigos e simples de imobilização enzimática, caracterizado pela fixação física da enzima na superfície de um suporte sólido através de interações não covalentes como, forças eletrostáticas, ligações de hidrogênio, interações hidrofóbicas e forças de van der Waals. Esse processo não requer modificações químicas prévias na enzima nem no suporte, o que preserva sua estrutura tridimensional e sua atividade catalítica (ALBAYATI *et al.*, 2024; CAVALCANTE *et al.*, 2024).

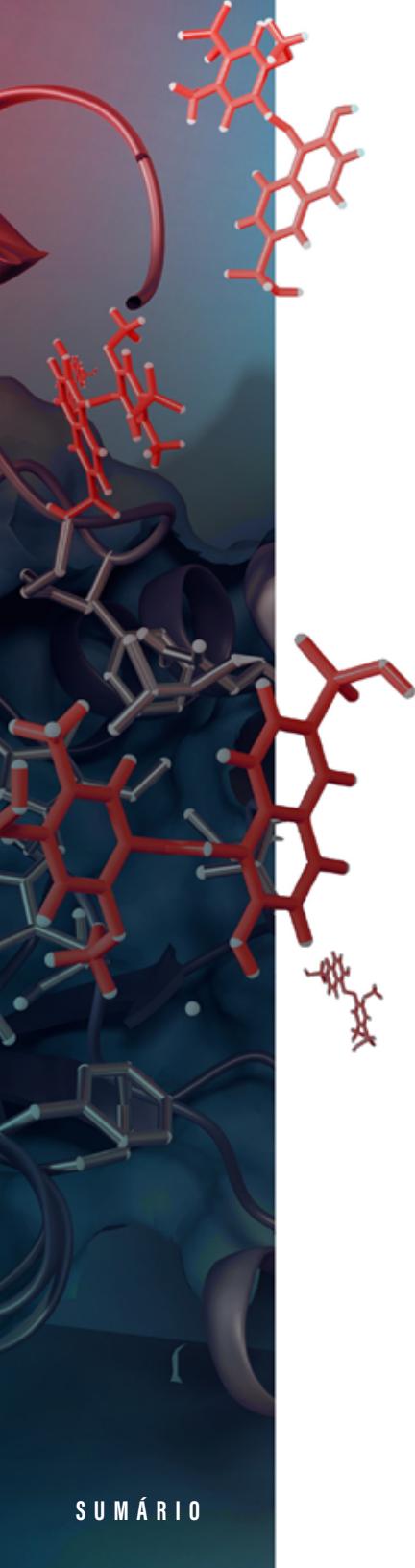


A principal vantagem da adsorção está na facilidade de execução, baixo custo e boa manutenção da atividade enzimática, o que a torna especialmente atrativa para aplicações em biorremediação em larga escala (RASHID *et al.*, 2021; SILVA *et al.*, 2022). No entanto, por se tratar de um processo reversível, a enzima pode se desprender do suporte sob certas condições, como variações de pH, força iônica ou presença de solventes (BOLIVAR; WOODLEY; FERNANDEZ-LAFUENTE, 2022; JIANG *et al.*, 2024). A escolha do suporte é crucial: materiais como carvão ativado, argilas modificadas, resinas poliméricas e óxidos metálicos são frequentemente utilizados por apresentarem elevada área superficial e propriedades favoráveis à interação com a enzima (JESIONOWSKI; ZDARTA; KRAJEWSKA, 2014; KHAN *et al.*, 2021; BIJOY *et al.*, 2022).

Esse método tem sido amplamente aplicado na imobilização de lacases, peroxidases e lipases utilizadas na degradação de corantes sintéticos, pesticidas e hidrocarbonetos aromáticos (CHEN *et al.*, 2022; KESHTA; GEMEAY; KHAMIS, 2022; QIAN *et al.*, 2023).

## IMOBILIZAÇÃO POR FORMAÇÃO DE LIGAÇÃO COVALENTE

A ligação covalente envolve a formação de ligações químicas estáveis entre grupos funcionais presentes na molécula da enzima (como grupos amino, carboxila, hidroxila ou tiol) e grupos reativos presentes no suporte sólido. Essa fixação é promovida por agentes ativadores químicos, como glutaraldeído, carbodiimidas ou epicloridrina, que atuam como pontes covalentes entre enzima e suporte (ZOU; GU; ZHENG, 2018; SMITH *et al.*, 2020; GAO; PENG; MITRAGOTRI, 2021).

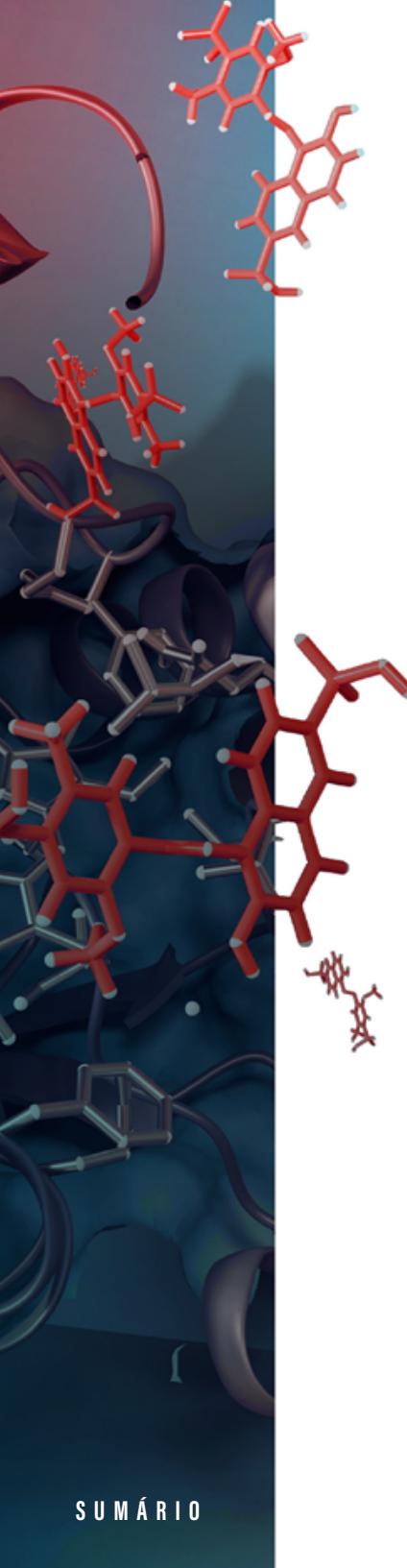


Este método oferece elevada estabilidade operacional e térmica, além de minimizar a lixiviação da enzima do suporte durante o uso, sendo ideal para reatores contínuos ou processos industriais em ambientes extremos (CAVALCANTE *et al.*, 2021; IMAM; MARR; MARR, 2021). Contudo, a formação dessas ligações pode ocorrer em regiões da enzima essenciais para sua função catalítica, levando a uma possível perda parcial de atividade. Além disso, o processo de ativação do suporte é mais complexo e pode aumentar o custo da imobilização (KHAN *et al.*, 2021; JIANG *et al.*, 2024).

Suportes comuns incluem sílica funcionalizada, esferas de agarose ativadas, nanopartículas magnéticas com grupos epóxi e celulose oxidada (ZUCCA; SANJUST, 2014; SMITH *et al.*, 2020). Enzimas como peroxidases, esterases e oxidases são frequentemente imobilizadas por ligação covalente em aplicações de biorremediação voltadas à degradação de compostos fenólicos e micropoluentes orgânicos persistentes (SELLAMI *et al.*, 2022; SHARMA; BHARDWAJ; GUPTA, 2022; CÁRDENAS-MORENO *et al.*, 2023).

## IMOBILIZAÇÃO POR APRISIONAMENTO (ENTRAPMENT)

O aprisionamento (ou *entrapment*) consiste na inclusão física da enzima dentro de uma matriz porosa ou gel, sem ligação direta com o suporte. A enzima permanece confinada em microcavidades, enquanto os substratos e produtos podem difundir-se livremente através da matriz. Esse método é vantajoso por manter a conformação nativa da enzima, oferecendo proteção contra agentes desnatantes e condições ambientais adversas (IMAM; MARR; MARR, 2021; MAGHRABY *et al.*, 2023).



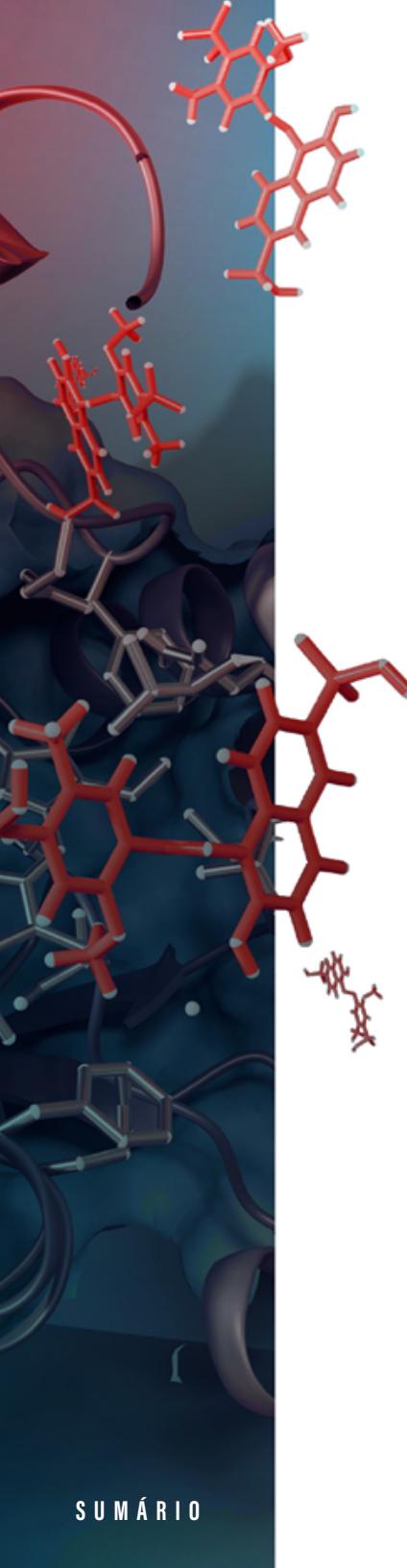
Apesar das vantagens, o aprisionamento pode gerar limitações difusionais significativas, especialmente para substratos de maior peso molecular, além do risco de vazamento da enzima ao longo do tempo, o que pode comprometer a eficiência do processo. A escolha do material da matriz é fundamental para maximizar a retenção da enzima e minimizar perdas de atividade (KHAN *et al.*, 2021; BIÉ *et al.*, 2022).

Alguns dos materiais mais utilizados incluem alginato de sódio, quitosana, carragenina, pectina e gelatina (PEREIRA *et al.*, 2021; SHARMA *et al.*, 2021). Este método é comumente empregado na imobilização de enzimas como lacases e peroxidases usadas na degradação de corantes têxteis e contaminantes emergentes (IMAM; MARR; MARR, 2021; URREA *et al.*, 2021).

## IMOBILIZAÇÃO POR ENCAPSULAMENTO

O encapsulamento envolve o confinamento da enzima dentro de estruturas semipermeáveis, como microcápsulas, lipossomas ou nanopartículas poliméricas. Essas estruturas atuam como barreiras seletivas, permitindo a passagem de moléculas pequenas (substratos e produtos) enquanto retêm a enzima no interior do compartimento (GAUR; DUBEY; TRIPATHI, 2022; MUSTAFA *et al.*, 2024).

Esse método oferece excelente proteção contra a desnaturação por temperatura, pH ou solventes orgânicos, além de permitir liberação controlada da atividade catalítica. Entretanto, o encapsulamento é um processo tecnicamente mais elaborado, e as limitações difusionais podem comprometer a eficiência catalítica em alguns sistemas (MAGHRABY *et al.*, 2023; JIANG *et al.*, 2024).



Entre os materiais utilizados destacam-se lipossomas, nanopartículas de quitosana, PLGA (poliácido lático-co-glicólico) e sistemas baseados em sílica sol-gel (AYYARIL *et al.*, 2023; MONDÉJAR-LÓPEZ *et al.*, 2024). O encapsulamento tem sido estudado para aplicação de enzimas redox como catalases e oxidases na remediação de águas contaminadas com metais pesados e compostos farmacêuticos (DATTA *et al.*, 2021; GAN *et al.*, 2022).

## IMOBILIZAÇÃO POR RETICULAÇÃO CRUZADA (CLEAS - *CROSS-LINKED ENZYME AGGREGATES*)

A reticulação cruzada de agregados enzimáticos (CLEAs) é uma abordagem moderna que dispensa o uso de suportes sólidos. Neste método, a enzima é inicialmente precipitada (com etanol, acetona ou sulfato de amônio) e, em seguida, os agregados resultantes são reticulados covalentemente com um agente como o glutaraldeído. O resultado é um agregado enzimático insolúvel e estável, que pode ser utilizado diretamente em reações catalíticas (CHEN *et al.*, 2023; COSTA *et al.*, 2023).

Os CLEAs oferecem alta concentração de enzima ativa, excelente estabilidade térmica e operacional e boa reutilização. No entanto, sua performance depende de uma otimização cuidadosa das condições de precipitação e reticulação. O excesso de agente reticulante pode inativar a enzima por modificar regiões sensíveis da proteína (CHEN *et al.*, 2023; COSTA *et al.*, 2023).

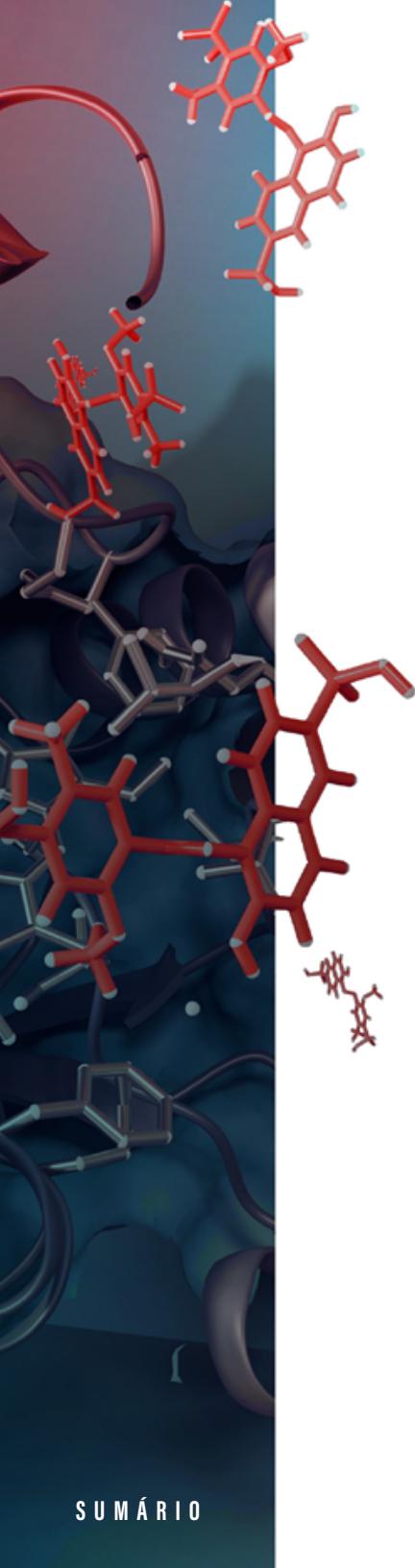
Essa tecnologia tem sido aplicada com sucesso na imobilização de enzimas como nitrilases, lipases, lacases e peroxidases para processos de biorremediação, especialmente na degradação de compostos tóxicos em efluentes industriais (HONG *et al.*, 2021; KHATIK; JAIN; MULEY, 2022; CHEN *et al.*, 2023; COSTA *et al.*, 2023).

## OUTROS MÉTODOS EMERGENTES DE IMOBILIZAÇÃO

Com os avanços recentes na nanotecnologia, na ciência dos materiais e na biologia molecular, novas abordagens têm sido exploradas para a imobilização de enzimas, indo além das técnicas tradicionais. Esses métodos emergentes visam não apenas melhorar a estabilidade e a reutilização das enzimas, mas também possibilitar a atuação eficiente em ambientes complexos e contaminados, como aqueles enfrentados nos processos de biorremediação. A seguir, são discutidos os principais enfoques inovadores que vêm ganhando destaque na literatura científica e tecnológica.

Um dos mais promissores envolve a imobilização de enzimas sobre nanomateriais, como nanopartículas magnéticas, nanotubos de carbono, óxidos metálicos e derivados de grafeno. Esses materiais apresentam elevada área superficial específica, o que aumenta a densidade de enzimas ativas por unidade de massa, além de propriedades físico-químicas que favorecem a estabilidade e a funcionalização com grupos reativos (NEMIWAL; ZHANG; KUMAR, 2022; CAVALCANTE *et al.*, 2024). Por exemplo, nanopartículas magnéticas de óxido de ferro ( $\text{Fe}_3\text{O}_4$ ) permitem a recuperação rápida do biocatalisador por meio de um campo magnético, facilitando seu uso em reatores contínuos ou em sistemas de tratamento de águas residuais (HUSAIN, 2017). Nanotubos de carbono e óxidos de grafeno, por sua vez, proporcionam excelente suporte para enzimas oxidativas, como lacases e peroxidases, frequentemente utilizadas na degradação de corantes e poluentes orgânicos persistentes (ADEEL *et al.*, 2018).

Outro enfoque inovador é a imobilização orientada por engenharia de proteínas, que se baseia na modificação genética das enzimas para incluir sequências específicas que favoreçam sua fixação controlada ao suporte. A introdução de resíduos como histidinas,



cisteínas ou lisinas em locais estratégicos permite a ancoragem da enzima de maneira que o sítio ativo permaneça totalmente exposto e funcional. Essa imobilização direcionada é particularmente útil para enzimas sensíveis à orientação ou suscetíveis à perda de atividade após adsorção aleatória. Seus avanços demonstram alto potencial para aplicações em biorremediação seletiva, especialmente em sistemas enzimáticos projetados para atuar sobre micropoluentes emergentes, como fármacos, hormônios e compostos fenólicos (DORAU; GÖRBE; HUMBLE, 2018; WANG *et al.*, 2022).

Além disso, o uso de sistemas híbridos com polímeros inteligentes representa uma fronteira tecnológica em expansão. Polímeros estímulo-responsivos, também chamados de polímeros inteligentes, são materiais que respondem a variações de temperatura, pH, luz ou campos elétricos, modificando sua estrutura ou funcionalidade. Enzimas imobilizadas nesses sistemas podem ter sua atividade catalítica controlada dinamicamente, o que permite aplicações altamente específicas e eficazes. Hidrogéis de poli(N-isopropilacrilamida), ou PNIPAM, por exemplo, sofrem contração e expansão térmica que regula a difusão do substrato até o sítio ativo da enzima. Outros polímeros sensíveis ao pH podem ser empregados em áreas contaminadas por efluentes ácidos ou básicos, liberando ou ativando enzimas em resposta ao ambiente. Esses sistemas são promissores para aplicações em locais de difícil acesso ou em biorreatores automatizados (ROSENTHAL *et al.*, 2018; HUANG; LI; LI, 2024).

Ainda em desenvolvimento, a utilização de suportes biológicos e biomiméticos tem atraído atenção por sua biocompatibilidade, baixo impacto ambiental e funcionalidade inspirada em sistemas naturais. Materiais como celulose bacteriana e membranas lipídicas artificiais estão sendo testados como matrizes para imobilização de enzimas. Além disso, há um crescente interesse no uso de esferoplastos celulares modificados e vesículas poliméricas como cápsulas enzimáticas, mimetizando compartmentalizações celulares naturais.

Esses sistemas apresentam grande potencial para aplicações em ambientes biológicos complexos, como solos contaminados, sedimentos e zonas úmidas, onde a preservação da integridade da enzima e sua proteção contra inativação são importantes (ULLAH *et al.*, 2023; ZHANG *et al.*, 2024).

Esses métodos emergentes, embora ainda em fase de desenvolvimento e com aplicações piloto, representam uma importante evolução no campo da imobilização enzimática. A tendência é que, com o avanço das técnicas de caracterização molecular e com a integração multidisciplinar entre química, biologia e engenharia, esses novos sistemas se tornem cada vez mais viáveis para aplicação em larga escala, contribuindo significativamente para processos de biorremediação mais seletivos, sustentáveis e economicamente eficientes.

## VANTAGENS E DESVANTAGENS NO USO DE ENZIMAS IMOBILIZADAS- OBSERVAÇÕES INTRODUTÓRIAS GERAIS

A imobilização de enzimas representa uma das estratégias mais promissoras no campo da biocatálise aplicada à biorremediação ambiental (SOMU *et al.*, 2022). A escolha por empregar enzimas imobilizadas, em vez de enzimas livres, está relacionada a uma série de benefícios técnico-operacionais e econômicos que ampliam a viabilidade do uso desses biocatalisadores em sistemas industriais, ambientais e de tratamento de resíduos. No entanto, a adoção dessa abordagem também apresenta limitações que devem ser cuidadosamente avaliadas durante o desenvolvimento de processos.

## VANTAGENS DA IMOBILIZAÇÃO ENZIMÁTICA- REUTILIZAÇÃO DO BIOCATALISADOR

A imobilização permite que a enzima permaneça fixa a um suporte sólido ou encapsulada em uma matriz, o que facilita sua recuperação e reutilização em múltiplos ciclos de reação. Essa característica é especialmente importante em processos de biorremediação, que muitas vezes exigem longos períodos de operação e tratamento contínuo de grandes volumes de resíduos. Ao permitir o reuso da enzima, reduz-se significativamente o custo com enzimas purificadas, que muitas vezes representam o insumo mais oneroso do processo. Além disso, a reutilização contribui para a sustentabilidade do sistema, ao minimizar a geração de resíduos enzimáticos e a necessidade de reposição constante (SOMU *et al.*, 2022; ABDELHAMID *et al.*, 2024).

## VANTAGENS DA IMOBILIZAÇÃO ENZIMÁTICA - AUMENTO DA ESTABILIDADE ENZIMÁTICA

A fixação da enzima em um suporte adequado pode conferir maior estabilidade térmica, operacional e estrutural, permitindo que o biocatalisador atue de forma eficaz mesmo em condições adversas, como variações de temperatura, pH extremo, presença de solventes orgânicos, sais metálicos ou compostos tóxicos. A estabilidade conferida pela imobilização é atribuída à restrição de mobilidade da cadeia polipeptídica e à proteção conferida pela matriz ou suporte contra agentes desnaturantes. Em sistemas de biorremediação,

isso se traduz na possibilidade de aplicação em ambientes contaminados complexos, onde as enzimas livres tenderiam a se desnaturar rapidamente (SELLAMI *et al.*, 2022; SOMU *et al.*, 2022).

## VANTAGENS DA IMOBILIZAÇÃO ENZIMÁTICA - FACILIDADE DE SEPARAÇÃO DO MEIO REACIONAL

A separação das enzimas do meio reacional é um desafio importante em sistemas com enzimas livres, o que pode dificultar a recuperação do produto e gerar contaminação ou desperdício do biocatalisador. No caso das enzimas imobilizadas, a separação torna-se mais simples, podendo ser realizada por filtração, centrifugação ou aplicação de campo magnético, dependendo do tipo de suporte utilizado. Essa facilidade operacional não apenas melhora a eficiência do processo, como também reduz os custos de *downstream* e evita a liberação de enzimas no meio ambiente após o processo, contribuindo para a segurança ambiental e regulatória do sistema (BIÉ *et al.*, 2022; CAVALCANTE *et al.*, 2024).

## VANTAGENS DA IMOBILIZAÇÃO ENZIMÁTICA - APLICAÇÕES EM SISTEMAS CONTÍNUOS E ESCALONÁVEIS

A imobilização enzimática viabiliza o uso de reatores contínuos, onde o substrato é alimentado continuamente e os produtos são coletados sem a necessidade de interromper o processo.

Isso é particularmente vantajoso em estações de tratamento de efluentes, onde a demanda por operação ininterrupta e elevada produtividade é constante. A robustez e a estabilidade do biocatalisador imobilizado permitem a manutenção do processo por longos períodos sem perda significativa de desempenho. Essa capacidade de operação contínua é essencial para escalonamento industrial, especialmente em setores como o de tratamento de efluentes têxteis, resíduos petroquímicos e degradação de pesticidas (NARAMITTANAKUL *et al.*, 2021; ŽNIDARŠIČ-PLAZL, 2021).

## VANTAGENS DA IMOBILIZAÇÃO ENZIMÁTICA - MELHORIA NA ESPECIFICIDADE E CONTROLE DO PROCESSO

Em alguns casos, a imobilização pode favorecer a orientação adequada da enzima, posicionando o sítio ativo de forma mais acessível ao substrato e reduzindo a ocorrência de reações secundárias ou indesejadas. Isso resulta em maior seletividade e eficiência catalítica, o que é desejável em processos que envolvem compostos recalcitrantes ou misturas complexas de poluentes. A imobilização também pode facilitar o controle da cinética da reação, permitindo ajustes mais precisos nas taxas de conversão e na produtividade do sistema. Essa vantagem é particularmente relevante quando se busca a degradação seletiva de contaminantes prioritários, como fármacos, disruptores endócrinos ou corantes (BIÉ *et al.*, 2022; BOLIVAR; WOODLEY; FERNANDEZ-LAFUENTE, 2022).

## VANTAGENS DA IMOBILIZAÇÃO ENZIMÁTICA - REDUÇÃO DO RISCO DE CONTAMINAÇÃO DO PRODUTO FINAL

Como a enzima immobilizada permanece retida no suporte durante todo o processo, há menor risco de contaminação do meio reacional com proteínas solúveis. Essa característica é de grande importância em processos de biorremediação com reaproveitamento de água tratada ou em aplicações que envolvem a recuperação de produtos de interesse. Além disso, a ausência de enzimas solúveis no efluente tratado reduz a carga orgânica residual, o que pode evitar a necessidade de etapas adicionais de filtração ou desinfecção (BIÉ *et al.*, 2022; BOLIVAR; WOODLEY; FERNANDEZ-LAFUENTE, 2022).

## VANTAGENS DA IMOBILIZAÇÃO ENZIMÁTICA - INTEGRAÇÃO COM TECNOLOGIAS AVANÇADAS DE SUPORTE

A immobilização enzimática pode ser combinada com materiais avançados, como nanopartículas magnéticas, polímeros inteligentes, hidrogéis responsivos a estímulos, e suportes biodegradáveis, possibilitando o desenvolvimento de sistemas multifuncionais de alta performance. Essa integração amplia as possibilidades de aplicação da biocatálise immobilizada em contextos ambientais complexos, como a remediação *in situ* de solos e a descontaminação de águas subterrâneas. A versatilidade desses suportes permite modular propriedades como porosidade, hidrofobicidade, biodegradabilidade e funcionalização química, conferindo ao sistema maior adaptabilidade (ABDEL-MAGEED, 2025; SADRAEI; NAGHIB, 2025).

## DESVANTAGENS DA IMOBILIZAÇÃO ENZIMÁTICA - CUSTO ELEVADO DE DESENVOLVIMENTO E PRODUÇÃO

Uma das principais barreiras à adoção ampla de enzimas imobilizadas é o custo inicial elevado. A escolha de suportes apropriados, a necessidade de reagentes de acoplamento e as etapas de ativação e funcionalização do material suporte envolvem insu-  
mos e técnicas que aumentam os custos em comparação com o uso de enzimas livres. Além disso, muitos métodos de imobilização requerem equipamentos especializados e mão de obra técnica qualificada, o que pode inviabilizar a aplicação em operações de menor escala ou em locais com infraestrutura limitada, como áreas de remediação remota (KUJAWA *et al.*, 2021; BOLIVAR; WOODLEY; FERNANDEZ-LAFUENTE, 2022).

## DESVANTAGENS DA IMOBILIZAÇÃO ENZIMÁTICA - REDUÇÃO DA ATIVIDADE CATALÍTICA

Um desafio técnico relevante na imobilização de enzimas é a possível perda de atividade enzimática durante ou após o processo de imobilização. Essa redução pode ocorrer por diferentes razões, incluindo: modificações estruturais no sítio ativo durante a ligação covalente; bloqueio parcial do acesso ao sítio catalítico; desnatura-  
ção parcial causada por reagentes químicos agressivos; ou orienta-  
ção inadequada da enzima no suporte (KHAN *et al.*, 2021).

Além disso, a imobilização pode comprometer a mobilidade da enzima e limitar a difusão de substratos e produtos, especialmente quando suportes porosos ou encapsulamentos densos são utilizados. Como resultado, a taxa de reação pode ser significativamente inferior àquela observada para a enzima livre, exigindo ajustes nas condições operacionais para compensar essa perda (BIÉ *et al.*, 2022; BOLIVAR; WOODLEY; FERNANDEZ-LAFUENTE, 2022).

## DESVANTAGENS DA IMOBILIZAÇÃO ENZIMÁTICA - LIMITAÇÕES DE DIFUSÃO E TRANSFERÊNCIA DE MASSA

Em muitos sistemas imobilizados, especialmente aqueles baseados em partículas porosas, esferas de gel ou cápsulas poliméricas, há resistência à difusão de substratos e produtos entre o meio reacional e o sítio ativo da enzima. Essas limitações de transferência de massa podem comprometer a eficiência geral do processo, particularmente quando se trabalha com substratos de alto peso molecular ou com baixa solubilidade. Em aplicações de biorremediação, onde os contaminantes podem estar em forma particulada, complexada ou diluída em matrizes sólidas ou aquosas, a difusão limitada pode ser um fator crítico que reduz a taxa de biodegradação (IMAM; MARR; MARR, 2021; BOLIVAR; WOODLEY; FERNANDEZ-LAFUENTE, 2022).

Além disso, em sistemas de fluxo contínuo, o acúmulo de produtos nas proximidades do biocatalisador pode levar à inibição do sistema, agravando ainda mais o problema (NARAMITTANAKUL *et al.*, 2021).

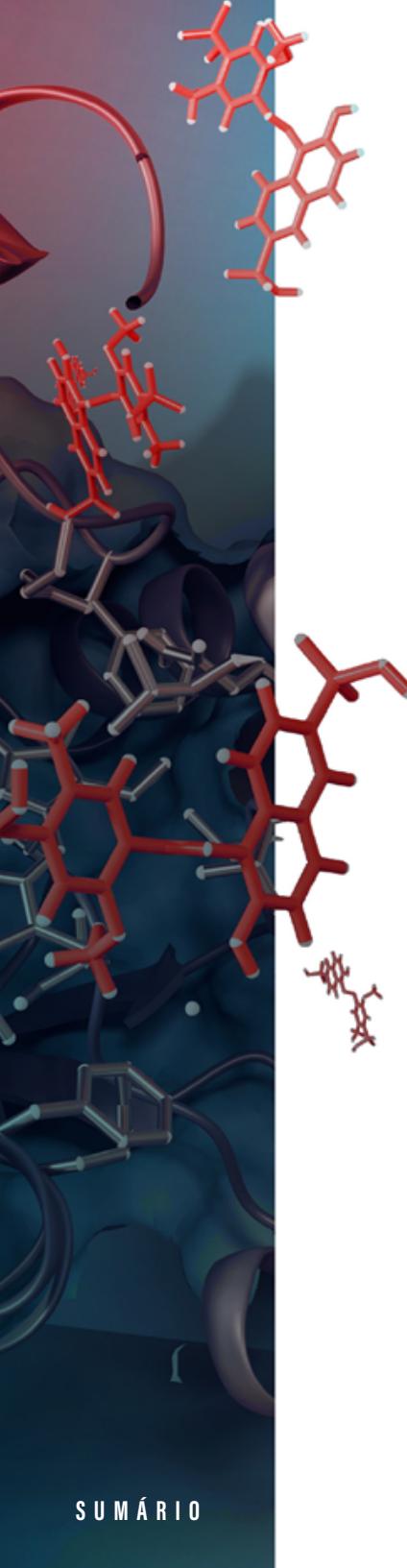
## DESVANTAGENS DA IMOBILIZAÇÃO ENZIMÁTICA - INSTABILIDADE QUÍMICA E MECÂNICA DE ALGUNS SUPORTES

A escolha do suporte é essencial para a estabilidade do sistema imobilizado. Muitos materiais usados como suporte apresentam fragilidade mecânica, instabilidade química ou baixa resistência a variações de temperatura, pH e salinidade. Em ambientes de biorremediação com condições ambientais flutuantes, suportes orgânicos como alginato, carragenana ou alguns hidrogéis podem sofrer degradação, lixiviação ou colapso estrutural, resultando na liberação da enzima ou na perda de eficiência catalítica (EKEOCHA *et al.*, 2021; REMONATTO *et al.*, 2022).

Em ambientes contaminados com metais pesados ou solventes orgânicos agressivos, suportes inorgânicos como sílica ou zeólitas também podem sofrer alterações em sua estrutura, comprometendo a ancoragem da enzima. A degradação do suporte não apenas prejudica o desempenho do biocatalisador, como também pode gerar subprodutos indesejados no meio (HARTMANN; KOSTROV, 2013; HOMAEI *et al.*, 2013).

## DESVANTAGENS DA IMOBILIZAÇÃO ENZIMÁTICA - DIFICULDADE DE REGENERAÇÃO DO SUPORTE E DA ENZIMA

Em sistemas que utilizam ligação covalente, adsorção forte ou aprisionamento em matrizes densas, a regeneração do suporte para



reutilização com uma nova carga enzimática pode ser impraticável ou economicamente inviável. Muitas vezes, a remoção da enzima inativada requer procedimentos agressivos (como uso de solventes, ácidos ou álcalis), que danificam o suporte ou deixam resíduos que dificultam sua reativação. Isso implica que, ao final da vida útil do sistema, o biocatalisador imobilizado frequentemente é descartado como um todo, o que reduz a atratividade econômica da tecnologia a longo prazo e gera desafios ambientais relacionados à disposição final do material. Para processos de biorremediação sustentáveis, seria ideal dispor de suportes regeneráveis ou biodegradáveis, ainda em desenvolvimento em muitas frentes de pesquisa (HARTMANN; KOSTROV, 2013; CAVALCANTE *et al.*, 2021).

## DESVANTAGENS DA IMOBILIZAÇÃO ENZIMÁTICA - IMOBILIZAÇÃO INADEQUADA OU HETEROGÊNEA

Outro problema recorrente é a imobilização heterogênea, em que diferentes moléculas de enzima se ligam ao suporte em orientações e condições distintas, gerando um sistema com desempenho imprevisível e difícil de padronizar. Isso pode ocorrer por falta de controle no processo de funcionalização do suporte, por excesso de reagentes de ativação, ou pela presença de múltiplos sítios reativos na estrutura da enzima (BIÉ *et al.*, 2022; GUISAN *et al.*, 2022).

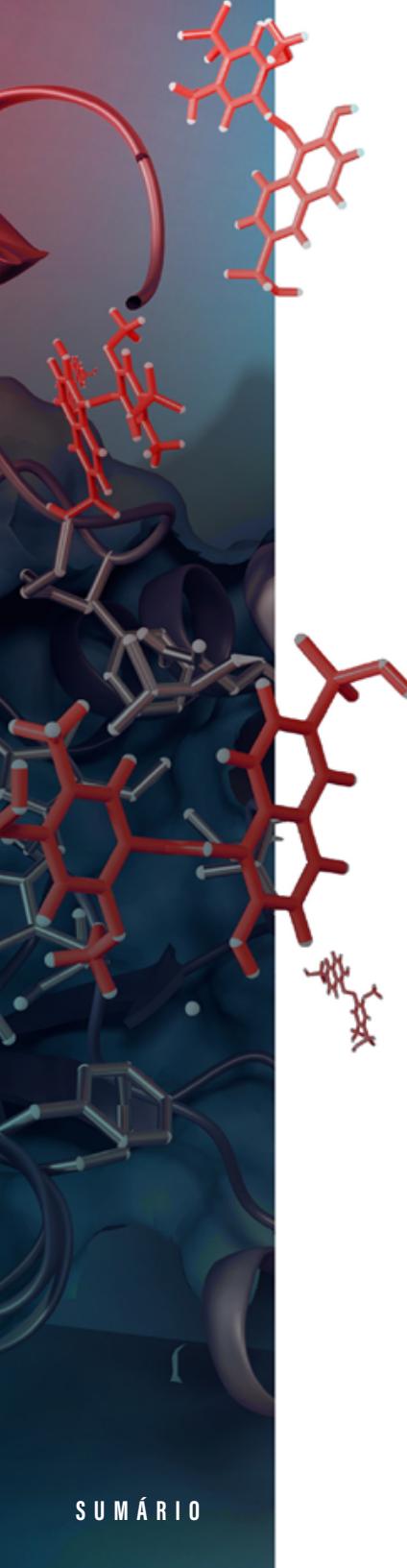
Além disso, a imobilização pode gerar agregação de enzimas ou de suportes, dificultando o acesso dos reagentes e comprometendo a produtibilidade do sistema. Tais problemas tornam mais difícil a escalabilidade do processo e o seu controle em ambientes reais de aplicação (CAVALCANTE *et al.*, 2021; GUISAN *et al.*, 2022).

## DESVANTAGENS DA IMOBILIZAÇÃO ENZIMÁTICA - COMPATIBILIDADE LIMITADA COM ALGUNS TIPOS DE CONTAMINANTES

Apesar de muitas enzimas imobilizadas apresentarem alta estabilidade, elas podem ser inativadas por contaminantes específicos, como metais pesados, solventes orgânicos clorados ou detergentes industriais. A imobilização nem sempre confere proteção completa contra esses inibidores, e em alguns casos, o suporte pode até concentrar tais substâncias em sua superfície, potencializando sua ação tóxica sobre a enzima. Em biorremediação de ambientes muito contaminados, é necessário um estudo prévio detalhado da matriz ambiental para garantir que os poluentes presentes não inativem o biocatalisador (KHAN *et al.*, 2021; YAASHIKAA; DEVI; KUMAR, 2022).

## EXEMPLOS DE ENZIMAS IMOBILIZADAS E SEU USO NA BIORREMEDIÇÃO

Conforme já enfatizamos ao longo deste capítulo, a biorremediação baseada no uso de enzimas imobilizadas tem se destacado como uma abordagem inovadora e eficaz para a degradação seletiva de poluentes em ambientes contaminados. Diferentemente dos microrganismos vivos, que podem apresentar limitações frente a condições ambientais adversas ou à presença de compostos tóxicos, as enzimas, especialmente quando imobilizadas, oferecem vantagens como especificidade catalítica, maior tolerância a condições extremas e possibilidade de reaproveitamento (SELLAMI *et al.*, 2022; ABDELHAMID *et al.*, 2024; CONTATO *et al.*, 2024). Nos últimos anos,



uma variedade de enzimas tem sido estudada e aplicada com sucesso na remediação de diferentes classes de contaminantes orgânicos e inorgânicos. A seguir, são apresentados os principais grupos de enzimas utilizadas, seus mecanismos de ação, tipos de imobilização empregados e substratos alvo.

## LACASES

As lacases (EC 1.10.3.2) são enzimas multicobre amplamente distribuídas em fungos lignolíticos (como *Trametes versicolor*, *Pleurotus ostreatus* e *Phanerochaete chrysosporium*), mas também encontradas em algumas bactérias e plantas. Elas catalisam a oxidação de compostos fenólicos e anilinas, utilizando o oxigênio molecular como aceitador final de elétrons, gerando água como subproduto (DE ARAÚJO *et al.*, 2020; CONTATO *et al.*, 2020; FREITAS *et al.*, 2022).

Lacases imobilizadas têm sido aplicadas com sucesso na degradação de corantes sintéticos (como azo e antraquinonas), pesticidas fenólicos (como clorofenóis), hormônios, fármacos, e outros poluentes emergentes (ORTOLAN *et al.*, 2024). Sua imobilização visa prolongar a estabilidade em pH ácido, em presença de solventes orgânicos ou salinidade elevada (BRUGNARI *et al.*, 2018).

Entre os métodos de imobilização de lacases mais utilizados estão adsorção em carvão ativado, encapsulamento em alginato de cálcio, imobilização covalente em sílica funcionalizada, esferas de quitosana ou suportes magnéticos (BACKES *et al.*, 2024; ORTOLAN *et al.*, 2024; UBER *et al.*, 2025).

## PEROXIDASES

As peroxidases catalisam reações de oxidação de uma ampla gama de compostos orgânicos, utilizando peróxido de hidrogênio como agente oxidante. Elas apresentam ampla aplicação ambiental devido à sua capacidade de degradar compostos aromáticos, fenóis, corantes, e até mesmo contaminantes endócrinos (SELLAMI *et al.*, 2022).

As peroxidases imobilizadas têm sido aplicadas na oxidação de efluentes industriais contendo fenóis, em águas contaminadas por pesticidas (como atrazina), e na remoção de fármacos em estações de tratamento de águas residuais (MORSI *et al.*, 2021; SELLAMI *et al.*, 2022).

A adsorção em carvão ativado, ligação covalente em sílica-gel modificada com glutaraldeído, encapsulamento em nanopartículas ou em membranas poliméricas estão entre os métodos de imobilização mais utilizados na imobilização de peroxidases (BIJOY *et al.*, 2022; BILAL *et al.*, 2023).

## ORGANOFOSFORILASES E ESTERASES

Essas enzimas são importantes na degradação de pesticidas organofosforados, uma das classes mais utilizadas na agricultura e frequentemente encontradas em águas superficiais e subterrâneas. A imobilização dessas enzimas permite sua reutilização em sistemas de filtração ou colunas reativas. Elas são utilizadas na degradação de pesticidas como malationa, parationa, clorpirifós e diazinona (MANCO; PORZIO; SUZUMOTO, 2018; WANG *et al.*, 2025). Esterases imobilizadas também são úteis na quebra de ésteres de ftalatos, utilizados como plastificantes em polímeros (LAI *et al.*, 2023).

A imobilização covalente em sílica ou vidro funcionalizado, suporte de poliacrilamida, adsorção em zircônia ou esferas magnéticas são os métodos mais empregados (JESIONOWSKI; ZDARTA; KRAJEWSKA, 2014; BILAL *et al.*, 2019).

## NITRILASES E AMIDASES

Essas enzimas desempenham papel fundamental na conversão de compostos nitrogenados tóxicos em formas menos nocivas. São empregadas principalmente na transformação de nitrilas e amidas presentes em solventes industriais, fármacos e resíduos da indústria química. Elas atuam na redução da toxicidade de cianetos, acrilamidas e nitrilos aromáticos presentes em efluentes industriais (RIOS-MIGUEL *et al.*, 2022; ZHOU; XUE; ZHENG, 2024).

A imobilização delas é feita principalmente em hidrogéis, ligação em suportes celulósicos funcionalizados, ou incorporação em matrizes sol-gel (TOPRAK; TÜKEL; YILDIRIM, 2021; ZHOU; XUE; ZHENG, 2024).

## ENZIMAS OXIDATIVAS AUXILIARES

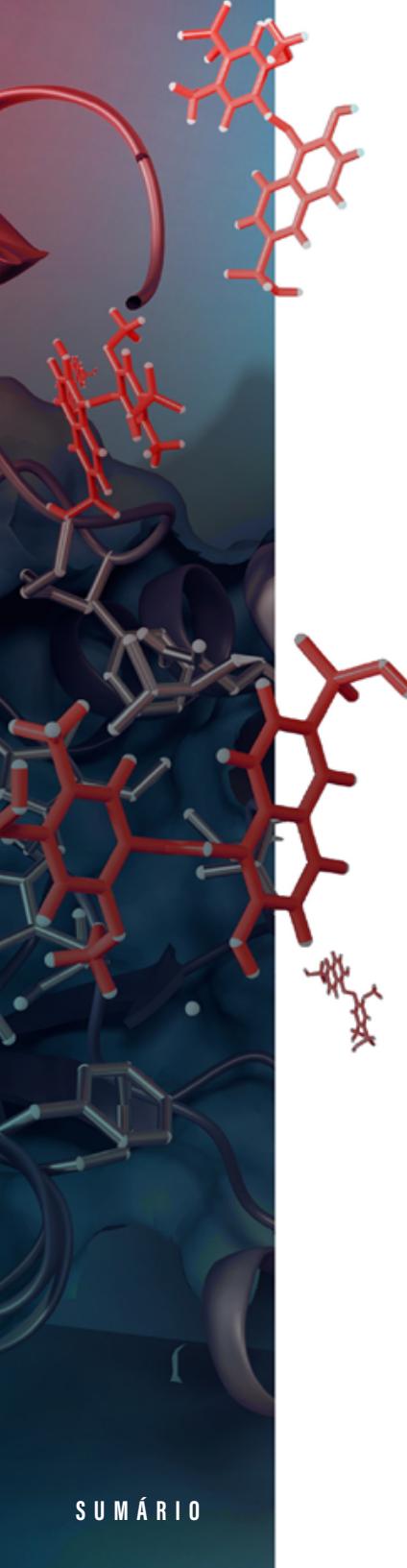
Enzimas como a celobiose desidrogenase e a álcool oxidase, têm sido estudadas como enzimas auxiliares no contexto da biorremediação, especialmente quando integradas a sistemas redox complexos. Estas enzimas atuam gerando radicais livres ou peróxidos que auxiliam na degradação oxidativa de contaminantes. Elas complementam a ação de peroxidases ou lacases, gerando agentes oxidantes *in situ*; auxiliam na degradação de resíduos lignocelulósicos e solventes orgânicos (ASEMOLOYE *et al.*, 2021; SINGH *et al.*, 2024).

Entre os métodos de imobilização empregados estão a co-imobilização com outras enzimas em suportes híbridos, encapsulamento em matrizes sol-gel ou conjugação com nanopartículas metálicas (LOPEZ-GALLEGO *et al.*, 2007; GUISAN *et al.*, 2022).

## DESAFIOS E PERSPECTIVAS

Apesar dos avanços significativos na aplicação de enzimas imobilizadas na biorremediação, diversos desafios ainda limitam sua ampla adoção em escala industrial. Um dos principais obstáculos é o custo elevado associado à imobilização das enzimas, especialmente quando se requerem suportes específicos ou reagentes de ativação química. Além disso, a estabilidade da enzima imobilizada pode ser afetada por variações de temperatura, pH ou pela presença de compostos tóxicos no ambiente contaminado, o que demanda soluções que aumentem a robustez dos sistemas enzimáticos. Outro fator limitante é a regeneração ou reutilização dos suportes imobilizados, que nem sempre é tecnicamente viável, impactando a sustentabilidade econômica do processo. Problemas de difusão de substratos nos suportes porosos e a inibição da atividade enzimática por acúmulo de produtos também podem ocorrer.

Apesar desses desafios, as perspectivas futuras são bastante promissoras. Com os avanços nas áreas de nanotecnologia, engenharia de proteínas, biotecnologia de materiais e inteligência artificial aplicada à engenharia enzimática, novas plataformas estão sendo desenvolvidas para otimizar a imobilização e a atividade das enzimas em condições ambientais adversas. Além disso, o reaproveitamento de resíduos agroindustriais como suportes de imobilização abre caminho para abordagens mais sustentáveis e de baixo custo. A integração de enzimas imobilizadas em biorreatores contínuos e sistemas híbridos (biofísico-químicos) também tende a expandir o



uso dessas biotecnologias na remediação de ambientes complexos, como solos contaminados por múltiplos poluentes e efluentes industriais heterogêneos. O futuro aponta, portanto, para soluções mais eficientes, economicamente viáveis e ambientalmente compatíveis.

## REFERÊNCIAS

- ABDELHAMID, Mohamed AA *et al.* Microbial Immobilized Enzyme Biocatalysts for Multipollutant Mitigation: Harnessing Nature's Toolkit for Environmental Sustainability. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 25, n. 16, p. 8616, 2024. <https://doi.org/10.3390/ijms25168616>
- ABDEL-MAGEED, Heidi M. Frontiers in nanoparticles redefining enzyme immobilization: a review addressing challenges, innovations, and unlocking sustainable future potentials. **Micro and Nano Systems Letters**, v. 13, n. 1, p. 1-28, 2025. <https://doi.org/10.1186/s40486-025-00228-2>
- ADEEL, Muhammad *et al.* Graphene and graphene oxide: Functionalization and nano-bio-catalytic system for enzyme immobilization and biotechnological perspective. **International journal of biological macromolecules**, v. 120, p. 1430-1440, 2018. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2018.09.144>
- ALBAYATI, Samah Hashim *et al.* Efficient and feasible biocatalysts: Strategies for enzyme improvement. A review. **International Journal of Biological Macromolecules**, p. 133978, 2024. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2024.133978>
- AMADI, O. C. *et al.* Concurrent production of cellulase, xylanase, pectinase and immobilization by combined Cross-linked enzyme aggregate strategy-advancing tri-enzyme biocatalysis. **Bioresource Technology Reports**, v. 18, p. 101019, 2022. <https://doi.org/10.1016/j.briteb.2022.101019>
- ASEMOLOYE, Michael Dare *et al.* Genome-based engineering of ligninolytic enzymes in fungi. **Microbial cell factories**, v. 20, p. 1-18, 2021. <https://doi.org/10.1186/s12934-021-01510-9>
- AYYARIL, Sefeera Sadik *et al.* Recent progress in micro and nano-encapsulation techniques for environmental applications: A review. **Results in Engineering**, v. 18, p. 101094, 2023. <https://doi.org/10.1016/j.rineng.2023.101094>

BACKES, Emanueli *et al.* Properties and kinetic behavior of free and immobilized laccase from *Oudemansiella canarii*: Emphasis on the effects of NaCl and Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> on catalytic activities. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 281, p. 136565, 2024. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2024.136565>

BALA, Saroj *et al.* Recent strategies for bioremediation of emerging pollutants: a review for a green and sustainable environment. **Toxics**, v. 10, n. 8, p. 484, 2022. <https://doi.org/10.3390/toxics10080484>

BIÉ, Joaquim *et al.* Enzyme immobilization and co-immobilization: main framework, advances and some applications. **Processes**, v. 10, n. 3, p. 494, 2022. <https://doi.org/10.3390/pr10030494>

BIJOY, Geethanjali *et al.* Enzyme immobilization on biomass-derived carbon materials as a sustainable approach towards environmental applications. **Chemosphere**, v. 307, p. 135759, 2022. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2022.135759>

BILAL, Muhammad *et al.* Manganese peroxidases as robust biocatalytic tool—an overview of sources, immobilization, and biotechnological applications. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 234, p. 123531, 2023. <https://doi.org/10.1080/0242422.2018.1564744>

BOLIVAR, Juan M.; WOODLEY, John M.; FERNANDEZ-LAFUENTE, Roberto. Is enzyme immobilization a mature discipline? Some critical considerations to capitalize on the benefits of immobilization. **Chemical Society Reviews**, v. 51, n. 15, p. 6251-6290, 2022. <https://doi.org/10.1039/D2CS00083K>

BORO, Manswama *et al.* An insight into pollutants and their degradation by microbial enzymes. **Biocatalysis and Biotransformation**, p. 1-25, 2025. <https://doi.org/10.1080/10242422.2025.2499004>

BOUGUERRA, Oumaima Maroua *et al.* An overview of crosslinked enzyme aggregates: Concept of development and trends of applications. **Applied Biochemistry and Biotechnology**, p. 1-29, 2024. <https://doi.org/10.1007/s12010-023-04809-y>

BRUGNARI, Tatiane *et al.* A highly reusable MANAE-agarose-immobilized *Pleurotus ostreatus* laccase for degradation of bisphenol A. **Science of the Total Environment**, v. 634, p. 1346-1351, 2018. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.04.051>

BRUGNARI, Tatiane *et al.* Characterisation of free and immobilised laccases from *Ganoderma lucidum*: application on bisphenol a degradation. **Biocatalysis and Biotransformation**, v. 39, n. 1, p. 71-80, 2021. <https://doi.org/10.1080/10242422.2020.1792448>

CAPARCO, Adam A.; DAUTEL, Dylan R.; CHAMPION, Julie A. Protein mediated enzyme immobilization. **Small**, v. 18, n. 19, p. 2106425, 2022. <https://doi.org/10.1002/smll.202106425>

CÁRDENAS-MORENO, Yosberto *et al.* Oxidoreductase enzymes: Characteristics, applications, and challenges as a biocatalyst. **Biotechnology and Applied Biochemistry**, v. 70, n. 6, p. 2108-2135, 2023.. <https://doi.org/10.1002/smll.202106425>

CAVALCANTE, Francisco TT *et al.* Current status and future perspectives of supports and protocols for enzyme immobilization. **Catalysts**, v. 11, n. 10, p. 1222, 2021. <https://doi.org/10.3390/catal11101222>

CAVALCANTE, Antônio Luthierre Gama *et al.* Advancements in enzyme immobilization on magnetic nanomaterials: toward sustainable industrial applications. **RSC Advances**, v. 14, n. 25, p. 17946-17988, 2024. <https://doi.org/10.1039/D4RA02939A>

CHEN, Zhonghao; OH, Wen-Da; YAP, Pow-Seng. Recent advances in the utilization of immobilized laccase for the degradation of phenolic compounds in aqueous solutions: A review. **Chemosphere**, v. 307, p. 135824, 2022. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2022.135824>

CHEN, Ning *et al.* Cross-linked enzyme aggregates immobilization: Preparation, characterization, and applications. **Critical Reviews in Biotechnology**, v. 43, n. 3, p. 369-383, 2023. <https://doi.org/10.1080/07388551.2022.2038073>

CONTATO, Alex Graça *et al.* Solid-state fermentation with orange waste: optimization of Laccase production from *Pleurotus pulmonarius* CCB-20 and decolorization of synthetic dyes. **Acta Scientiarum. Biological Sciences**, v. 42, p. 1-9, 2020. <https://doi.org/10.3390/fermentation8100510>

CONTATO, Alex Graça *et al.* Thermothelemomyces thermophilus cultivated with residues from the fruit pulp industry: enzyme immobilization on ionic supports of a crude cocktail with enhanced production of lichenase. **Folia Microbiologica**, p. 1-11, 2024. <https://doi.org/10.1007/s12223-024-01208-6>

COSTA, Isabela Oliveira *et al.* Enzyme immobilization technology as a tool to innovate in the production of biofuels: A special review of the Cross-Linked Enzyme Aggregates (CLEAs) strategy. **Enzyme and Microbial Technology**, v. 170, p. 110300, 2023. <https://doi.org/10.1016/j.enzmictec.2023.110300>

DATTA, Saptashwa *et al.* Immobilization of laccases and applications for the detection and remediation of pollutants: a review. **Environmental Chemistry Letters**, v. 19, n. 1, p. 521-538, 2021. <https://doi.org/10.1007/s10311-020-01081-y>

DE ARAÚJO, Caroline Aparecida Vaz *et al.* Biodecoloration, detoxification and biosorption of Reactive Blue 268 by *Trametes* sp. M3: a strategy for the treatment of textile effluents. **Water, Air, & Soil Pollution**, v. 231, p. 1-11, 2020. <https://doi.org/10.1007/s11270-020-04723-7>

FREITAS, Emanuelle Neiverth de *et al.* Enzymatic pretreatment with Laccases from *Lentinus sajor-caju* induces structural modification in Lignin and enhances the digestibility of Tropical Forage Grass (*Panicum maximum*) grown under future climate conditions. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 22, n. 17, p. 9445, 2021. <https://doi.org/10.3390/ijms22179445>

DEMIRCI, Sahin; SAHINER, Nurettin. Superporous neutral, anionic, and cationic cryogel reactors to improved enzymatic activity and stability of  $\alpha$ -Glucosidase enzyme via entrapment method. **Chemical Engineering Journal**, v. 409, p. 128233, 2021. <https://doi.org/10.1016/j.cej.2020.128233>

DORAU, Robin; GÖRBE, Tamás; SVEDENDAHL HUMBLE, Maria. Improved enantioselectivity of subtilisin Carlsberg towards secondary alcohols by protein engineering. **ChemBioChem**, v. 19, n. 4, p. 338-346, 2018. <https://doi.org/10.1002/cbic.201700408>

EKEOCHA, James *et al.* Challenges and opportunities of self-healing polymers and devices for extreme and hostile environments. **Advanced Materials**, v. 33, n. 33, p. 2008052, 2021. <https://doi.org/10.1002/adma.202008052>

GAN, Jian Song *et al.* Biodegradation of environmental pollutants using catalase-based biocatalytic systems. **Environmental Research**, v. 214, p. 113914, 2022. <https://doi.org/10.1016/j.envres.2022.113914>

GANONYAN, Nir *et al.* Entrapment of enzymes in silica aerogels. **Materials Today**, v. 33, p. 24-35, 2020. <https://doi.org/10.1016/j.mattod.2019.09.021>

GAO, Yongsheng; PENG, Kevin; MITRAGOTRI, Samir. Covalently Crosslinked hydrogels via step-growth reactions: crosslinking chemistries, polymers, and clinical impact. **Advanced Materials**, v. 33, n. 25, p. 2006362, 2021. <https://doi.org/10.1002/adma.202006362>

GAUR, Divya; DUBEY, Nidhi C.; TRIPATHI, Bijay P. Biocatalytic self-assembled synthetic vesicles and coacervates: From single compartment to artificial cells. **Advances in Colloid and Interface Science**, v. 299, p. 102566, 2022. <https://doi.org/10.1016/j.cis.2021.102566>

GUISAN, Jose M. et al. Enzyme immobilization strategies for the design of robust and efficient biocatalysts. **Current Opinion in Green and Sustainable Chemistry**, v. 35, p. 100593, 2022. <https://doi.org/10.1016/j.cogsc.2022.100593>

HARTMANN, Martin; KOSTROV, Xenia. Immobilization of enzymes on porous silicas—benefits and challenges. **Chemical Society Reviews**, v. 42, n. 15, p. 6277-6289, 2013. <https://doi.org/10.1039/C3CS60021A>

HOMAEI, Ahmad Abolpour et al. Enzyme immobilization: an update. **Journal of Chemical Biology**, v. 6, p. 185-205, 2013. <https://doi.org/10.1007/s12154-013-0102-9>

HONG, Jiyeon et al. Immobilization of laccase via cross-linked enzyme aggregates prepared using genipin as a natural cross-linker. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 169, p. 541-550, 2021. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2020.12.136>

HUANG, Lin; LI, Xirui; LI, Zhi. Immobilization of enzymes on polymers with upper critical solution temperature: promising engineering of enzymes for biocatalysis. **Reaction Chemistry & Engineering**, v. 9, n. 7, p. 1605-1628, 2024. <https://doi.org/10.1039/D3RE00685A>

HUSAIN, Q. High yield immobilization and stabilization of oxidoreductases using magnetic nanosupports and their potential applications: an update. **Current Catalysis** 2017 6(3):168-187, <https://doi.org/10.2174/2211544706666170704141828>

IMAM, Hasan T.; MARR, Patricia C.; MARR, Andrew C. Enzyme entrapment, biocatalyst immobilization without covalent attachment. **Green Chemistry**, v. 23, n. 14, p. 4980-5005, 2021. <https://doi.org/10.1039/D1GC01852C>

JAISWAL, Surbhi et al. Bioremediation and bioscavenging for elimination of organophosphorus threats: An approach using enzymatic advancements. **Environmental Research**, p. 118888, 2024. <https://doi.org/10.1016/j.envres.2024.118888>

JESIONOWSKI, Teofil; ZDARTA, Jakub; KRAJEWSKA, Barbara. Enzyme immobilization by adsorption: a review. **Adsorption**, v. 20, p. 801-821, 2014. <https://doi.org/10.1007/s10450-014-9623-y>

JIANG, Yong et al. Pros and cons in various immobilization techniques and carriers for enzymes. **Applied Biochemistry and Biotechnology**, p. 1-23, 2024. <https://doi.org/10.1007/s12010-023-04838-7>

KESHTA, Basem E.; GEMEAY, Ali H.; KHAMIS, Abeer A. Impacts of horseradish peroxidase immobilization onto functionalized superparamagnetic iron oxide nanoparticles as a biocatalyst for dye degradation. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 29, n. 5, p. 6633-6645, 2022. <https://doi.org/10.1007/s12010-023-04838-7>

KHAN, Mohammad Rafiq. Immobilized enzymes: a comprehensive review. **Bulletin of the National Research Centre**, v. 45, p. 1-13, 2021. <https://doi.org/10.1186/s42269-021-00649-0>

KHARRAT, Nadia *et al.* Immobilization of *Rhizopus oryzae* lipase on silica aerogels by adsorption: Comparison with the free enzyme. **Process Biochemistry**, v. 46, n. 5, p. 1083-1089, 2011. <https://doi.org/10.1016/j.procbio.2011.01.029>

KHATIK, Amol Gulab; JAIN, Arvind Kumar; MULEY, Abhijeet Bhimrao. Preparation, characterization and stability of cross linked nitrilase aggregates (nitrilase-CLEAs) for hydroxylation of 2-chloroisonicotinonitrile to 2-chloroisonicotinic acid. **Bioprocess and Biosystems Engineering**, v. 45, n. 9, p. 1559-1579, 2022. <https://doi.org/10.1007/s00449-022-02766-0>

KUJAWA, Joanna *et al.* Highly effective enzymes immobilization on ceramics: Requirements for supports and enzymes. **Science of The Total Environment**, v. 801, p. 149647, 2021. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2021.149647>

LAI, Jinghui *et al.* Enzyme catalyzes ester bond synthesis and hydrolysis: The key step for sustainable usage of plastics. **Frontiers in Microbiology**, v. 13, p. 1113705, 2023. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2022.1113705>

LOPEZ-GALLEGOS, Fernando *et al.* Stabilization of different alcohol oxidases via immobilization and post immobilization techniques. **Enzyme and Microbial Technology**, v. 40, n. 2, p. 278-284, 2007. <https://doi.org/10.1016/j.enzmictec.2006.04.021>

LYU, Xingyi *et al.* Immobilization of enzymes by polymeric materials. **Catalysts**, v. 11, n. 10, p. 1211, 2021. <https://doi.org/10.3390/catal1110121>

MANCO, Giuseppe; PORZIO, Elena; SUZUMOTO, Yoko. Enzymatic detoxification: a sustainable means of degrading toxic organophosphate pesticides and chemical warfare nerve agents. **Journal of Chemical Technology & Biotechnology**, v. 93, n. 8, p. 2064-2082, 2018. <https://doi.org/10.1002/jctb.5603>

MAGHRABY, Yasmin R. *et al.* Enzyme immobilization technologies and industrial applications. **ACS Omega**, v. 8, n. 6, p. 5184-5196, 2023. <https://doi.org/10.1021/acsomega.2c07560>

MEENA, Jairam *et al.* Recent advances in nano-engineered approaches used for enzyme immobilization with enhanced activity. **Journal of Molecular Liquids**, v. 338, p. 116602, 2021. <https://doi.org/10.1016/j.molliq.2021.116602>

MIRSAAMI, Seyed Mehrdad; MIRSAAMI, Mahsa; GHODOUSIAN, Amin. Techniques for immobilizing enzymes to create durable and effective biocatalysts. **Results in Chemistry**, p. 101486, 2024. <https://doi.org/10.1016/j.rechem.2024.101486>

MOHIDEM, Nur Atikah *et al.* Recent advances in enzyme immobilisation strategies: An overview of techniques and composite carriers. **Journal of Composites Science**, v. 7, n. 12, p. 488, 2023. <https://doi.org/10.3390/jcs7120488>

MONDÉJAR-LÓPEZ, María *et al.* A review on the encapsulation of "eco-friendly" compounds in natural polymer-based nanoparticles as next generation nano-agrochemicals for sustainable agriculture and crop management. **International Journal of Biological Macromolecules**, p. 136030, 2024. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2024.136030>

MORSI, Rana *et al.* Immobilized soybean peroxidase hybrid biocatalysts for efficient degradation of various emerging pollutants. **Biomolecules**, v. 11, n. 6, p. 904, 2021. <https://doi.org/10.3390/biom11060904>

MUSTAFA, Yasemin Leyla *et al.* Redefining drug therapy: innovative approaches using catalytic compartments. **Expert Opinion on Drug Delivery**, v. 21, n. 9, p. 1395-1413, 2024. <https://doi.org/10.1080/17425247.2024.2403476>

NARAMITTANAKUL, Apisit *et al.* Development of a continuous-flow system with immobilized biocatalysts towards sustainable bioprocessing. **Reaction Chemistry & Engineering**, v. 6, n. 10, p. 1771-1790, 2021. <https://doi.org/10.1039/D1RE00189B>

NEMIWAL, Meena; ZHANG, Tian C.; KUMAR, Dinesh. Enzyme immobilized nanomaterials as electrochemical biosensors for detection of biomolecules. **Enzyme and Microbial Technology**, v. 156, p. 110006, 2022. <https://doi.org/10.1016/j.enzmictec.2022.110006>

ORTOLAN, Guilherme Guimarães *et al.* Enhancing Laccase Production by *Trametes hirsuta* GMA-01 Using Response Surface Methodology and Orange Waste: A Novel Breakthrough in Sugarcane Bagasse Saccharification and Synthetic Dye Decolorization. **Reactions**, v. 5, n. 3, p. 635-650, 2024. <https://doi.org/10.3390/reactions5030032>

PEREIRA, Adejanildo *et al.* Polymers as encapsulating agents and delivery vehicles of enzymes. **Polymers**, v. 13, n. 23, p. 4061, 2021. <https://doi.org/10.3390/polym13234061>

QIAN, Junqing *et al.* Immobilization of lipase on silica nanoparticles by adsorption followed by glutaraldehyde cross-linking. **Bioprocess and Biosystems Engineering**, v. 46, n. 1, p. 25-38, 2023. <https://doi.org/10.1007/s00449-022-02810-z>

RASHID, Ruhma *et al.* A state-of-the-art review on wastewater treatment techniques: the effectiveness of adsorption method. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 28, p. 9050-9066, 2021. <https://doi.org/10.1007/s11356-021-12395-x>

RATHI, B. Senthil; KUMAR, P. Senthil; VO, Dai-Viet N. Critical review on hazardous pollutants in water environment: Occurrence, monitoring, fate, removal technologies and risk assessment. **Science of The Total Environment**, v. 797, p. 149134, 2021. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2021.149134>

REMONATTO, Daniela *et al.* Applications of immobilized lipases in enzymatic reactors: A review. **Process Biochemistry**, v. 114, p. 1-20, 2022. <https://doi.org/10.1016/j.procbio.2022.01.004>

RIOS-MIGUEL, Ana B. *et al.* Microbial paracetamol degradation involves a high diversity of novel amidase enzyme candidates. **Water Research X**, v. 16, p. 100152, 2022. <https://doi.org/10.1016/j.wroa.2022.100152>

ROBESCU, Marina Simona; BAVARO, Teodora. A comprehensive guide to enzyme immobilization: All you need to know. **Molecules**, v. 30, n. 4, p. 939, 2025. <https://doi.org/10.3390/molecules30040939>

ROSENTHAL, Alice *et al.* Enzyme immobilization on protein-resistant PNIPAAm brushes: impact of biotin linker length on enzyme amount and catalytic activity. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v. 171, p. 351-357, 2018. <https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2018.07.047>

SADRAEI, Alireza; NAGHIB, Seyed Morteza. 4D printing of physical stimuli-responsive hydrogels for localized drug delivery and tissue engineering. **Polymer Reviews**, v. 65, n. 1, p. 104-168, 2025. <https://doi.org/10.1080/15583724.2024.2427184>

SARAVANAN, A. *et al.* A review on catalytic-enzyme degradation of toxic environmental pollutants: Microbial enzymes. **Journal of Hazardous Materials**, v. 419, p. 126451, 2021. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2021.126451>

SELLAMI, Kheireddine *et al.* Peroxidase enzymes as green catalysts for bioremediation and biotechnological applications: A review. **Science of the Total Environment**, v. 806, p. 150500, 2022. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2021.150500>

SHARMA, Archita *et al.* Employment of polysaccharides in enzyme immobilization. **Reactive and Functional Polymers**, v. 167, p. 105005, 2021. <https://doi.org/10.1016/j.reactfunctpolym.2021.105005>

SHARMA, Divya; BHARDWAJ, Kamal Kumar; GUPTA, Reena. Immobilization and applications of esterases. **Biocatalysis and Biotransformation**, v. 40, n. 3, p. 153-168, 2022. <https://doi.org/10.1080/10242422.2021.2013825>

SI, Jing *et al.* Selection of a pH-and temperature-stable laccase from *Ganoderma australe* and its application for bioremediation of textile dyes. **Journal of Environmental Management**, v. 299, p. 113619, 2021. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2021.113619>

SICARD, Clémence. In situ enzyme immobilization by covalent organic frameworks. **Angewandte Chemie**, v. 135, n. 1, p. e202213405, 2023. <https://doi.org/10.1002/ange.202213405>

SILVA, Allison RM *et al.* The chemistry and applications of metal–organic frameworks (MOFs) as industrial enzyme immobilization systems. **Molecules**, v. 27, n. 14, p. 4529, 2022. <https://doi.org/10.3390/molecules27144529>

SINGH, Anil Kumar *et al.* Biocatalytic Functionalities of Lignin Peroxidase-Based Systems in Lignin Depolymerization and Pollutants Removal from Environmental Matrices. **Current Pollution Reports**, v. 10, n. 3, p. 345-361, 2024. <https://doi.org/10.1007/s40726-024-00310-0>

SMITH, Soshana *et al.* A comprehensive review of the covalent immobilization of biomolecules onto electrospun nanofibers. **Nanomaterials**, v. 10, n. 11, p. 2142, 2020. <https://doi.org/10.3390/nano10112142>

SOMU, Prathap *et al.* Immobilization of enzymes for bioremediation: A future remedial and mitigating strategy. **Environmental Research**, v. 212, p. 113411, 2022. <https://doi.org/10.1016/j.envres.2022.113411>

SYBUIA, Priscila Ayumi *et al.* Application of the white-rot fungus *Trametes* sp.(C3) laccase in the removal of acetaminophen from aqueous solutions. **Journal of Water Process Engineering**, v. 57, p. 104677, 2024. <https://doi.org/10.1016/j.jwpe.2023.104677>

TAPDIGOV, Shamo Zokhrab. The bonding nature of the chemical interaction between trypsin and chitosanbased carriers in immobilization process depend on entrapped method: A review. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 183, p. 1676-1696, 2021. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2021.05.059>

THAKUR, Abhinay; KUMAR, Ashish. Emerging paradigms into bioremediation approaches for nuclear contaminant removal: From challenge to solution. **Chemosphere**, v. 352, p. 141369, 2024. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2024.141369>

TOPRAK, Ali; TÜKEL, S. Seyhan; YILDIRIM, Deniz. Stabilization of multimeric nitrilase via different immobilization techniques for hydrolysis of acrylonitrile to acrylic acid. **Biocatalysis and Biotransformation**, v. 39, n. 3, p. 221-231, 2021. <https://doi.org/10.1080/10242422.2020.1869217>

UBER, Thaís Marques *et al.* Immobilization of *Trametes versicolor* Laccase by Interlinked Enzyme Aggregates with Improved pH Stability and Its Application in the Degradation of Bisphenol A. **Reactions**, v. 6, n. 1, p. 9, 2025. <https://doi.org/10.3390/reactions6010009>

ULLAH, Muhammad Wajid *et al.* Cell-free systems for biosynthesis: towards a sustainable and economical approach. **Green Chemistry**, v. 25, n. 13, p. 4912-4940, 2023. <https://doi.org/10.1039/D3GC00985H>

URREA, Diego Alberto Morales *et al.* Immobilization of horseradish peroxidase in Ca-alginate beads: Evaluation of the enzyme leakage on the overall removal of an azo-dye and mathematical modeling. **Process Safety and Environmental Protection**, v. 156, p. 134-143, 2021. <https://doi.org/10.1016/j.psep.2021.10.006>

VELASCO-LOZANO, Susana; ROCHA-MARTIN, Javier; SANTOS, José CS dos. Designing carrier-free immobilized enzymes for biocatalysis. **Frontiers in Bioengineering and Biotechnology**, v. 10, p. 924743, 2022. <https://doi.org/10.3389/fbioe.2022.924743>

WANG, Cuie; LIAO, Kaiming. Recent advances in emerging metal-and covalent-organic frameworks for enzyme encapsulation. **ACS Applied Materials & Interfaces**, v. 13, n. 48, p. 56752-56776, 2021. <https://doi.org/10.1021/acsami.1c13408>

WANG, Shunye *et al.* SUMO-G5C23-D208G@ ZIF-F: A Novel Immobilized Enzyme with Enhanced Stability and Reusability for Organophosphorus Hydrolysis. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 26, n. 6, p. 2469, 2025. <https://doi.org/10.3390/ijms26062469>

WENG, Yilun *et al.* Alginate-based materials for enzyme encapsulation. **Advances in Colloid and Interface Science**, v. 318, p. 102957, 2023. <https://doi.org/10.1016/j.cis.2023.102957>

YAASHIKAA, P. R.; DEVI, M. Keerthana; KUMAR, P. Senthil. Advances in the application of immobilized enzyme for the remediation of hazardous pollutant: A review.

**Chemosphere**, v. 299, p. 134390, 2022. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2022.134390>

ZHANG, Han *et al.* Improving the Stability of Membrane-Binding Enzymes for the Sustainable Production of Monoterpenes in a MOF-on-aMOF Bifunctional Core–Shell Nanoreactor. **ACS Sustainable Chemistry & Engineering**, v. 12, n. 25, p. 9415–9427, 2024. <https://doi.org/10.1021/acssuschemeng.4c01502>

ZHOU, Shi-Peng; XUE, Ya-Ping; ZHENG, Yu-Guo. Maximizing the potential of nitrilase: Unveiling their diversity, catalytic proficiency, and versatile applications. **Biotechnology Advances**, p. 108352, 2024. <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2024.108352>

ŽNIDARŠIČ-PLAZL, Polona. Biocatalytic process intensification via efficient biocatalyst immobilization, miniaturization, and process integration. **Current Opinion in Green and Sustainable Chemistry**, v. 32, p. 100546, 2021. <https://doi.org/10.1016/j.cogsc.2021.100546>

ZOU, Shu-Ping; GU, Kai; ZHENG, Yu-Guo. Covalent immobilization of halohydrin dehalogenase for efficient synthesis of epichlorohydrin in an integrated bioreactor. **Biotechnology Progress**, v. 34, n. 3, p. 784–792, 2018. <https://doi.org/10.1002/btpr.2617>

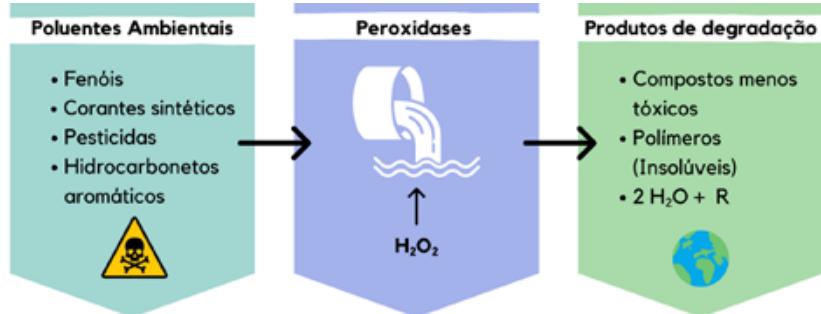
ZUCCA, Paolo; SANJUST, Enrico. Inorganic materials as supports for covalent enzyme immobilization: methods and mechanisms. **Molecules**, v. 19, n. 9, p. 14139–14194, 2014. <https://doi.org/10.3390/molecules190914139>

# 5

*Luís Felipe Oliva dos Santos  
Sarah de Oliveira Vicente  
Cristina Giatti Marques de Souza  
Rosane Marina Peralta*

## PEROXIDASES NA BIORREMEDIÇÃO ENZIMÁTICA: FONTES, APLICAÇÕES AMBIENTAIS E GARGALOS TECNOLÓGICOS

DOI: 10.31560/pimentacultural/978-85-7221-472-5

**RESUMO:**

A crescente demanda por soluções sustentáveis frente à crise ambiental tem impulsionado o uso de enzimas na biorremediação. As peroxidases destacam-se pelo seu alto potencial catalítico, seletividade e compatibilidade com processos "verdes". Pertencentes ao grupo das óxido-redutases, as peroxidases catalisam reações oxidativas utilizando peróxido de hidrogênio como acceptor de elétrons, sendo eficazes na degradação de diversos xenobióticos. São produzidas por uma ampla variedade de organismos, incluindo plantas, microrganismos e algas, cada qual com características bioquímicas distintas. Peroxidases vegetais, como a peroxidase de rabano silvestre (*horseradish peroxidase*, HRP), são amplamente utilizadas na degradação de corantes e fenóis, destacando-se por sua estabilidade térmica e eficiência em pHs moderados. Já as microbianas, como lignina peroxidase (LiP), manganês peroxidase (MnP) e peroxidases descolorizantes de corantes (DyPs), apresentam maior versatilidade, atuando sob condições extremas e degradando compostos complexos, incluindo plásticos, pesticidas e hidrocarbonetos aromáticos policíclicos. As peroxidases de algas e microalgas, embora menos estudadas, demonstram vantagens econômicas e ecológicas, com capacidade relevante para tratamento de metais pesados. Avanços em engenharia genética, imobilização enzimática e expressão heteróloga têm ampliado a aplicabilidade industrial dessas enzimas, aumentando sua estabilidade e viabilizando seu reuso. Assim, as peroxidases consolidam-se como ferramentas promissoras para a mitigação de poluentes em solos e águas contaminadas, com potencial de aplicação em ambientes com múltiplos contaminantes. Para a bioquímica ambiental, o estudo e aplicação dessas enzimas representam uma fronteira importante na busca por tecnologias limpas e eficientes.

**Palavras-chave:** biorremediação, enzimas, peroxidases, poluentes.

## INTRODUÇÃO

Diante da crescente degradação ambiental causada por atividades humanas, torna-se urgente o desenvolvimento e a adoção de novas tecnologias que respeitem os limites ecológicos do planeta. Tecnologias sustentáveis, que minimizem a emissão de poluentes, reduzam o consumo de recursos naturais e promovam a circularidade de materiais, são fundamentais para preservar os ecossistemas e garantir a qualidade de vida das futuras gerações. Ao mesmo tempo, é essencial promover a substituição progressiva de tecnologias poluidoras, cujos impactos negativos comprometem a saúde ambiental e humana. A transição para soluções mais limpas e eficientes não é apenas uma responsabilidade ética, mas também uma oportunidade estratégica para impulsionar a inovação e a sustentabilidade em escala global. Neste contexto encaixa-se perfeitamente o uso de enzimas para eliminação de contaminantes industriais e ambientais.

Dentre as enzimas empregadas com propósitos de biodegradação, as peroxidases têm ganhado bastante atenção. As peroxidases são um grupo de enzimas oxidorredutases que catalisam reações de oxidação, utilizando o peróxido de hidrogênio ( $H_2O_2$ ) ou outros peróxidos como agentes oxidantes. Essas enzimas atuam sobre uma ampla variedade de substratos orgânicos e inorgânicos, promovendo a oxidação de compostos fenólicos, aromáticos e outros poluentes complexos. Alguns exemplos de peroxidases estudadas e utilizadas em biorremediação são as peroxidases dependentes de manganês (MnP) e a lignina peroxidase (LiP), abundantes em fungos, a peroxidase de raiz forte (HRP) proveniente de vegetais, e as peroxidases descolorizantes de corantes (DyP) encontradas em bactérias. O presente capítulo tem o propósito de apresentar as enzimas peroxidases, onde são encontradas, sua diversidade e discutir aplicações práticas dessas enzimas na biorremediação de poluentes.

## UMA VISÃO GERAL DAS PEROXIDASES

As peroxidases (POD) (EC 1.11.1) pertencem ao grupo das oxidoredutases. As peroxidases podem ser hêmicas ou não hêmicas, ou seja, com ou sem grupo heme em sua estrutura. O grupo heme é um grupo prostético que possui um átomo de ferro III ligado a um anel orgânico heterocíclico com o nome protoporfirina IX. De acordo com os dados encontrados na PeroxiBase, 74% das sequências de proteínas peroxidases foram identificadas como pertencentes às peroxidases hêmicas e principalmente produzidas por plantas, fungos, bactérias e animais, sendo que 87% das peroxidases hêmicas são relatadas como de origem não animal (PASSARDI *et al.*, 2007a). As peroxidases apresentam a capacidade de catalisar diversas reações oxidativas orgânicas e inorgânicas usando peróxido como substrato, ou, em alguns casos, oxigênio como um acceptor de hidrogênio, como representado na (Figura 1). Elas possuem capacidade de catalisar reações como peroxidação, oxidação, decomposição catalítica e hidroxilação (DE OLIVEIRA; SANTOS; BUFFON, 2021). A classe das peroxidases inclui diferentes enzimas encontradas em células de mamíferos, algumas plantas e em microrganismos, que serão exploradas nos próximos tópicos.

**Figura 1 - Reação geral das peroxidases**



As peroxidases vegetais pertencentes à classe III tem um papel no metabolismo da parede celular, incluindo lignificação e suberização, no metabolismo das espécies de oxigênio reativo (ROS), no metabolismo de auxinas, crescimento de frutas e amadurecimento, na defesa contra patógenos, etc. (PRICE; NORSWORTHY, 2013). Peroxidases estão associadas a diversos processos fisiológicos como regeneração e reparação de tecidos, conexões-cruzadas de polissacarídeos em paredes celulares, mecanismos de resistência a patógenos, desintoxicação de metais pesados, funções durante

estresse oxidativo, processos do metabolismo celular e reações de biodegradação (RIAZ *et al.*, 2023)

As peroxidases de plantas têm ampla distribuição subcelular, sendo encontradas no citoplasma ou associadas com as paredes celulares, membranas, núcleos, mitocôndrias e ribossomos (DE SOUZA ANDRADE; MAEDA, 1998). As peroxidases vegetais são reconhecidas como as enzimas vegetais mais resistentes ao calor, e sua inativação tem sido tradicionalmente utilizada como um critério para avaliar a eficácia do processo de branqueamento em alimentos vegetais. As enzimas peroxidase e polifenoloxidase são responsáveis pelo escurecimento em frutas, vegetais e seus produtos processados, por isso o controle das atividades destas enzimas é de grande importância durante a transformação dessas matérias-primas para a obtenção de produtos processados (CLEMENTE; PASTORE, 1998). Entre as peroxidases encontradas em plantas encontram-se a ascorbato peroxidase, glutationa peroxidase, catalase, guaiacol peroxidase e tiol peroxidase, todas representadas na Figura 2.

Figura 2 - Principais peroxidases de plantas

### Peroxidases de plantas

**Heme peroxidases**  
(Super família peroxidase-catalase):

**Família 1: Peroxidases Classe 1**  
Ascorbato peroxidase (APX)  
Catalase (CAT)  
Citocromo C peroxidases (CPXs)

**Família 3: Peroxidases Classe 3**  
Peroxidases secretadas por plantas (guaiacol peroxidase, PRX, POD)  
peroxidases APX-relacionadas

**Não- heme peroxidases**  
(Superfamília tiol peroxidase):

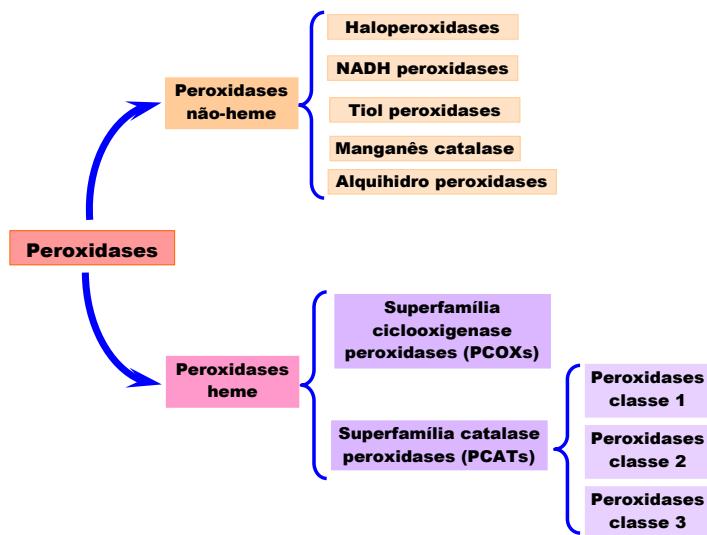
**Família: Peroxiredoxina**  
Peroxiredoxinas (PRXs) ou tioredoxina peroxidases (TPXs)

**Família: Glutationa peroxidase**  
Glutationa peroxidases (GPXs) ou enzimas tipo - Glutationa peroxidases(GPXLs)

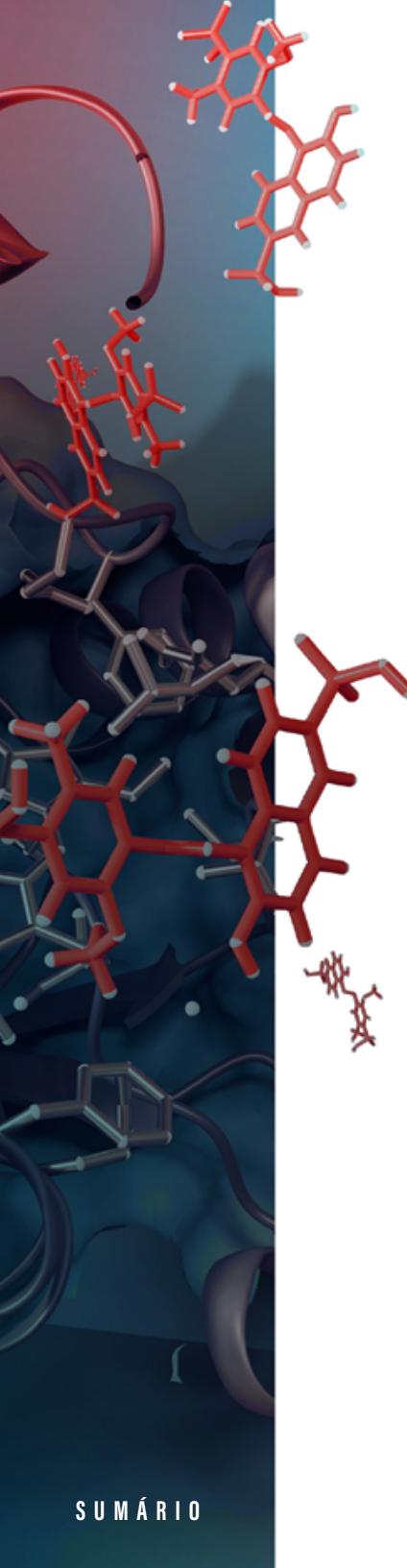
Fonte: os autores, baseado em BELA; RIYAZUDDIN; CSISZÁR, (2022).

As peroxidases microbianas são principalmente de três tipos: peroxidase dependente de manganês (Mn peroxidase), lignina peroxidase e peroxidase versátil. Elas são de grande importância na degradação de xenobióticos graças às suas propriedades. Estudos de Zhang *et al.* (2018) e Barber; Liu; Smith, (2020), reportam que as peroxidases do tipo dependentes de manganês e lignina peroxidase possuem capacidade de degradar antibióticos como ciprofloxacina, norfloxacina e sulfametoxazol, além de poluentes fenólicos. As peroxidases microbianas também desempenham papel importante nas indústrias têxtil, papeleira e alimentícia (TWALA *et al.*, 2020) e são obtidas de bactérias (*Bacillus subtilis*, *Bacillus sphaericus*, *Escherichia coli*, *Citrobacter* spp., *Pseudomonas* spp.), cianobactéria (*Anabaena* spp.), fungos (*Coprinopsis cinerea*, *Candida krusei*, *Phanerochaete chrysophorum*), actinomicetos (*Thermobifida fuscata*, *Streptomyces* spp.) e leveduras. Assim como as peroxidases de plantas, as peroxidases microbianas podem ser divididas em hêmicas e não hêmicas (Figura 3).

**Figura 3 - Principais peroxidases microbianas**



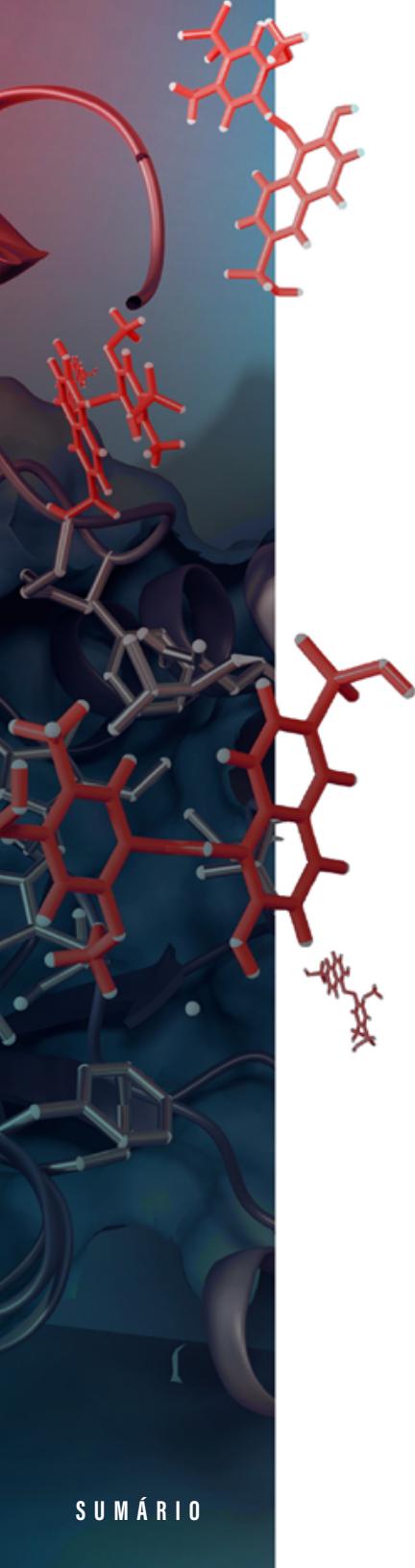
Fonte: os autores, baseado em TWALA *et al.* (2020).



Algumas e microalgas também são fontes de peroxidases produzidas com baixo custo. As microalgas têm várias vantagens na biorremediação de metais pesados quando comparado com bactérias e fungos, por conta da sua tolerância e alta capacidade de acumulação (LEÓN-VAZ *et al.*, 2021). A produção de peroxidases em algas e microalgas se dá pela necessidade de desintoxicação das espécies reativas de oxigênio (EROs) e preservação da homeostase celular, através dos amplos mecanismos protetores. Por estarem no mar, o agente mais antigo e poderoso para as algas e microalgas se protegerem das EROs, é o iodeto. Foi demonstrado por Küpper *et al.* (2008) que o iodeto se acumula como um agente antioxidante que pode rapidamente e não enzimaticamente eliminar EROs ou pode agir como um doador de elétrons para as enzimas haloperoxidases que atuam na degradação de  $H_2O_2$  (HERNÁNDEZ *et al.*, 2018). Além das haloperoxidases, a catalase, ascorbato peroxidase e glutatona peroxidase são as mais importantes peroxidases de algas e microalgas. As espécies mais estudadas em termos de suas peroxidases são *Cladophora glomerata*, *Polysiphonia arctica*, *Fucus distichum* (DUMMERMUTH *et al.*, 2003), *Acrosiphonia penicilliformis*, *Monostroma arcticum*, *Chaetomorpha linum*, *Chaetomorpha melagonium*, *Devaleraea ramentacea* e *Palmaria palmata* (AGUILERA *et al.*, 2002),

## PEROXIDASES VEGETAIS EM BIORREMEDIÇÃO: MECANISMOS E APLICAÇÕES

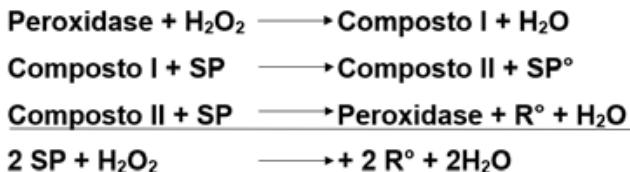
Por ser responsável pela proteção antioxidante nas plantas, quase todas as espécies produzem peroxidases, como *Cedrela fissilis*, *Commiphora gileadensis*, *Ficus carica*, *Artocarpus heterophyllus*. As peroxidases também são encontradas nos tecidos vegetais como no bulbo do alho (*Allium sativum*), tubérculo da batata-doce



(*Ipomoea batatas*), tubérculo do rabanete (*Raphanus sativus*) e na semente do sorgo bicolor (*Sorghum bicolor*) (HAAS; VAZ; KEMPKA, 2019). Entretanto, em processos de biorremediação a mais importante das peroxidases vegetais é a peroxidase da raiz forte (*Armoracia rusticana*) na sua forma purificada (horseradish peroxidase - HRP).

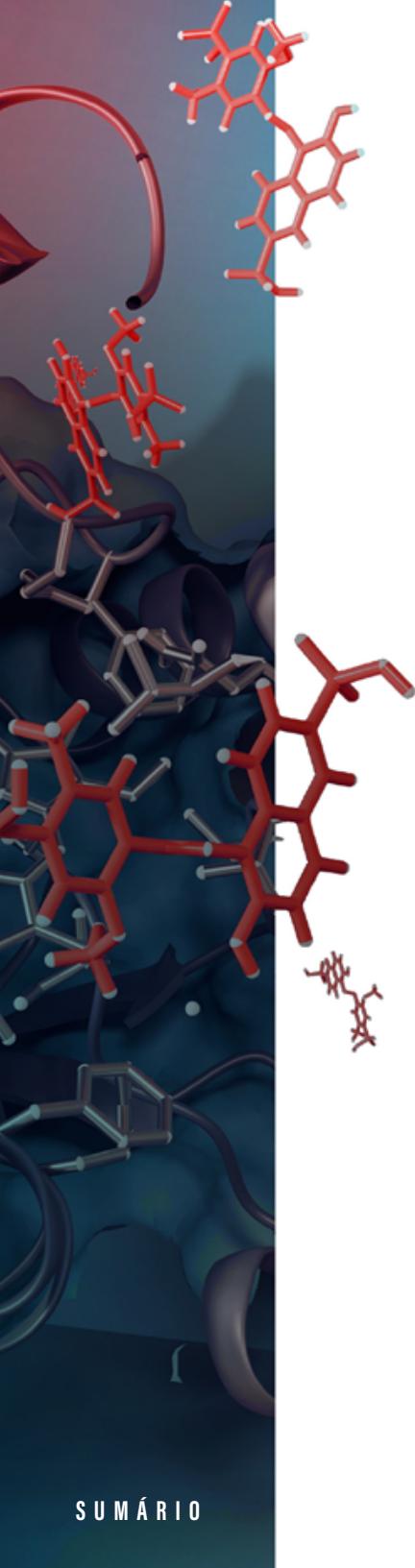
Para degradação de compostos aromáticos, as peroxidases de plantas exibem um mecanismo de ação comum, que pode ser dividido em 3 passos (Figura 4). De forma geral o processo inicia-se com a coordenação do heme férrico com o peróxido. A clivagem heterolítica do peróxido coordenado ocorre imediatamente, resultando na formação do composto I semiestável (radical oxiferril porfirina) e uma molécula de água. Na etapa seguinte, o composto I aceita um elétron de um substrato rico em elétrons e gera o composto II e um radical livre do substrato (intermediário oxiferril heme). Na última etapa, o composto II é reduzido por uma segunda molécula do substrato, restaurando a peroxidase férrica, o radical livre e uma molécula de água.

**Figura 4 - Reações da peroxidase.** SP= substrato da peroxidase;  
R°= produto de radical livre derivado desse substrato

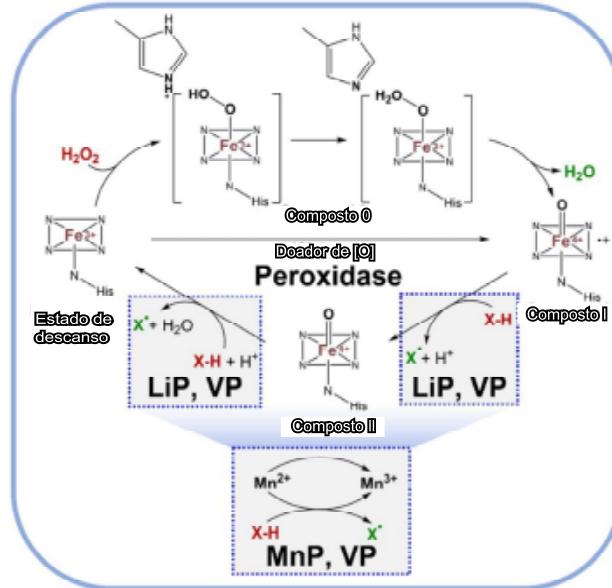


Fonte: Adaptada de AHSAN *et al.* (2021).

Embora os mecanismos de ação das peroxidases apresentem algumas variações, eles compartilham características envolvendo o peróxido de hidrogênio ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ) como um co-substrato, o estado de descanso, e os compostos 0, I e II (KUMAR; CHANDRA, 2020), conforme demonstrado na Figura 5. Elas conseguem catalisar diversas reações como oxidação, oxigenação, peroxidação, de hidrogenação, halogenação, desalogenação, N-dealquilação, e é através destas reações que é possível haver a degradação dos mais diversos tipos de xenobióticos.

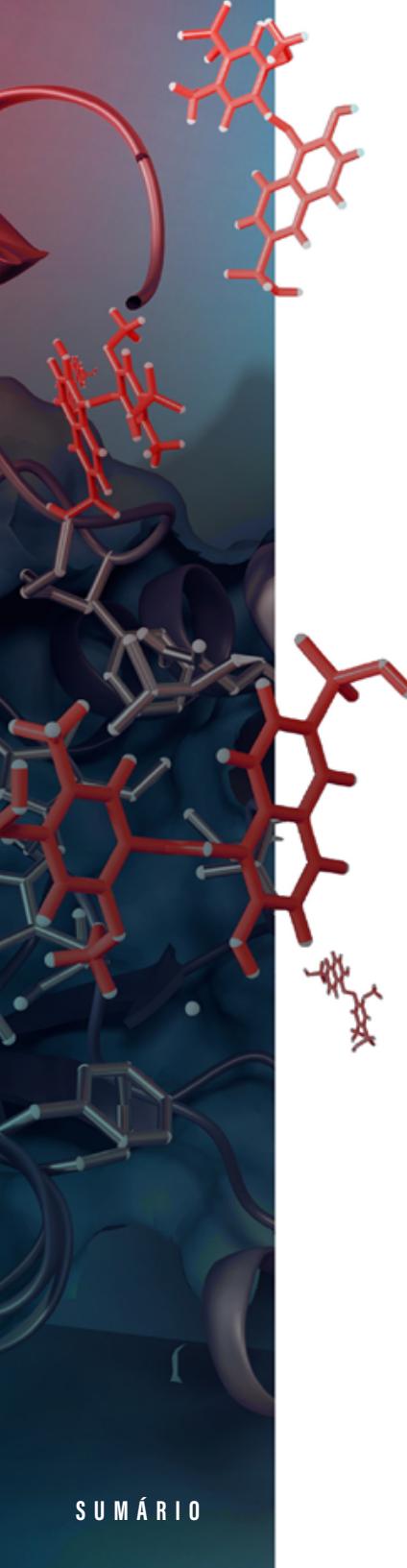


**Figura 5 - Mecanismo geral das peroxidases.** LiP= lignina peroxidase; VP= versátil peroxidase; MnP=Mn peroxidase



Fonte: Adaptado de KHAN et al. (2023).

O uso das peroxidases na biorremediação é bem amplo. Graças à sua estrutura e mecanismos, elas podem degradar diversos tipos de substâncias como as encontradas em efluentes de diferentes tipos (têxteis, papel, celulose, alimentos), óleos, pesticidas e esgotos. Podem degradar também HAPs (hidrocarbonetos aromáticos policíclicos), corantes sintéticos e vários outros xenobióticos (SELLAMI *et al.*, 2022; BASUMATARY *et al.*, 2022). Riaz *et al.* (2023) demonstraram a capacidade de uma peroxidase vegetal proveniente de *Citrus limon* na degradação dos corantes 1847 Colafx Blue e 621 Colafx Blue R em 83% e 99%, respectivamente, evidenciando a sua capacidade em tratar de modo eficiente águas contaminadas. Estudos conduzidos com peroxidases de soja verificaram uma remoção de mais de 94% das quinolinas 3-hidroxi e 3-aminoquinolina (MASHADI *et al.*, 2019). Como relatado por Gomes *et al.* (2022), a peroxidase de



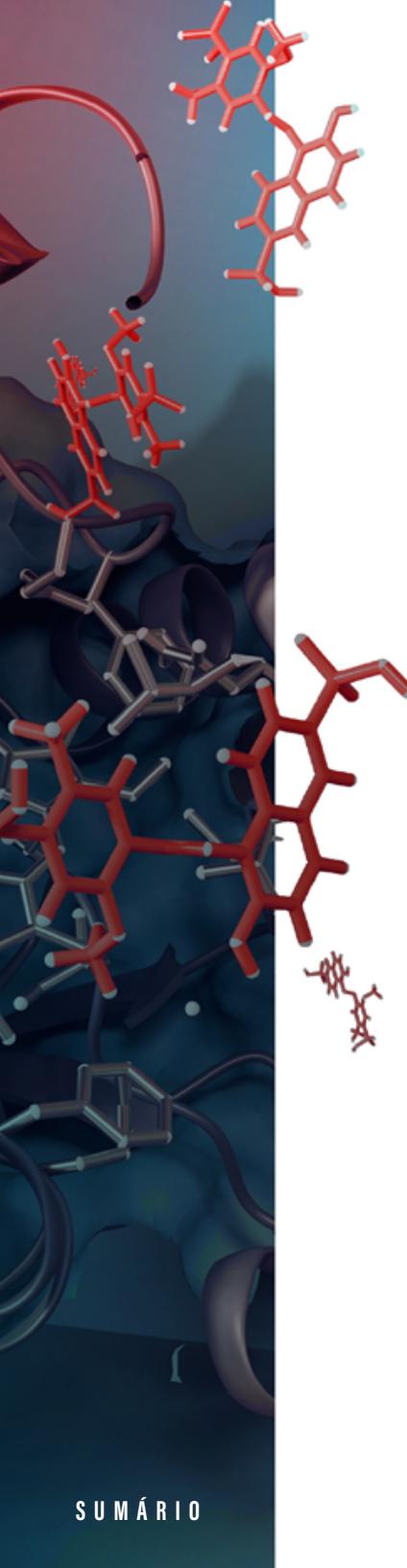
ascorbato (APX) tem papel central na tolerância da planta *Lemna minor* à amoxicilina e a atividade da catalase (CAT) foi importante para reduzir o dano oxidativo quando exposta a ciprofloxacina (CIP). Ambas as enzimas demonstraram significância para tolerância à eritromicina. A peroxidase de rabâno silvestre (HRP) demonstrou habilidade em degradar a molécula de aflatoxina B1 (AFB1) e com técnicas de imobilização efetivadas por Zhou *et al.* (2019) foi possível conciliar a catálise da enzima com adsorção da molécula de AFB1, assim como possibilitar o reuso da enzima. A imobilização da peroxidase HRP com métodos de nanoencapsulação para biodegradação de compostos fenólicos exibiu aumento na degradação das moléculas de fenol, 4-clorofenol, bisfenol A e 4-metoxifenol, cuja degradação pela enzima livre foi de 2,1%, 11,1%, 21,7% e 47%, mas de 45,6%; 35,2%, 40,2% e 88,9%, respectivamente, pela enzima imobilizada. Além disso, a imobilização modificou as propriedades físico-químicas da enzima, melhorando a estabilidade térmica e o tempo de armazenamento, sem sacrificar a cinética (LIU *et al.*, 2020).

As peroxidases de rabâno silvestre (HRP) e de soja e de outras fontes vegetais têm sido imobilizadas em diferentes suportes, o que potencializa sua aplicação em tratamentos de águas residuais em larga escala (HUSAIN; UMBER, 2011; QAYYUM; MAROOF; YASHA, 2009). O desempenho dessas enzimas pode variar conforme o substrato. A peroxidase de rabâno silvestre, por exemplo, apresentou maior atividade degradadora do azul de bromofenol em comparação com a capacidade de degradação do ácido ferúlico (SILVA *et al.*, 2016). De modo geral, as peroxidases vegetais oferecem uma abordagem ecologicamente correta e eficaz para a biorremediação de poluentes orgânicos e podem ser utilizadas no tratamento de águas (BASUMATARY *et al.*, 2022; QAYYUM; MAROOF; YASHA, 2009).

## PEROXIDASES MICROBIANAS NA BIORREMEDIÇÃO

As principais classes de peroxidases produzidas por microrganismos consistem nas enzimas I e II. As da classe I são relacionadas ao metabolismo, como as ascorbato peroxidases, peroxidase do citocromo C de leveduras e as peroxidases-catalases bacterianas, sendo essas últimas utilizadas na eliminação de peróxido de hidrogênio intracelular (PASSARDI *et al.*, 2007b). As peroxidases da classe II são mais amplamente empregadas na biorremediação. Trata-se de peroxidases hêmicas que incluem as ligninas peroxidases (LIP), as versáteis peroxidases (VPs), a Mn peroxidase (MnPs) e as peroxidases descolorizantes (DyPs) (Figura 5).

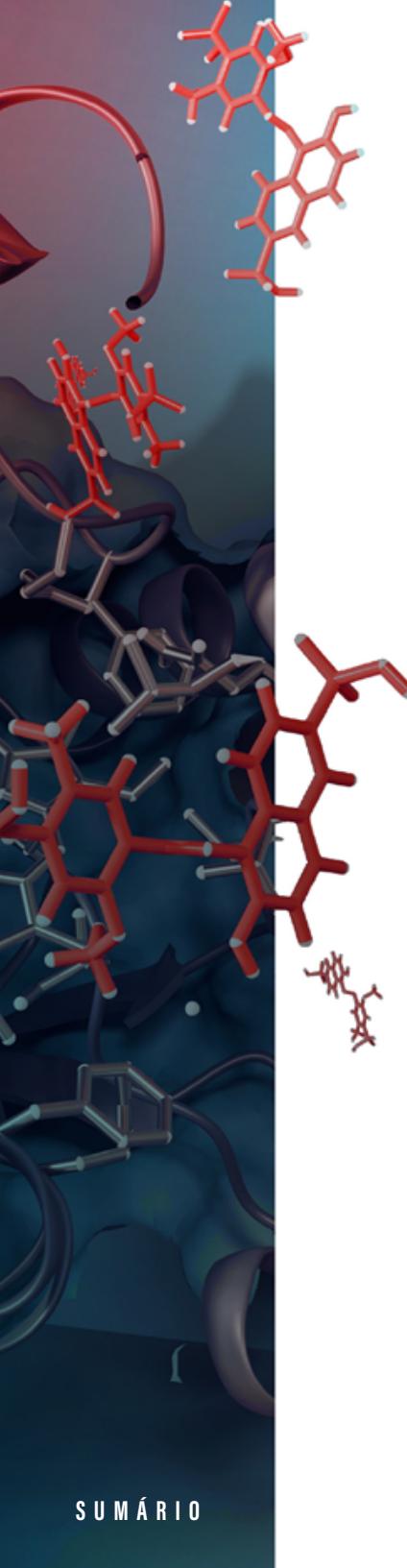
Fungos ligninolíticos apresentam um sistema enzimático dedicado à degradação e utilização da lignina (DE GONZALO *et al.*, 2016) e são apontados como os principais fungos filamentosos produtores de peroxidases. A lignina peroxidase (LiP, EC. 1.11.1.14) é comum em fungos de degradação branca e degradação parda (SILVA *et al.*, 2011). A manganês peroxidase (MnP, EC 1.11.1.13) é limitada a certas famílias de basidiomicetos (*Agaricales*, *Corticiales*, *Polyphorales*, *Hymenochaetales*) (JANUSZ *et al.*, 2013). As versátil peroxidases (que podem atuar com ou sem o íon manganês), são bem descritas especialmente nos fungos *Bjerkandera* sp. BOS55, *Bjerkandera* sp. (B33/3), *B. adusta* UAMH 8258, *Bjerkandera fumosa*, *Pleurotus ostreatus*, *Pleurotus eryngii*, *Pleurotus pulmonarius*, *Lepista irina* e *Panus tigrinus* (HERNÁNDEZ-BUENO, 2021). Essas peroxidases (LiP e MnP) desempenham na natureza a tarefa de biodegradadores do polímero lignina e são capazes de alterar a cadeia principal de polímeros sintéticos, como o polietileno, tornando-o mais sensível à quebra enzimática por outras enzimas (KHATOON *et al.*, 2016; GHOSH; PAL, 2021; KHATUA; SIMAL-GANDARA; ACHARYA, 2024; TWALA *et al.*, 2020). Enzimas como a lignina peroxidase, a manganês peroxidase



e a cloroperoxidase têm se mostrado promissoras na degradação de contaminantes tóxicos, mutagênicos e carcinogênicos (BILAL *et al.*, 2021). Essas enzimas são capazes de degradar uma ampla variedade de poluentes ambientais, incluindo hidrocarbonetos derivados do petróleo, dioxinas, efluentes de corantes industriais, herbicidas e pesticidas (TWALA *et al.*, 2020). As peroxidases microbianas têm demonstrado elevado potencial na degradação e mineralização de contaminantes orgânicos xenobióticos e recalcitrantes (BILAL; IQBAL, 2020). Também são aptas a degradar hidrocarbonetos policíclicos aromáticos, fármacos, agroquímicos e fenóis presentes em efluentes industriais (BASUMATARY *et al.*, 2022). Estratégias como a imobilização enzimática e a engenharia genética têm contribuído significativamente para o aumento da estabilidade catalítica e da atividade desses biocatalisadores, consolidando-as como ferramentas promissoras para a remediação ambiental (BILAL; IQBAL, 2020).

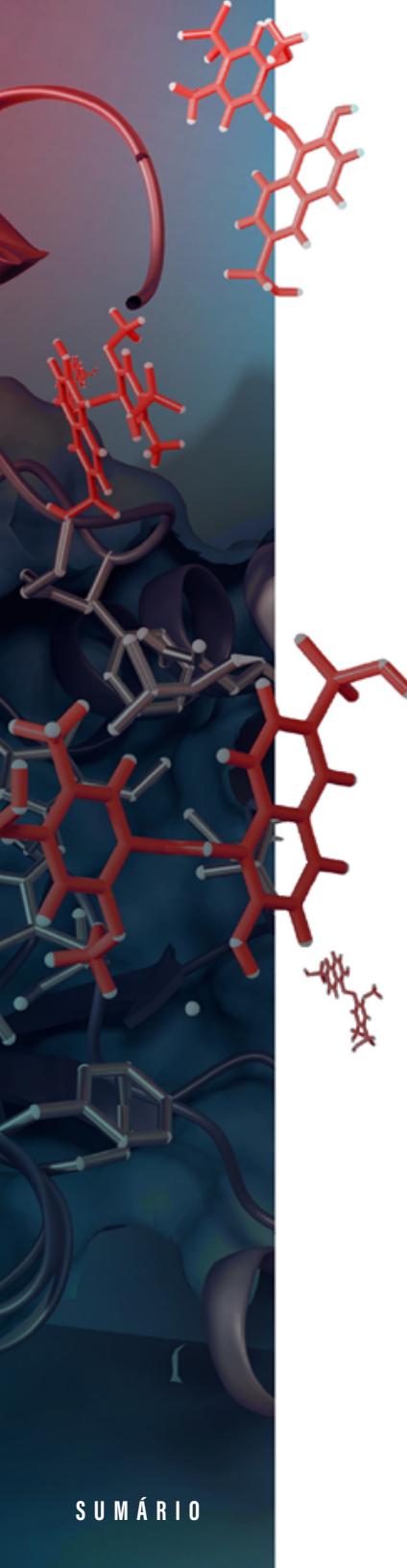
Entre bactérias e arqueias há uma ampla gama de produtores de peroxidases, como *Desulfovibrio vulgaris*, *Pyrococcus furiosus*, *Deinococcus radiodurans*. As espécies *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, *Zymomonas mobilis*, *Escherichia coli* têm sido estudadas como produtoras peroxidases bacterianas não clássicas. Ainda há as produtoras *Salmonella typhimurium*, *Yersinia pestis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Nitrosomonas europaea*, *Paracoccus pantotrophus*, *Methylococcus capsulatus*, *Marinobacter hydrocarbonoclasticus*, *Geobacter sulfurreducens* e *Shewanella oneidensis* (BARREIRO; OLIVEIRA; PAULETA, 2023).

Peroxidases da descoloração de corantes (DyP) (EC. 1.11.1.19) pertencem à recém-descoberta superfamília de peroxidases contendo heme (*DyP-tipo peroxidase superfamily* (YANG *et al.*, 2019). De acordo com a estrutura primária, essas enzimas podem ser categorizadas nas classes A, B, C e D (Redox-iBase). Esta classificação, baseada na estrutura terciária das enzimas, baseia-se numa relação entre estrutura e função. Uma nova classificação foi proposta como primitiva (P, com DYPs da classe B) intermediária (I, com DyPs da



classe A) e avançada (V, com DyPs das classes C e D) (SUGANO; YOSHIDA, 2021). Yoshida; Sugano (2023) relataram subclasses inexploradas (I1 I2, P1, P2 e V4). As DyPs têm recebido atenção devido à sua empregabilidade no tratamento de efluentes têxteis e degradação de outros poluentes tóxicos na indústria alimentícia e cosmética (SILVA, et al., 2023). Vale salientar aqui o arrobo de Sugano; Yoshida (2021), segundo o qual, as DyPs, quando comparadas com outras peroxidases, apresentam características únicas que possibilitam que essas enzimas tenham uma categorização própria e que *"Com estudos futuros, o universo das peroxidases DyP revelar-se-á tão difuso e profundo quanto o próprio cosmos."*

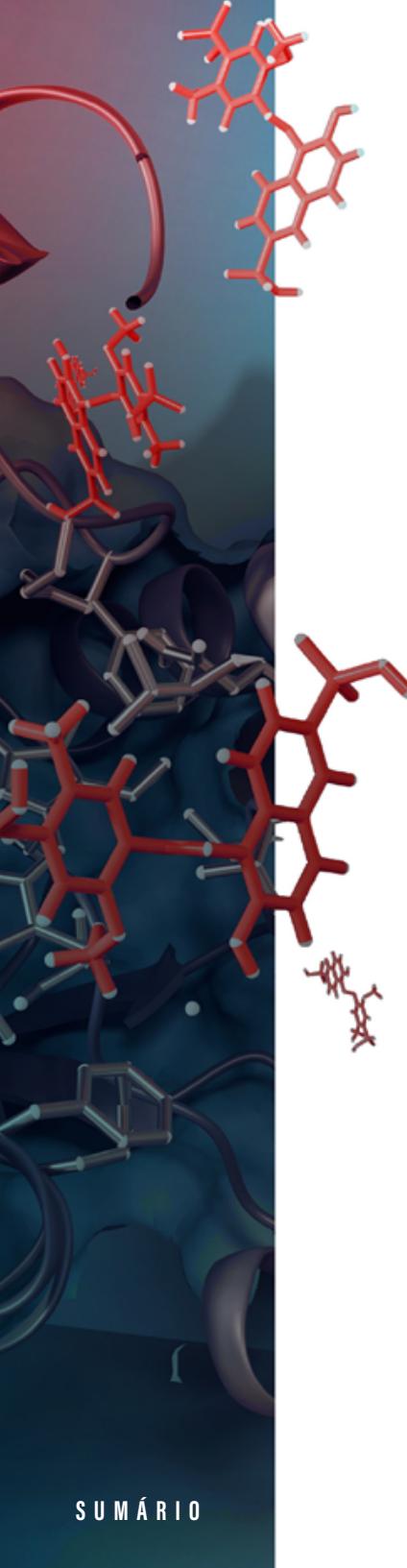
Assim como as peroxidases vegetais, as peroxidases microbianas também podem ser empregadas no tratamento de efluentes de diversas indústrias, esgotos e compostos orgânicos diversos, pois elas têm a capacidade de degradar e transformar compostos tóxicos em compostos mais simples. A degradação de PVC (policloreto de vinila) foi obtida através do emprego de uma LiP obtida de *P. chrysosporium* reduzindo a massa do material em 31% com experimento conduzido sob agitação, confirmando também as modificações estruturais do material e a deterioração da superfície do PVC (KHATOON; JAMAL; ALI, 2019). De acordo com Ugrinova et al. (2024), a peroxidase extracelular isolada de *Bacillus* sp., tem a capacidade de descolorir 16 corantes industriais, como a fucsina básica, rodamina B, azul de metileno e verde de malaquita. Foi observada a transformação biológica do herbicida triazina (hexahidro-1,3,3,5- trinitro-1,3,5-triazina) quando incubado com uma amostra de solo contendo *Rhodococcus* sp. (SELLAMI et al., 2022). Guo et al. (2019), analisaram a eficácia de uma LiP obtida de *Pichia methanolica* que foi extraída e purificada, posteriormente, imobilizada empregando partículas magnéticas de sílica revestidas com polímero de polidopamina ( $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{SiO}_2@\text{PDA}$ ), permitindo recuperação por ação magnética e possibilitando o reuso, quando aplicada na degradação de poluentes orgânicos, atingiu taxas de degradação de 100% para tetraciclina, dibutil ftalato,

A vertical decorative strip on the left side of the page features a dark blue background with several 3D molecular models in red and grey. These molecules represent various organic compounds, possibly pollutants or enzymes, arranged in a scattered pattern.

5 clorofenol e fenol e 79%, 73% e 65% para fenantreno, fluoranteno e benzo(a)pireno respectivamente. Chai *et al.* (2023) realizaram experimentos com enzimas imobilizadas em nanotubos de quitosana modificada (HNTs-CTA), observando melhorias nas condições ideais de pH, temperatura e tempo de armazenamento. A enzima imobilizada apresentou eficiência superior na remoção de poluentes, com taxas de 55,9% para fenantreno e 41,2% para fluoranteno.

## OBSERVAÇÕES FINAIS ACERCA DAS PEROXIDASES DE VEGETAIS E MICROBIANAS

Para finalizar, pode-se dizer que, de forma geral, as peroxidases vegetais e microbianas, apresentam alta eficiência na degradação de diversos xenobióticos. Elas são ótimas degradadoras de corantes sintéticos, removedoras de efluentes contaminados com fenólicos e compostos relacionados, removedoras de químicos disruptores endócrinos, degradadoras de pesticidas bifenilos policlorados, degradadoras de alcanos e alcenos clorados, degradadoras de fenoxi alcanóicos e triazinoherbicidas, degradadoras de dioxinas cloradas, degradadoras de inseticidas clorados e são usadas nas indústrias de papel (BANSAL; KANWAR, 2013). Podemos perceber com base na literatura que há maior volume de pesquisas com microrganismos, seguido de vegetais, onde os microrganismos se destacam quando comparados aos vegetais, principalmente pela facilidade de produção enzimática e manutenção das cepas. Na Tabela 1, podemos ver alguns estudos com peroxidases obtidas de vegetais e microrganismos (fungos e bactérias).



É possível observar uma maior diversidade de microrganismos produtores de diferentes tipos de enzimas peroxidases em comparação aos vegetais, sendo que a literatura relata que há maior volume de estudos de biorremediação empregando HRP em vegetais e de LiP em fungos. Tanto as enzimas de origem vegetal quanto as microbianas apresentam atuação similar quanto aos poluentes-alvo, sendo amplamente relatados na degradação de compostos fenólicos, corantes e poluentes orgânicos.

As diferenças entre os mecanismos de ação das peroxidases é sutil. As peroxidases vegetais apresentam maior especificidade, estabilidade em pH neutro ou ácido, estabilidade em temperatura moderada (45 °C) e seu principal uso é na degradação de corantes e compostos fenólicos. Já as peroxidases microbianas, são menos específicas, conseguindo degradar maior variedade de xenobióticos, têm maior resistência a pHs extremos e temperaturas altas (70 °C) e conseguem atuar sobre xenobióticos mais complexos como HAPs, pesticidas e resíduos de celulose (RAJKUMAR *et al.*, 2013).

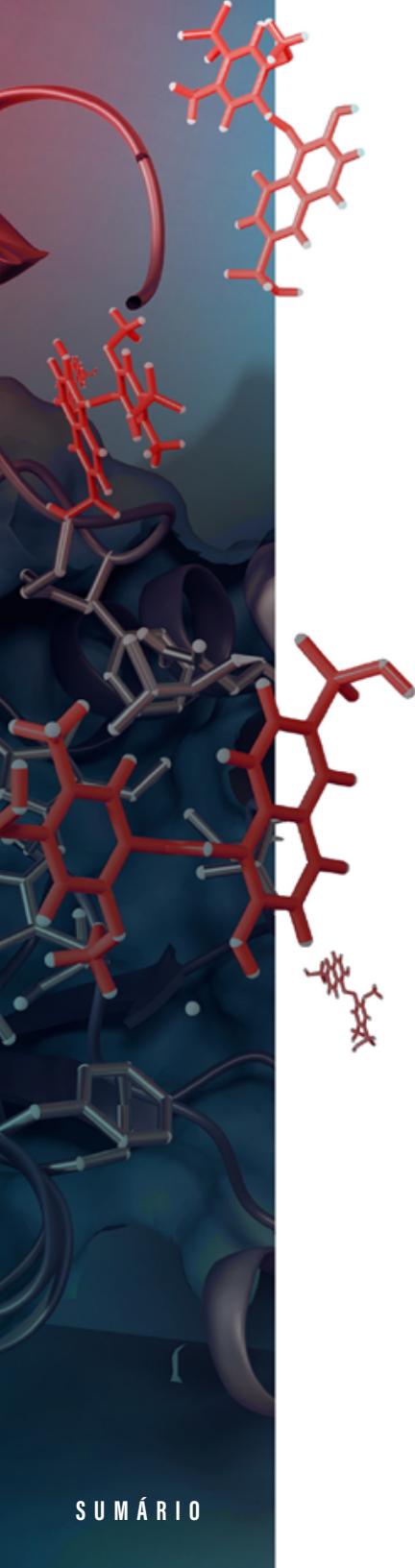
**Tabela 1 - Estudos empregando peroxidases de origem microbiana ou vegetal na biodegradação de contaminantes**

Organismo	Tipo	Enzima	Contaminantes alvos	Ref.
<i>Prosopis juliflora</i>	Vegetal	Peroxidase do rábano silvestre (HRP)	Fenóis e clorofenóis.	SINGH <i>et al.</i> , 2017
<i>Prosopis juliflora</i>	Vegetal	Peroxidase do rábano silvestre (HRP)	Fenol, 3-clorofenol e misturas de clorofenóis.	SINGH <i>et al.</i> , 2020
<i>Amoracia rusticana</i>	Vegetal	Peroxidase do rábano silvestre (HRP)	Corantes "laranja de metila, vermelho básico 9, indigo, rodamina B, rodamina 6G.	BILAL <i>et al.</i> , 2017
<i>Citrus limon</i>	Vegetal	<i>Citrus limon</i> peroxidase	Corantes 1847, colafx blue e 621, colafx blue R.	RIAZ <i>et al.</i> , 2023
<i>Bacillus sp.</i>	Bactéria	Lignina peroxidase (LiP)	Biodegradação de azul de metileno.	PHAM <i>et al.</i> , 2022

Organismo	Tipo	Enzima	Contaminantes alvos	Ref.
<i>Ganoderma lucidum</i>	Fungo	Lignina peroxidase (LiP)	Descoloração e redução de toxicidade.	SHAHEEN <i>et al.</i> , 2017
<i>Bacillus subtilis</i>	Bactéria	Peroxidases extracelulares	Azul Brilhante de Remazol R (RBBR) e Vermelho do Congo	FALADE <i>et al.</i> , 2019
<i>Pichia methanolica</i>	Fungo	Lignina peroxidase (LiP)	Degradação de poluentes orgânicos.	GUO <i>et al.</i> , 2019
<i>Phanerochaete chrysosporium</i>	Fungo	Lignina peroxidase (LiP)	Biodegradação de fenol e vermelho do Congo	VANDANA <i>et al.</i> , 2019
<i>Escherichia coli</i>	Bactéria	Peroxidase de descoloração de corantes (DyP)	Micotoxina zearalenona	QIN <i>et al.</i> , 2021

## DESAFIOS E PERSPECTIVAS

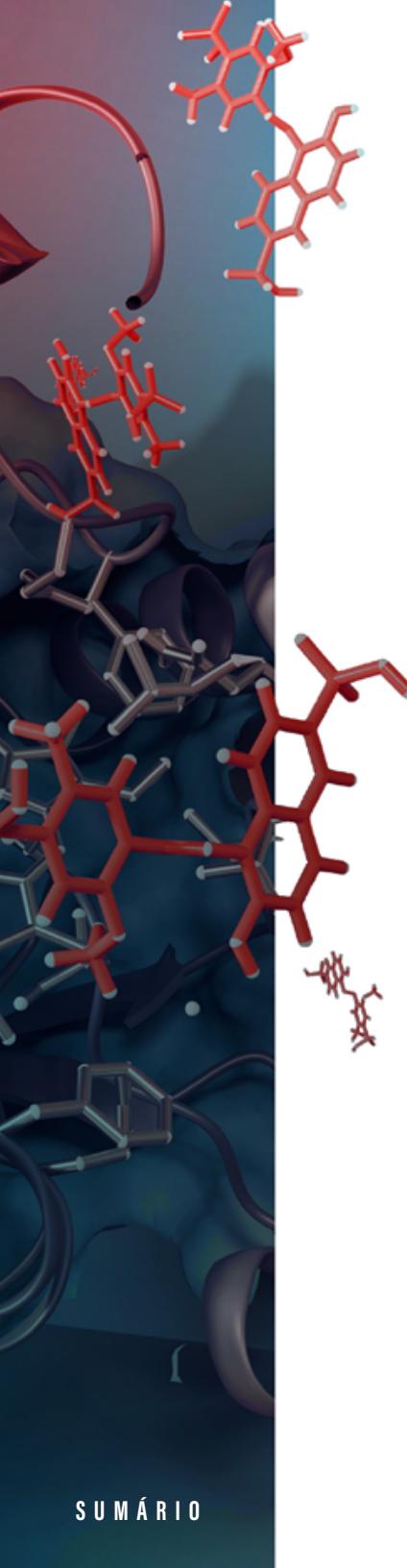
As peroxidases destacam-se por sua ampla aplicação e elevada eficiência na degradação de compostos orgânicos e inorgânicos, atribuídos à sua capacidade de catalisar reações de oxirredução envolvendo peróxidos como agentes oxidantes. Além disso, essas enzimas promovem a polimerização de compostos tóxicos, contribuindo significativamente para a mitigação de diversos poluentes ambientais. Outro aspecto relevante é o seu custo-benefício, uma vez que podem ser isoladas a partir de diferentes fontes biológicas, como vegetais, bactérias e fungos, especialmente os lignolíticos e da podridão branca, amplamente disponíveis e de fácil cultivo. Contudo, apesar da sua eficácia, a aplicação de peroxidases em sistemas aquosos, como na degradação de fenóis, é limitada pela sua suscetibilidade à inativação. Isso ocorre devido à interação de radicais livres e produtos oligoméricos ou poliméricos gerados durante a reação com o sítio ativo da enzima, resultando em sua desativação (SELLAMI *et al.*, 2022). Tal limitação representa um entrave para sua aplicação industrial em processos contínuos. Estratégias como



a imobilização enzimática têm sido empregadas com sucesso para contornar essa limitação, proporcionando maior estabilidade operacional e reutilização da enzima. Adicionalmente, a implementação em larga escala das peroxidases enfrenta desafios associados à sua estabilidade frente a variáveis operacionais, como temperatura, pH e tempo de armazenamento. Para superar essas restrições, abordagens em engenharia enzimática têm sido desenvolvidas visando o aprimoramento da estabilidade térmica, resistência a flutuações de pH e incremento da atividade catalítica.

Paralelamente, técnicas de imobilização têm se mostrado promissoras, atuando de forma sinérgica para tornar a aplicação industrial destas enzimas mais viável (DEVI *et al.*, 2021). Essas técnicas também são amplamente aplicadas às enzimas buscando otimizar sua capacidade catalítica. Em condições extremas de pH e temperatura, a imobilização preserva a enzima da desnaturação. Uma característica gerada por esses métodos propicia a insolubilização que pode aprimorar características mecânicas e bioquímicas, melhorando a eficiência e a estabilidade do biocatalisador. As enzimas imobilizadas proporcionam vantagens adicionais como a redução do tempo de reação, a minimização de contaminações microbianas e uma facilitada separação do meio de reação. Esta é sem dúvida a característica mais interessante e útil para a aplicação em escala industrial pois, além de facilitar a separação, também possibilita o reuso contínuo, mesmo que este seja limitado a um certo número de ciclos (BILAL *et al.*, 2017; BILAL *et al.*, 2018; SELLAMI *et al.*, 2021).

Técnicas de DNA recombinante também vêm sendo aplicadas. A produção de LiP em organismos hospedeiros heterogêneos, por exemplo, foi mais eficiente do que a da forma espécie nativa. ILIĆ ĐURĐIĆ *et al.* (2021) aferiram a melhoria de degradação de corantes azo utilizando LiP obtidas de mutantes de *P. chrysosporium*. As mutações exibiram afinidade dez vezes maior para com três tipos diferentes de corantes (*Evans blue*, *amido black 10B* e *Guinea green*) aumentando também em 13 vezes sua atividade catalítica.

A vertical decorative strip on the left side of the page features a complex arrangement of molecular models. It includes several red and grey hexagonal rings, likely representing aromatic compounds or enzymes, interspersed with smaller red branched structures. The overall effect is a scientific and organic aesthetic.

Outro estudo, também usando LiP, só que neste caso obtida de *Phanerochaete chrysosporium* e expressa em uma levedura (*Cyberlindnera jadinii*) encontrou uma maior produção de LiP com um pico de produção de 68,52 U/L. (GONG *et al.*, 2023).

## CONCLUSÃO

Ao longo deste capítulo, evidenciou-se uma vasta diversidade de fontes biológicas capazes de produzir peroxidases com potencial biotecnológico significativo. Essas fontes incluem vegetais, algas, bactérias e fungos, todos capazes de sintetizar enzimas que apresentam aplicações promissoras no campo ambiental e industrial.

Quando consideramos fatores como a produção de baixo custo, a agilidade do processo de biorremediação e a capacidade de remover poluentes primários e secundários, a remediação enzimática, especialmente aquela conduzida por peroxidases, revela-se uma abordagem altamente promissora e ecologicamente sustentável. Essa estratégia representa uma alternativa eficaz para mitigar os resíduos de poluentes recalcitrantes, tanto passados quanto presentes, contribuindo para a preservação dos ecossistemas.

Além disso, é fundamental destacar o potencial futuro dessas enzimas. Avanços tecnológicos em engenharia genética, engenharia enzimática, bioinformática e o desenvolvimento de novas metodologias de imobilização ampliam exponencialmente as possibilidades de sucesso na aplicação dessas enzimas. Ainda que seja difícil prever toda a extensão do impacto dessas inovações, parece provável que elas poderão desempenhar um papel crucial na resolução dos problemas ambientais decorrentes da crescente antropização, ajudando a restaurar e proteger os ambientes contaminados.

## REFERÊNCIAS

- AGUILERA, José *et al.* Enzymatic defences against photooxidative stress induced by ultraviolet radiation in Arctic marine macroalgae. **Polar Biology**, v. 25, no 6, p. 432–441, 2002. <https://doi.org/10.1007/s00300-002-0362-2>.
- AHSAN, Zainab *et al.* Enzyme-assisted bioremediation approach for synthetic dyes and polycyclic aromatic hydrocarbons degradation. **Journal of Basic Microbiology**, v. 61, no 11, p. 960–981, 2021. <https://doi.org/10.1002/jobm.202100218>.
- BANSAL, Neelam; KANWAR, Shamsher S. Peroxidase(s) in Environment Protection. **The Scientific World Journal**, v. 2013, no 1, 2013. <https://doi.org/10.1155/2013/714639>.
- BARBER, Edward A.; LIU, Ziyi; SMITH, Stephen R. Organic contaminant biodegradation by oxidoreductase enzymes in wastewater treatment. **Microorganisms**, v. 8, n. 1, p. 122, 2020. <https://doi.org/10.3390/microorganisms8010122>.
- BARREIRO, Daniela S.; OLIVEIRA, Ricardo N.S.; PAULETA, Sofia R. Bacterial peroxidases – Multivalent enzymes that enable the use of hydrogen peroxide for microaerobic and anaerobic proliferation. **Coordination Chemistry Reviews**, v. 485, p. 215114, 2023. <https://doi.org/10.1016/j.ccr.2023.215114>.
- BASUMATARY, Dencil *et al.* In silico analysis of peroxidase from *Luffa acutangula*. **3 Biotech**, v. 13, no 1, p. 25, 2023. <https://doi.org/10.1007/s13205-022-03432-8>.
- BELA, Krisztina; RIYAZUDDIN, Riyazuddin; CSISZÁR, Jolán. Plant glutathione peroxidases: non-heme peroxidases with large functional flexibility as a core component of ROS-processing mechanisms and signalling. **Antioxidants**, v. 11, no 8, p. 1624, 2022. <https://doi.org/10.3390/antiox11081624>.
- BILAL, Muhammad *et al.* Enhanced bio-ethanol production from old newspapers waste through alkali and enzymatic delignification. **Waste and Biomass Valorization**, v. 8, no 7, p. 2271–2281, 2017. <https://doi.org/10.1007/s12649-017-9871-7>.
- BILAL, Muhammad *et al.* Oxidoreductases as a versatile biocatalytic tool to tackle pollutants for clean environment – a review. **Journal of Chemical Technology & Biotechnology**, v. 97, no 2, p. 420–435, 2021. <https://doi.org/10.1002/jctb.6743>.

BILAL, Muhammad; IQBAL, Hafiz M N. Microbial peroxidases and their unique catalytic potentialities to degrade environmentally related pollutants, p. 1-24. 2020 [https://doi.org/10.1007/978-981-15-2679-4\\_1](https://doi.org/10.1007/978-981-15-2679-4_1).

BILAL, Muhammad *et al.* Development of horseradish peroxidase-based cross-linked enzyme aggregates and their environmental exploitation for bioremediation purposes. **Journal of Environmental Management**, v. 188, p. 137-143, 2017. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2016.12.015>.

BILAL, Muhammad *et al.* Horseradish peroxidase immobilization by copolymerization into cross-linked polyacrylamide gel and its dye degradation and detoxification potential. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 113, p. 983-990, jul. 2018. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2018.02.062>.

CHAI, C. *et al.* Immobilized lignin peroxidase on chitosan-modified halloysite nanotubes for degradation of polycyclic aromatic hydrocarbons in soil. **International Journal of Environmental Science and Technology**, 2023. <https://doi.org/10.1007/s13762-023-04800-4>.

CLEMENTE, E.; PASTORE, G. M. Peroxidase and polyphenoloxidase, the importance for food technology. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 32, n. 2, p. 167-171, 1998.

DE GONZALO, Gonzalo *et al.* Bacterial enzymes involved in lignin degradation. **Journal of Biotechnology**, v. 236, p. 110-119, 2016. <https://doi.org/10.1016/j.biotec.2016.08.011>.

DE OLIVEIRA, Francine Kerstner; SANTOS, Lucielen Oliveira; BUFFON, Jaqueline Garda. Mechanism of action, sources, and application of peroxidases. **Food Research International**, v. 143, p. 110266, 2021. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2021.110266>.

DE SOUZA ANDRADE, Jerusa; MAEDA, Roberto Nobuyuki. Caracterização e inativação térmica da peroxidase em frutos de cubiu (*Solanum sessiliflorum* DUNAL). 1998.

DEVI, Arti *et al.* Ethanol from lignocellulosic biomass: An in-depth analysis of pre-treatment methods, fermentation approaches and detoxification processes. **Journal of Environmental Chemical Engineering**, v. 9, no 5, p. 105798, 2021. <https://doi.org/10.1016/j.jece.2021.105798>.

DUMMERMUTH, A.L *et al.* Responses of marine macroalgae to hydrogen-peroxide stress. **Journal of Experimental Marine Biology and Ecology**, v. 289, no 1, p. 103-121, 2003. [https://doi.org/10.1016/S0022-0981\(03\)00042-X](https://doi.org/10.1016/S0022-0981(03)00042-X).

FALADE, Ayodeji *et al.* Peroxidases produced by new ligninolytic *Bacillus* strains isolated from marsh and grassland decolourized anthraquinone and azo dyes. **Polish Journal of Environmental Studies**, v. 28, no 5, p. 3163–3172, 2019. <https://doi.org/10.15244/pjoes/92520>.

GHOSH, Swapan Kumar; PAL, Sujoy. De-polymerization of LDPE plastic by *Penicillium simplicissimum* isolated from municipality garbage plastic and identified by ITSs locus of rDNA. **Vegetos**, v. 34, no 1, p. 57–67, 2021. <https://doi.org/10.1007/s42535-020-00176-9>.

GOMES, Marcelo Pedrosa *et al.* The Role of H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-Scavenging enzymes (Ascorbate Peroxidase and Catalase) in the tolerance of *Lemna minor* to antibiotics: implications for phytoremediation. **Antioxidants**, v. 11, no 1, p. 151, 2022. <https://doi.org/10.3390/antiox11010151>.

GONG, Gaowa *et al.* Construction and Identification of a Food-Grade recombinant *Cyberlindnera jadinii* strain expressing lignin peroxidase. **Applied Sciences**, v. 13, no 10, p. 6277, 2023. <https://doi.org/10.3390/app13106277>.

GUO, Jin *et al.* Immobilized lignin peroxidase on Fe304@SiO2@polydopamine nanoparticles for degradation of organic pollutants. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 138, p. 433–440, 2019. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2019.07105>.

HAAS, Aline; VAZ, Cleiton; KEMPKA, Aniela Pinto. Extraction and purification of vegetable peroxidase: a review. **Periódico Tchê Química**, [s. l.], v. 16, no 31, p. 692–703, 2019. [https://doi.org/10.52571/PTQ.v16.n31.2020.702\\_Periodico31\\_pgs\\_692\\_703.pdf](https://doi.org/10.52571/PTQ.v16.n31.2020.702_Periodico31_pgs_692_703.pdf).

HERNÁNDEZ JAVIER, Laura *et al.* Characterization of iodine-related molecular processes in the marine microalga *Tisochrysis lutea* (Haptophyta). **Frontiers in Marine Science**, v. 5, 2018. <https://doi.org/10.3389/fmars.2018.00134>.

HERNÁNDEZ-BUENO, Nancy Sofia *et al.* A versatile peroxidase from the fungus *Bjerkandera adusta* confers abiotic stress tolerance in transgenic tobacco plants. **Plants**, v. 10, no 5, p. 859, 2021. <https://doi.org/10.3390/plants10050859>.

HUSAIN, Qayyum; ULMER, Roland. Immobilized peroxidase as a valuable tool in the remediation of aromatic pollutants and xenobiotic compounds: A Review. **Critical Reviews in Environmental Science and Technology**, v. 41, no 8, p. 770–804, 2011. <https://doi.org/10.1080/10643380903299491>.

ILIĆ ĐURĐIĆ, Karla *et al.* Improved degradation of azo dyes by lignin peroxidase following mutagenesis at two sites near the catalytic pocket and the application of peroxidase-coated yeast cell walls. **Frontiers of Environmental Science & Engineering**, v. 15, n° 2, p. 19, 2021. <https://doi.org/10.1007/s11783-020-1311-4>.

JANUSZ, Grzegorz *et al.* Fungal laccase, manganese peroxidase and lignin peroxidase: Gene expression and regulation. **Enzyme and Microbial Technology**, v. 52, no 1, p. 1-12, 2013. <https://doi.org/10.1016/j.enzmictec.2012.10.003>.

KHAN, Mohd Faheem *et al.* Recent advances in fungal xenobiotic metabolism: enzymes and applications. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, v. 39, no 11, p. 296, 2023. <https://doi.org/10.1007/s11274-023-03737-7>.

KHATOON, N. *et al.* High-throughput production of peroxidase and its biodegradation potential toward polymeric material. **International Journal of Environmental Science and Technology**, v. 14, p. 755-766, 2016. <https://doi.org/10.1007/s13762-016-1182-1>.

KHATOON, Nazia; JAMAL, Asif; ALI, Muhammad Ishtiaq. Lignin peroxidase isoenzyme: a novel approach to biodegrade the toxic synthetic polymer waste. **Environmental Technology**, v. 40, no 11, p. 1366-1375, 2019. <https://doi.org/10.1080/09593330.2017.1422550>.

KHATUA, Somanjana; SIMAL-GANDARA, Jesus; ACHARYA, Krishnendu. Myco-remediation of plastic pollution: current knowledge and future prospects. **Biodegradation**, v. 35, no 3, p. 249-279, 2024. <https://doi.org/10.1007/s10532-023-10053-2>.

KUMAR, Adarsh; CHANDRA, Ram. Ligninolytic enzymes and its mechanisms for degradation of lignocellulosic waste in environment. **Helijon**, v. 6, no 2, p. e03170, 2020. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2020.e03170>.

KÜPPER, Frithjof C. *et al.* Iodide accumulation provides kelp with an inorganic antioxidant impacting atmospheric chemistry. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 105, no 19, p. 6954-6958, 2008. <https://doi.org/10.1073/pnas.0709959105>.

LEÓN-VAZ, Antonio *et al.* Impact of heavy metals in the microalga *Chlorella sorokiniana* and assessment of its potential use in cadmium bioremediation. **Aquatic Toxicology**, v. 239, p. 105941, 2021. <https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2021.105941>.

LIU, Shan *et al.* Nanocapsulation of horseradish peroxidase (HRP) enhances enzymatic performance in removing phenolic compounds. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 150, p. 814-822, 2020. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2020.02.043>.

MASHADI, Neda *et al.* Oligomerization of 3-substituted quinolines by catalytic activity of soybean peroxidase as a wastewater treatment. Product formation and computational studies. **Chemical Engineering Journal**, v. 364, p. 340-348, 2019. <https://doi.org/10.1016/j.cej.2019.01.184>

PASSARDI, Filippo et al. Prokaryotic origins of the non-animal peroxidase superfamily and organelle-mediated transmission to eukaryotes. **Genomics**, v. 89, no 5, p. 567-579, 2007a. <https://doi.org/10.1016/j.ygeno.2007.01.006>.

PASSARDI, Filippo et al. Peroxi Base: The peroxidase database. **Phytochemistry**, v. 68, no 12, p. 1605-1611, 2007b. <https://doi.org/10.1016/j.phytochem.2007.04.005>.

PHAM, Van Hong Thi et al. Biodegradation of methylene blue using a novel lignin peroxidase enzyme producing bacteria, named *Bacillus* sp. React 3, as a promising candidate for dye-contaminated wastewater treatment. **Fermentation**, v. 8, no 5, p. 190, 2022. <https://doi.org/10.3390/fermentation8050190>.

PRICE, Andrew J.; NORSWORTHY, Jason. K. Cover crops for weed management in southern reduced-tillage vegetable cropping systems. **Weed Technology**, v. 27, no 1, p. 212-217, 2013. <https://doi.org/10.1614/WT-D-12-000561>.

QAYYUM, Husain; MAROOF, Husain; YASHA, Kulshrestha. Remediation and treatment of organopollutants mediated by peroxidases: a review. **Critical Reviews in Biotechnology**, [s. l.], v. 29, no 2, p. 94-119, 2009. <https://doi.org/10.1080/07388550802685306>.

QIN, Xing et al. Enzymatic degradation of multiple major mycotoxins by dye-decolorizing peroxidase from *Bacillus subtilis*. **Toxins**, v. 13, no 6, p. 429, 2021. <https://doi.org/10.3390/toxins13060429>.

RAJKUMAR, R. et al. Optimization of medium composition for the production of peroxidase by *Bacillus* sp. **Der Pharma Chemica**, v. 5, n. 2, p. 167-174, 2013.

RIAZ, Arjumand et al. *Citrus limon* peroxidase-assisted biocatalytic approach for biodegradation of reactive 1847 colfax blue P3R and 621 colfax blue R dyes. **Bioprocess and Biosystems Engineering**, v. 46, no 3, p. 443-452, 2023b. <https://doi.org/10.1007/s00449-022-02802-z>.

SELLAMI, Kheireddine et al. Peroxidase enzymes as green catalysts for bioremediation and biotechnological applications: A review. **Science of The Total Environment**, v. 806, p. 150500, 2022. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2021.150500>.

SELLAMI, Kheireddine et al. Bio-based and cost effective method for phenolic compounds removal using cross-linked enzyme aggregates. **Journal of Hazardous Materials**, v. 403, p. 124021, 2021. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2020.124021>.

SHAHEEN, Raheela *et al.* Immobilized lignin peroxidase from *Ganoderma lucidum* IBL-05 with improved dye decolorization and cytotoxicity reduction properties. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 103, p. 57–64, 2017. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2017.04.040>.

SILVA, Maria Cristina *et al.* Combined experimental and theoretical study on the removal of pollutant compounds by peroxidases: affinity and reactivity toward a bioremediation catalyst. **Journal of Biomolecular Structure and Dynamics**, v. 34 n. 9, p.1839–1848, 2016. <https://doi.org/10.1080/07391102.2015.1063456>

SILVA D *et al.* Biocatalysis for biorefineries: The case of dye-decolorizing peroxidases. **Biotechnology Advances**. v.65, p.108153. 2023. <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2023.108153>

SILVA, Maria da Glória *et al.* Produção da enzima lignina peroxidase por fungos filamentosos utilizando óleo diesel como substrato. **Scientia Plena**, v. 7, no 10, 2011. Disponível em: <https://www.scientiaplena.org.br/sp/article/view/474>.

SINGH, Savita *et al.* Peroxidases from an invasive Mesquite species for management and restoration of fertility of phenolic-contaminated soil. **Journal of Environmental Management**, v. 256, p. 109908, 2020. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2019.109908>.

SINGH, Savita *et al.* Phenol remediation by peroxidase from an invasive mesquite: Turning an environmental wound into wisdom. **Journal of Hazardous Materials**, v. 334, p. 201–211, 2017. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2017.04.007>.

SUGANO, Yasushi; YOSHIDA, Toru. DyP-Type Peroxidases: Recent Advances and Perspectives. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 22, no 11, p. 5556, 2021. <https://doi.org/10.3390/ijms2215556>.

TWALA, Pontsho Patricia *et al.* Breakthroughs in the discovery and use of different peroxidase isoforms of microbial origin. **AIMS microbiology**, v. 6, n. 3, p. 330, 2020. <https://doi.org/10.3934/microbiol.2020020>.

UGRINOVA, Yu.D. *et al.* Bacterial peroxidases in bioremediation. **Biomics**, v. 16, no 1, p. 138–148, 2024. <https://doi.org/10.31301/2221-6197.bmcs.2024-8>.

VANDANA, Thammaiah *et al.* Purification, characterization, and biodelignification potential of lignin peroxidase from immobilized *Phanerochaete chrysosporium*. **BioResources**, v. 14, no 3, p. 5380–5399, 2019. <https://doi.org/10.15376/biores.14.3.5380-5399>.

YANG, Juan *et al.* Degradation of the phenolic  $\beta$ -ether lignin model dimer and dyes by dye-decolorizing peroxidase from *Bacillus amyloliquefaciens*. **Biotechnology Letters**, v. 41, no 8–9, p. 1015–1021, 2019. <https://doi.org/10.1007/s10529-019-02696-0>.

YOSHIDA, Toru; SUGANO, Yasushi. Unexpected diversity of dye-decolorizing peroxidases. **Biochemistry and Biophysics Reports**, v. 33, p. 101401, 2023. <https://doi.org/10.1016/j.bbrep.2022.101401>.

ZHANG Zhao, LAI Jiahui, WU, Kesen, *et al.* Peroxidase-catalyzed chemiluminescence system and its application in immunoassay. **Talanta**, v. 180, p. 260–270, 2018. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.201712.024>

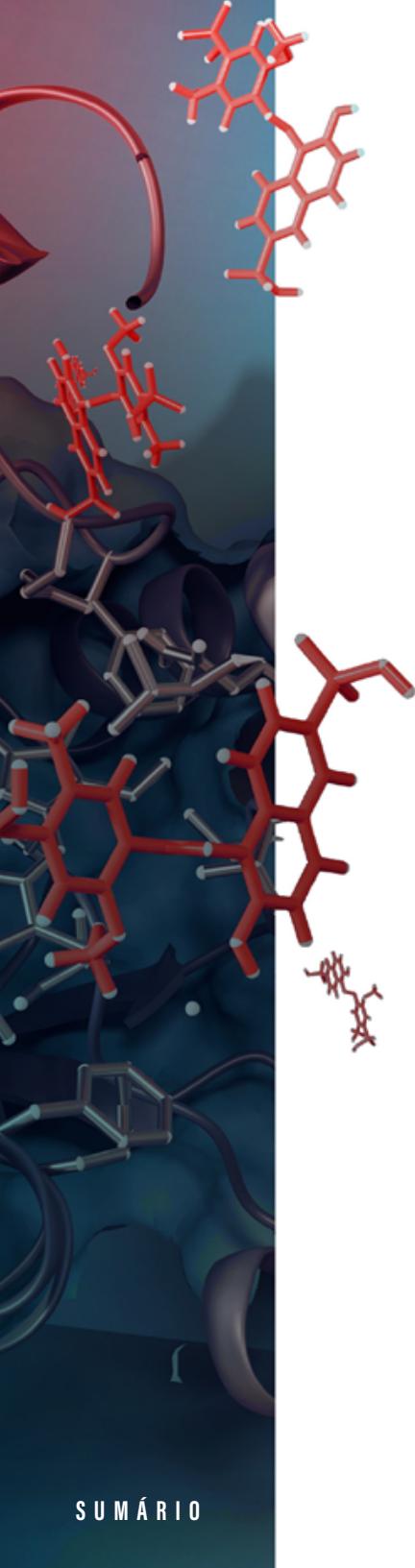
ZHOU, Fangfang *et al.* Horseradish peroxidase immobilized on multifunctional hybrid microspheres for aflatoxin B1 removal: Will enzymatic reaction be enhanced by adsorption? **Industrial & Engineering Chemistry Research**, v. 58, no 27, p. 11710–11719, 2019. <https://doi.org/10.1021/acs.iecr.9b02094>.

# 6

Thaís Marques Über  
Danielly Maria Paixão Novi  
Isadora de Brito Hilário  
Rosane Marina Peralta

## LACASES EM BIORREMEDIAÇÃO: MECANISMOS, APLICAÇÕES E DESAFIOS

DOI: 10.31560/pimentacultural/978-85-7221-472-6



## LACASES

Enzimas multicobre com atividade oxidativa sobre compostos fenólicos e não fenólicos

### ESTRATÉGIAS

-  Imobilização enzimática
-  Mediadores redox

### APLICAÇÕES

-  Corantes sintéticos
- HAPs
- PhACs
- Compostos fenólicos
- Microplásticos

### VANTAGENS

-  Seletividade
-  O<sub>2</sub> como acceptor de elétrons
-  H<sub>2</sub>O • H<sub>2</sub>O como subproduto

### RESUMO:

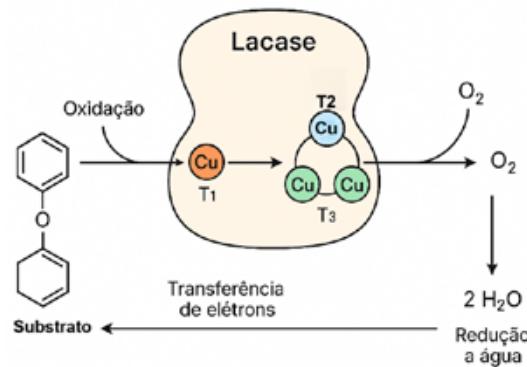
As lacases são enzimas multicobre amplamente distribuídas na natureza, com notável capacidade oxidativa sobre compostos fenólicos e não fenólicos. Devido à sua seletividade, uso de oxigênio molecular como acceptor de elétrons e formação de água como subproduto, essas enzimas têm sido cada vez mais exploradas na biorremediação de diversos poluentes. Aplicações relevantes incluem a degradação de corantes sintéticos, hidrocarbonetos aromáticos policíclicos (HAPs), compostos farmacêuticos, fenólicos e microplásticos. A versatilidade da lacase é ampliada por estratégias como imobilização enzimática, uso de mediadores redox e engenharia genética para produção de recombinantes. Este capítulo aborda os mecanismos de ação, aplicações práticas e os avanços tecnológicos que viabilizam o uso industrial das lacases, além dos desafios que, todavia, persistem na transição do uso laboratorial para escalas comerciais.

**Palavras-chave:** biorremediação enzimática; compostos xenobióticos; lacases; poluentes orgânicos

## INTRODUÇÃO

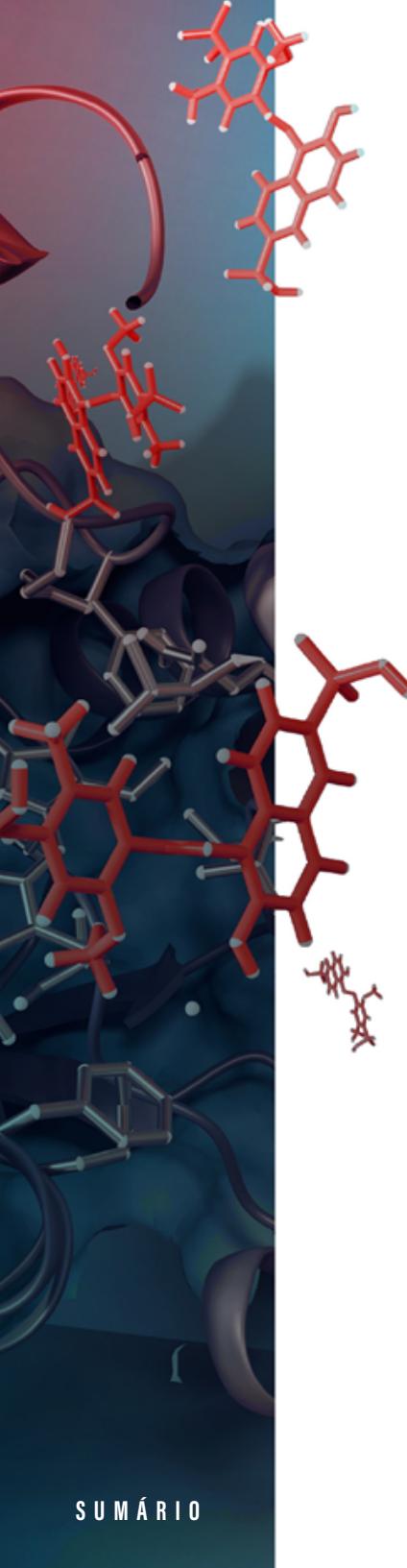
As lacases foram descobertas no final do século XIX. A primeira descrição dessa enzima foi feita em 1896 pelo botânico francês Gabriel Bertrand, que a isolou do látex da árvore japonesa *Rhus vernicifera* (árvore da laca). Bertrand observou que o látex dessa árvore oxidava compostos fenólicos, e atribuiu essa atividade a uma enzima que ele chamou de *laccase* (derivado de "lacca" em francês). Desde então, as lacases foram encontradas em diversos organismos, incluindo fungos (especialmente fungos ligninolíticos, como os basidiomicetos), plantas, insetos e bactérias. Essas enzimas pertencem à família das oxidorredutases multicobre e são conhecidas por oxidar compostos fenólicos e aromáticos com a redução simultânea do oxigênio molecular a água. Em 1993, foram identificadas em bactérias pela primeira vez, com a lacase bacteriana sendo isolada em *Azospirillum lipoferum* (AHMAD *et al.*, 2025; KYOMUHIMBO; BRINK, 2023; UR RAHMAN *et al.*, 2024). Mais recentemente foi identificada uma lacase originada de subprodutos da indústria de criação de camarão (*Litopenaeus vannamei*) (DA ROCHA *et al.*, 2023; MEKUREYAW *et al.*, 2024).

Uma lacase é composta por três domínios de cupredoxina que possuem uma estrutura em formato de barril  $\beta$ . Dessa forma, as lacases diméricas ou tetraméricas apresentam sítios catalíticos contendo quatro átomos de cobre (Cu). Esses sítios podem ser classificados em três tipos, de acordo com suas propriedades espectroscópicas e paramagnéticas: Tipo 1 (um átomo de cobre, T1), Tipo 2 (um átomo de cobre, T2) e Tipo 3 (dois átomos de cobre, T3) (Figura 1). Resumidamente, o sítio tipo 1 (T1) capta os elétrons do substrato; o sítio tipo 2 (T2), forma um centro trinuclear junto com o sítio tipo 3 e, finalmente, o sítio tipo 3 (T3), atua na redução do oxigênio molecular da molécula da água.

**Figura 1 - Esquema do mecanismo catalítico da lacase**

As lacases facilitam o acoplamento oxidativo ou a clivagem de ligações em moléculas-alvo por meio da oxidação de um elétron, seguido pela geração de radicais (AHMAD *et al.*, 2025; SODHI; BHATIA; BATRA, 2024; UR RAHMAN *et al.*, 2024). As lacases possuem a capacidade de oxidar uma grande variedade de compostos fenólicos e não fenólicos, utilizando  $O_2$  como receptor de elétrons. Elas não necessitam de cofatores adicionais e geram apenas água como subproduto. Além disso, a sua concepção estrutural lhes confere a capacidade de tolerar as altas concentrações de poluentes no meio extracelular (KYOMUHIMBO; BRINK, 2023; MEKUREYAW *et al.*, 2024).

Uma pesquisa no UniProtKB utilizando o termo "lacase" revelou aproximadamente 7.300 fontes de lacases, incluindo 16 halobactérias (archaea), 6.258 eucariotos e 1.026 bactérias. As sequências proteicas dessas lacases apresentam variação de comprimento, entre 220 e 800 aminoácidos, com peso molecular variando de 50 a 140 kDa. Essas diferenças no tamanho das cadeias de aminoácidos provavelmente influenciam as propriedades catalíticas únicas das lacases provenientes de diferentes organismos. Até o momento, todas as lacases identificadas são glicoproteínas monoméricas,

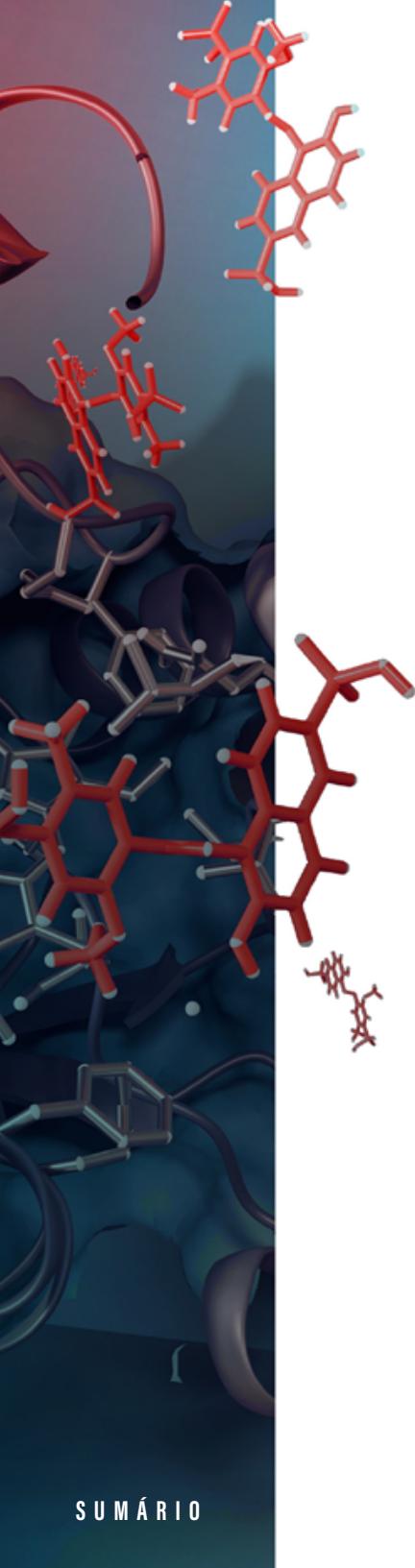
A vertical decorative strip on the left side of the page features a complex arrangement of molecular models. It includes several red and grey hexagonal rings representing aromatic molecules, and numerous smaller, branched red structures representing sugar or carbohydrate chains. Some of these smaller structures appear to be interacting with or attached to the larger rings.

diméricas ou tetraméricas. Embora o sítio catalítico seja conservado, há variações no restante da molécula e na fração de açúcares (KYOMUHIMBO; BRINK, 2023; UR RAHMAN *et al.*, 2024).

Com o crescimento acelerado das indústrias, o volume de poluentes gerados e descartados aumentou de maneira significativa. Diversos pesquisadores têm explorado o uso de lacases, tanto na forma livre quanto immobilizada para a biorremediação de vários poluentes. A biorremediação enzimática utilizando lacases tem sido vista como uma abordagem promissora, visto que a enzima utiliza oxigênio molecular como acceptor final de elétrons (UBER *et al.*, 2025). Este capítulo discute as aplicações das lacases em processos de biorremediação de compostos poluentes, bem como suas limitações e perspectivas futuras de uso.

## APLICAÇÕES DAS LACASES EM BIORREMEDIACÃO

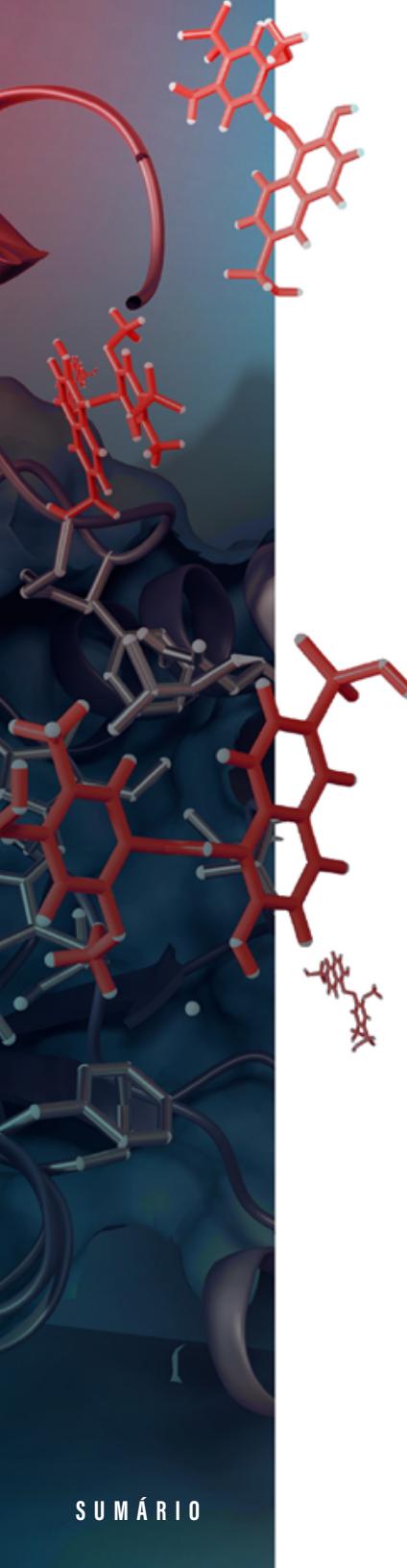
O crescimento constante da população e a degradação ambiental decorrente de diversas atividades humanas têm impulsionado iniciativas para alcançar metas de sustentabilidade. A intensificação das preocupações com a crise energética, a segurança alimentar, os surtos de doenças, o aquecimento global e outras questões ambientais requer uma solução que seja, simultaneamente, viável do ponto de vista econômico e sustentável. Os xenobióticos (do grego *xeno-* estranho), são compostos químicos estranhos aos organismos vivos sendo os pesticidas e hidrocarbonetos aromáticos policíclicos (HAPs) exemplos que representam desafios ambientais significativos, causando prejuízos tanto aos organismos vivos quanto aos ecossistemas. Tais substâncias são consideradas perigosas devido à sua capacidade de biomagnificação na cadeia alimentar e à sua toxicidade aguda (SINGH *et al.*, 2024).



Métodos químicos e físicos para a eliminação de compostos xenobióticos, como separação por membrana, coagulação, ozonização, fotocatálise, floculação, oxidação eletroquímica, sonicação, adsorção em carvão ativado, troca iônica, irradiação e processos de Fenton, são onerosos e apresentam risco de poluição accidental (MUSTAFA *et al.*, 2025). Em contrapartida, a biorremediação por meio de enzimas de microalgas, bactérias e fungos surge como uma alternativa sustentável e economicamente viável às abordagens físico-químicas convencionais, visto que a biodegradação enzimática consiste na transformação dos compostos orgânicos em metabólitos menos complexos, processo que pode levar à mineralização, isto é, à completa conversão do composto em  $\text{H}_2\text{O}$ ,  $\text{CO}_2$  e minerais.

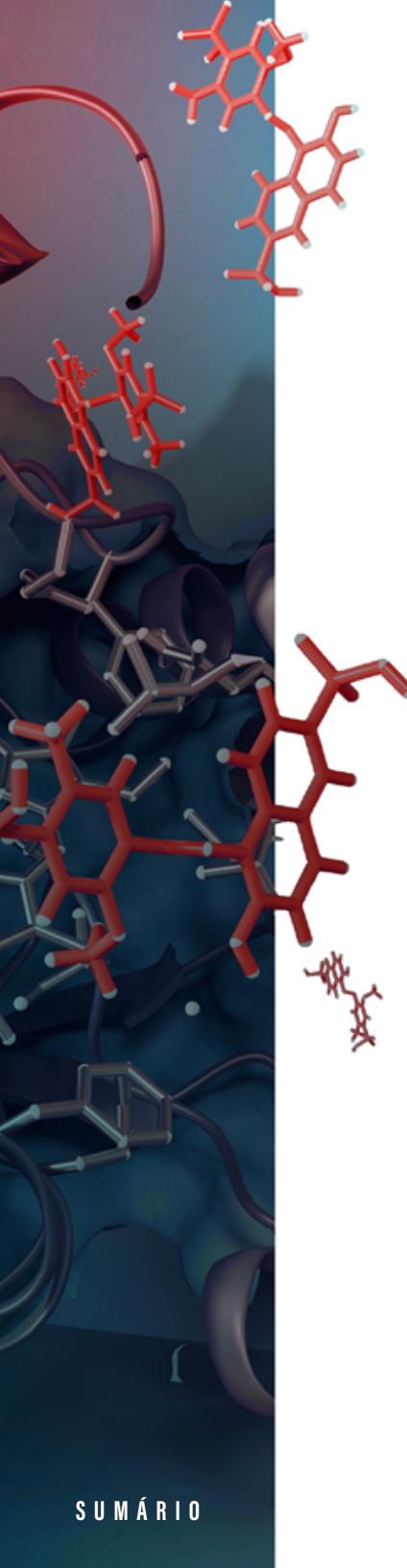
## TRATAMENTO DE CORANTES TÊXTEIS

A indústria têxtil tem influenciado recentemente mudanças no estilo de vida, especialmente por meio de marcas de moda que adotam práticas sustentáveis. Uma tendência crescente é o uso ampliado de tecidos derivados de fibras naturais na produção de vestuário. No entanto, esse setor consome grandes volumes de água doce – cerca de 200 litros por quilo de produto –, resultando na geração de efluentes contendo entre 10% e 15% de corantes. Além disso, os corantes sintéticos são amplamente utilizados em diversos produtos, com a indústria têxtil respondendo por mais de 56% desse consumo. Os efluentes provenientes dos processos de tingimento apresentam altas concentrações de compostos coloridos, levantando preocupações ambientais. Pesquisas indicam que o descarte inadequado desses resíduos em corpos d'água pode alterar a acidez ou alcalinidade, bloquear a penetração da luz solar e aumentar a demanda biológica e química por oxigênio, além de elevar os níveis de carbono orgânico total e modificar a solubilidade de gases. Esses efluentes



possuem efeitos citotóxicos, genotóxicos e ecotóxicos, impactando negativamente a saúde de plantas, animais e seres humanos, bem como o crescimento vegetal, a germinação de sementes e a fertilidade do solo. Diante desses riscos, torna-se fundamental reduzir o impacto dos contaminantes têxteis (MUSTAFA *et al.*, 2025).

Diversos microrganismos, incluindo fungos, leveduras, bactérias, algas e suas enzimas, têm potencial para descolorir corantes sintéticos sob condições ambientais específicas. As cianobactérias, também conhecidas como algas azul-esverdeadas, são amplamente distribuídas na natureza e apresentam grande capacidade para o tratamento de efluentes industriais e águas residuais. Algumas espécies, como *Anabaena variabilis*, *Oscillatoria salina*, *Nostoc muscorum* e *Lyngbya majuscula*, foram investigadas e comparadas quanto à sua eficácia na remoção de poluentes de efluentes da indústria têxtil, embora a enzima responsável por esse processo ainda não tenha sido caracterizada (AFREEN *et al.*, 2017). As lacases bacterianas demonstram alta tolerância a temperaturas elevadas e amplos intervalos de pH, além de apresentarem notável resistência a metais, agentes inibitórios (como EDTA, ácido cítrico, ácido oxálico e ácido malônico), sais e solventes orgânicos. Desta forma, uma previsão econômica de produção e um gerenciamento prático do pós-processo são fundamentais, pois os resíduos celulares de bactérias aumentam a demanda por essas enzimas no setor industrial (MUSTAFA *et al.*, 2025). Devido ao elevado potencial redox das lacases fúngicas, essas enzimas demonstram um expressivo valor biotecnológico, sendo empregadas em diversas aplicações ambientais, como na biotransformação de diversos xenobióticos, incluindo corantes sintéticos, produtos farmacêuticos e estrogênios esteroidais. Diversos estudos relataram a degradação de corantes por enzimas ligninolíticas. Diferentes classes de corantes, como heterocíclicos, poliméricos, trifenilmetanos, azo, índigo, antraquinonas e ftalocianinas, foram degradadas por essas enzimas. Mesmo assim, lacases livres e imobilizadas, com ou sem a associação a mediadores naturais ou



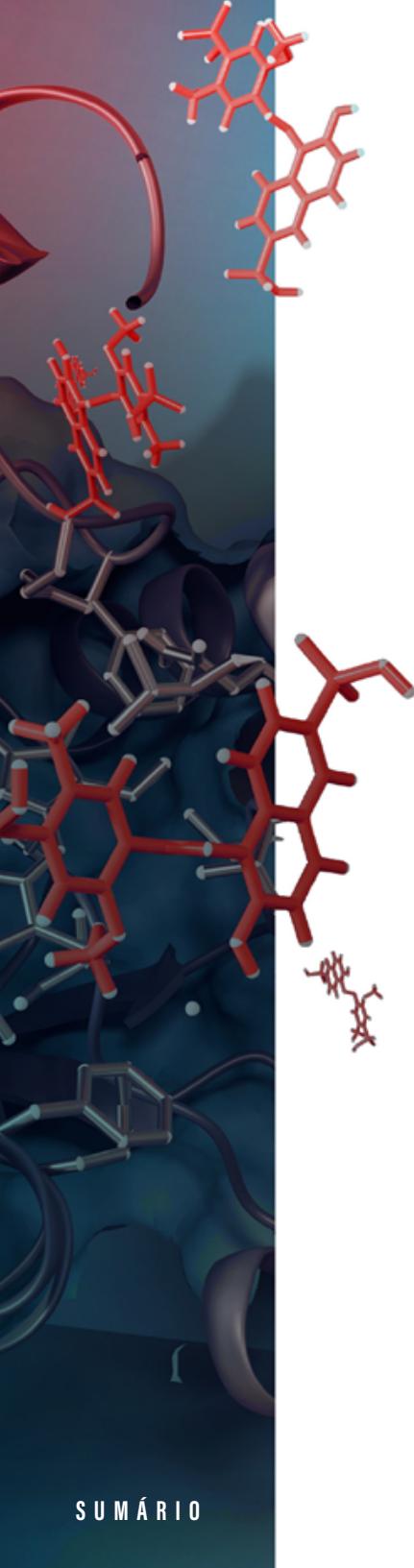
sintéticos, continuam sendo as enzimas ligninolíticas mais utilizadas nesses estudos (UBER *et al.*, 2022; UBER *et al.*, 2023). A Tabela 1 lista o uso de lacases de diversas fontes na biorremediação dos mais variados tipos de corantes sintéticos em sistemas aquosos.

## BIORREMEDIÇÃO DE HIDROCARBONETOS AROMÁTICOS POLICÍCLICOS (HAPS)

Os hidrocarbonetos aromáticos policíclicos (HAPs) são compostos aromáticos formados por dois ou mais anéis benzênicos condensados. A Agência de Proteção Ambiental dos Estados Unidos (PAE) classifica dezesseis desses compostos como poluentes prioritários. Devido à sua hidrofobicidade e baixa volatilidade, os HAPs permanecem no ambiente por longos períodos.

**Tabela 1** - Lacases na biorremediação de corantes sintéticos

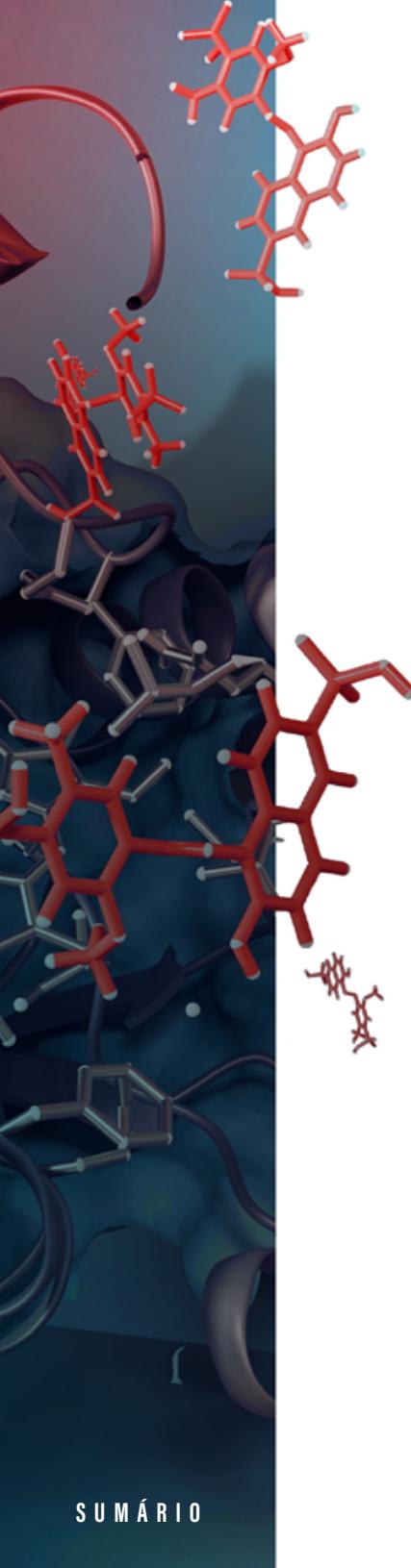
Avaliação das lacases na biorremediação de corantes sintéticos	Referências
Uma lacase de <i>Serratia marcescens</i> demonstrou elevada atividade de descoloração do corante têxtil RB-19 (azul reativo 19). Os metabólitos produzidos após a degradação demonstraram ser menos tóxicos do que o composto original sem tratamento.	MUSTAFA <i>et al.</i> , 2025
Artigo de revisão recente que compilou e discutiu o uso de lacases bacterianas no tratamento de diferentes classes de corantes industriais nos últimos 10 anos.	UR RAHMAN <i>et al.</i> , 2024
A aplicação de lacase de <i>Trametes versicolor</i> resultou na degradação completa de corantes como Amaranto, Tropaeolina O, Azul Reativo 15 e Vermelho do Congo.	ZAINITH <i>et al.</i> , 2020
Uma lacase de <i>Oudemansiella canarii</i> foi utilizada na degradação do corante vermelho do Congo (VC). Os produtos da degradação do VC foram identificados por espectrometria de massas e FTIR. Testes de toxicidade demonstraram que os produtos da degradação do VC mostraram menor toxicidade que o VC	IARK <i>et al.</i> , 2019



Avaliação das lacases na biorremediação de corantes sintéticos	Referências
<p>Uma lacase de <i>Oudemansiella canarii</i> foi imobilizada pela primeira vez em agregado enzimático reticulado. Esta preparação foi capaz de descolorir de maneira eficiente o corante Azul Brilhante de Remazol R (RBBR). Além disso, os produtos da degradação de RBBR pela lacase de <i>O. canarii</i> foram menos tóxicos do que o corante original.</p>	UBER et al., 2022
<p>Uma lacase de <i>T. versicolor</i> produzida em cultivos utilizando resíduos de coroa de abacaxi como substrato, foi empregada na descoloração do corante verde malaquita (VM) resultando em uma redução significativa de sua toxicidade após 12 e 24 horas de tratamento.</p>	BACKES et al., 2022

Diversas técnicas têm sido aplicadas para sua degradação, incluindo oxidação do tipo Fenton, lavagem com surfactantes ou solventes e biodegradação. A biorremediação é amplamente reconhecida como a principal estratégia para a remoção de HAPs do solo, destacando-se pelo baixo custo. No entanto, ao empregar microrganismos capazes de degradar esses compostos, espera-se que uma incubação prolongada seja necessária tanto em laboratório quanto em solos contaminados. A manutenção contínua e estável de culturas mistas ou cepas puras costuma ser limitada pela necessidade de equipamentos sofisticados e pelo risco de contaminação. O uso de diversos fungos de podridão branca na biorremediação de HAPs já foi relatado, porém resultou em uma remoção incompleta do poluente. Para superar essa limitação, o tratamento enzimático tem sido adotado como uma estratégia eficiente (CHANG et al., 2016; ZENG et al., 2021).

Diversas bactérias e fungos degradadores de HAPs possuem oxigenases essenciais para a degradação aeróbica desses compostos. A recalcitrância de HAP está associada ao número de anéis benzênicos condensados. Enquanto bactérias conseguem mineralizar eficientemente HAPs com até quatro anéis, os fungos têm a capacidade de degradar, de forma não específica, HAPs de alto peso molecular ( $\geq 5$  anéis), como o benzo[a]pireno. A biorremediação



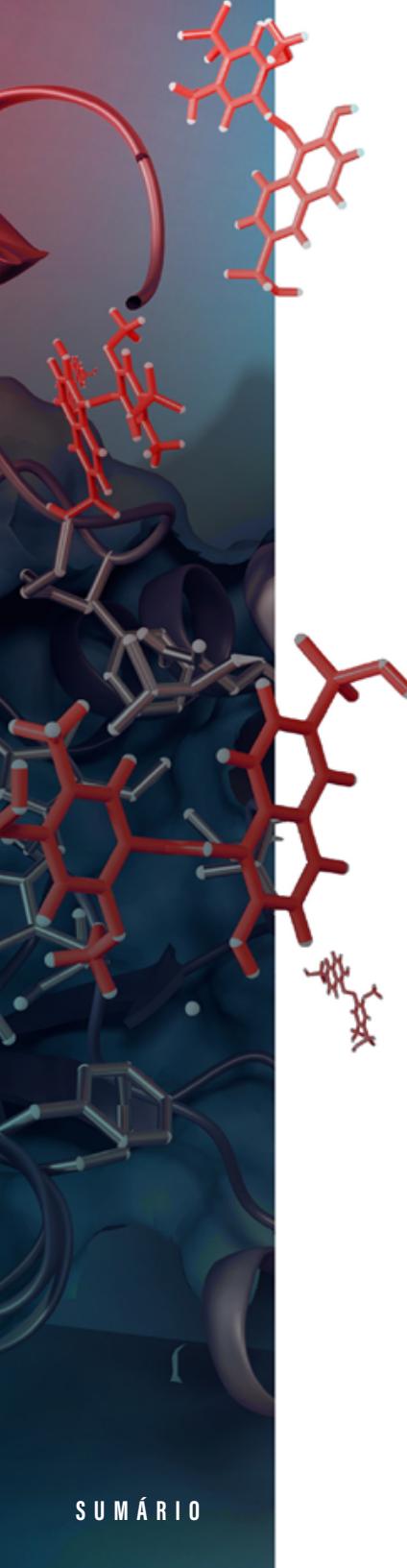
baseada em fungos, conhecida como micorremediação, apresenta grande potencial para a descontaminação de solos impactados por HAPs. Os fungos realizam essa degradação por meio de duas vias: uma dependente da monoxigenase intracelular do citocromo P450 e outra baseada na ação de enzimas ligninolíticas extracelulares como a lacase (ZENG *et al.*, 2021).

Um estudo conduzido por Apriceno; Bucci; Girelli (2017) descreveu o uso da lacase de *Trametes versicolor* na biorremediação do antraceno. Em especial, a toxicidade, carcinogenicidade e mutagenicidade desse composto, que integra a lista de poluentes prioritários da PAE dos EUA, continuam sendo motivo de preocupação devido à escassez de dados disponíveis. A lacase utilizada nesse estudo demonstrou a eficiência de biorremediação do composto, fornecendo oxidação do antraceno para a 9,10-antraquinona, uma forma menos tóxica.

Uma lacase de *Pleurotus ostreatus* foi utilizada na biorremediação de águas residuais de biorrefinaria lignocelulósicas contaminadas com hidrocarbonetos aromáticos policíclicos e fenólicos. Kumar *et al.* (2022), relatam que o tratamento com lacase para remediação de uma alta carga de contaminantes mostra claramente que as concentrações dos vários HAPs diminuíram em mais de 90% de seus níveis iniciais. Entre os HAPs estudados, compostos de baixo peso molecular, como acenafteno, flúor, naftaleno e transformação de fenantreno por lacase, foram iniciados após as primeiras 24 h. Além disso, a remediação continuou sem o uso de um mediador fenólico, aumentando constantemente ao longo do tempo. Da mesma forma, compostos de alto peso molecular, como fluoranteno e remediação de pireno, foram iniciados após 72 h de tratamento com lacase, seguidos por remediação de benzo[a]antraceno, benzo[a]pireno e criseno após 168 h de tratamento.

## BIORREMEDIÇÃO DE COMPOSTOS FARMACEUTICAMENTE ATIVOS (PhACs)

Uma nova categoria de poluentes orgânicos, denominada compostos farmaceuticamente ativos (PhACs), inclui principalmente hormônios, antibióticos, antifúngicos, antidepressivos, antiepilepticos, medicamentos hipoglicemiantes, analgésicos, betabloqueadores e anti-inflamatórios não esteroides (AINEs). Esses compostos são amplamente utilizados em diversas áreas, como agricultura, aquicultura, pecuária e saúde humana em todo o mundo. No entanto, a maior parte dos PhACs é eliminada pelos organismos sem sofrer metabolização significativa, o que faz com que grandes quantidades desses contaminantes acabem sendo lançadas no meio ambiente ou direcionadas para estações de tratamento de águas residuais (ETARs). Eles têm sido detectados não apenas nas águas residuais influentes e efluentes, mas também em águas superficiais — tanto doces quanto marinhas — e em águas subterrâneas, devido ao lixiviamento de efluentes. A presença de resíduos farmacêuticos nos recursos hídricos tornou-se um sério desafio global para alcançar a meta de “Água potável para todos”. O setor farmacêutico mundial apresentou um crescimento expressivo, com projeções de atingir US\$ 1,48 trilhão em 2022. Devido à sua estrutura química estável, os PhACs no meio ambiente apresentam alta resistência à degradação, o que contribui para sua persistência prolongada nos ecossistemas. Diante desse cenário desafiador, o uso de tratamento enzimático para a remoção de PhACs da água se destaca por suas múltiplas vantagens, como a produção de subprodutos não tóxicos e a adoção de um processo ambientalmente sustentável, sendo uma alternativa viável para o tratamento de recursos hídricos (AHMAD *et al.*, 2025; SINGH *et al.*, 2025).



A ação das lacases na biodegradação de compostos farmacêuticos se restringe às frações fenólicas, devido à sua incapacidade de oxidar diretamente substratos com alto potencial redox. Contudo, a oxidação natural de substratos fenólicos – que abrange monofenóis, difenóis, polifenóis, aminofenóis, metoxifenóis, ascorbato e aminas aromáticas – pela lacase, principalmente através da redução de quatro elétrons do oxigênio para água, possibilita seu uso consolidado em diversas aplicações biotecnológicas. Além disso, os sistemas mediadores de lacase ampliaram significativamente a variedade de compostos oxidáveis por essas enzimas, permitindo uma ampla gama de aplicações na degradação de contaminantes orgânicos residuais (KUMAR; CABANA, 2016).

Um estudo conduzido por Guardado *et al.* (2021) empregou uma lacase de *T. versicolor* imobilizada covalentemente na superfície de partículas de sílica gel para a remoção de compostos farmacêuticos como amoxicilina (AMX), ciprofloxacino (CIP), carbamazepina (CBZ) e sulfametoxazol (SMX). Nos experimentos, os autores utilizaram mediadores sintéticos com o objetivo de potencializar a remoção dos fármacos selecionados. Embora parte da eliminação observada tenha resultado da adsorção ao suporte sólido, a eficácia do sistema imobilizado enzima-mediador na remoção dos compostos-alvo foi particularmente evidente no caso do SMX. Na presença do mediador siringaldeído (SYR), foi possível obter a transformação completa do antibiótico SMX em apenas 4 horas de tratamento.

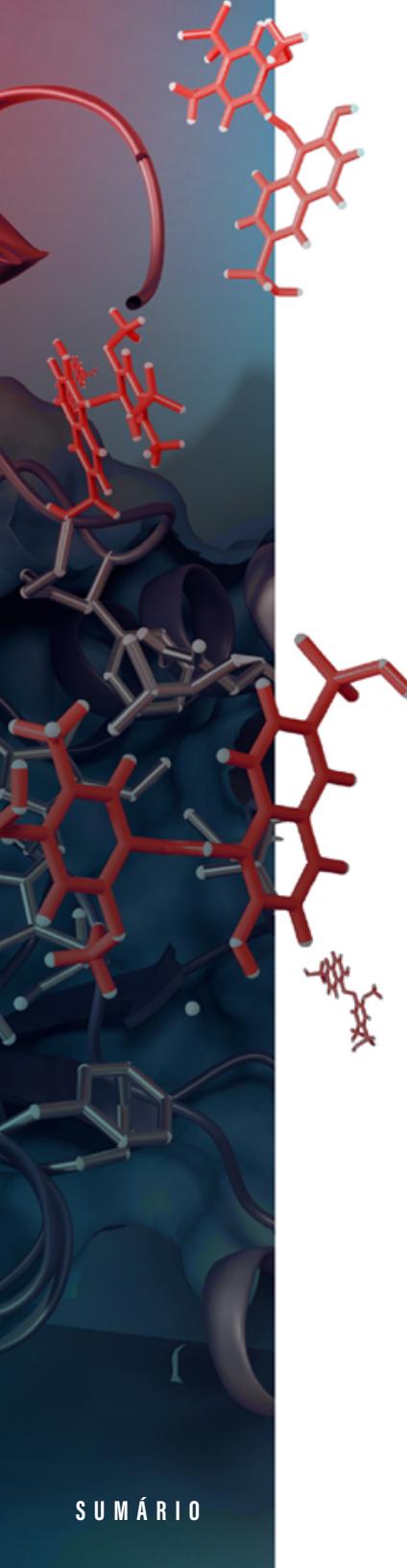
Uma lacase derivada de resíduos de cogumelos foi utilizada na biorremediação de ciprofloxacino e norfloxacino, antibióticos fluoroquinolonas de amplo espectro que podem causar efeitos adversos à saúde, como náuseas, vômitos, diarreia, teratogênese e genotoxicidade. A lacase foi extraída de resíduos dos substratos utilizados no cultivo de *Pleurotus florida* dentro do conceito de economia circular. Aproximadamente 86% de degradação do ciprofloxacino ( $5 \mu\text{g mL}^{-1}$ ) foi alcançada na presença de ABTS 0,05 mM (ácido 2,2'-azino-bis(3-etylbenzotiazolina-6-sulfônico)) como mediador, enquanto

norfloxacino atingiu aproximadamente 79% de degradação nas mesmas condições. O estudo também demonstrou que o uso de lacase isolada de SMW de *P. florida* pode melhorar a qualidade das águas residuais, e os produtos degradados têm atividade antibacteriana residual não tóxica (GHOSE *et al.*, 2024).

Um estudo de revisão recente avaliou a remediação de PhACs em matriz aquosa utilizando lacase na degradação de diversos produtos farmacêuticos (AHMAD *et al.*, 2025). Nessa revisão é mencionado uma degradação de 100% de sulfametoazol utilizando lacase livre de *Pycnoporus sanguineus*, na presença dos mediadores siringaldeído, ácido p-cumárico e ABTS. O trabalho também menciona a degradação quase completa de cetoprofeno e aspirina realizado pela lacase imobilizada de *T. versicolor*, e a remoção completa de 5 µM de labetalol pela lacase livre de *T. versicolor*, ambos utilizando ABTS como mediador.

## BIORREMEDIÇÃO DE COMPOSTOS FENÓLICOS

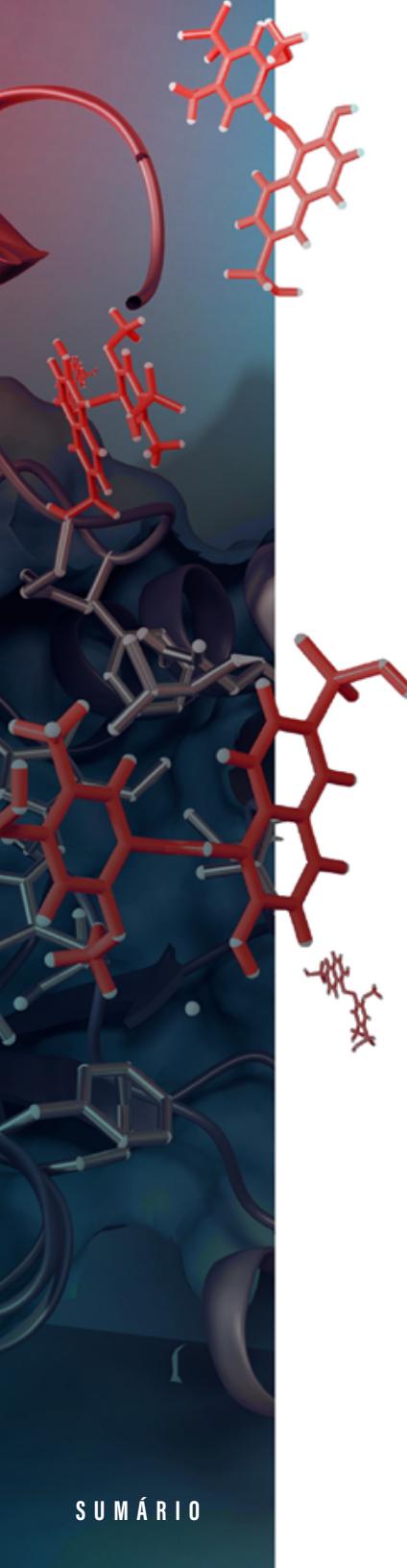
Os compostos fenólicos representam uma parcela significativa dos efluentes industriais devido ao seu amplo uso em diversos processos, como a fabricação de plásticos e resinas, preservação de madeira, refino de petróleo, produção de papel, corantes, pesticidas, fármacos e antioxidantes. A maior parte desses compostos não é removida da fração líquida nas estações de tratamento de águas residuais, sendo transferida para o lodo. Além disso, eles não são degradados pelo lodo ativado, o que resulta em sua liberação no meio ambiente por meio dos efluentes ou em biossólidos aplicados na agricultura. Compostos fenólicos, como clorofenóis, nonilfenóis, 4-terc-octilfenol e BPAs, são desreguladores endócrinos (EDCs) comumente encontrados. Esses compostos podem interferir nas funções hormonais normais, imitando



hormônios naturais, competindo por seus receptores e causando desequilíbrios hormonais significativos, além de representar riscos à saúde. Além disso, durante a biodegradação do fenol, podem ser formados intermediários ainda mais tóxicos, aumentando a toxicidade para células e tecidos vivos. Assim, a necessidade de degradá-los ou transformá-los em substâncias biodegradáveis ou não tóxicas por meio do uso de enzimas tem despertado grande interesse (KYOMUHIMBO; BRINK, 2023; PANIGRAHY *et al.*, 2022).

O 2,4-dinitrofenol (2,4- DNP) é utilizado na produção de pesticidas, agentes de controle de insetos, corantes e produtos farmacêuticos. Considerado o poluente tóxico e refratário mais relevante entre os dinitrofenóis, sua presença no meio ambiente pode advir de diversas fontes, como efluentes industriais ou a degradação de pesticidas que o contêm, gerando metabólitos intermediários. Um estudo feito por Rahmani e colaboradores (2020), demonstrou a eficiência de uma lacase de *T. versicolor*, tanto na sua forma livre, quanto imobilizada em remover 100% do composto 2,4-dinitrofenol de águas residuais sintéticas após 6 horas de tratamento. 2,4- DNP é considerado altamente tóxico e possui uma notável resistência à degradação.

O bisfenol A (BPA) é um disruptor endócrino reconhecido, que traz consigo problemas ambientais, riscos à saúde humana e impactos ecológicos. Ele é amplamente empregado como intermediário na produção de resinas epóxi e plásticos de policarbonato. Os métodos mais comuns, como adsorção, destilação, oxidação química, extração e filtração, costumam ser pouco eficazes na remoção desse poluente de meios aquosos. Em contrapartida, a degradação enzimática tem se destacado como uma abordagem promissora, especialmente com o uso da lacase, reduzindo significativamente os impactos ambientais (UBER *et al.*, 2025). Um estudo utilizou a lacase de *P. ostreatus* e *P. pulmonarius* para degradação de BPA. Os resultados demonstraram que as lacases modificaram significativamente a estrutura do bisfenol A. No entanto, a transformação desse composto pela lacase de *P. pulmonarius* resultou em um aumento da

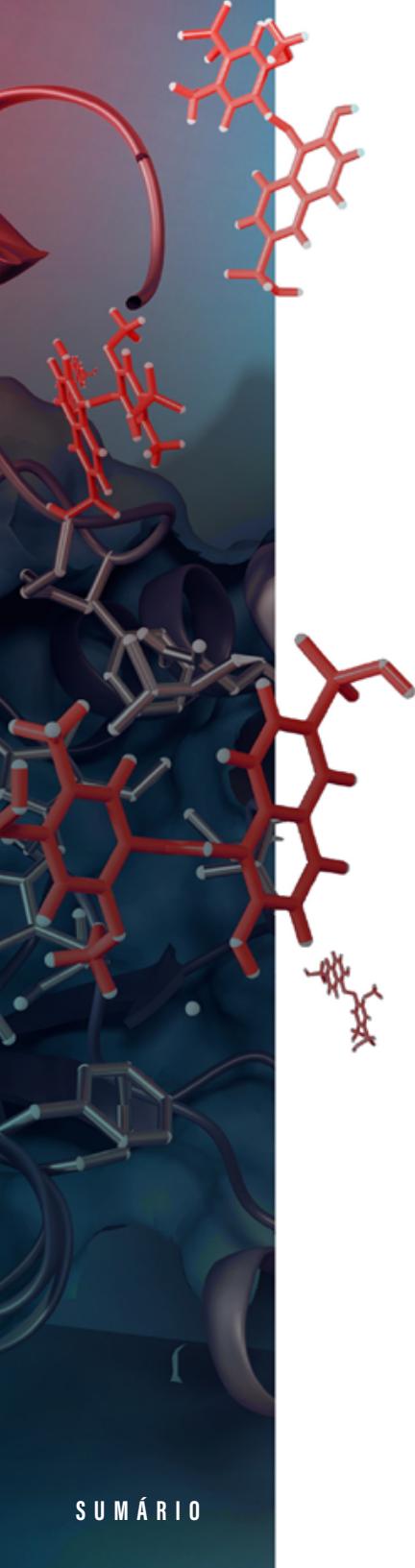
A vertical decorative strip on the left side of the page features a complex arrangement of molecular models. It includes several red and grey hexagonal rings representing aromatic molecules, some branched red chains, and a few purple ribbon-like structures that could represent enzymes or proteins. The overall aesthetic is scientific and organic.

toxicidade, tornando seu uso inadequado para biorremediação. Em contraste, a lacase de *P. ostreatus* mostrou-se eficiente na degradação do bisfenol A, resultando em uma drástica redução da toxicidade, podendo ser considerada uma ferramenta promissora para a descontaminação de materiais ou ambientes afetados por BPA (DE FREITAS *et al.*, 2017). Estudos como este destacam a relevância da avaliação da toxicidade em pesquisas voltadas à biodegradação do BPA ou de outros poluentes.

## BIORREMEDIÇÃO DE MICROPLÁSTICOS

Os microplásticos são partículas de plástico menores que 5 mm, resultantes da degradação de plásticos maiores ou da utilização direta de plásticos minúsculos em produtos como cosméticos, detergentes e abrasivos. Estes microplásticos, compostos principalmente de polietileno (PE), polipropileno (PP), poliestireno (PS), e outros polímeros sintéticos, são extremamente difíceis de degradar por processos naturais convencionais, dado que sua estrutura química é altamente resistente (KYOMUHIMBO; BRINK, 2023; AHMAD *et al.*, 2025).

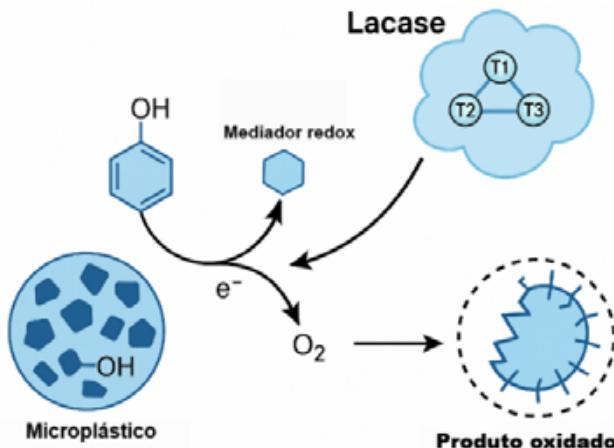
As lacases apresentam grande potencial na biorremediação de microplásticos devido à sua habilidade em catalisar reações de oxidação em compostos orgânicos complexos, o que pode levar à fragmentação ou modificação estrutural dos polímeros. Embora as lacases não sejam capazes de degradar os plásticos diretamente, elas podem agir sobre grupos funcionais presentes nas superfícies dos microplásticos, como os compostos fenólicos ou os aditivos presentes nos plásticos, iniciando processos de degradação. O processo de oxidação pode, em última análise, enfraquecer as ligações moleculares dos polímeros, promovendo a fragmentação ou a modificação que facilita a biodegradabilidade (DE FREITAS *et al.*, 2017; GUARDADO *et al.*, 2021).



A aplicação de mediadores redox tem se mostrado eficaz na amplificação da atividade oxidativa de lacases na degradação de microplásticos. Esses mediadores são pequenas moléculas capazes de facilitar a transferência de elétrons entre a enzima e substratos de difícil oxidação. No contexto da degradação de plásticos sintéticos, compostos como acetossiringona e 1-hidroxibenzotriazol (HBT) têm sido utilizados para viabilizar a oxidação de estruturas não fenólicas, promovendo a formação de radicais livres que induzem a fragmentação de polímeros (SODHI; BHATIA; BATRA, 2024; UR RAHMAN *et al.*, 2024). Atuando como “ponte” entre a lacase e o microplástico, os mediadores permitem a atuação da enzima sobre grupos aromáticos ou fenólicos presentes nas cadeias poliméricas (Figura 2) (PACHECO; SOARES, 2014).

Dentre os diversos tipos de microplásticos, aqueles que contêm estruturas aromáticas ou grupos funcionais suscetíveis à oxidação apresentam maior reatividade frente à ação da lacase. Polímeros como o poliestireno (PS) e o policarbonato (PC), que possuem anéis aromáticos em sua estrutura, são mais vulneráveis à oxidação mediada por lacases, especialmente na presença de mediadores adequados. O poliuretano (PU), dependendo da composição, também pode ser degradado parcialmente devido à presença de grupos uretânicos suscetíveis à clivagem oxidativa. Já plásticos mais inertes, como o polietileno (PE) e o polipropileno (PP), compostos majoritariamente por cadeias alifáticas saturadas, tendem a ser menos reativos. No entanto, modificações superficiais desses materiais — como oxidação prévia por radiação UV, plasma ou agentes químicos — podem introduzir grupos carbonílicos e hidroxílicos, aumentando a suscetibilidade à ação enzimática. Esses resultados indicam que a composição química do microplástico, bem como a presença de grupos oxidáveis e o uso estratégico de mediadores redox, são fatores determinantes na eficiência da degradação por lacases.

**Figura 2 - Esquema da reação de oxidação de microplásticos com lacase e mediadores redox**

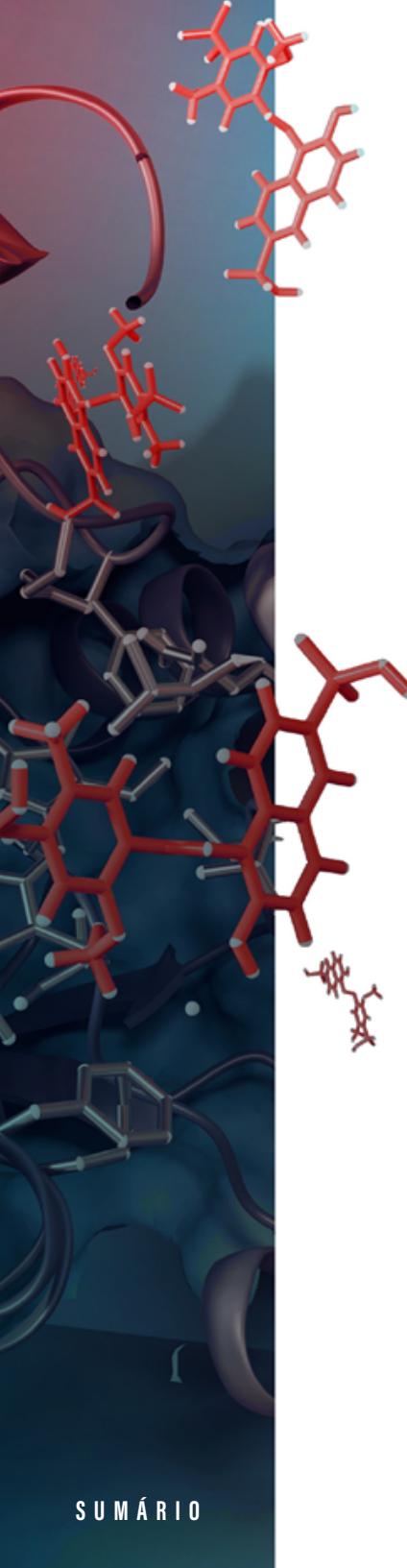


## CINÉTICA ENZIMÁTICA E FATORES QUE INFLUENCIAM NA EFICIÊNCIA DA LACASE EM PROCESSOS DE BIORREMEDIADAÇÃO

A cinética enzimática da lacase envolve a descrição de como essa enzima catalisa reações de oxidação, geralmente de compostos fenólicos, na presença de oxigênio molecular. A lacase (EC 1.10.3.2) é uma oxidoredutase multicobre que oxida substratos doadores de elétrons e reduz O<sub>2</sub> a H<sub>2</sub>O, sem a necessidade de cofatores adicionais.

A atividade da lacase geralmente segue a equação de Michaelis-Menten:

$$v = \frac{V_{\max}[S]}{K_m + [S]}$$

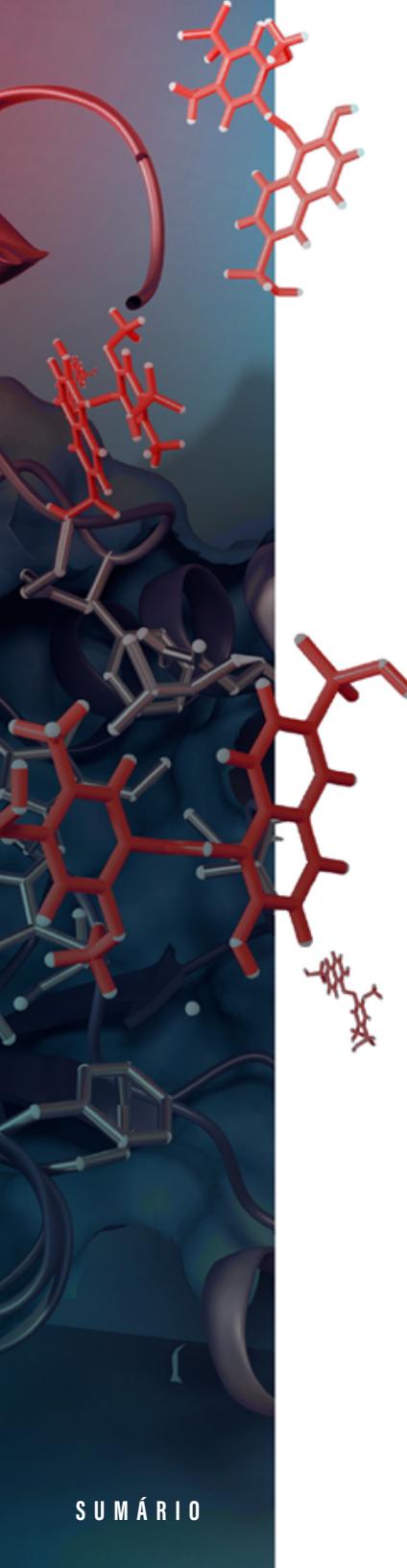


Onde  $v$  é velocidade de reação,  $[S]$  a concentração do substrato,  $V_{max}$  a velocidade máxima de reação e  $K_m$  a constante de Michaelis (concentração de substrato que gera metade da velocidade máxima). Valores baixos de  $K_m$  indicam alta afinidade pelo substrato. A lacase pode apresentar diferentes  $K_m$  e  $V_{max}$  dependendo do substrato fenólico, pH, temperatura, fonte da enzima (fungos, bactérias, plantas) e da presença de mediadores redox. Em substratos de alta massa molecular ou com baixa reatividade, mediadores redox (ex: ABTS, HBT) são usados para ampliar o espectro de ação da lacase. A cinética, nesse caso, torna-se mais complexa e pode envolver múltiplos equilíbrios e etapas de transferência de elétrons.

Além disso, a atividade das lacases na biorremediação de diferentes tipos de contaminantes, é influenciada por alguns fatores físico-químicos que estão listados e brevemente comentados a seguir.

**a) pH** - O pH é um dos principais fatores que afetam a estabilidade e atividade das lacases. A faixa de pH ótimo varia conforme o tipo de lacase utilizada, mas geralmente as lacases apresentam atividade ideal em pH ácido (entre 3,0 e 5,0). Alterações no pH podem alterar a ionização dos grupos funcionais, afetando a interação da enzima com os substratos e a velocidade de degradação (DE FREITAS *et al.*, 2017).

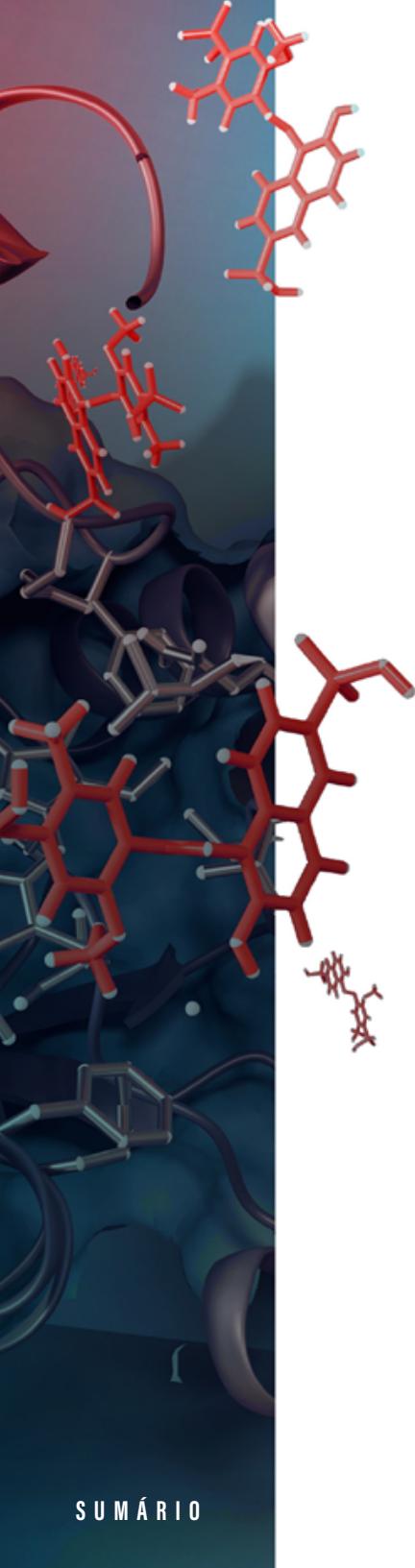
**b) Temperatura** - A temperatura também influencia a eficiência das lacases. Embora cada uma delas tenha uma temperatura ótima de atividade, temperaturas muito altas podem provocar desnaturação e reduzir a eficiência catalítica. Para lacases utilizadas em biorremediação, temperaturas entre 40 °C e 60 °C são geralmente ideais, mas a estabilidade térmica pode ser um fator limitante para aplicações industriais em larga escala. A imobilização de lacases ou o uso de lacases termofílicas podem melhorar a eficiência em temperaturas mais altas (KYOMUHIMBO; BRINK, 2023; AHMAD *et al.*, 2025).



**c) Cofatores e íons metálicos** - Os cofatores, particularmente o cobre, são essenciais para a atividade das lacases. Além disso, a presença de outros íons metálicos pode afetar sua estabilidade. Experimentos demonstram que lacases imobilizadas em suportes como sílica ou polímeros podem ter sua atividade melhorada na biorremediação, devido à interação do suporte com os cofatores e íons metálicos (GUARDADO *et al.*, 2021).

## ESTRATÉGIAS DE MELHORIA DA EFICIÊNCIA DAS LACASES - IMOBILIZAÇÃO ENZIMÁTICA E SISTEMAS DE SUPORTE

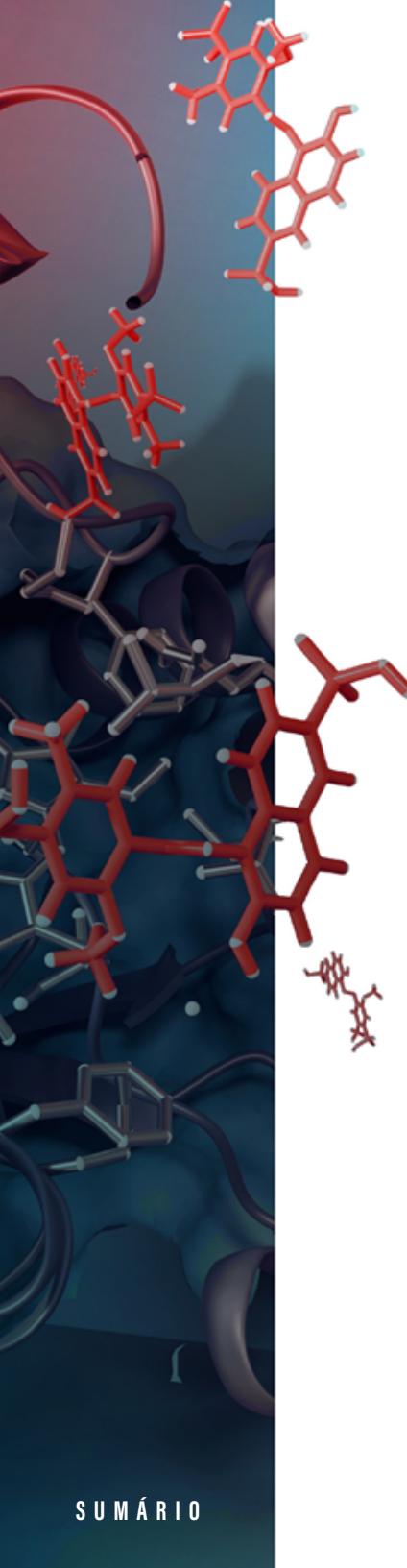
Apesar do uso de lacases em processos de biorremediação ser bastante vantajoso, principalmente do ponto de vista ambiental, as aplicações industriais frequentemente enfrentam limitações associadas a algumas desvantagens, tais como: (1) os elevados custos de separação e purificação, (2) a suscetibilidade à desativação em ambientes hostis ou não naturais, e (3) a dificuldade de recuperação após a catálise, uma vez que, ao contrário dos catalisadores químicos heterogêneos, a maioria das enzimas dissolve facilmente em meios aquosos (BRUGNARI *et al.*, 2020). A imobilização enzimática busca contornar essas limitações ao mimetizar a forma como as enzimas atuam naturalmente em células vivas, onde geralmente estão associadas a organelas, membranas e ao citoesqueleto. Esse processo aumenta a estabilidade da enzima, restringindo mudanças conformacionais drásticas e conferindo propriedades vantajosas, como maior resistência a variações de temperatura e pH, aumento da atividade catalítica, prolongamento da meia-vida, possibilidade de uso em diferentes configurações de biorreatores, facilidade de separação do meio reacional e reutilização por períodos prolongados, o que, por sua vez, reduz os custos operacionais em escala industrial (KYOMUHIMBO; BRINK, 2023).



As técnicas de imobilização de lacases têm se mostrado eficazes na melhoria de suas estabilidades e das atividades catalíticas. A adsorção de uma lacase em nanotubos de carbono de paredes múltiplas, por exemplo, resultou em maior estabilidade durante o armazenamento, mantendo o desempenho catalítico após múltiplos ciclos de uso (TAVARES *et al.*, 2015). Da mesma forma, nanopartículas magnéticas de polidopamina funcionalizadas com líquidos iônicos proporcionaram uma superfície biocompatível para a imobilização da enzima, promovendo maior resistência térmica e estabilidade frente ao pH, com retenção de 80% da atividade a 50 °C e 65% após 30 dias de armazenamento (ZHANG *et al.*, 2024). Além disso, uma lacase imobilizada em nanopartículas de sílica ( $\text{SiO}_2$ ) ativadas por glutaraldeído apresentou estabilidade térmica significativamente superior à da enzima livre, com meias-vidas de 11 a 18 vezes maiores na faixa de 50–60 °C e retenção de 82,6% da atividade após 10 ciclos de reutilização (PATEL *et al.*, 2014). Embora a imobilização possa alterar levemente os parâmetros ideais de pH e temperatura, ela tende a melhorar substancialmente a estabilidade operacional, a possibilidade de reutilização e a eficiência da enzima em aplicações como a degradação de poluentes e processos industriais diversos.

## ENGENHARIA GENÉTICA PARA A PRODUÇÃO DE LACASES E APLICAÇÕES EM BIORREMEDIAÇÃO

A produção natural de lacases por fungos e bactérias é frequentemente limitada por baixos rendimentos e pela complexidade das condições de cultivo. Para superar essas restrições, a engenharia genética tem sido amplamente utilizada por meio da expressão heteróloga em sistemas microbianos. Leveduras como *Pichia pastoris* e *Saccharomyces cerevisiae* destacam-se como hospedeiros



eficientes para a produção recombinante de lacases, principalmente por sua capacidade de realizar modificações pós-traducionais, como a glicosilação. *P. pastoris*, em particular, é amplamente empregada devido à sua elevada densidade celular e à secreção eficiente da enzima (MA *et al.*, 2017). Bactérias como *Escherichia coli*, embora não realizem glicosilação, oferecem vantagens como crescimento rápido e produção em larga escala. Estratégias de engenharia, como a fusão da lacase a tags de solubilidade (por exemplo, TrxA e MBP), têm sido utilizadas para melhorar a expressão e a funcionalidade da enzima recombinante (LI *et al.*, 2024). Além disso, modificações genéticas visando à superexpressão de lacases nativas ou à deleção de genes reguladores negativos têm contribuído para o aumento significativo da produção enzimática (ZHANG *et al.*, 2024).

Sistemas de expressão fúngica também têm sido explorados como alternativa promissora para a produção de lacases. Balcázar-López *et al.* (2016) relataram a expressão bem-sucedida da lacase de *Trametes sanguineus* em *Trichoderma atroviride*, com secreção eficiente e propriedades catalíticas comparáveis às da enzima nativa. Os autores observaram um aumento de 35% na remoção de compostos fenólicos na presença de glicose, além de taxas de descoloração de 67,7% para Azul de Bromofenol e 18,0% para Vermelho Congo. A enzima recombinante também apresentou alta eficiência na degradação de hidrocarbonetos aromáticos policíclicos, alcançando índices entre 97% e 99%. Sistemas de expressão em levedura também têm demonstrado resultados promissores na produção de lacases recombinantes. Theerachat *et al.* (2012) utilizaram *Pichia pastoris* para a clonagem e expressão da lacase Lcc7, a qual apresentou desempenho superior em relação à enzima de referência. A Lcc7 exibiu eficiência catalítica três vezes maior, temperatura de fusão 10 °C mais elevada, meia-vida prolongada a 50 °C (aumento de mais de 110 minutos), atividade específica de 11 U/mg e capacidade de degradar até 70% de antraceno.

## USO DE MEDIADORES REDOX SINTÉTICOS E NATURAIS

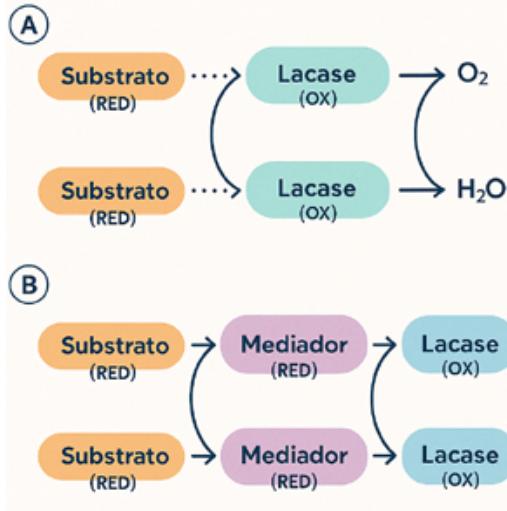
Como discutido ao longo deste capítulo, as lacases são capazes de catalisar a oxidação não específica de uma ampla variedade de substratos. No entanto, seu potencial redox, que varia entre 0,5 e 0,8 V, é inferior ao das peroxidases (1,1 a 1,26 V), o que pode limitar sua atuação sobre determinados compostos. Para superar essa limitação, diversos estudos têm demonstrado a eficácia do uso de sistemas mediadores redox. Nessa abordagem, compostos fenólicos atuam como mediadores, facilitando a transferência de elétrons entre a lacase e o poluente alvo (Figura 3). Essa mediação aprimora a eficiência da reação oxidativa, podendo elevar as taxas de degradação em até 80%, dependendo do sistema utilizado (HERMOSILLA *et al.*, 2025). Chen; Meng (2025) ressaltam a importância da seleção adequada do mediador, fator essencial para maximizar a eficiência da lacase na remoção de poluentes orgânicos. Entre os mediadores sintéticos mais utilizados destacam-se o 2,2'-azino-bis(3-etylbenzotiazolina-6-sulfônico) (ABTS) e o 1-hidroxibenzotriazol (HBT), ambos com comprovada capacidade de promover a oxidação de compostos recalcitrantes, como hidrocarbonetos aromáticos policíclicos (HAPs), ciprofloxacino, bisfenol A e pentaclorofenol, por meio de mecanismos de transferência eletrônica (TE) ou transferência de átomos de hidrogênio (TAH). Alternativamente, mediadores naturais como vanilina (VAN), acetosiringona (AS) e ácido *p*-cumárico (PCA) têm demonstrado eficácia na oxidação de corantes recalcitrantes, oferecendo uma abordagem mais sustentável e ambientalmente amigável.

Uma lacase comercial de *Agaricus bisporus* foi utilizada para degradação de ftalato de din-n-butila (DBP – 99% de pureza) na presença de mediadores redox {azino-bis[ácido 3-etylbenzotiazolino-6-sulfônico] (ABTS), 1-hidroxibenzotriazol (HBT) e siringaldeído

(SYR). Bankole *et al.* (2023) relataram que a degradação de dibutilfálico (DBP) utilizando apenas lacase resultou em uma eficiência de 21%. No entanto, a adição de um mediador elevou a taxa de remoção para 98,85%. Em experimentos preliminares de triagem com diferentes mediadores, o siringaldeído (SYR) demonstrou maior eficácia na remoção de DBP em comparação ao 1-hidroxibenzotriazol (HBT) e ao ABTS, indicando seu papel mais relevante no sistema reacional. Estudos de fitotoxicidade utilizando *Lens culinaris* e *Sorghum bicolor* revelaram que houve uma redução de 91% da toxicidade do meio de tratamento.

**Figura 3** - Esquema representando os mecanismos da oxidação catalisada pelas lacases por mecanismo direto sem o uso de mediadores (A) e com a adição de mediadores (B).

### Oxidação catalisada por lacase



## DESAFIOS E PERSPECTIVAS

Apesar dos avanços significativos no uso de lacases para fins ambientais, diversos desafios técnicos e operacionais ainda limitam sua aplicação plena, conforme explicitado abaixo.

**Estabilidade em condições ambientais adversas** -

Flutuações de pH, temperatura e presença de inibidores podem comprometer a atividade catalítica das lacases em ambientes naturais ou industriais.

**Escalabilidade e reaproveitamento** - A reutilização da enzima e sua integração eficiente em sistemas contínuos ainda requerem desenvolvimento de suportes e biorreatores otimizados.

**Baixo rendimento de produção natural** - A obtenção de lacases em quantidades viáveis economicamente ainda depende de melhorias em sistemas de expressão heteróloga, como leveduras e bactérias.

**Desenvolvimento de mediadores mais seguros e sustentáveis** - A busca por mediadores redox naturais, com menor impacto ambiental e custo reduzido, é essencial para tornar a tecnologia mais verde e acessível.

**Análise de subprodutos de degradação** - Estudos toxicológicos mais aprofundados dos compostos gerados são fundamentais para garantir a eficácia e segurança da biorremediação.

**Integração com tecnologias de tratamento de águas residuais** - As lacases precisam ser compatibilizadas com as demandas de estações de tratamento e processos híbridos, aliando eficiência e custo-benefício.

As perspectivas incluem o uso de ferramentas de biologia sintética para a construção de enzimas mais robustas e o desenvolvimento de sistemas de biorremediação modulares e inteligentes, capazes de responder dinamicamente à presença de poluentes específicos.

## CONCLUSÃO

O uso das lacases desponta como uma biotecnologia promissora para o enfrentamento da poluição ambiental, oferecendo uma alternativa verde e eficaz aos métodos convencionais de tratamento de resíduos. A ampla gama de substratos oxidáveis das lacases em geral, aliada à possibilidade de produção recombinante e imobilização, amplia consideravelmente o campo de aplicação. No entanto, a implementação em escala real ainda demanda a superação de obstáculos técnicos relacionados à estabilidade, eficiência e segurança. A continuidade das pesquisas em engenharia de proteínas, desenvolvimento de mediadores ecológicos e sistemas reacionais inovadores será determinante para consolidar o papel das lacases como agentes catalíticos centrais em processos de biorremediação e sustentabilidade ambiental.

## REFERÊNCIAS

AFREEN, Sumbul *et al.* Screening and optimization of laccase from cyanobacteria with its potential in decolorization of anthraquinonic dye Remazol Brilliant Blue R. **Biocatalysis and Agricultural Biotechnology**, v. 10, p. 403-410, 2017. <https://doi.org/10.1016/j.bcab.2017.05.004>

AHMAD, Imran *et al.* Catalytic insights into laccase for sustainable remediation of multifaceted pharmaceutically active micropollutants from water matrices: A state-of-art review. **Journal of Water Process Engineering**, v. 70, p. 106901, 2025. <https://doi.org/10.1016/j.jwpe.2024.106901>.

APRICENO, Azzurra; BUCCI, Remo; GIRELLI, Anna Maria. Immobilization of laccase from *Trametes versicolor* on chitosan macrobeads for anthracene degradation. **Analytical Letters**, v. 50, n. 14, p. 2308-2322, 2017. <https://doi.org/10.1080/00032719.2017.1282504>

BACKES, Emanueli *et al.* Production of fungal laccase on pineapple waste and application in detoxification of malachite green. **Journal of Environmental Science and Health, Part B**, v. 57, n. 2, p. 90-101, 2022. <https://doi.org/10.1080/03601234.2022.2025739>

BALCAZAR-LOPEZ, Edgar *et al.* Xenobiotic compounds degradation by heterologous expression of a *Trametes sanguineus* laccase in *Trichoderma atroviride*. **PLoS One**, v. 11, n. 2, p. e0147997, 2016. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0147997>.

BANKOLE, Paul Olusegun *et al.* Enhanced removal of dibutyl phthalate in a laccase-mediator system: optimized process parameters, kinetics, and environmental impact. **Journal of Environmental Management**, v. 348, p. 119227, 2023. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2023.119227>

BRUGNARI, Tatiane *et al.* Characterization of free and immobilized laccases from *Ganoderma lucidum*: application on bisphenol a degradation. **Biocatalysis and Biotransformation**, v. 39, n. 1, p. 71-80, 2020. <https://doi.org/10.1080/10242422.2020.1792448>

CHANG, Yi-Tang *et al.* Immobilization of fungal laccase onto a nonionic surfactant-modified clay material: application to PAH degradation. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 23, p. 4024-4035, 2016. <https://doi.org/10.1007/s11356-015-4248-6>

CHEN, Shan; MENG, Fanping. A laccase-dual mediator system constructed for degrading n-propylbenzene and isopropylbenzene from seawater: Influencing factors, kinetics, mechanism, and eco-toxicity evaluation. **Journal of Environmental Chemical Engineering**, v. 13, n. 3, p. 116335, 2025. <https://doi.org/10.1016/j.jece.2025.116335>

DA ROCHA, Amanda Barbosa *et al.* Shrimp laccase degrades polycyclic aromatic hydrocarbons from an oil spill disaster in Brazil: A tool for marine environmental bioremediation. **Marine Pollution Bulletin**, v. 194, p. 115445, 2023. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2023.115445>

DE FREITAS, Emanuelle Neiverth *et al.* Removal of bisphenol A by laccases from *Pleurotus ostreatus* and *Pleurotus pulmonarius* and evaluation of ecotoxicity of degradation products. **Chemical Engineering Journal**, v. 330, p. 1361-1369, 2017. <https://doi.org/10.1016/j.cej.2017.08.051>

GUARDADO, Ana Luisa Parra *et al.* A novel process for the covalent immobilization of laccases on silica gel and its application for the elimination of pharmaceutical micropollutants. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 28, p. 25579-25593, 2021. <https://doi.org/10.1007/s11356-021-12394-y>

GHOSE, Anamika *et al.* Micropollutants (ciprofloxacin and norfloxacin) remediation from wastewater through laccase derived from spent mushroom waste: Fate, toxicity, and degradation. **Journal of Environmental Management**, v. 366, p. 121857, 2024. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2024.121857>

HERMOSILLA, E. et al. Redox mediator system: Expanding the potential of laccase-like nanozymes towards pollutant remediation. **Results in Engineering**, p. 104656, 2025. <https://doi.org/10.1016/j.rineng.2025.104656>

IARK, Daiane et al. Enzymatic degradation and detoxification of azo dye Congo red by a new laccase from *Oudemansiella canarii*. **Bioresource Technology**, v. 289, p. 121655, 2019. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2019.121655>

KUMAR, Vaidyanathan Vinoth; CABANA, Hubert. Towards high potential magnetic biocatalysts for on-demand elimination of pharmaceuticals. **Bioresource Technology**, v. 200, p. 81-89, 2016. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2015.09.100>

KUMAR, Vaidyanathan Vinoth et al. Laccase production by *Pleurotus ostreatus* using cassava waste and its application in remediation of phenolic and polycyclic aromatic hydrocarbon-contaminated lignocellulosic biorefinery wastewater. **Environmental Pollution**, v. 309, p. 119729, 2022. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2022.119729>

KYOMUHIMBO, Hilda Dinah; BRINK, Hendrik G. Applications and immobilization strategies of the copper-centred laccase enzyme: a review. **Helyon**, v. 9, n. 2, 2023. <https://doi.org/10.1016/j.helyon.2023.e13156>.

LI, Yangyang et al. A CRISPR/Cas9-based visual toolkit enabling multiplex integration at specific genomic loci in *Aspergillus niger*. **Synthetic and Systems Biotechnology**, v. 9, n. 2, p. 209-216, 2024. <https://doi.org/10.1016/j.synbio.2024.01.014>.

MA, Xiaojian et al. High-level expression of a bacterial laccase, CueO from *Escherichia coli* K12 in *Pichia pastoris* GS115 and its application on the decolorization of synthetic dyes. **Enzyme and Microbial Technology**, v. 103, p. 34-41, 2017. <https://doi.org/10.1016/j.enzmictec.2017.04.004>.

MEKUREYAW, Mengistu F. et al. Laccase based per-and polyfluoroalkyl substances degradation: Status and future perspectives. **Water Research**, p. 122888, 2024. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2024.122888>.

MUSTAFA, Ghulam et al. Bioremediation of Reactive Blue 19 dye by laccase-producing *Serratia marcescens* AY4 strain. **Journal of Environmental Chemical Engineering**, p. 115605, 2025. <https://doi.org/10.1016/j.jece.2025.115605>.

PACHECO, Sabrina; SOARES, Carlos Henrique L. Immobilization and characterization of laccase and its use in the biodegradation of paper mill effluent. **Química Nova**, v. 37, p. 209-214, 2014. <https://doi.org/10.5935/0100-4042.20140036>

PANIGRAHY, Namita *et al.* A comprehensive review on eco-toxicity and biodegradation of phenolics: Recent progress and future outlook. **Environmental Technology & Innovation**, v. 27, p. 102423, 2022. <https://doi.org/10.1016/j.eti.2022.102423>

PATEL, Sanjay KS *et al.* Immobilization of laccase on SiO<sub>2</sub> nanocarriers improves its stability and reusability. **Journal of Microbiology and Biotechnology**, v. 24, n. 5, p. 639-647, 2014. <https://doi.org/10.4014/jmb.1401.01025>

RAHMANI, Hadiseh *et al.* Efficient removal of 2, 4-dinitrophenol from synthetic wastewater and contaminated soil samples using free and immobilized laccases. **Journal of Environmental Management**, v. 256, p. 109740, 2020. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2019.109740>

SINGH, Sandeep Kumar *et al.* Cyanobacterial based bioremediation of xenobiotics compounds. Cyanobacterial based bioremediation of xenobiotics compounds, In: **Advances in Chemical Pollution, Environmental Management and Protection**, Elsevier, v. 12, p. 507-524, 2024. <https://doi.org/10.1016/bs.apmp.2024.10.010>.

SINGH, Anil Kumar *et al.* Laccase-based biocatalytic systems application in sustainable degradation of pharmaceutically active contaminants. **Journal of Hazardous Materials**, p. 136803, 2024. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2024.136803>.

SODHI A. S., BHATIA, S., & BATRA, N. Laccase: Sustainable production strategies, heterologous expression and potential biotechnological applications. **International Journal of Biological Macromolecules**, 135745, 2024. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2024.135745>.

TAVARES, Ana PM *et al.* Laccase immobilization over multi-walled carbon nanotubes: Kinetic, thermodynamic and stability studies. **Journal of Colloid and Interface Science**, v. 454, p. 52-60, 2015. <https://doi.org/10.1016/j.jcis.2015.04.054>

THEERACHAT, Monnat *et al.* Engineering and production of laccase from *Trametes versicolor* in the yeast *Yarrowia lipolytica*. **Bioresource Technology**, v. 125, p. 267-274, 2012. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2012.07.117>

UBER, Thais Marques *et al.* Comparative detoxification of Remazol Brilliant Blue R by free and immobilized laccase of *Oudemansiella canarii*. **Biocatalysis and Biotransformation**, v. 40, n. 1, p. 17-28, 2022. <https://doi.org/10.1080/10242422.2020.1835873>

UBER, Thaís Marques et al. Enzymes from basidiomycetes—Peculiar and efficient tools for biotechnology. In: **Biotechnology of Microbial Enzymes**. Academic Press, 2023. p. 129-164. <https://doi.org/10.1016/B978-0-443-19059-9.00023-2>

UBER, Thaís Marques et al. Immobilization of *Trametes versicolor* Laccase by Interlinked Enzyme Aggregates with Improved pH Stability and Its Application in the Degradation of Bisphenol A. **Reactions**, v. 6, n. 1, p. 9, 2025. <https://doi.org/10.3390/reactions6010009>.

UR RAHMAN, Mujeeb et al. Harnessing the power of bacterial laccases for xenobiotic degradation in water: A 10-year overview. **Science of The Total Environment**, v. 918, p. 170498, 2024. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2024.170498>.

ZAINITH, Surabhi et al. Microbial ligninolytic enzymes and their role in bioremediation. In: **Microorganisms for Sustainable Environment and Health**. Elsevier, 2020. p. 179-203. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-819001-2.00009-7>

ZHANG, Wei et al. Ionic liquid functionalized magnetic polydopamine enhancing enzyme stability and catalytic efficiency for water pollutant treatment. **Surfaces and Interfaces**, v. 51, p. 104625, 2024. <https://doi.org/10.1016/j.surfin.2024.104625>

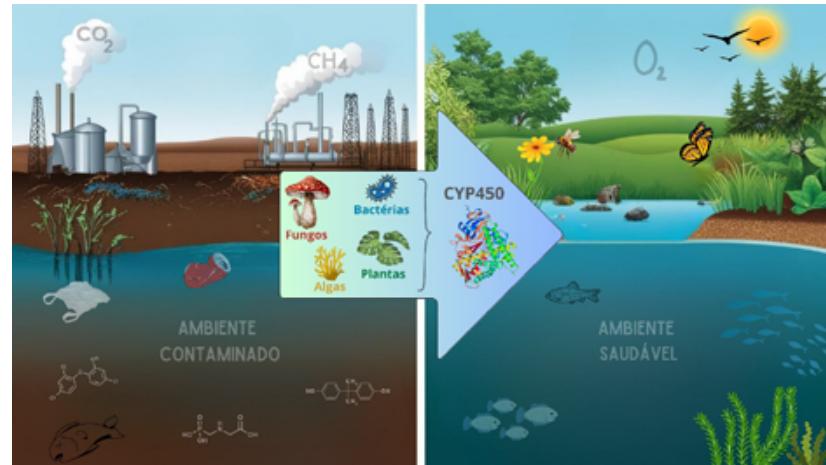
ZENG, Jun et al. Effects of polycyclic aromatic hydrocarbon structure on PAH mineralization and toxicity to soil microorganisms after oxidative bioremediation by laccase. **Environmental Pollution**, v. 287, p. 117581, 2021. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2021.117581>

# 7

Vinícius Mateus Salvatori Cheute  
Adelar Bracht  
Rosane Marina Peralta

## POTENCIAL DO CITOCHROMO P450 E SUAS ENZIMAS EM BIORREMEDIÇÃO: TENDÊNCIAS, OPORTUNIDADES E DESAFIOS

DOI: 10.31560/pimentacultural/978-85-7221-472-7



### RESUMO:

A superfamília citocromo P450 (CYP450s) de enzimas heme-tiolato está envolvida no metabolismo de compostos xenobióticos, incluindo medicamentos, pesticidas e poluentes ambientais. As potenciais aplicações de biorremediação dos CYP450s são revisadas neste capítulo devido ao seu papel na catálise de reações de oxidação, redução e desalogenação de poluentes, que, em última análise, convertem esses produtos químicos persistentes em derivados menos tóxicos ou mais biodegradáveis. Os CYP450s são versáteis e podem ser encontrados em bactérias, fungos, plantas e algas, com potenciais aplicações na desintoxicação de ambientes contaminados (solo ou água). No entanto, as limitações de baixa eficiência catalítica, a dependência de cofator (NADPH) e a instabilidade enzimática dificultam sua aplicação industrial. Estratégias para superar essas limitações, como engenharia de proteínas, imobilização em nanomateriais e sistemas híbridos, são revisadas. Além disso, avanços em IA e biologia sintética permitem um ajuste fino da atividade e especificidade da enzima. O capítulo também analisa tendências recentes, como a fusão dos CYP450s com outras tecnologias de remediação, sugerindo que essas abordagens podem ser usadas para a sustentabilidade ambiental.

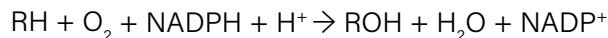
**Palavras-chave:** Biorremediação, Citocromo P450, Engenharia de proteínas, Metabolismo de xenobióticos, Nanomateriais, Poluentes orgânicos.

## INTRODUÇÃO

Citocromo P450 (CYP450: *abreviação do inglês Cytochrome P450*), uma grande superfamília de enzimas heme-tiolate, desempenha papéis fundamentais na biotransformação metabólica de compostos xenobióticos, incluindo medicamentos, toxinas e hormônios (GUENGERICH, 2018). Sua estrutura primária consiste em um único polipeptídeo que se liga a um grupo heme essencial. O heme é um complexo de ferro-protoporfirina IX, com o ferro coordenado a quatro átomos de nitrogênio da porfirina e a uma cisteína da proteína em uma ligação tiolato essencial para sua atividade catalítica (GUENGERICH; ISIN, 2007). O sítio ativo da enzima, onde ocorrem as reações de oxidação, é altamente conservado e hidrofóbico, permitindo assim a ligação de substratos lipofílicos (BERNHARDT, 2006).

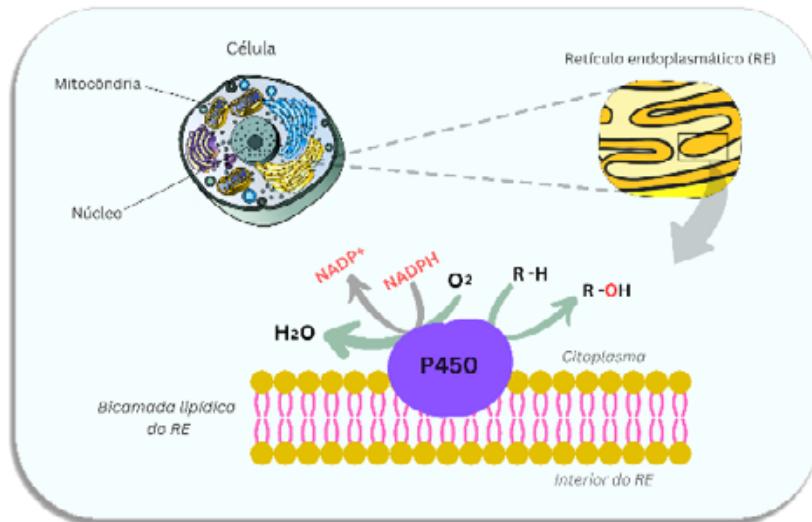
A estrutura tridimensional (3D) dos CYP450s é um padrão multi-helicoidal dobrado, compartilhado entre diferentes isoformas da enzima (LI *et al.*, 2020). Essas isoformas são geradas por genes diferentes e apresentam diferenças na sequência primária, fazendo com que difiram em especificidades para com o substrato em diferentes tecidos e espécies (BERNHARDT; URLACHER, 2014). Os CYP450s constituem uma superfamília de enzimas responsável pelo metabolismo de uma ampla gama de substâncias, como medicamentos, toxinas ou compostos endógenos (CHAKRABORTY *et al.*, 2023). A principal reação catalisada pelos CYP450s é a atividade de oxigenase, na qual um átomo de oxigênio do  $O_2$  é inserido na molécula do substrato e o segundo átomo é removido como água (GUENGERICH, 2018).

A reação geral pode ser representada (Figura 1), de acordo com GUENGERICH (1996), da seguinte forma:



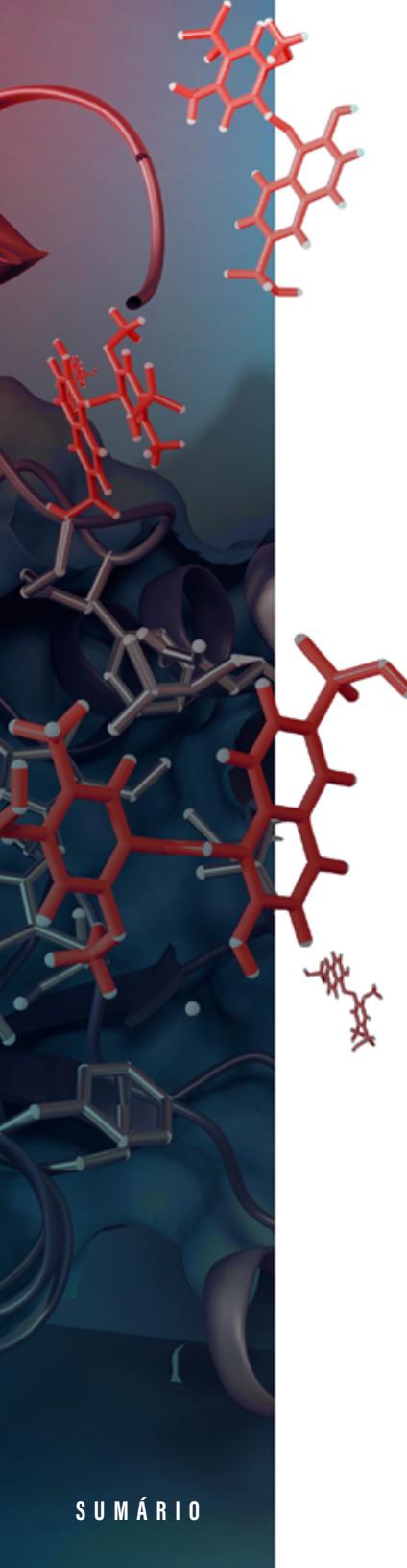
Onde, RH representa o substrato orgânico, NADPH a forma reduzida da nicotinamida adenina dinucleotídeo fosfato (que atua como doador de elétrons), NADP<sup>+</sup> a forma oxidada, e ROH o produto hidroxilado.

**Figura 1 - Mecanismo catalítico geral: representação esquemática da interação CYP450-substrato**



O ciclo catalítico requer a ativação do oxigênio molecular, gerando intermediários reativos responsáveis pela oxidação do substrato (GUENGERICH; ISIN, 2007). Para isso, a enzima depende da reductase de CYP450, que doa elétrons do NADPH para o ferro do heme, permitindo a redução/ativação do oxigênio. Este modo de ação torna o CYP450 muito apropriado para a oxidação de uma ampla variedade de estruturas orgânicas, entre as quais se incluem muitos compostos com significado farmacológico e toxicológico (GUENGERICH, 2018).

Os efeitos dos poluentes em ecossistemas aquáticos e terrestres incluem toxicidade crônica, bioacumulação e disruptão endócrina, exigindo urgentemente soluções baseadas em enzimas

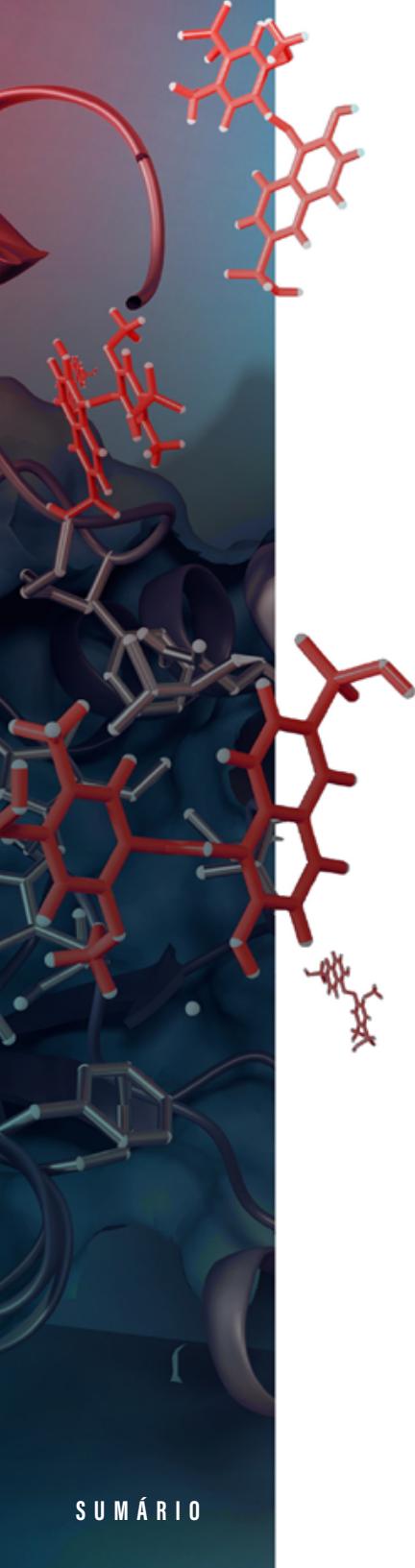


(LI *et al.*, 2023). Portanto, a biorremediação mediada por CYP450s pode ser considerada uma abordagem promissora para remediar a poluição ambiental, sendo um processo eficiente e sustentável para degradar ou transformar poluentes em compostos menos nocivos, além de ser uma escolha mais limpa em comparação com métodos de descontaminação tradicionais, incluindo incineração e tratamento químico (KUMAR e KAPUR, 2016). A família de enzimas CYP450 é de particular interesse devido à sua capacidade de degradar uma variedade de xenobióticos, como pesticidas, hidrocarbonetos e produtos farmacêuticos, com o potencial de gerar riscos significativos para os ecossistemas (GUENGERICH, 2018).

A biorremediação mediada pelos CYP450s tem muitas vantagens sobre métodos físicos e químicos, incluindo baixo custo operacional, baixa geração de resíduos secundários, menor dano ao solo e região e a flexibilidade de usar a técnica *in situ*, o que minimiza o risco ambiental associado a locais altamente contaminados (YANG *et al.*, 2024). A poluição por xenobióticos, incluindo organoclorados e hidrocarbonetos, levou a perturbações ecológicas e afetou o equilíbrio da biodiversidade e a saúde humana (CHENG *et al.*, 2022). Sendo estruturalmente complexos, esses compostos não são prontamente biodegradáveis mas podem ser degradados e hidroxilados pelos CYP450s em produtos de maior solubilidade e biodegradabilidade (BERNHARDT, 2006).

## ESTRUTURA GERAL DOS CYP450S

CYP450 é uma proteína formada por uma única cadeia polipeptídica contendo heme como grupo prostético. Conforme já mencionado acima, este último é uma ferroprotoporfirina IX que é coordenada com o ferro pelos quatro nitrogênios do anel de porfírina (GUENGERICH; ISIN, 2007). O centro catalítico (Figura 2B) da



enzima é o próprio heme, no qual o ferro está ligado a uma das cisteínas da proteína através de uma ligação tiolato. Isso é uma característica distintiva da enzima, bem como uma condição crítica para a catálise (GUENGERICH, 2018).

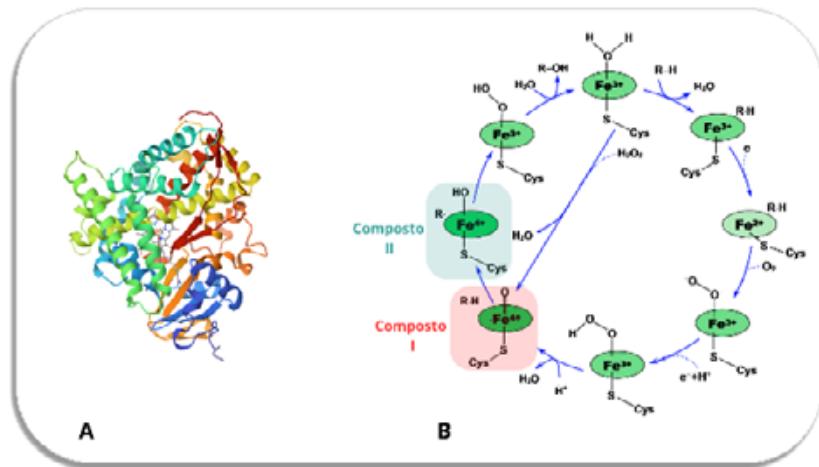
A proteína é dividida estruturalmente em domínios, sendo a região do heme responsável pela ligação do substrato à redutase de CYP450 para fornecer os elétrons necessários para a reação catalítica (BERNHARDT; URLACHER, 2014). Os CYP450s compreendem várias isoformas, que são diferenciadas entre si com base na especificidade para com o substrato (que varia de tecido para tecido), e que são codificadas por diferentes genes. As diferentes estruturas primárias levam naturalmente a diversas estruturas secundárias e terciárias (CHAKRABORTY *et al.*, 2023).

A enzima possui uma estrutura tridimensional característica (Figura 2A), que é bem conservada entre as isoformas e tem um dobramento bem definido com alfa-hélices e folhas beta, bem como uma cavidade hidrofóbica no sítio ativo adequada para interações com substratos lipofílicos (Li *et al.*, 2020). Os CYP450s também podem atuar em associação com outras proteínas, como a já mencionada redutase de CYP450, proteína que ajuda a transferir o elétron do NADPH para a enzima, causando a redução do ferro e a ativação do oxigênio (URLACHER; GIRHARD, 2019). Sua expressão e atividade são moduladas por hormônios, citocinas, substratos e indutores enzimáticos (YANG *et al.*, 2024).

Devido aos efeitos deletérios dos poluentes sobre os ecossistemas aquáticos e terrestres, incluindo toxicidade crônica, bioacumulação e desregulação endócrina, soluções impulsionadas por enzimas são urgentemente necessárias (KUMAR; KAPUR, 2016). Assim, a eliminação de contaminantes via biorremediação mediada por CYP450 pode ser vista como um meio promissor para mitigar a poluição ambiental, já que é um método eficaz e sustentável no qual os poluentes são degradados ou transformados em substâncias

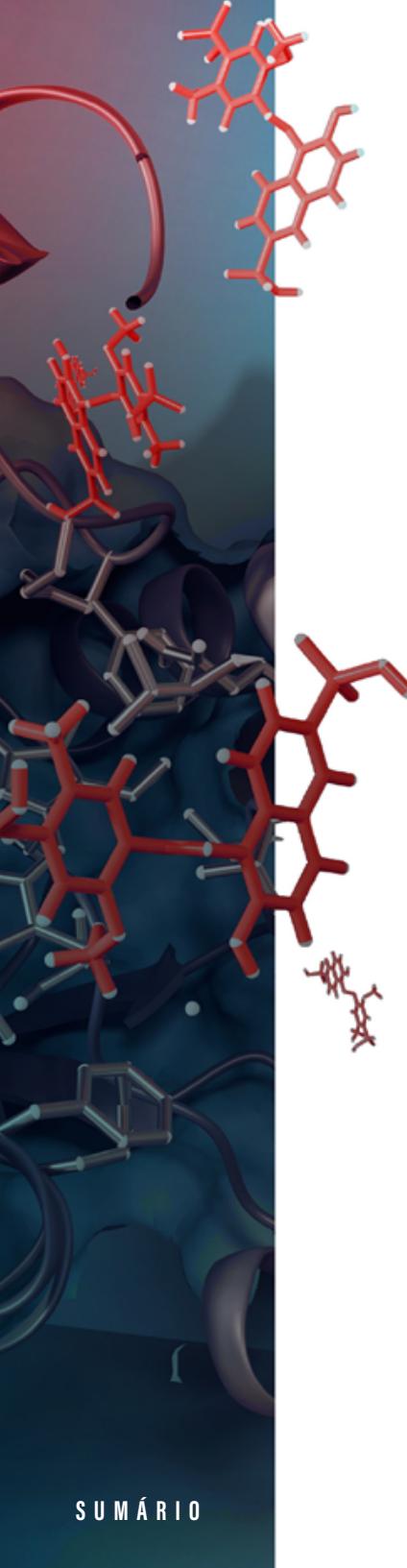
menos tóxicas. Além disto trata-se, ao menos em princípio, de um processo mais limpo em comparação com os métodos tradicionais de descontaminação, como a incineração e os tratamentos químicos (BEHRENDORFF, 2021). Especialmente, a família de enzimas CYP450 é um alvo atraente para o design de inibidores, pois degrada inúmeros xenobióticos (por exemplo: pesticidas, hidrocarbonetos e produtos farmacêuticos) que podem ser de grande preocupação para os ecossistemas (GUENGERICH, 2018).

**Figura 2 - Estrutura e mecanismo catalítico da enzima citocromo P450:** (A) estrutura 3D do CYP450 e seu domínio contendo grupo heme (PDB: protein data bank - acessado em 10 de maio de 2025); (B) Mecanismo catalítico das enzimas do CYP450



Fonte: adaptado de Li et al. (2020).

Conforme já mencionado, a estrutura tridimensional da enzima (Figura 2A) é bem conservada entre as isoformas, apresentando uma dobra característica com hélices alfa e folhas beta, além de um sítio ativo hidrofóbico que favorece interações com substratos lipofílicos (LI *et al.*, 2020). Além disso, o CYP450 frequentemente interage com outras proteínas, como a redutase do CYP450, que facilita a transferência de elétrons do NADPH para a enzima, permitindo a redução do ferro e a ativação do oxigênio (URLACHER; GIRHARD, 2019).



Ainda, sua expressão e atividade são reguladas por hormônios, citocinas, substratos e indutores enzimáticos, e estão presentes nos mais diversos organismos (YANG *et al.*, 2024).

A diversidade de CYP450s em vários grupos taxonômicos, como bactérias, fungos e plantas, está resumida na Tabela 1, que mostra o número de sequências de CYP450s atualmente conhecidas e o número de famílias CYP em cada táxon. Como algumas famílias estão presentes em mais de um táxon, o número total de 2.252 famílias CYP é menor do que a soma dos táxons. Mais de 41 mil sequências já foram nomeadas. No total, quase 350 mil sequências foram extraídas de vários bancos de dados descritos anteriormente. Dentre os grupos examinados, as plantas têm o maior número de CYP450s (184.522), seguidas pelos fungos (85.103) e depois pelas bactérias (62.606). Em comparação com as famílias de CYP, os fungos apresentam o maior número de famílias, com 805, seguidos pelas bactérias, com 591, e pelas plantas, com 277 famílias. Esta informação enfatiza a variedade e a importância do citocromo P450 nesses filos, especialmente nos fungos, que contêm o maior número de famílias de CYP450 (NELSON, 2018).

**Tabela 1** - Estatística do CYP450s, incluindo contagens da família CYP, adaptada de NELSON (2018)

Táxon	Total	Famílias CYP
<b>Animais</b>		
<i>Insetos</i>	7531	208
<i>Invertebrados não insetos</i>	1925	311
<i>Mamíferos</i>	3753	18
<i>Outros vertebrados</i>	1544	19
<b>Plantas</b>	<b>184.522</b>	<b>277</b>
<b>Fungos</b>	<b>85.103</b>	<b>805</b>
<b>Protozoários</b>	<b>602</b>	<b>63</b>
<b>Bactérias</b>	<b>62.606</b>	<b>591</b>
<b>Archaea</b>	<b>148</b>	<b>14</b>
<b>Vírus</b>	<b>28</b>	<b>6</b>
<b>Total</b>	<b>347.762</b>	<b>2252</b>

## REAÇÕES CATALISADAS POR CYP450S

Os CYP450s facilitam diversos tipos de reações, conforme a Figura 3 que ilustra as reações catalisadas pela ferroprotoporfirina, núcleo ativo das enzimas do citocromo P450, destacando sua versatilidade em processos oxidativos. Essas reações são fundamentais no metabolismo de xenobióticos e na biotransformação de fármacos, demonstrando o papel central do CYP450 (YANG *et al.*, 2024). As principais reações catalisadas pelos CYP450s serão brevemente descritas a seguir.

### OXIDAÇÕES

O tipo mais frequente compreende reações de oxidação onde o oxigênio molecular é adicionado ao substrato, frequentemente consumindo NADPH. Os tipos principais estão arrolados a seguir.

Hidroxilação - As cadeias alifáticas ou anéis aromáticos sofrem a inserção de um grupo hidroxila (-OH). Exemplo: o benzo(a)pireno (a fumaça do cigarro é uma fonte) é hidroxilado formando um epóxido reativo que pode ligar-se ao DNA (GUENGERICH, 2018).

Epoxidação - Epóxidos são produzidos em ligações duplas de alcenos ou arenos. Por exemplo, CYP450 catalisa a 10,11-epoxidação da carbamazepina (CBZ), um antiepileptico (BERNHARDT; URLACHER, 2014).

Oxidação de álcoois e aminas - Transformação de álcoois em cetonas (por exemplo, etanol em acetaldeído) ou aminas em N-óxidos (por exemplo, clorpromazina, antipsicótico) (GUENGERICH; ISIN, 2007).

## DE SALQUILAÇÕES

Desalquilação de grupos alquila de N ou O ocorrendo como resultado de N-desmetilação ou O-desmetilação.

N-Desalquilação - Grupos metilas são removidos da cafeína, por exemplo, para formar paraxantina (GUENGERICH, 2018).

O-Desalquilação - A codeína, por exemplo, é desmetilada para formar morfina (BERNHARDT, 2006).

## REDUÇÕES

Sob condições hipóxicas, o CYP450 funciona de maneira redutiva, predominan-temente em moléculas contendo nitro ou azo, tal como nos exemplos abaixo.

Redução de compostos nitro - O antibiótico nitrofurantoína é reduzido a metabólitos amino (BEHRENDORFF, 2021).

Redução azo - O pró-fármaco prontosil é transformado em sulfanilamida (ativo) (KUMAR; KAPUR, 2016).

## OXIDAÇÃO DE HETEROÁTOMOS

Inclui a oxidação de átomos de enxofre, fósforo, nitrogênio, como nos exemplos a seguir.

S-Oxidação - A ativação do omeprazol (inibidor da bomba de prótons) ocorre através da formação de sulfonamida (CHENG *et al.*, 2022).

N-Oxidação - N-Óxidos da clozapina (antipsicótico) podem ser potencialmente tóxicos (GUENGERICH, 2018).

## DESALOGENAÇÃO

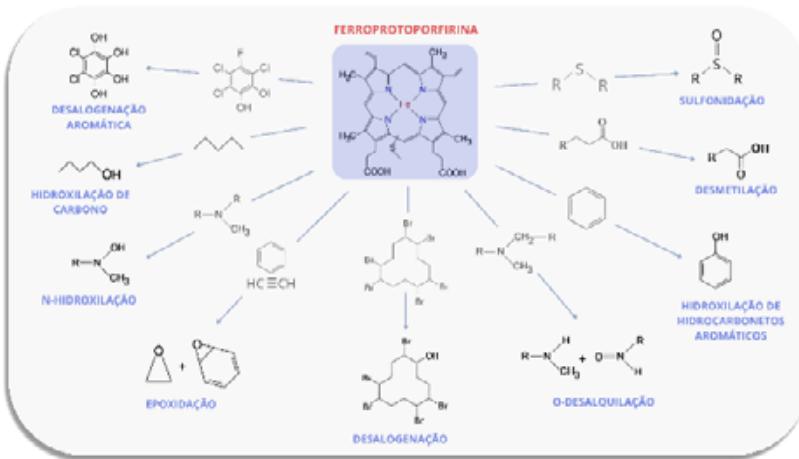
Desalogações são normalmente encontradas no processo de desintoxicação de pesticidas ou anestésicos (cloro de compostos orgânicos). Isto ocorre na descloração do clorofórmio que é transformado em ácido dicloroacético, que é menos tóxico (CHENG *et al.*, 2022).

## ISOMERIZAÇÕES

Uma isomerização resulta em alterações estruturais sem a adição ou remoção de átomos. Um exemplo é a isomerização da prostaglandina H<sub>2</sub> em tromboxano A<sub>2</sub>, fenômeno envolvido na coagulação do sangue (LI *et al.*, 2020).

## REAÇÕES NA BIOSSÍNTESE DE ESTERÓIDES

Os CYP450s estão envolvidos em etapas da síntese de hormônios esteróides. O CYP11A1, por exemplo, hidroxila o colesterol a pregnenolona (precursor do cortisol e estrogênio) (URLACHER; GIRHARD, 2019). Outro exemplo é a, assim chamada, hidroxilação 21, catalizada pelo CYP21A, que atua na regulação da produção de esteroides adrenais, conforme visto em estudos *in vitro* usando adrenodoxina bovina, cujos efeitos estão relacionados à hiperplasia adrenal congênita (BERNHARDT, 2006).

**Figura 3 - Tipos de reações catalisadas pelo CYP450s**

Fonte: adaptado de YANG et al. (2024).

## FATORES QUE INFLUENCIAM A ATIVIDADE ENZIMÁTICA

### pH E TEMPERATURA

A atividade dos CYP450s é máxima em um pH em torno de 7,4, que corresponde às condições fisiológicas normais. Em aplicações de biorremediação, pode haver desnaturação devido a flutuações de pH. A faixa de temperatura ideal varia, dependendo da fonte do organismo (mesófilos: 25-37°C; termófilos: até 60°C) e é importante para preservar a flexibilidade da estrutura da proteína (GUENGERICH, 2018).

## COFATORES

O NADPH é necessário para fornecer elétrons na ativação de O<sub>2</sub>. A presença deste cofator pode ser limitante em sistemas biotecnológicos e, assim, co-culturas e sistemas de regeneração de NADPH podem ser necessários. A catálise também requer a presença de ferro no grupo heme (LI *et al.*, 2020).

## INIBIDORES

Moléculas como monóxido de carbono (CO) inibem competitivamente os CYP450s ao se coordenarem com o ferro heme, impedindo a ligação de O<sub>2</sub>. Para trabalhos laboratoriais, inibidores específicos têm sido utilizados, como o cetoconazol. Em ecossistemas contaminados, no entanto, poluentes como metais pesados (por exemplo, Cd<sup>2+</sup>) são conhecidos por bloquear irreversivelmente esta enzima (GUENGERICH *et al.*, 2007).

## APLICAÇÕES DOS CYP450S EM BIORREMEDIAÇÃO

## MECANISMO CATALÍTICO DOS CYP450S

O caminho catalítico dos CYP450s inclui uma série de complexas ativações de oxigênio e etapas de modificação do substrato, e a enzima exibe flexibilidade para diferentes poluentes ambientais (KUMAR, 2016; YANG *et al.*, 2024). A reação catalisada por CYP450s pode ser resumida nas etapas descritas abaixo.

## ATIVAÇÃO DE OXIGÊNIO

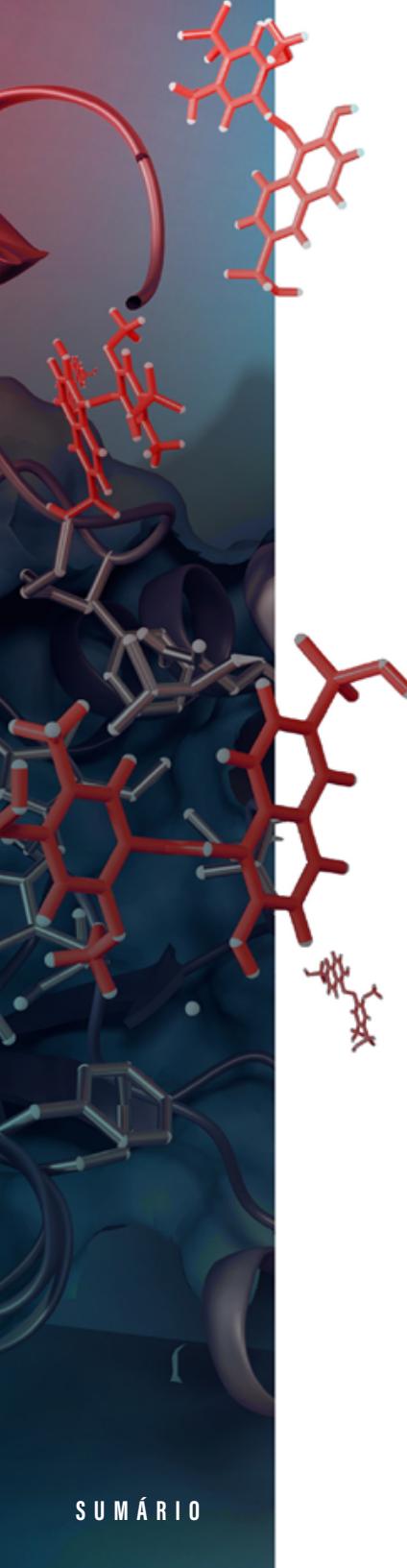
A reação é iniciada quando um substrato (por exemplo, um hidrocarboneto aromático) se liga ao sítio ativo da enzima, causando uma mudança estrutural que facilita a redução do ferro  $\text{Fe}^{3+}$  para  $\text{Fe}^{2+}$ . O oxigênio molecular ( $\text{O}_2$ ) posteriormente se adiciona ao ferro reduzido para gerar um complexo intermediário ( $\text{Fe}^{2+}-\text{O}_2$ ). O segundo elétron (fornecido normalmente por NADPH e uma redutase parceira) reduz o  $\text{O}_2$  e é usado para clivar a ligação O-O para formar as espécies reativas de oxigênio: um íon ferroso ( $\text{Fe}^{4+}=\text{O}$ ) e uma molécula de água. Isso é crucial para a geração do intermediário oxidante para atacar o substrato (WHITEHOUSE *et al.*, 2012; GUENGERICH, 2018).

## OXIDAÇÃO DO SUBSTRATO

Nesse contexto, o oxigênio ativado atua na oxidação do substrato. Assim, com o oxigênio ativado ocorre a oxidação do substrato. O mecanismo de reação envolve remoção de hidrogênio ou inserção de oxigênio. Assim, na hidroxilação de um hidrocarboneto aromático, o complexo  $\text{Fe}^{4+}=\text{O}$  remove um hidrogênio do substrato, deixando um radical livre, que se recombina com a hidroxila para formar um álcool. Nas reações de epoxidação, o oxigênio é diretamente adicionado às ligações duplas de alcenos, levando à formação de epóxidos como produto final (GUENGERICH; ISIN, 2007).

## CAPACIDADE DE DEGRADAÇÃO

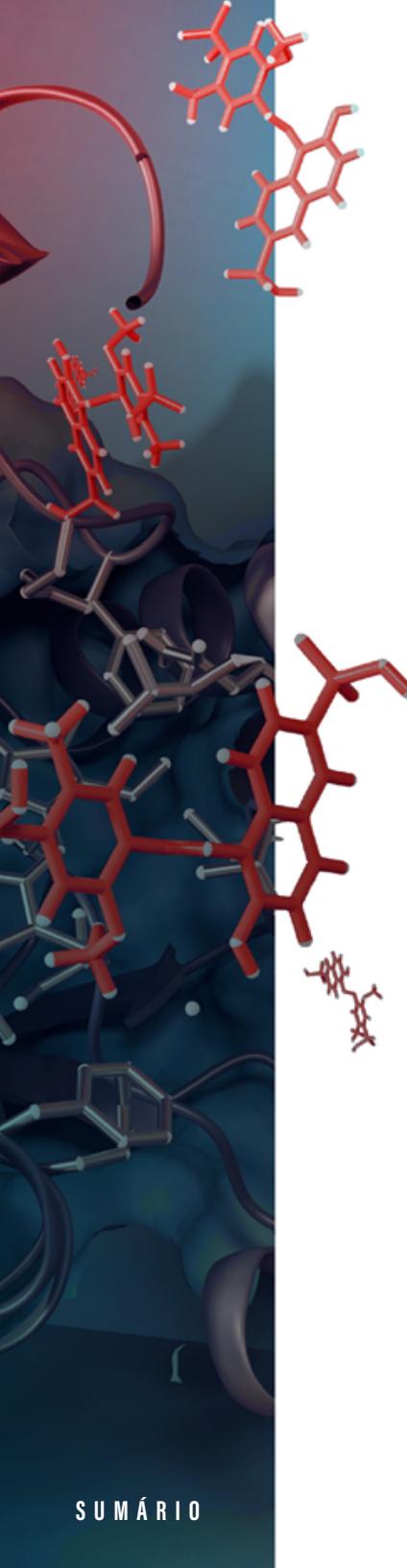
Conforme já salientado acima, as enzimas do grupo CYP450 são diferenciadas por sua atividade metabólica em relação a vários poluentes orgânicos, ou seja, hidrocarbonetos aromáticos, pesticidas e produtos farmacêuticos, gerando substâncias menos tóxicas ou mais biodegradáveis (GUENGERICH, 2018). Este é um talento impor-



tante para a biorremediação, pois tais moléculas são frequentemente recalcitrantes à degradação natural. Um dos CYP450s mais bem estudados do ponto de vista estrutural, o CYP101, de *Pseudomonas putida*, elimina cânfora de maneira eficiente, enquanto o CYP102, de *Bacillus megaterium*, catalisa a hidroxilação de ácidos graxos – exemplos que demonstram razoável promiscuidade enzimática (GIRVAN *et al.*, 2006). Em fungos, como *Phanerochaete chrysosporium*, os CYP450s são essenciais para o metabolismo de hidrocarbonetos complexos, como o poluente cancerígeno benzo(a)pireno. Como os CYP450s metabolizam uma variedade de substratos, eles podem ser usados como recursos excelentes para descontaminar solos e águas poluídas, o que é de grande importância para as indústrias e áreas anteriormente pobres em termos agrícolas (SYED *et al.*, 2010).

## CYP450S EM BACTÉRIAS

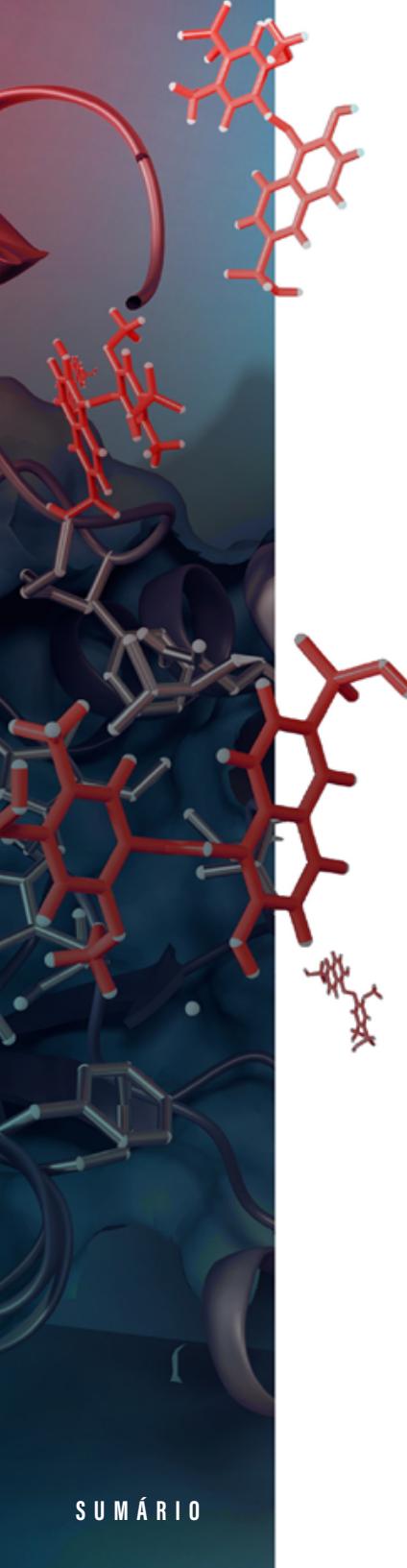
Os citocromos P450 bacterianos são as enzimas-chave envolvidas no processo de degradação de poluentes orgânicos, como estrogênios (E1), colesterol, testosterona (T) e hidrocarbonetos aromáticos policíclicos (em inglês, PAHs). O gênero *Rhodococcus* tem potencial para ser usado na biorremediação, e a estirpe P14 abriga vários genes de CYP450s para degradação eficiente de E1, T e PAHs. O CYP123A9 foi o primeiro membro da família CYP123 identificado no *Rhodococcus* sp. P14 que pode hidroxilar E1 e T para  $16\alpha$ -OH-E1 e  $6\alpha$ -OH-T, respectivamente, com a estrutura similar de CYP1097D1 e CYP109Q5, que oxidam terpenos e esteroides (KLENK *et al.*, 2019; YE *et al.*, 2022). O CYP151 do *Mycobacterium vanbaalenii* PYR-1 é a primeira monooxigenase descrita para mediar a epoxidação de PAHs (BREZNA *et al.*, 2006). O CYP108J1, uma enzima da classe CYP450, oxida pireno, fenantreno e antraceno (LUO *et al.*, 2016). Originalmente identificada como uma família relacionada ao metabolismo lipídico, o CYP102A também tem sido bem estudado por sua ampla atividade catalítica, por exemplo, a oxidação de PAHs, como benzo[a]pireno e



naftaleno (GIRVAN *et al.*, 2006; QIAN *et al.*, 2022) no anel aromático ou cadeia lateral (LIU *et al.*, 2006). O CYP116 (um CYP450 autossuficiente da classe IV) pode hidroxilar tolueno, m-xileno e fluoreno. Essas enzimas são bem conhecidas por sua ampla especificidade de substrato (epoxidação, hidroxilação e desalogenação) e têm aplicação na biorremediação. Melhorias no nível da engenharia de proteínas, incluindo mutações direcionadas (por exemplo, CYP102A1 modificado para melhorar a metabolização de PAHs) (CARMICHAEL; WONG, 2001) também continuam a aumentar suas possibilidades de uso para tais aplicações. As investigações sobre as interações substrato-sítio ativo (por exemplo, T242 no CYP123A9, HUANG *et al.*, 2022) também são elucidadas por análises estruturais, docking molecular e o uso de heterólogos, como o *Vibrio natriegens*, que foram projetados para melhorar a expressão dos CYP450s. A imobilização de enzimas e a biologia sintética são consideradas métodos promissores para lidar com a necessidade de NADPH e a instabilidade da enzima (LAMB *et al.*, 1998). Em conjunto, os CYP450s bacterianos, particularmente os autossuficientes (CYP102, CYP116) em combinação com abordagens biotecnológicas, fornecem opções sustentáveis para a remoção de xenobióticos recalcitrantes.

## CYP450S EM FUNGOS

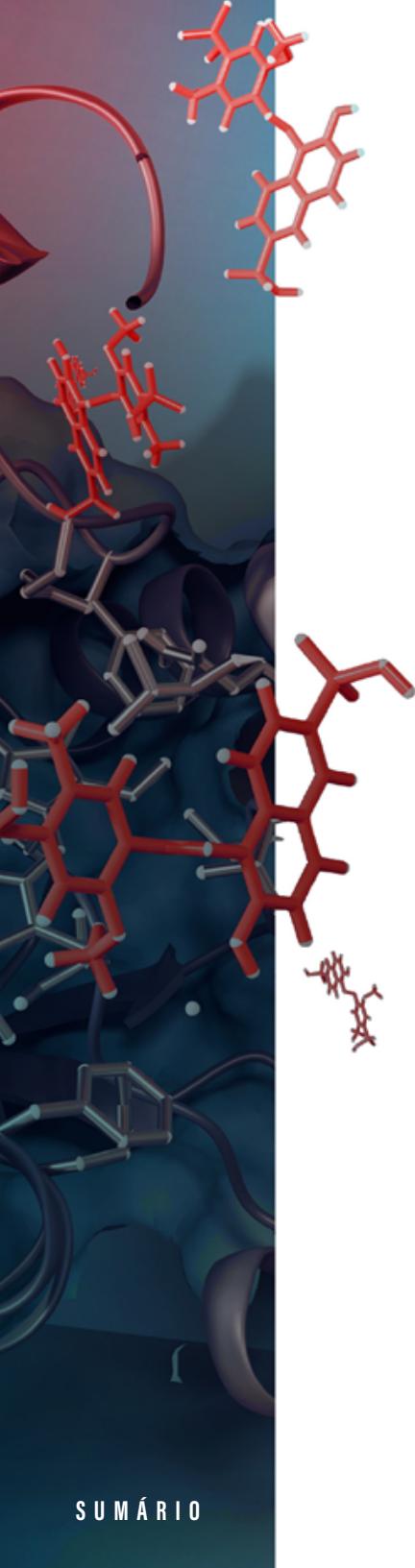
Os fungos em geral, e especialmente os fungos de podridão branca (em inglês, WRF), tornaram-se atores-chave na biorremediação, dado que as isoenzimas CYP450 apresentam atividades versáteis em relação à degradação de uma ampla variedade de poluentes orgânicos, como PAHs, pesticidas, compostos farmacêuticos e herbicidas (LIN *et al.*, 2022; YANG *et al.*, 2024). Essas monooxigenases mediam uma variedade de reações, incluindo hidroxilação (por exemplo, diclofenaco em 4'-hidroxidiclofenaco por *Phanerochaete chrysosporium*), N-desalquilação (por exemplo, atrazina em desetyl-des-isopropilatrazina por *Pleurotus ostreatus*) e glicosilação



(por exemplo, fipronil em derivados hidroxilados e glicosilados por *Trametes versicolor*), o que foi demonstrado por estudos sobre caracterização enzimática e em experimentos de inibição de qPCR com 1-aminobenzotriazol (1-ABT) (HIROSUE *et al.*, 2011; WOLFAND *et al.*, 2016; LOPES *et al.*, 2020). A família cyp63 em *P. chrysosporium*, e sua capacidade para metabolizar PAHs, como fenanreno e benzo[a]pireno (SYED *et al.*, 2010; 2013), são bons exemplos dessa adaptabilidade; levando à produção de metabolitos como 3-fenantriol e 3-hidroxibenzo[a]pireno. Além disso, CYP450s bacterianos (mutante F87V de CYP102A1) foram desenvolvidos, e essa abordagem também oferece grande potencial para a melhoria da eficiência catalítica para com PAHs complexos (de alto peso molecular) (CARMICHAEL; WONG, 2001). A atividade de lacases foi aprimorada na desintoxicação de neonicotinóides (acetamiprido) e herbicidas (diuron) com a subsequente formação de 6-cloro-3-piridinometanol por WRF ao incorporar outra enzima ligninolítica, ou seja, CYP450s (MORI *et al.*, 2021). A imobilização de CYP450s e o uso do chassis microbiano (*Vibrio natriegens*) emergiram como novas ferramentas para aplicações em ambientes complexos (HUANG *et al.*, 2022). Portanto, CYP450s fúngicos que apresentam diversidade estrutural e funcional (famílias CYP51 e CYP505) são promissores para aplicação sustentável na biorremediação, mas desafios para melhorar, como expressão heteróloga eficiente e sinergia com sistemas enzimáticos complementares, ainda precisam ser enfrentados (ZHUO e FAN, 2021).

## CYP450S EM PLANTAS

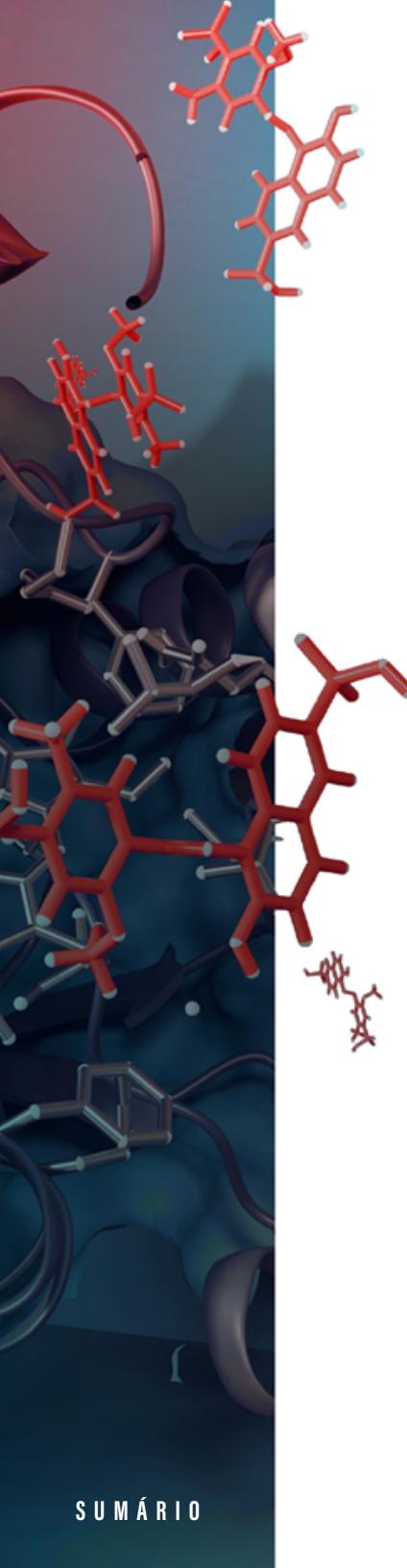
Plantas transgênicas que expressam CYP450s de mamíferos ou bactérias têm provado boa capacidade de melhorar a degradação de substâncias nocivas, como PAHs ou bifenilos policlorados (em inglês, PCBs), uma vez que muitas plantas naturais não são capazes de metabolizar completamente essas substâncias (EAPEN *et al.*, 2007). O potencial dos CYP450s humanos, como CYP1A1 e CYP2B6,



que metabolizam uma variedade de herbicidas e inseticidas, tem sido estudado para introduzir resistência em plantas de cultura e plantas de desintoxicação (INUI *et al.*, 2001; KUMAR, 2010). Enquanto os CYP450s de plantas estão envolvidos na degradação de compostos lipofílicos, sua diversidade em relação aos xenobióticos ainda é menor do que a dos CYP450s humanos e bacterianos (MORANT *et al.*, 2003). Foi demonstrado que enzimas como CYP76B1 (derivada da alcachofra-de-Jerusalém) e CYP2B22 (de porcos) fornecem às plantas resistência a herbicidas, indicando seu potencial de aplicação (DIDIERJEAN *et al.*, 2002; KAWAHIGASHI *et al.*, 2005). No entanto, os CYP450s de mamíferos dependem de parceiros redox (CYP450 redutase, CPR), enquanto os CYP450s bacterianos são proporcionalmente mais rígidos e autossuficientes com uma gama limitada de substratos (GIRVAN *et al.*, 2006; WHITEHOUSE *et al.*, 2012). Para resolver este problema, uma alternativa é a engenharia genética dos catalisadores enzimáticos para melhorar a eficiência catalítica, estabilidade e expressão nos tecidos vegetais (KUMAR; KAPUR, 2016). A concatenação de CYP450s humanos e microbianos em plantas transgênicas potencialmente aumentaria o processo de desintoxicação ao converter poluentes em compostos menos tóxicos, ajudando assim na remoção dessas substâncias do ambiente (INUI, 2001; DIXIT *et al.*, 2008). Consequentemente, o uso de CYP450s para abordagens de fitorremediação tem sido proposto como uma maneira econômica de descontaminar campos contaminados, embora questões como (I) a otimização da expressão génica e (II) a avaliação das consequências ecotoxicológicas sob condições de campo ainda tenham que ser resolvidas (KUMAR *et al.*, 2012).

## CYP450S EM ALGAS

Microalgas (*Anabaena* sp., *Chlorella* sp., *Scenedesmus* sp.) também podem degradar contaminantes persistentes, como os fármacos e produtos de cuidado pessoal (em inglês, PPCPs) em

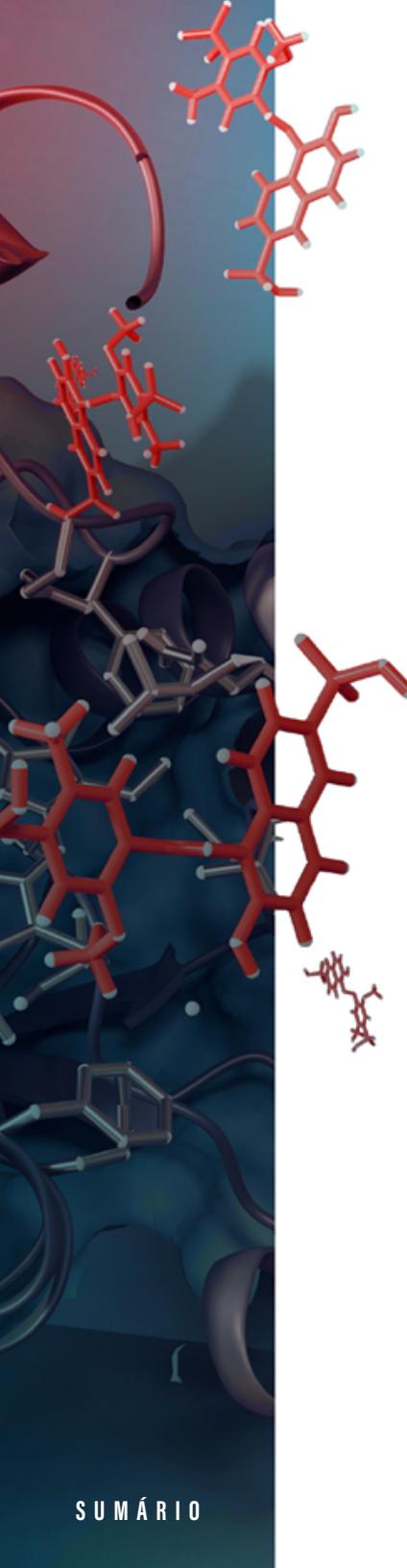
A vertical decorative column on the left side of the page features a complex, abstract illustration of molecular structures. It consists of various chemical groups and enzymes, primarily shown in red and grey, set against a dark blue background. Some molecules are shown in 2D projection, while others are in 3D ball-and-stick models. A large circular enzyme molecule is visible at the top left, and several smaller, branched molecules are scattered throughout the column.

ambientes aquáticos, sendo a biodegradação, como um dos principais mecanismos, o mais eficaz e ecológico (LI *et al.*, 2023). A biodegradação de PPCPs ocorre por meio de reações catalíticas para reduzir compostos complexos em formas menos tóxicas, como foi o caso da degradação da ciprofloxacina (65,05%) e da sulfadiazina (17,05%) por *Chlamydomonas* sp. Tai-03 utilizando mono- ou dioxygenações (XIE *et al.*, 2020). CYP450s exercem papéis importantes nesses processos, incluindo hidroxilações aromáticas, desaminação e epoxidação (LI *et al.*, 2023). Além disso, microalgas como *Chlorella* sp. degradam muito mais eficientemente o tiamfenicol (97%) através de vias metabólicas como substituição de cloro e hidroxilação (SONG *et al.*, 2020). CYP450s também podem metabolizar pesticidas, como por exemplo a transformação de aldrin em dieldrin por *Anabaena* sp. PCC 7120 (PARK; LEE, 2010) e a degradação de antibióticos como tetraciclina por *Microcystis aeruginosa* (PAN *et al.*, 2021) e ciprofloxacina por *Chlorella sorokiniana* (LI *et al.*, 2022). A inativação de CYP450s depende do nível do contaminante, como por exemplo, na degradação do sulfametoxzazol (CHU *et al.*, 2022). Esses relatos comprovam o potencial dos CYP450s de microalgas para a biorremediação de PPCPs; entretanto, a especificidade de substrato e a eficiência de conversão de substrato pelo CYP450 e a sua estabilidade precisam ser estabelecidas (LI *et al.*, 2023).

## LIMITAÇÕES PARA APLICAÇÃO DOS CYP450S

### BAIXAS ATIVIDADES CATALÍTICAS

A maioria das isoformas de CYP450 apresenta valores de  $k_{cat}$  na faixa de 1–300 min<sup>-1</sup>, com exceção dos CYP102A1 (P450 BM3)



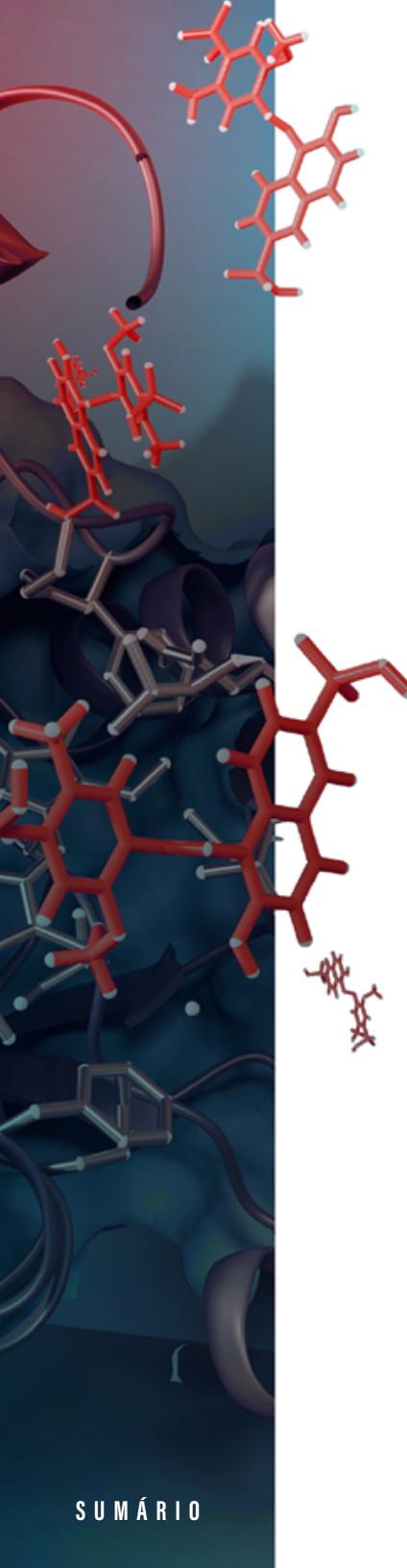
e CYP101A1 (P450cam), que atingem  $1.000\text{--}3.000\text{ min}^{-1}$ . Essa baixa eficiência catalítica limita aplicações biotecnológicas, especialmente para substratos inertes como alcanos cílicos (BERNHARDT; URLACHER, 2014; BEHRENDORFF, 2021). Recentemente, estratégias como evolução dirigida e design racional têm sido empregadas para superar essas limitações. Por exemplo, mutações em CYP154C2 aumentaram em 46,5 vezes a conversão de androstenediona, demonstrando o potencial da engenharia de proteínas para melhorar a eficiência catalítica (CHANG; XI, 2025).

## DIFÍCULDADES NO DESIGN DE PROTEÍNAS

A engenharia dos CYP450s é desafiadora devido à complexidade estrutural e à necessidade de rearranjos conformacionais para a ligação do substrato. Por exemplo, mutações em CYP102A1 melhoraram a hidroxilação de propano em 9.000 vezes, mas a previsão de estruturas substrato-enzima é limitada (BERNHARDT; URLACHER, 2014; BEHRENDORFF, 2021). Avanços recentes em modelagem computacional, como o uso de ferramentas como UniDesign e Rosetta, têm permitido prever mutações benéficas com maior precisão. Um exemplo é a engenharia do CYP102A1 para a hidroxilação estereoseletiva de omeprazol, alcançando um excesso enantiomérico de 92% (CHANG; XI, 2025).

## NECESSIDADE DE PARCEIROS DE TRANSFERÊNCIA DE ELÉTRONS

CYP450s dependem de sistemas redox (CPR para CYP eucarióticos ou ferredoxinas para procarióticos). A coexpressão de parceiros heterólogos, como a adrenodoxina bovina, aumentou em 3,4 vezes a atividade de CYP11B1 em leveduras. Fusões artificiais (CYP-RhFRED) também otimizam a transferência de elétrons (BERNHARDT; URLACHER, 2014; BEHRENDORFF, 2021). Estudos



recentes demonstraram que a engenharia de sistemas híbridos, como CYP153A/putidaredoxina, pode melhorar a eficiência da transferência de elétrons em até 2,7 vezes (CHANG; XI, 2025).

## DESACOPLAMENTO ENTRE OXIDAÇÃO DE NADPH E FORMAÇÃO DO PRODUTO

Até 70% dos elétrons do NADPH podem ser desviados para a produção de espécies reativas de oxigênio (em inglês, ROS) ( $H_2O_2$ ,  $O_2^-$ ), reduzindo a eficiência e danificando a enzima. Mutantes de CYP102A1 com maior acoplamento foram desenvolvidos para minimizar esse problema (BERNHARDT; URLACHER, 2014; BEHRENDORFF, 2021). Estratégias recentes incluem a conversão de mono-oxigenases em peroxigenases, como no caso do CYP154C5, que utiliza  $H_2O_2$  diretamente, eliminando a necessidade de NADPH e reduzindo o desacoplamento (CHANG; XI, 2025).

## REQUISITO DE NADPH

A dependência do cofator NADPH é um gargalo, especialmente em células inteiras. Sistemas de regeneração (glicose-6-fosfato desidrogenase) ou acoplamento à fotossíntese em cloroplastos foram propostos para contornar essa limitação (BERNHARDT; URLACHER, 2014; BEHRENDORFF, 2021). Alternativas recentes incluem a integração de CYP450s com enzimas como formiato desidrogenase para regeneração eficiente de cofatores (CHANG; XI, 2025).

## PROBLEMAS EM SISTEMAS DE CÉLULAS INTEIRAS

Desafios incluem baixa solubilidade de substratos hidrofóbicos (solucionada com ciclodextrinas ou sistemas bifásicos), toxicidade

de produtos ( $\beta$ -nootkatol) e limitação de NADPH. A expressão de transportadores (AlkL) melhorou a captação de substratos em *E. coli* (BERNHARDT; URLACHER, 2014; BEHRENDORFF, 2021). Estudos recentes destacam o uso de *Pseudomonas putida* para expressão de CYP450s, aproveitando sua tolerância a solventes e capacidade de metabolizar compostos aromáticos (CHANG; XI, 2025).

## DESAFIOS ESPECÍFICOS EM BIOTECNOLOGIA

### ESPECTRO LIMITADO DE SUBSTRATOS

CYP450s naturais têm especificidade estreita, mas a engenharia dirigida (mutantes de CYP102A1 para hidroxilar ciclododecano) expandiu seu uso (BERNHARDT; URLACHER, 2014; BEHRENDORFF, 2021). Recentemente, mutantes de CYP102A1 foram desenvolvidos para catalisar a conversão de benzeno em hidroquinona, demonstrando a capacidade de adaptar CYP450s para substratos não naturais (CHANG; XI, 2025).

### TOXICIDADE DO HEME

O heme liberado em reações desacopladas gera radicais livres. Enzimas da família CYP152 (peroxigenases) são alternativas, pois usam  $H_2O_2$  diretamente (BERNHARDT; URLACHER, 2014; BEHRENDORFF, 2021). A engenharia de CYP154C5 para funcionar como peroxigenase reduziu a dependência de heme e minimizou a produção de ROS (CHANG; XI, 2025).

## REDUÇÃO ELETROQUÍMICA

A redução eletroquímica do heme é instável devido ao potencial negativo requerido. Imobilização em nanoestruturas (nanodiscos) tem sido explorada para melhorar a estabilidade (BERNHARDT; URLACHER, 2014; BEHRENDORFF, 2021).

## ESTRATÉGIAS PARA SUPERAR AS LIMITAÇÕES

### ENGENHARIA DE PROTEÍNAS

Mutagênese dirigida - O CYP105A1 (R73V/R84A) aumentou 400 vezes a hidroxilação de vitamina D<sub>33</sub> (BERNHARDT; URLACHER, 2014).

Substituição do ligante axial - P411 (cisteína → serina) modula o potencial redox (BEHRENDORFF, 2021).

Evolução dirigida - Variantes de P450BM3 foram desenvolvidas para clivagem de ligações Si-C, ampliando suas aplicações em biotransformações não naturais (CHANG; XI, 2025).

Fusões artificiais - Fusões como CYP102A1-CPR ou CYP505X (de *Aspergillus*) melhoraram a autossuficiência redox (BERNHARDT; URLACHER, 2014; BEHRENDORFF, 2021).

Sistemas de regeneração de cofatores - Acoplamento com fotossíntese (ferredoxina de espinafre) ou enzimas (formato desidrogenase) reduz a dependência de NAD(P)H (BEHRENDORFF, 2021).

## ADIÇÃO DE SOLVENTES

Solventes orgânicos (octano) ou ciclodextrinas aumentam a solubilidade de substratos hidrofóbicos (BERNHARDT; URLACHER, 2014).

## MODULAÇÃO DE BOMBAS DE EFLUXO

A deleção da bomba AcrAB-TolC em *E. coli* aumentou a produção de pravastatina por CYP105A3 (BERNHARDT; URLACHER, 2014).

## TENDÊNCIAS EMERGENTES NO USO DE CYP450S PARA BIORREMEDIACÃO

### INTELIGÊNCIA ARTIFICIAL (IA) PARA PREVISÃO METABÓLICA E DESENHO DE ENZIMAS

Li *et al.* (2023) destacam a importância da modelagem molecular para prever estruturas de CYP450s em microalgas, como demonstrado por Suresh Kumar *et al.* (2018), que utilizaram ferramentas computacionais para modelar a estrutura 3D dos CYP450s em *Parachlorella kessleri* e outras espécies, com alta confiabilidade (90,82% de resíduos validados). Avanços em IA, como o *UniDesign*, podem complementar essas abordagens para otimizar a estereoseletividade de CYP450s na hidroxilação de substratos complexos, como fármacos e poluentes emergentes (CHANG; XI, 2025). Aplicações na biorremediação incluem:

Previsão de vias metabólicas - Microalgas como *Chlorella sorokiniana* e *Chlamydomonas* sp. Tai-03 degradam antibióticos (ciprofloxacina) e PPCPs via CYP450s, com reações como hidroxilação e desmetilação (LI *et al.*, 2023). A IA pode acelerar a identificação de rotas para contaminantes recalcitrantes, como microplásticos (YANG *et al.*, 2024).

Desenho de enzimas - A diversidade funcional das CYP450s das microalgas (CYP2E1 e CYP3A4) permite adaptá-las para degradar PAHs e pesticidas (LI *et al.*, 2023). Ferramentas como *Rosetta Coupled Moves* (plataforma utilizada para modelagem e design de proteínas) podem prever mutações para melhorar a eficiência (CHANG; XI, 2025).

## NANOMATERIAIS PARA IMOBILIZAÇÃO E EFICIÊNCIA ENZIMÁTICA

LI *et al.* (2023) discutem os desafios das CYP450s, como baixa estabilidade e dependência de cofatores (NADPH), que limitam sua aplicação industrial. Nanomateriais emergem como solução:

Estabilização - Nanopartículas magnéticas podem immobilizar CYP450s, aumentando sua resistência a variações de pH e temperatura, fatores críticos para microalgas, cujas CYP450s têm pH ótimo entre 7,0–9,5.

Recuperação - Hidrogéis facilitam a reutilização de enzimas em sistemas de tratamento de águas residuais, onde microalgas já são usadas para remover PPCPs.

## INTEGRAÇÃO COM OUTRAS TECNOLOGIAS DE TRATAMENTO

### FITORREMEDIACÃO E ELETROBIORREMEDIACÃO

Fitorremediação - CYP450s de microalgas (*Anabaena* sp.) degradam inseticidas como clorpirifos-metil via epoxidação (LI *et al.*, 2023). A engenharia metabólica pode expandir essa capacidade para poluentes complexos, como lignina, usando sistemas híbridos com lacases (YANG *et al.*, 2024).

Eletrobiorremediação - A dependência de NADPH das CYP450s pode ser suprida por sistemas eletroquímicos acoplados a redutases, como demonstrado para CYP154C5 (YANG *et al.*, 2024).

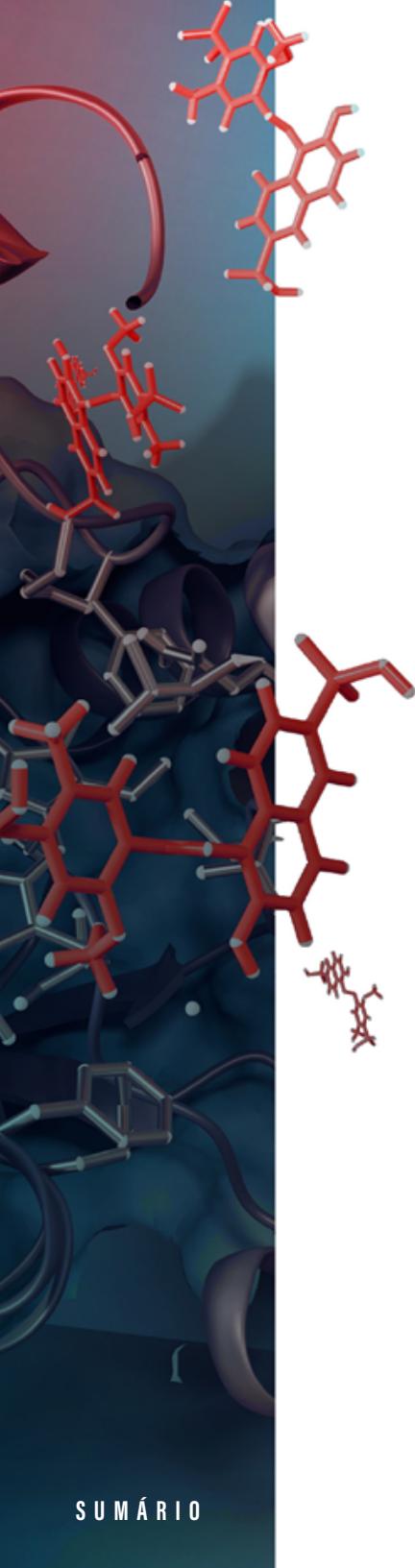
### ECONOMIA CIRCULAR E GESTÃO DE RESÍDUOS

Valorização de resíduos - CYP450s microalgais convertem PPCPs em metabólitos menos tóxicos (LI *et al.*, 2023). Versões modificadas (GeoA T296S) podem transformar lignina em biocombustíveis (YANG *et al.*, 2024).

Biodegradação - P450BM3 evoluiu para clivar ligações Si-C em siloxanos, útil para efluentes industriais (YANG *et al.*, 2024), complementando a capacidade de microalgas em degradar hidrocarbonetos (LI *et al.*, 2023).

### PERSPECTIVAS E DESAFIOS

Sistemas híbridos - Combinação de CYP450s microalgais com GSTs para degradação em cascata de PPCPs (LI *et al.*, 2023).



Contaminantes emergentes - Engenharia de CYP450s para antibióticos (sulfametoxazol), cuja degradação é mediada por hidroxilação (LI *et al.*, 2023).

Escala industrial - Altos custos de expressão de CYP450s em microalgas (LI *et al.*, 2023). Soluções incluem hospedeiros alternativos, como *Bacillus subtilis* (YANG *et al.*, 2024).

Regulação de nanomateriais - Impacto ecológico de nanocompósito com CYP450s requer estudos adicionais (YANG *et al.*, 2024).

Conforme mostrado na Figura 4, o uso de CYP450s em biorremediação apresenta pontos vantajosos e outros limitadores. Cabe, então, aprimorar os recursos citados anteriormente para impulsionar o avanço dessas aplicações.

**Figura 4 - Vantagens e limitações do uso de CYP450s em biorremediação**

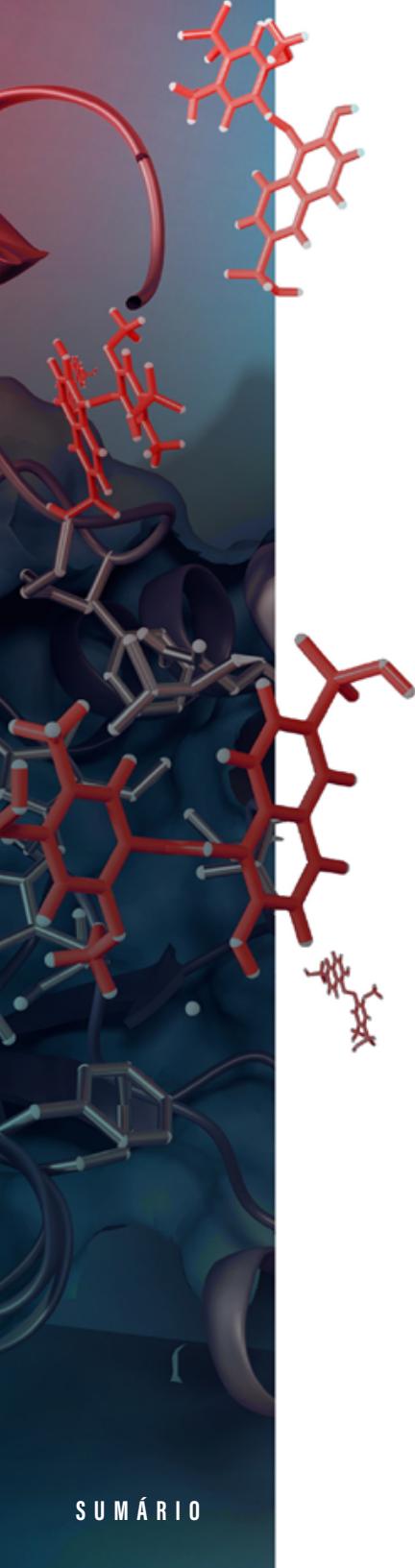
VANTAGENS	LIMITAÇÕES
<b>Alta especificidade</b> Capaz de degradar uma ampla gama de poluentes.	<b>Complexidade enzimática</b> Requer cofatores e condições específicas para funcionar.
<b>Eficiência</b> Pode transformar poluentes tóxicos em compostos menos nocivos.	<b>Custos elevados</b> Produção e purificação da enzima podem ser caras.
<b>Versatilidade</b> Atua em diversos tipos de compostos orgânicos.	<b>Instabilidade</b> Pode ser sensível a variações de pH, temperatura e inibidores.
<b>Potencial para engenharia genética</b> Pode ser modificado para melhorar sua eficiência.	<b>Subprodutos tóxicos</b> Pode gerar metabólitos ainda mais tóxicos que o original.
<b>Aplicação <i>in situ</i></b> Pode ser usado diretamente em locais contaminados.	<b>Limitações ambientais</b> Eficácia pode variar dependendo das condições do solo ou água.
<b>Biodegradabilidade</b> É uma enzima natural, reduzindo impactos ambientais.	<b>Dificuldade de escalonamento</b> Aplicação em larga escala pode ser desafiadora.

## CONCLUSÃO

Dada a sua capacidade de degradar um amplo espectro de poluentes orgânicos, os CYP450s perfazem amplos recursos biotecnológicos com potencial para remediação. A sua amplitude catalítica e abordagens de melhoria, como engenharia de proteínas e imobilização em nanomateriais, aumentam o seu potencial de uso. Contudo, questões como dependência de cofatores e baixa estabilidade enzimática, ainda precisam ser enfrentadas antes que o seu potencial possa ser concretizado em escala industrial. O desenvolvimento de novas metodologias tecnológicas, como inteligência artificial e sistemas híbridos, contribui com perspectivas promissoras para aumentar a eficiência e especificidade dos CYP450s. Em conclusão, a utilização dessas enzimas em estratégias de remediação ambiental pode trazer uma contribuição significativa para o conceito de sustentabilidade, ao reduzir os efeitos da poluição e permitir a recuperação dos ecossistemas contaminados. O potencial para desenvolver novos medicamentos existe, mas é necessário investimento em pesquisa e desenvolvimento para torná-lo uma realidade.

## REFERÊNCIAS

- BEHRENDORFF, James BYH. Reductive cytochrome P450 reactions and their potential role in bioremediation. **Frontiers in Microbiology**, v. 12, p. 649273, 2021. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2021.649273>
- BERNHARDT, Rita. Cytochromes P450 as versatile biocatalysts. **Journal of Biotechnology**, v. 124, n. 1, p. 128-145, 2006. <https://doi.org/10.1016/j.jbiotec.2006.01.026>
- BERNHARDT, Rita; URLACHER, Vlada B. Cytochromes P450 as promising catalysts for biotechnological application: chances and limitations. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 98, p. 6185-6203, 2014. <https://doi.org/10.1007/s00253-014-5767-7>



BREZNA, Barbara *et al.* Molecular characterization of cytochrome P450 genes in the polycyclic aromatic hydrocarbon degrading *Mycobacterium vanbaalenii* PYR-1. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 71, p. 522-532, 2006. <https://doi.org/10.1007/s00253-005-0190-8>

CARMICHAEL, Angus B.; WONG, Luet-Lok. Protein engineering of *Bacillus megaterium* CYP102: the oxidation of polycyclic aromatic hydrocarbons. **European Journal of Biochemistry**, v. 268, n. 10, p. 3117-3125, 2001. <https://doi.org/10.1046/j.1432-1327.2001.02212.x>

CHAKRABORTY, Panchali *et al.* Cytochrome P450 gene families: role in plant secondary metabolites production and plant defense. **Journal of Xenobiotics**, v. 13, n. 3, p. 402-423, 2023. <https://doi.org/10.3390/jox13030026>

CHANG, Liu; CHEN, Xi. Recent Advances in the Engineering of Cytochrome P450 Enzymes. **Catalysts**, v. 15, p. 374, 2025. <https://doi.org/10.3390/catal15030374>

CHENG, Minggen *et al.* Oxygenases as powerful weapons in the microbial degradation of pesticides. **Annual Review of Microbiology**, v. 76, n. 1, p. 325-348, 2022. <https://doi.org/10.1146/annurev-micro-041320-091758>

CHU, Yuhao *et al.* Biotransformation of sulfamethoxazole by microalgae: removal efficiency, pathways, and mechanisms. **Water Research**, v. 221, p. 118834, 2022. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2022.118834>

DIDIERJEAN, Luc *et al.* Engineering herbicide metabolism in tobacco and *Arabidopsis* with CYP76B1, a cytochrome P450 enzyme from Jerusalem artichoke. **Plant Physiology**, v. 130, n. 1, p. 179-189, 2002. <https://doi.org/10.1104/pp.005801>

DIXIT, Prachy *et al.* Development of transgenic plants with cytochrome P4502E1 gene and glutathione-S-transferase gene for degradation of organic pollutants. **Journal of Biotechnology**, v. 136, p. S692-S693, 2008. <https://doi.org/10.1016/j.biotec.2008.07.1506>

EAPEN, Susan; SINGH, Sudhir; D'SOUZA, SF17553651. Advances in development of transgenic plants for remediation of xenobiotic pollutants. **Biotechnology Advances**, v. 25, n. 5, p. 442-451, 2007. <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2007.02.003>

GIRVAN, H. M. *et al.* Flavocytochrome P450 BM3 and the origin of CYP102 fusion species. **Biochemical Society Transactions**, v. 34, n. 6, p. 1173-1177, 2006. <https://doi.org/10.1042/BST0341173>

GUENGERICH, F. P. The chemistry of cytochrome P450 reactions. **Cytochromes P450: Metabolic and Toxicological Aspects**, p. 55-76, 1996.

GUENGERICH, F. Peter; ISIN, Emre M. Complex reactions catalyzed by cytochrome P450 enzymes. **Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-General Subjects**, v. 1770, n. 3, p. 314-329, 2007. <https://doi.org/10.1016/j.bbagen.2006.07.003>

GUENGERICH, F. Peter. Mechanisms of cytochrome P450-catalyzed oxidations. **ACS Catalysis**, v. 8, n. 12, p. 10964-10976, 2018. <https://doi.org/10.1021/acscatal.8b03401>

HIROSUE, Shinji *et al.* Insight into functional diversity of cytochrome P450 in the white-rot basidiomycete *Phanerochaete chrysosporium*: involvement of versatile monooxygenase. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, v. 407, n. 1, p. 118-123, 2011. <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2011.02.121>

HUANG, Ling *et al.* Establishment of a salt-induced bioremediation platform from marine *Vibrio natriegens*. **Communications Biology**, v. 5, n. 1, p. 1352, 2022. <https://doi.org/10.1038/s42003-022-04319-3>

INUI, H. *et al.* Metabolism of herbicides and other chemicals in human cytochrome P450 species and in transgenic potato plants co-expressing human CYP1A1, CYP2B6 and CYP2C19. **Journal of Pesticide Science**, v. 26, n. 1, p. 28-40, 2001. <https://doi.org/10.1584/jpestics.26.28>

KAWAHIGASHI, Hiroyuki *et al.* Analysis of substrate specificity of pig CYP2B22 and CYP2C49 towards herbicides by transgenic rice plants. **Transgenic Research**, v. 14, p. 907-917, 2005. <https://doi.org/10.1007/s11248-005-3246-9>

KLENK, Jan M. *et al.* Characterization and structure-guided engineering of the novel versatile terpene monooxygenase CYP 109Q5 from *Chondromyces apiculatus* DSM 436. **Microbial Biotechnology**, v. 12, n. 2, p. 377-391, 2019. <https://doi.org/10.1111/1751-7915.13335>

KUMAR, Rupak; KAPUR, Suman. Cytochrome P450 Biocatalysts: A Route to Bioremediation. **International Journal of Pharmaceutical Research & Allied Sciences**, v. 5, n. 3, 2016.

KUMAR, Santosh. Engineering cytochrome P450 biocatalysts for biotechnology, medicine and bioremediation. **Expert Opinion on Drug Metabolism & Toxicology**, v. 6, n. 2, p. 115-131, 2010. <https://doi.org/10.1517/17425250903427938>

KUMAR, Santosh; JIN, Mengyao; WEEMHOFF, James L. Cytochrome P450-mediated phytoremediation using transgenic plants: A need for engineered cytochrome P450 enzymes. **Journal of Petroleum & Environmental Biotechnology**, v. 3, n. 5, p. 1000127, 2012. <https://doi.org/10.4172/2157-7463.1000137>

LAMB, Stephen B. et al. Cytochrome P450 immobilisation as a route to bioremediation/biocatalysis. **FEBS Letters**, v. 431, n. 3, p. 343-346, 1998. [https://doi.org/10.1016/S0014-5793\(98\)00771-6](https://doi.org/10.1016/S0014-5793(98)00771-6)

LI, Shengnan et al. Cytochrome P450 enzyme-based biotransformation of pharmaceuticals and personal care products (PPCPs) by microalgae in the aquatic environment. **Chemical Engineering Journal**, v. 476, p. 146557, 2023. <https://doi.org/10.1016/j.cej.2023.146557>

LI, Zhong et al. Engineering cytochrome P450 enzyme systems for biomedical and biotechnological applications. **Journal of Biological Chemistry**, v. 295, n. 3, p. 833-849, 2020. <https://doi.org/10.1074/jbc.REV119.008758>

LI, Zhuo et al. Physiological and transcriptomic responses of *Chlorella sorokiniana* to ciprofloxacin reveal molecular mechanisms for antibiotic removal. **iScience** v. 25, n. 7, 2022. <https://doi.org/10.1016/j.isci.2022.104638>

LIN, Shuqi et al. Bioremediation of organic pollutants by white rot fungal cytochrome P450: The role and mechanism of CYP450 in biodegradation. **Chemosphere**, v. 301, p. 134776, 2022. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2022.134776>

LIU, Luo; SCHMID, Rolf D.; URLACHER, Vlada B. Cloning, expression, and characterization of a self-sufficient cytochrome P450 monooxygenase from *Rhodococcus ruber* DSM 44319. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 72, p. 876-882, 2006. <https://doi.org/10.1007/s00253-006-0355-0>

LOPES, Raquel de Oliveira et al. Atrazine, desethylatrazine (DEA) and desisopropylatrazine (DIA) degradation by *Pleurotus ostreatus* INCQS 40310. **Biocatalysis and Biotransformation**, v. 38, n. 6, p. 415-430, 2020. <https://doi.org/10.1080/10242422.2020.1797697>

LUO, An et al. Characterization of a cytochrome P450 monooxygenase capable of high molecular weight PAHs oxidation from *Rhodococcus* sp. P14. **Process Biochemistry**, v. 51, n. 12, p. 2127-2133, 2016. <https://doi.org/10.1016/j.procbio.2016.07.027>

MORANT, Marc *et al.* Plant cytochromes P450: tools for pharmacology, plant protection and phytoremediation. **Current Opinion in Biotechnology**, v. 14, n. 2, p. 151-162, 2003. [https://doi.org/10.1016/S0958-1669\(03\)00024-7](https://doi.org/10.1016/S0958-1669(03)00024-7)

MORI, Toshio *et al.* White-rot fungus *Phanerochaete chrysosporium* metabolizes chloropyridinyl-type neonicotinoid insecticides by an N-dealkylation reaction catalyzed by two cytochrome P450s. **Journal of Hazardous Materials**, v. 402, p. 123831, 2021. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2020.123831>

NELSON, David R. Cytochrome P450 diversity in the tree of life. **Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Proteins and Proteomics**, v. 1866, n. 1, p. 141-154, 2018. <https://doi.org/10.1016/j.bbapap.201705.003>

PAN, Minmin *et al.* Mitigating antibiotic pollution using cyanobacteria: Removal efficiency, pathways and metabolism. **Water Research**, v. 190, p. 116735, 2021. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2020.116735>

PARK, Byeoung-Soo; LEE, Sung-Eun. Biotransformation of aldrin and chlorpyrifos-methyl by *Anabaena* sp. PCC 7120. **Korean Journal of Environmental Agriculture**, v. 29, n. 2, p. 184-188, 2010. <https://doi.org/10.5338/KJEA.2010.29.2.184>

PDB (Protein Data bank). <https://www.rcsb.org/structure/1FAG> (acessado em 10 de maio de 2025).

QIAN, Zhihui *et al.* Oxidization of benzo [a] pyrene by CYP102 in a novel PAHs-degrader *Pontibacillus* sp. HN14 with potential application in high salinity environment. **Journal of Environmental Management**, v. 321, p. 115922, 2022. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2022.115922>

SONG, Chunfeng *et al.* Biodegradation and metabolic fate of thiamphenicol via *Chlorella* sp. UTEX1602 and L38. **Bioresource Technology**, v. 296, p. 122320, 2020. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2019.122320>

SURESHKUMAR, P. et al. Structural insights on bioremediation of polycyclic aromatic hydrocarbons using microalgae: a modelling-based computational study. **Environmental Monitoring and Assessment**, v. 190, n. 2, p. 92, 2018. <https://doi.org/10.1007/s10661-017-6459-4>

SYED, Khajamohiddin *et al.* CYP63A2, a catalytically versatile fungal P450 monooxygenase capable of oxidizing higher-molecular-weight polycyclic aromatic hydrocarbons, alkylphenols, and alkanes. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 79, n. 8, p. 2692-2702, 2013. <https://doi.org/10.1128/AEM.03767-12>

SYED, Khajamohiddin *et al.* Genome-to-function characterization of novel fungal P450 monooxygenases oxidizing polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs). **Biochemical and Biophysical Research Communications**, v. 399, n. 4, p. 492-497, 2010. <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2010.07.094>

URLACHER, Vlada B.; GIRHARD, Marco. Cytochrome P450 monooxygenases in biotechnology and synthetic biology. **Trends in Biotechnology**, v. 37, n. 8, p. 882-897, 2019. <https://doi.org/10.1016/j.tibtech.2019.01.001>

WHITEHOUSE, Christopher JC; BELL, Stephen G.; WONG, Luet-Lok. P450 BM3 (CYP102A1): connecting the dots. **Chemical Society Reviews**, v. 41, n. 3, p. 1218-1260, 2012. <https://doi.org/10.1039/C1CS15192D>

WOLFAND, Jordyn M.; LEFEVRE, Gregory H.; LUTHY, Richard G. Metabolization and degradation kinetics of the urban-use pesticide fipronil by white rot fungus *Trametes versicolor*. **Environmental Science: Processes & Impacts**, v. 18, n. 10, p. 1256-1265, 2016. <https://doi.org/10.1039/C6EM00344C>

XIE, Peng *et al.* Revealing the role of adsorption in ciprofloxacin and sulfadiazine elimination routes in microalgae. **Water Research**, v. 172, p. 115475, 2020. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2020.115475>

YANG, Haichen *et al.* Comparative genomics reveals evidence of polycyclic aromatic hydrocarbon degradation in the moderately halophilic genus *Pontibacillus*. **Journal of Hazardous Materials**, v. 462, p. 132724, 2024. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2023.132724>

YANG, Haichen *et al.* Cytochrome P450 for environmental remediation: catalytic mechanism, engineering strategies and future prospects. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, v. 40, n. 1, p. 33, 2024. <https://doi.org/10.1007/s11274-023-03823-w>

YE, Xueying *et al.* Identification of an important function of CYP123: Role in the monooxygenase activity in a novel estradiol degradation pathway in bacteria. **The Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology**, v. 215, p. 106025, 2022. <https://doi.org/10.1016/j.jsbmb.2021.106025>

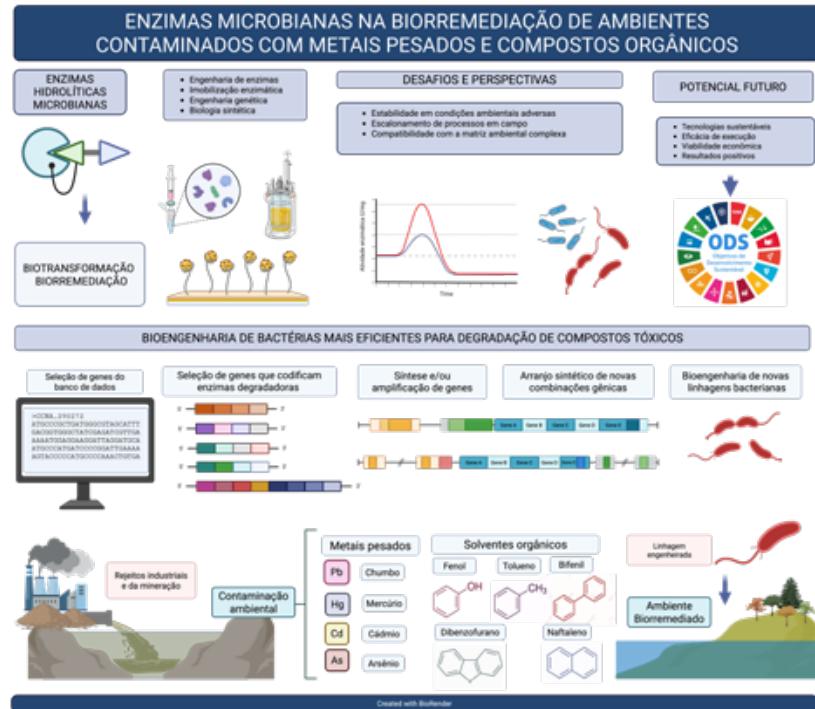
ZHUO, Rui; FAN, Fangfang. A comprehensive insight into the application of white rot fungi and their lignocellulolytic enzymes in the removal of organic pollutants. **Science of the Total Environment**, v. 778, p. 146132, 2021. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2021.146132>

# 8

Rita de Cássia Garcia Simão  
Tiago Tognolli de Almeida  
Rosane Marina Peralta

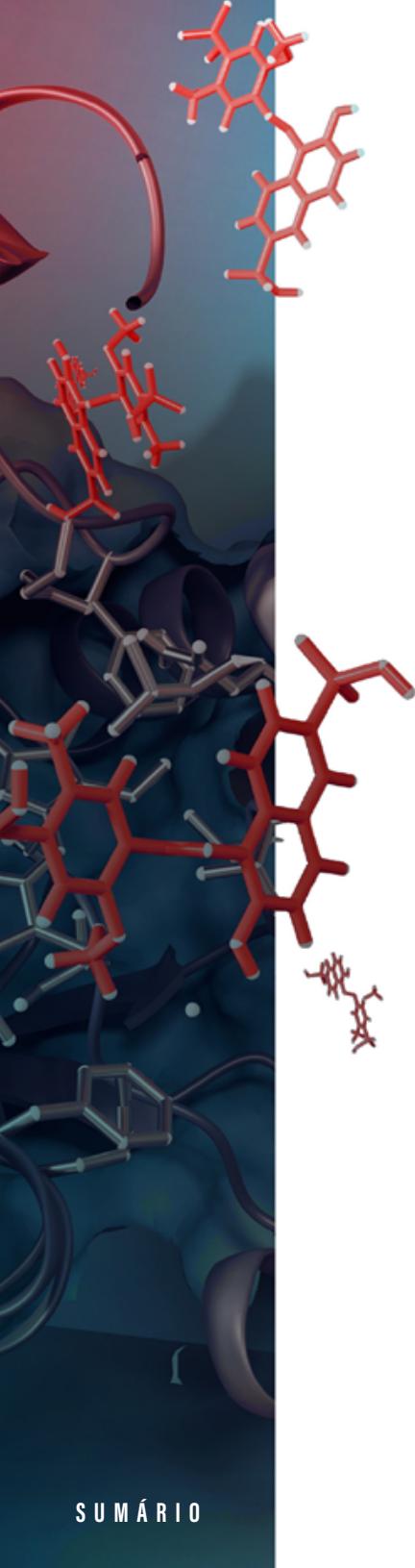
## ENZIMAS HIDROLÍTICAS NA BIORREMEDIÇÃO DE POLUENTES ORGÂNICOS E METAIS PESADOS

DOI: 10.31560/pimentacultural/978-85-7221-472-8



### RESUMO:

As enzimas hidrolíticas, como lipases, proteases, glicosidases, esterases e fosfatases, desempenham papel crucial na biorremediação de ambientes contaminados, promovendo a degradação de compostos orgânicos complexos e contribuindo para a remoção ou imobilização de metais pesados. As lipases catalisam a degradação de lipídios, sendo eficazes na biorremediação de óleos e hidrocarbonetos. Sua imobilização em suportes sólidos aumenta a estabilidade e permite a reutilização, otimizando o tratamento de efluentes industriais e áreas contaminadas por petróleo. As proteases são particularmente eficazes no tratamento de resíduos ricos em proteínas, principalmente do setor pesqueiro, podendo resultar eventualmente em subprodutos valiosos. As glicosidases são cruciais na decomposição de carboidratos complexos e no aumento da biodisponibilidade de metais pesados por meio da geração de biosurfactantes. Esterases, fosfatases e fosfo-esterases são capazes de



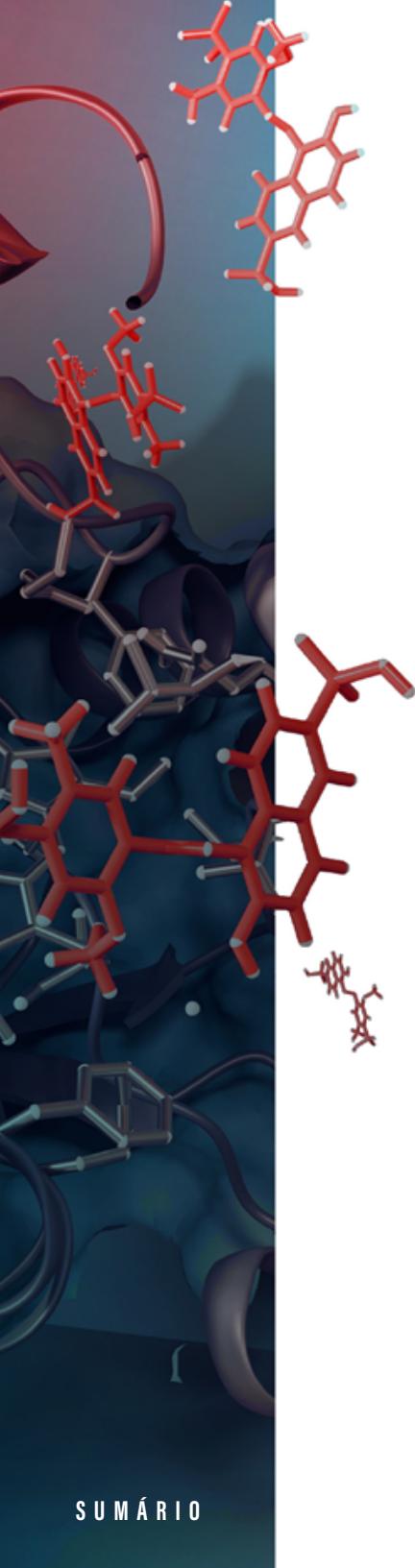
degradar pesticidas e compostos organofosforados, convertendo-os em formas menos nocivas. Estratégias como a precipitação de carbonato induzida por urease ou por um hidrolisado parcial de penas de galinha, a mico-remediação e o uso de biofilmes microbianos, e outras, servem para amplificar o campo de utilização dessas enzimas. Entretanto, para aplicações práticas, muitos desafios ainda persistem, incluindo a baixa estabilidade das enzimas na presença de metais pesados, a natureza intrincada dos ambientes contaminados, a geração de subprodutos tóxicos e os elevados custos de produção. Os progressos na engenharia de proteínas, na biologia sintética, na imobilização de enzimas e na integração de estratégias microbianas são fundamentais para a superação de desafios que dificultam a aplicação em grande escala. Não obstante os desafios, a biorremediação enzimática é uma promessa significativa como alternativa sustentável e eficaz para a descontaminação ambiental.

**Palavras-chave:** biotecnologia, enzimas hidrolíticas, microrganismos, metais pesados, recuperação ambiental

## INTRODUÇÃO

A crescente prevalência da contaminação por compostos orgânicos e metais pesados nos solos representa ameaças significativas à saúde ambiental e à produtividade agrícola. Microrganismos e plantas desempenham um papel crucial na **biorremediação** (uso de organismos vivos para degradar ou remover poluentes do ambiente), utilizando vários processos enzimáticos para transformar compostos orgânicos e metais tóxicos em formas menos nocivas. Estudos recentes destacam as interações sinérgicas entre comunidades microbianas e sistemas vegetais, que aumentam a eficiência da remoção de metais pesados de locais contaminados. A integração de estratégias microbianas e vegetais oferece um caminho promissor para lidar com a poluição ambiental. Microrganismos como *Pseudomonas* spp. e *Bacillus* spp. exibem capacidades de **biosorção** (adsorção de contaminantes por biomassa inativa) e **biotransformação** (modificação enzimática de substâncias por seres vivos), enquanto as plantas se envolvem em processos como fitorremediação para extrair e estabilizar metais no solo. Compreender essas interações não apenas esclarece os ciclos biogeoquímicos envolvidos, mas também fornece informações sobre o desenvolvimento de tecnologias eficazes de biorremediação para restaurar ambientes contaminados (CHAUDHARY; SINDHU, 2024; IQRA ARSHAD *et al.*, 2024; SATHYA; KARMEGAM; LALITHA, 2024; SONG *et al.*, 2024).

A principal fonte de contaminação por metais pesados no Brasil é a mineração, especialmente o garimpo de ouro na Amazônia, devido ao uso intensivo de mercúrio. Outras fontes significativas incluem atividades industriais, agricultura intensiva e descarte inadequado de resíduos. Essas práticas resultam na liberação de metais tóxicos no ambiente, representando riscos para a saúde humana e os ecossistemas (MOULATLET *et al.*, 2023). A contaminação por poluentes orgânicos no País é atribuída principalmente às atividades antrópicas, incluindo práticas agrícolas, descargas industriais e tratamento inadequado de esgoto (BASTOLLA *et al.*, 2024).



Poluentes orgânicos (PO) representam uma preocupação significativa para o meio ambiente. Dentre eles, os poluentes orgânicos persistentes (POP), como os bifenilos policlorados (BPC) e os hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (HPA), apresentam alta resistência à degradação, permanecendo no meio ambiente por longos períodos (ASH; KUMAR MISHRA, 2023). A eliminação desses poluentes no meio ambiente está frequentemente associada a atividades humanas ligadas à indústria, à agricultura e à urbanização. Esses compostos podem ser encontrados em diferentes locais, como sedimentos e corpos d'água, comprometendo a biodiversidade e a qualidade dos recursos naturais, além de afetar a saúde humana e de outros animais, causando problemas como câncer e disfunções reprodutivas (BARRIOS-RODRÍGUEZ *et al.*, 2023; DAVE *et al.*, 2020; LI *et al.*, 2023).

Enzimas hidrolíticas são proteínas que catalisam reações de hidrólise, ou seja, reações químicas que quebram moléculas maiores como polímeros em moléculas menores, monômeros ou oligômeros, pela adição de água. Elas atuam rompendo ligações químicas específicas, como ligações éster, peptídicas ou glicosídicas (KOCABAŞ; LYNE; USTUNOL, 2022). As principais enzimas desta classe podem ser divididas em quatro grupos: (a) lipases, que quebram lipídios em ácidos graxos e glicerol (VIVEK; SANDHIA; SUBRAMANIYAN, 2022.); (b) proteases (ou peptidases), que degradam proteínas em peptídeos e aminoácidos (TEMPORITI *et al.*, 2022); (c) glicosidases, que atuam sobre polissacarídeos (KIM *et al.*, 2023; LI *et al.*, 2023), liberando açúcares menores; (d) esterases (como as cutinases), que rompem ligações éster, degradando compostos químicos tais como os plásticos e outros poluentes (SUI *et al.*, 2023; SIMÃO *et al.*, 2024). Diante disso, enzimas hidrolíticas, em particular as produzidas por microrganismos, podem converter poluentes orgânicos altamente nocivos ao meio ambiente e à saúde dos organismos em substâncias menos nocivas. Estas enzimas apresentam em geral uma

especificidade ampla em relação aos substratos, permitindo-lhes atuar em uma variedade de poluentes (HOSEE, 2024). Isto torna esta forma de biorremediação mais segura e economicamente viável quando comparada a métodos puramente químicos (CHAUDHARY; SINDHU, 2024; SHARMA *et al.*, 2019).

No presente capítulo será apresentado de forma abrangente e com uma linguagem acessível o papel das hidrolases na biorremediação de diferentes compostos, destacando seus mecanismos de ação, aplicações e perspectivas futuras.

## ENZIMAS HIDROLÍTICAS: DEFINIÇÃO

Enzimas hidrolíticas (EC 3) (MCDONALD; TIPTON, 2023) são proteínas que catalisam reações de hidrólise, ou seja, reações químicas que quebram moléculas maiores, como polímeros, em moléculas menores, como monômeros ou oligômeros, por meio da adição de água. Elas atuam rompendo ligações químicas específicas, como ésteres, peptídicas ou glicosídicas (KOCABAŞ; LYNE; USTUNOL, 2022). Nesse contexto, enzimas hidrolíticas, especialmente aquelas produzidas por microrganismos, podem converter substâncias nocivas em compostos menos prejudiciais ao meio ambiente e à saúde. Além disso, sua ampla especificidade a diferentes substratos permite a degradação de uma ampla variedade de poluentes (HOSEE, 2024). Essas enzimas representam uma alternativa mais segura e economicamente viável para a biorremediação em comparação com outros métodos químicos, principalmente pelo fato de não levarem à produção de compostos mais tóxicos ou nocivos que os originais (CHAUDHARY; SINDHU, 2024; SHARMA *et al.*, 2019).

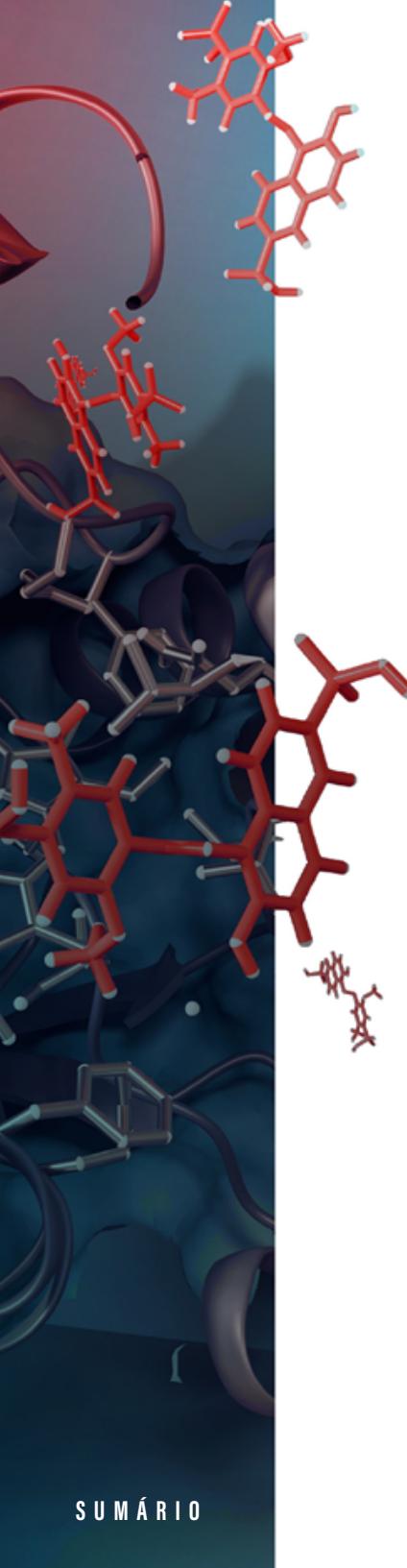
## PRINCIPAIS ENZIMAS HIDROLÍTICAS UTILIZADAS NA BIORREMEDIÇÃO

### LIPASES - DEGRADAÇÃO DE ÓLEOS E GORDURAS

As lipases (EC 3.1.1.3) (MCDONALD; TIPTON, 2023) são enzimas versáteis que catalisam a hidrólise de óleos e gorduras, desempenhando um papel essencial na degradação de compostos lipídicos em diversos contextos industriais e ambientais. Sua capacidade de atuar em meios aquosos e não aquosos as torna biocatalisadores valiosos em setores como a indústria alimentícia, farmacêutica e de biocombustíveis. No campo da biorremediação, as lipases são amplamente utilizadas para degradar poluentes orgânicos, especialmente os derivados de petróleo.

Classificadas como serina-hidrolases, as lipases possuem uma versatilidade catalítica que permite a realização de reações de hidrólise, esterificação e transesterificação. Esses mecanismos são fundamentais para diversas aplicações, incluindo a degradação de gorduras e óleos residuais. Durante a hidrólise, as lipases atuam na interface óleo-água, convertendo triacilgliceróis em ácidos graxos livres e glicerol (VARDAR-YEL; TÜTÜNCÜ; SÜRMELİ, 2024). Essa propriedade é essencial para a biotransformação de compostos lipofílicos em ambientes aquáticos e solos contaminados, sendo utilizadas no tratamento de efluentes industriais contaminados com óleos e graxas (CARVALHO *et al.*, 2023). Sua ação também se destaca na remediação de áreas afetadas por derramamentos de petróleo, onde atuam degradando hidrocarbonetos complexos em subprodutos menos tóxicos (BASHA, 2020).

Neste sentido, Abubakar e colaboradores (ABUBAKAR *et al.*, 2024) investigaram o potencial de biodegradação do petróleo bruto utilizando lipases produzidas pelas bactérias *Bacillus subtilis* e



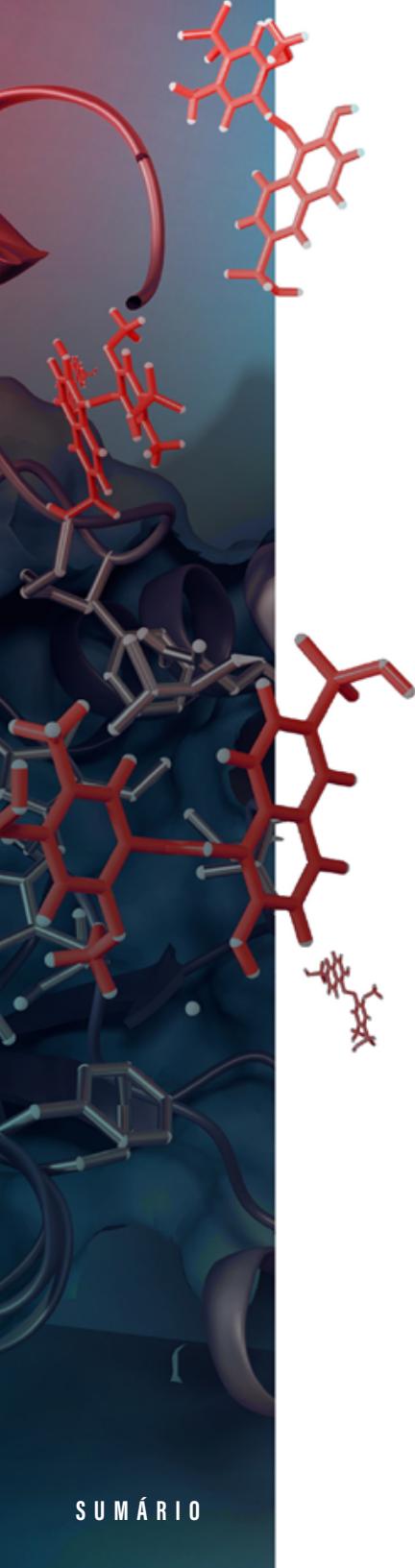
*Pseudomonas aeruginosa*, isoladas de solo contaminado por hidrocarbonetos. Os resultados mostraram que as lipases produzidas por essas bactérias foram capazes de degradar completamente cinco dos oito hidrocarbonetos encontrados no petróleo bruto.

A imobilização de lipases tem se mostrado uma estratégia vantajosa para a biorremediação, pois permite a reutilização da enzima e melhora sua estabilidade em sistemas de tratamento de efluentes (BULLO *et al.*, 2024). Dessa forma, processos biotecnológicos que utilizam lipases imobilizadas têm se consolidado como alternativas sustentáveis e eficientes para a remoção de contaminantes ambientais.

Embora as lipases apresentem um potencial significativo para aplicações ambientais, desafios como a otimização de sua estabilidade e atividade catalítica ainda precisam ser superados. Avanços na engenharia de proteínas e no desenvolvimento de técnicas de imobilização são fundamentais para ampliar a eficiência desses biocatalisadores. O aprimoramento dos processos de produção e aplicação de lipases permitirá um avanço significativo na gestão ambiental, reforçando sua importância na biorremediação e na sustentabilidade industrial.

## PROTEASES - TRATAMENTO DE RESÍDUOS PROTEICOS

Proteases (E.C. 3.4) (MCDONALD; TIPTON, 2023) são enzimas fundamentais para a degradação de proteínas, desempenhando um papel essencial em processos naturais e industriais. No tratamento de resíduos proteicos, elas oferecem uma solução eficiente e sustentável, contribuindo para a redução de impactos ambientais. Elas catalisam a hidrólise de ligações peptídicas, e podem ser classificadas em diferentes categorias conforme seus mecanismos cáticos, incluindo cisteína-, serina-, aspartato- e metaloproteinases (MCDONALD; TIPTON, 2023).



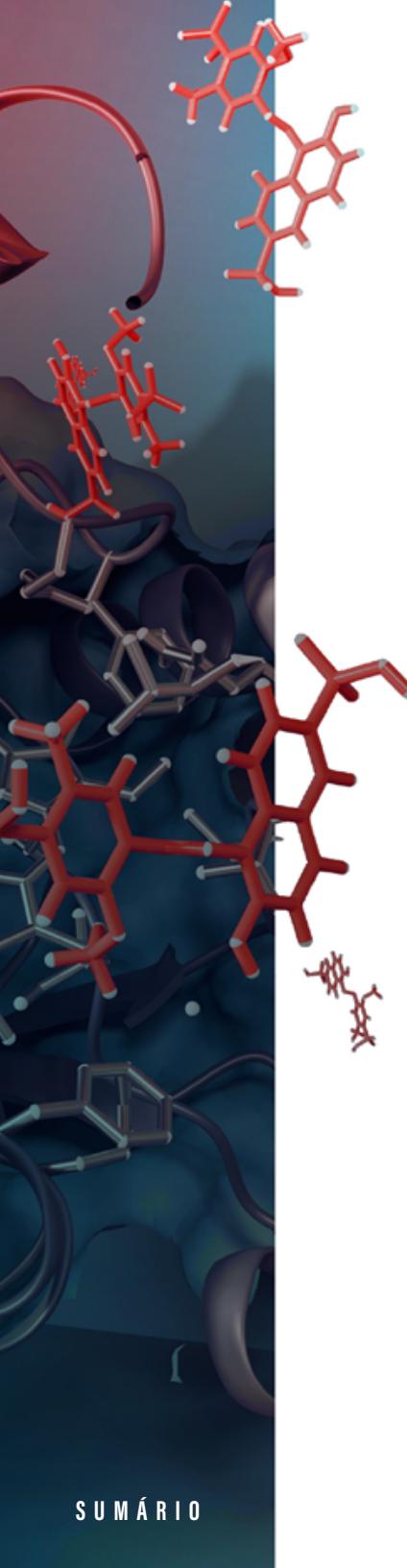
Essas enzimas têm ampla aplicação nas áreas médica e industrial, sendo empregadas no tratamento de feridas, câncer e doenças cardiovasculares, como também no processamento de alimentos, formulação de detergentes e outras aplicações biotecnológicas (JAMAL *et al.*, 2024; SONG *et al.*, 2024).

Na biorremediação, as proteases desempenham um papel fundamental no tratamento de resíduos industriais ricos em proteínas, convertendo-os em subprodutos de alto valor. Esse processo reduz a formação de lodo ativado e contribui para práticas industriais mais sustentáveis (ASH; KUMAR MISHRA, 2023).

Destaque-se também o uso de proteases microbianas na remediação de resíduos proteicos da indústria pesqueira. Estudos demonstraram a eficácia de proteases fúngicas, como as de *Aspergillus flavus*, *Aspergillus niger* e *Penicillium sp.*, na degradação de resíduos de camarão (GAMAGE *et al.*, 2022). Da mesma forma, proteases bacterianas, como as produzidas por *Bacillus sp.* CL18, mostraram eficiência na degradação de escamas de peixe (SILVA BERNARDO, DA; KOPPLIN; DAROIT, 2023). Tran e coautores (TRAN *et al.*, 2022) investigaram a conversão de resíduos pesqueiros utilizando *Streptomyces speibona* TKU048, cujas proteases apresentaram alta atividade a 70 °C e pH 5,8. A atividade enzimática foi potencializada por SDS e inibida por FeCl<sub>3</sub>, CuSO<sub>4</sub> e EDTA. O estudo também identificou o pó de cabeça de atum como a melhor fonte de nutrientes para a produção dessas enzimas. A crescente aplicação das proteases na biotecnologia reforça sua importância como ferramenta sustentável para o gerenciamento de resíduos, promovendo a valorização de subprodutos e contribuindo para a economia circular.

## GLICOSIDASES

As glicosidases (E.C. 3.2.1.) (MCDONALD; TIPTON, 2023), também conhecidas como hidrolases glicosídicas, são enzimas que

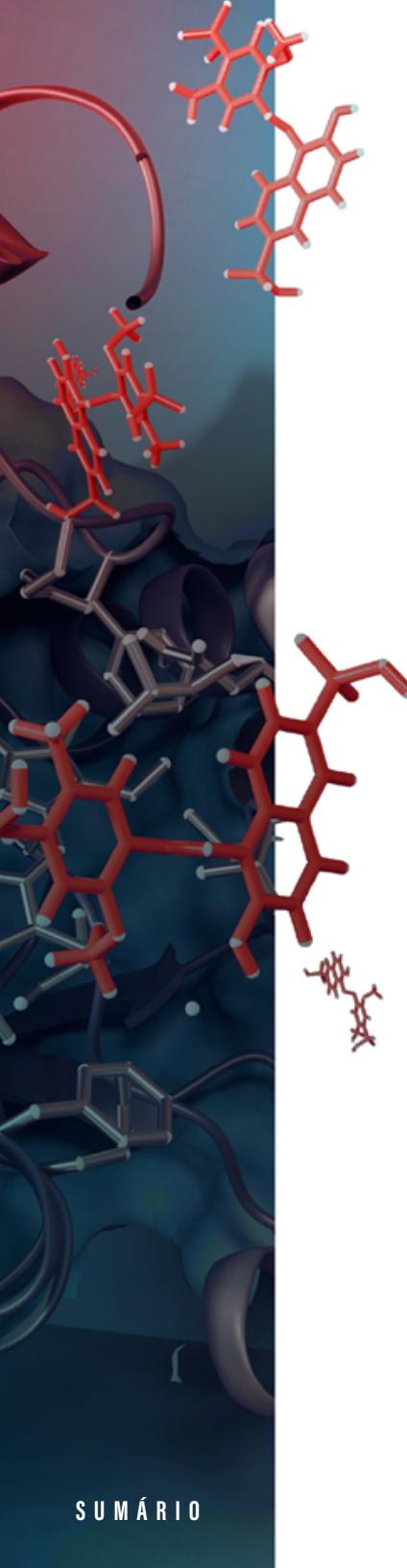


catalisam a hidrólise das ligações glicosídicas em oligossacarídeos e glicoconjugados, desempenhando papéis cruciais em vários processos biológicos, como digestão e metabolismo celular (KIM *et al.*, 2023; PERSEL *et al.*, 2025). Elas recebem o número 3.2.1 da Comissão de Enzimas (EC), que engloba uma ampla gama de enzimas envolvidas na quebra de carboidratos (NEKVASILOVÁ *et al.*, 2022). A importância das glicosidases se estende às suas aplicações em contextos terapêuticos, onde são direcionadas para o desenvolvimento de medicamentos e síntese de carboidratos complexos (KIM *et al.*, 2023). Podem estar associadas a uma série de doenças quando ausentes ou expressas de maneira anormal, tais como câncer e distúrbios de armazenamento lisossomal (KIM *et al.*, 2023).

As glicosidases do tipo  $\beta$  são essenciais na degradação da biomassa lignocelulósica e em diversas aplicações industriais, mas seu uso é limitado por sua baixa atividade, inibição por produto e baixa estabilidade (OUYANG *et al.*, 2023). Diversas estratégias têm sido empregadas para otimizar essas enzimas e viabilizar sua aplicação industrial. Alternativas sintéticas usando glicosidases modificadas são empregadas para sintetizar oligossacarídeos do leite humano, oferecendo vantagens sobre os métodos tradicionais (KIM *et al.*, 2023; NEKVASILOVÁ *et al.*, 2022). Os processos enzimáticos são preferidos para a produção de oligossacarídeos devido à sua especificidade e eficiência (NEKVASILOVÁ *et al.*, 2022).

As glicosidases são ainda cruciais para a digestão e o catabolismo dos glicoconjugados, com deficiências que levam a doenças graves como Gaucher e Tay-Sachs (WITHERS, 1995). As galactosidases do tipo alfa, por exemplo, estão sendo exploradas para terapias de reposição enzimática, particularmente na doença de Fabry, e para aliviar os sintomas da síndrome do intestino irritável (ANISHA, 2023).

Glicosidases podem ainda facilitar a quebra de compostos orgânicos complexos, aumentando assim a biodisponibilidade de metais pesados para absorção e desintoxicação microbiana.

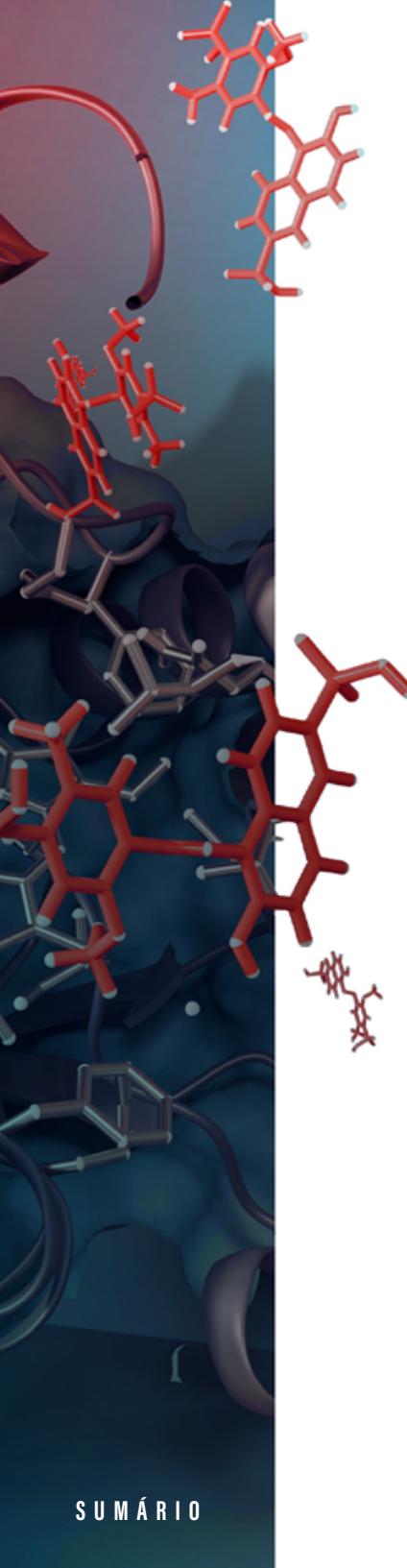


Essa ação enzimática é crucial no contexto do uso de biossurfactantes, que podem formar complexos com metais pesados, auxiliando na sua remoção de ambientes contaminados. As glicosidases contribuem para a produção de biossurfactantes, como os glicolipídios, que podem reter metais pesados nas fases de gel, removendo-os efetivamente da água. Por exemplo, um biossurfactante glico-lipídico demonstrou a capacidade de remover até 95% do cobalto e porcentagens significativas de outros metais como cobre e níquel (POIRIER *et al.*, 2023).

As glicosidases aumentam as interações microbianas com metais pesados, permitindo que as bactérias utilizem esses metais como nutrientes ou removam seu efeito tóxico por meio de várias vias metabólicas intrínsecas (VOLARIĆ *et al.*, 2021). As enzimas deste grupo apresentam uma grande vantagem para a biorremediação em termos ecológicos porque os processos microbianos associados são menos prejudiciais em comparação com os métodos químicos tradicionais que podem introduzir poluentes adicionais no ambiente. Outra grande vantagem é o custo-efetividade. Como essa abordagem geralmente é mais econômica e sustentável, torna-se mais adequada para aplicações em grande escala (SAYQAL; AHMED, 2021). Embora as glicosidases desempenhem um papel significativo na biorremediação, alguns desafios permanecem, como o potencial de os produtos de biodegradação serem mais tóxicos do que os contaminantes originais, necessitando de mais pesquisas para otimizar esses processos biológicos (SAYQAL; AHMED, 2021).

## ESTERASES E FOSFATASES

Esterases (E.C. 5) e fosfatases (EC 3.1.3.1 para fosfatases alcalinas e EC 3.1.3.2 para fosfatases ácidas) (MCDONALD; TIPTON, 2023) são enzimas que possuem um papel significativo em diversos



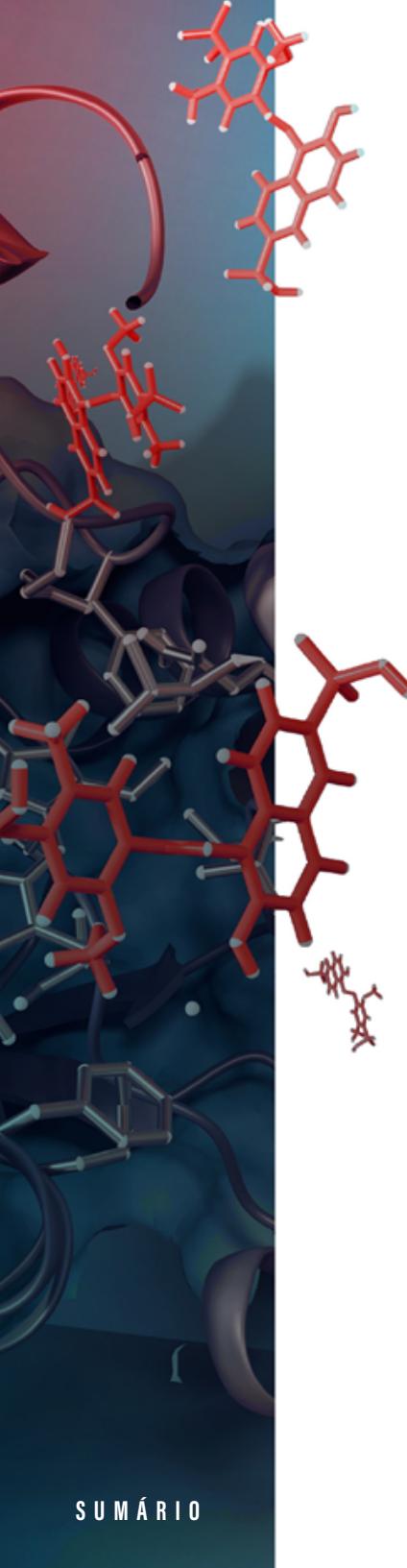
processos biogeoquímicos, uma vez que as fosfatases catalisam a remoção de grupos fosfato das moléculas, enquanto as esterases hidrolisam as ligações éster (BRANDAO *et al.*, 2016) desempenhando um papel importante na biodegradação de compostos orgânicos complexos como pesticidas, materiais lignocelulósicos e plásticos sintéticos (CHETTRI *et al.*, 2021).

A capacidade de hidrolisar ligações éster em pesticidas confere à esterase um papel crucial na formação de compostos menos tóxicos ou até mesmo não-tóxicos (CASTILLA; GIORDANO; IRAZOQUI, 2021; HOSEE, 2024).

Muitas esterases utilizam tríades catalíticas, como por exemplo (Ser-His-Asp), que se organizam em uma rede de carga que ativa o nucleófilo, um aminoácido que ataca o substrato, formando um intermediário covalente, para facilitar a reação de hidrólise. Como exemplo temos a esterase de *Salinicoccus roseus* que emprega uma tríade envolvendo os resíduos de serina, histidina e fenilalanina (Ser 93, His 222 e Phe 24) para uma degradação efetiva de pesticidas (CASTILLA; GIORDANO; IRAZOQUI, 2021).

Esterases de origem microbiana, como as produzidas por actinomicetos, apresentam ampla especificidade e têm sido associadas a altas taxas de degradação. Estudos indicam que esses microrganismos podem degradar até 98% da cipermetrina em apenas 72 horas, evidenciando seu potencial para aplicações em estratégias sustentáveis de descontaminação ambiental (CASTILLA; GIORDANO; IRAZOQUI, 2021).

As fosfatases atuam na degradação de pesticidas principalmente por meio da hidrólise de ligações éster-fosfato, presentes em muitos compostos organofosforados utilizados como pesticidas. Essas enzimas catalisam reações nucleofílicas em que moléculas de água ativadas atacam o átomo de fósforo central, promovendo a clivagem das ligações P-O alquil ou aril (SANGEETA, 2020).



Um exemplo notável é a fosfotriesterase (PTE), que utiliza íons metálicos, como o zinco, para estabilizar o substrato e facilitar a hidrólise (FU *et al.*, 2022). Essa ação resulta em uma rápida conversão de pesticidas como o diazinon, diazoxon, paraoxon e paratião em produtos menos tóxicos, com barreiras energéticas relativamente baixas — 13,8 kcal/mol para o paraoxon e 14,4 kcal/mol para o paratião, o que destaca a eficiência dessas enzimas no processo de biorremediação (FU *et al.*, 2022).

Diversos microrganismos, como bactérias do gênero *Pseudomonas* e fungos como *Aspergillus flavus* e *A. sydowii*, produzem fosfatases que demonstram alta eficácia na degradação de pesticidas organofosforados em diferentes ambientes. Esses microrganismos não apenas detoxificam os compostos, mas também utilizam os produtos da hidrólise como fonte de fósforo para crescimento, especialmente em solos enriquecidos com matéria orgânica, como palha de trigo (HASAN, 1999).

## APLICAÇÕES PRÁTICAS DE HIDROLASES NA BIORREMEDIAÇÃO

### RESÍDUOS DE HIDROLISADO DE PENAS DE GALINHA

Um hidrolisado preparado a partir de resíduos de penas de galinha usando hidrólise por pressão térmica iniciada por ácido málico foi testado como um agente quelante biodegradável para remoção de metais pesados de solos industriais. Este método se alinha aos princípios da bioeconomia circular ao utilizar materiais residuais. O hidrolisado demonstrou eficiência igual ou superior em comparação aos agentes tradicionais à base de EDTA, particularmente na

extração de cromo (Cr), níquel (Ni) e arsênio (As) de solos contaminados. Notavelmente, o arsênico, que é difícil de remover com EDTA, foi efetivamente extraído usando este método. O hidrolisado também estimulou as bactérias do solo, aumentando sua população e a produção de biosurfactante, o que aumentou ainda mais a eficiência de extração de metais pesados (OLGA *et al.*, 2024).

## PRECIPITAÇÃO DE CARBONATO INDUZIDA POR ENZIMAS (PCIE)

A PCIE utiliza extratos brutos de urease (EC 3.5.1.5) (MCDONALD; TIPTON, 2023), uma metaloenzima presente na planta do feijão espada para remediar metais pesados como zinco (Zn), níquel (Ni) e cromo (Cr). Esse método imobiliza metais pesados por meio da biomíneralização, formando precipitados de carbonato e hidróxido. O método alcançou uma alta porcentagem de imobilização, com zinco atingindo até 99%, níquel em 62,4% e cromo em 24,4%. A presença de íons de cálcio aumentou ainda mais a eficiência de imobilização. Simulações geoquímicas e análises microscópicas confirmaram a formação de precipitados de carbonato metálico e a adsorção por carbonato de cálcio, validando a eficácia do PCIE na remediação de metais pesados (BIAN *et al.*, 2024).

## MICO-REMEDIAMENTO

Os fungos são eficazes no acúmulo e concentração de metais pesados por meio de mecanismos como biotransformação e imobilização. Esta abordagem é denominada mico-remediação. Esses processos podem ser potencialmente aprimorados pelas glicosidas quando estão envolvidas na decomposição da matéria orgânica, aumentando assim a biodisponibilidade de metais para a absorção pelos fungos (PATEL; MOHAPATRA; HANSDA, 2024).

## FITORREMEDIÇÃO ASSISTIDA POR MICRORGANISMOS

Os microrganismos como fungos e bactérias podem aumentar o crescimento das plantas e a absorção de metais por meio de relações simbióticas. As glicosidases podem estar envolvidas na degradação de poluentes orgânicos, facilitando assim a atividade microbiana e melhorando o processo geral de remediação (ULLAH *et al.*, 2018). Fito-estabilização e fito-extração são estratégias aplicadas por meio do uso de plantas que podem estabilizar metais pesados no solo, impedindo sua propagação, ou extraí-los para armazenamento em sua biomassa. Essa abordagem dupla é particularmente útil no gerenciamento de terras agrícolas contaminadas (RAKLAMI *et al.*, 2022).

## BACTÉRIAS PRODUTORAS DE BIOSSURFACTANTES

Essas bactérias podem produzir compostos que aumentam a solubilidade e a mobilidade dos metais pesados, tornando-os mais acessíveis para remoção. As glicosidases poderiam ser potencialmente usadas para modificar esses biossurfactantes ou a matéria orgânica do solo, melhorando a eficiência da remoção de metais (RASTOGI; KUMAR, 2020).

## LAVAGEM DO SOLO

Esse método envolve o uso de soluções para remover contaminantes do solo. Extratos otimizados com glicosidases podem ser usados diretamente nos solos para quebrar complexos orgânicos que se ligam a metais pesados, aumentando assim a eficácia dessas soluções de lavagem (GHAFOOR *et al.*, 2023; ULLAH *et al.*, 2018).

## TRATAMENTO DE EFLUENTES DE ÓLEO VEGETAL

As lipases têm sido usadas para tratar efluentes de óleo vegetal, que geralmente contêm metais pesados. Ao decompor os componentes orgânicos, as lipases podem reduzir a toxicidade geral e melhorar as condições para que outros processos de biorremediação tenham como alvo metais pesados (VINCENT *et al.*, 2022). As lipases da levedura *Candida rugosa* foram encapsuladas em ácido polilático (PLA) para protegê-las da contaminação por metais pesados, mantendo sua atividade e estabilidade. Essa técnica de encapsulamento pode ser aplicada em ambientes onde metais pesados estão presentes, garantindo que as lipases permaneçam eficazes em suas funções catalíticas (SWAIN, 2024).

## BIOSSORÇÃO E BIOACUMULAÇÃO

Interações entre espécies de *Bacillus* e *Pseudomonas* produzem proteases e outras enzimas que podem diminuir a toxicidade de metais pesados por meio de processos como sequestro e transporte ativo. Essas interações ajudam a reduzir as concentrações de metais pesados em locais contaminados (DAVE *et al.*, 2020). Microrganismos como bactérias e fungos podem adsorver metais pesados em suas superfícies celulares ou acumulá-los intracelularmente. Algumas destas bactérias são conhecidas por sua capacidade de bioassorver e sequestrar metais como chumbo e cádmio, tornando-as agentes eficazes nos esforços de biorremediação (ABUBAKAR *et al.*, 2024; SATHYA; KARMEGAM; LALITHA, 2024; SONG *et al.*, 2024).

## BIOADSORÇÃO E BIOMINERALIZAÇÃO

Os fungos apresentam alta capacidade de adsorção de metais pesados através de suas paredes celulares. Eles também podem precipitar metais como compostos insolúveis, um processo conhecido como biomineralização, que é eficaz no tratamento de águas residuais poluídas por metais (KUMAR, DWIVEDI, 2021). Estes microrganismos podem ainda precipitar metais tanto fora quanto dentro de suas células, reduzindo a biodisponibilidade e a toxicidade daqueles metais. Esse mecanismo duplo aumenta a capacidade dos fungos de remediar ambientes contaminados com metais como mercúrio e arsênico (KUMAR, DWIVEDI, 2021).

## FORMAÇÃO DE BIOFILME

Os biofilmes bacterianos aumentam a resistência a metais pesados e facilitam a remoção de vários contaminantes simultaneamente. Isso se deve à matriz protetora que os biofilmes fornecem, que pode prender e imobilizar metais pesados (VOLARIĆ *et al.*, 2021).

## LIMITAÇÕES NA APLICAÇÃO DE ENZIMAS HIDROLÍTICAS

O uso de enzimas como proteases, esterases, fosfatases, glicosidases e lipases na biorremediação de ambientes contaminados com metais pesados apresenta várias limitações. Essas enzimas, embora eficazes na transformação de poluentes em formas menos tóxicas, enfrentam desafios relacionados à estabilidade e atividade na presença de metais pesados, à complexidade de ambientes contaminados e ao potencial de geração de subprodutos tóxicos. Essas limitações impedem a ampla aplicação da biorremediação enzimática em locais contaminados com metais pesados (YAGNIK; ARYA; RAVAL, 2023).

## ESTABILIDADE E ATIVIDADE ENZIMÁTICA

As enzimas são sensíveis às condições ambientais, como pH, temperatura e presença de metais pesados, que podem desnaturalizá-las ou inibir sua atividade. Metais pesados podem se ligar a sítios ativos enzimáticos, alterando sua estrutura e função, reduzindo assim sua eficácia nos processos de biorremediação. A baixa produção e rendimento dessas enzimas em condições naturais limitam sua disponibilidade para aplicações em grande escala. Isso requer o desenvolvimento de métodos biotecnológicos para aumentar a produção e a estabilidade de enzimas (YAGNIK; ARYA; RAVAL, 2023).

## COMPLEXIDADE DE AMBIENTES CONTAMINADOS

A presença de vários contaminantes, incluindo compostos orgânicos e metais pesados, pode complicar o processo de biorremediação. As enzimas podem não ser capazes de atingir eficazmente poluentes específicos em ambientes tão complexos, reduzindo a eficiência geral do processo de biorremediação. A interação entre fatores abióticos, como composição do solo e pH, e fatores bióticos, como comunidades microbianas, pode afetar a biodisponibilidade e a toxicidade dos metais pesados, complicando ainda mais o processo de remediação enzimática (TRAN *et al.*, 2022).

## GERAÇÃO DE SUBPRODUTOS TÓXICOS

As reações enzimáticas podem, por vezes, resultar na formação de intermediários metabólicos com toxicidade superior à dos poluentes originais. Esse fenômeno é especialmente crítico no contexto da biorremediação de metais pesados, uma vez que transformações incompletas podem levar ao acúmulo de compostos altamente nocivos. Diante disso, torna-se essencial o monitoramento

rigoroso e o controle dos processos enzimáticos, a fim de evitar a intensificação da contaminação ambiental (MEDHAT REHAN & ABDULLAH S. ALSOHIM, 2019).

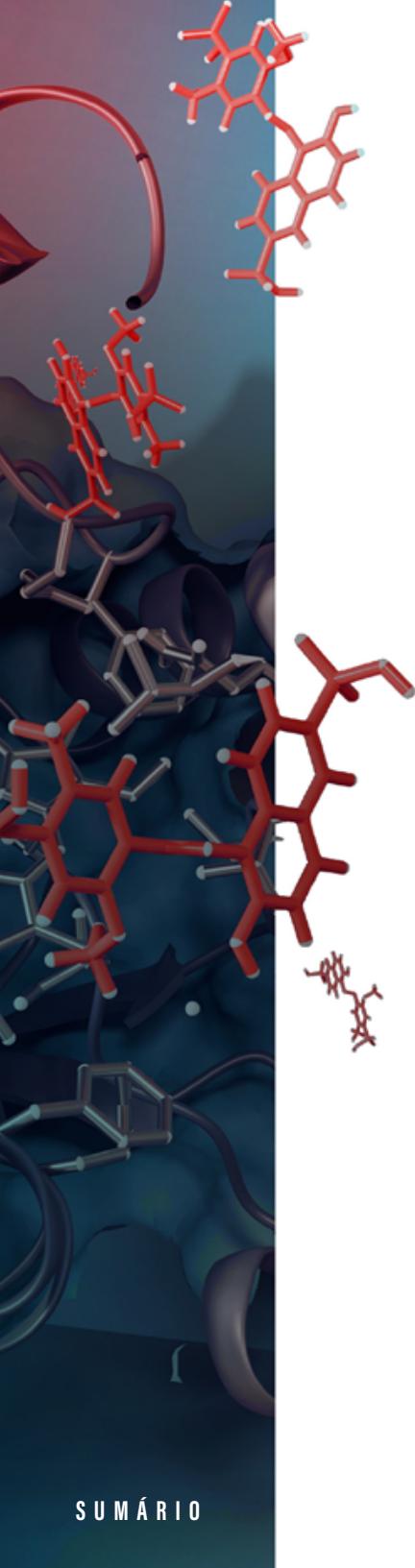
## RESTRIÇÕES TECNOLÓGICAS E ECONÔMICAS

O custo da produção, purificação e aplicação de enzimas pode ser proibitivo, especialmente para projetos de biorremediação em grande escala. Essa restrição econômica limita a viabilidade do uso de enzimas como método primário para remediação de metais pesados. A necessidade de técnicas biotecnológicas avançadas para aumentar a eficácia enzimática, como biologia sintética (STUBBINS, 2025), engenharia genética e imobilização enzimática, aumenta a complexidade e o custo da biorremediação enzimática (MEDHAT REHAN & ABDULLAH S. ALSOHIM, 2019; TRAN *et al.*, 2022).

Embora a biorremediação enzimática ofereça uma alternativa ecológica promissora aos métodos convencionais, essas limitações destacam a necessidade de mais pesquisas e desenvolvimento. Avanços na biotecnologia, como a engenharia de enzimas mais robustas e o desenvolvimento de métodos de produção econômicos, podem ajudar a superar esses desafios. Além disso, a integração da biorremediação enzimática com outras estratégias de biorremediação, como o uso de micróbios resistentes a metais, pode aumentar a eficácia geral dos esforços de remediação de metais pesados.

## BACTÉRIAS AQUÁTICAS E BIOLOGIA SINTÉTICA

Bactérias do gênero *Caulobacter* são extremamente ubíquas e hábeis a sobreviverem em ambientes oligotróficos, já foram isolados a partir de ambientes de água doce, águas marinhas e no solo, de sistemas de tratamento de água de sedimentos marinhos e em águas profundas de minas de ouro, apresentando uma notável capa-

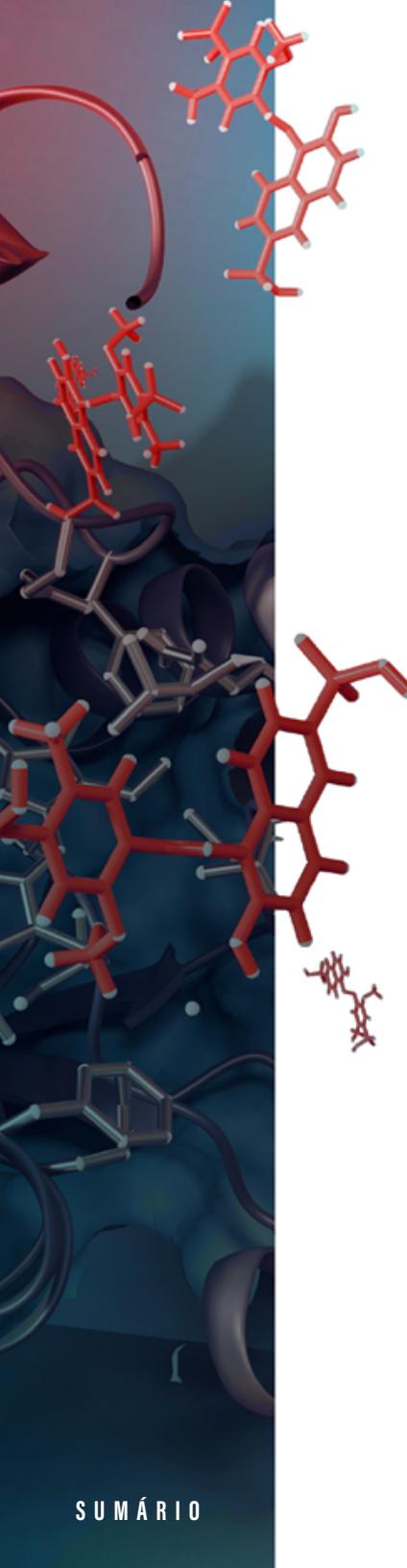


cidade para sobreviverem em ambientes contaminados com metais tóxicos (BARROWS; GOLEY, 2023; XU; LEI; PATEL, 2010). Bactérias utilizadas para remoção de poluentes sofrem diferentes estresses em função da alta concentração de contaminantes, solventes tóxicos, pH extremo, temperatura, força iônica, entre outros. A combinação de uma única linhagem bacteriana com habilidades degradativas e alterações genéticas que confirmam vantagens seletivas em um sítio alvo é uma estratégia de sucesso para biorremediação "in situ" (XU; LEI; PATEL, 2010). Linhagens de bactérias resistentes a solventes, por exemplo, podem figurar como um hospedeiro ideal para a modificação genética visando à aplicação do microrganismo na remoção de resíduos do ambiente em elevadas concentrações de solventes. *Caulobacter* também é capaz de degradar compostos tóxicos como clorofenol e outros compostos aromáticos como benzoato e *p*-hidroxibenzoato, é tolerante a urânio, por um mecanismo de ação que leva a formação de precipitados de fosfato-urânio-cálcio no meio extracelular (PARK; JIAO, 2014; PATEL, J.; WILSON *et al.*, 2010; PATEL, J.; ZHANG *et al.*, 2010; STEFANELLO *et al.*, 2006). Em adição a todas estas propriedades, células de *C. crescentus* formam biofilmes de alta densidade com potencial para uso em biorreatores e processos de biorremediação de ambientes contaminados (BARROWS; GOLEY, 2023).

Em ambientes marinhos a aplicação de microrganismos no contexto da biorremediação tem sido limitada pela natureza intrincada dos poluentes orgânicos e pela limitada resiliência ao estresse salino. Efluentes industriais, contaminação por hidrocarbonetos e poluição plástica representam desafios substanciais para a biossegurança dos oceanos devido às suas características inherentemente tóxicas, mutagênicas e duradouras (THOMA; BLOMBACH, 2021). Dados recentes mostram que uma gamaproteobactéria marinha anaeróbia facultativa denominada *Vibrio natriegens* pode ser um microrganismo promissor para biorremediação de ambientes marinhos e terrestres contaminados com compostos orgânicos tóxicos.

*V. natriegens* é a bactéria não patogênica de crescimento mais rápido conhecida até o momento (HOFF *et al.*, 2020).

Por estratégias de Biologia sintética, *V. natriegens* foi modificada em uma variante eficiente para biorremediação de contaminantes orgânicos complexos em águas residuais salinas e em ambientes terrestres (SU *et al.*, 2025). O gene regulador de competência para a captação de material genético, *tfoX*, proveniente da bactéria *Vibrio cholerae* foi integrado ao cromossomo da cepa Vmax de *V. natriegens*, e posteriormente superexpresso para aumentar a captação e incorporação de DNA exógeno, ou seja, desenvolvendo uma “transformação natural iterativa”. Este sistema mais apto a captar DNA exógeno de *V. natriegens* Vmax foi denominado INTIMATE. Uma construção foi feita usando clusters gênicos provenientes principalmente da bactéria *Pseudomonas aeruginosa* HS9 e associados à degradação de compostos tóxicos, os genes foram sintetizados quimicamente e montados em uma construção usando uma cepa de levedura como hospedeiro. Através de uma abordagem de engenharia genômica foi realizada a transferência da construção para a *V. natriegens* contendo cinco grupos de genes distintos totalizando 43 kb, gerando uma cepa geneticamente estável denominada VCOD-15. Esta variante nova bioengenheirada demonstrou a capacidade de biorremediar cinco poluentes orgânicos distintos: bifenil, fenol, naftaleno, dibenzofurano e tolueno, abordando efetivamente uma ampla variedade de substratos, desde compostos monocíclicos até compostos multicíclicos, em amostras de águas residuais industriais provenientes de uma instalação de refino de petróleo e amostras de uma instalação contendo cloro e álcalis diversos. Em culturas mantidas em frascos salinos, a cepa VCOD-15 de *V. natriegens* exibiu uma eficiência de remoção completa de 100,0% para bifenil, ao lado de 60,7% para fenol, 71,8% para naftaleno, 89,3% para dibenzofurano e 89,9% para tolueno em um período de 48 horas (SU *et al.*, 2025). Investigações



subsequentes de biorreatores indicaram que o VCOD-15 eliminou com sucesso 90% de todos os cinco poluentes das amostras de águas residuais industriais e diminuiu significativamente a concentração desses intrincados poluentes orgânicos nas matrizes salinas do solo. A aplicação de rastreamento de isótopos estáveis utilizando bifenil e fenol marcados isotopicamente com  $^{13}\text{C}$ , em conjunto com naftaleno, dibenzofurano e tolueno marcado isotopicamente com  $^{2}\text{H}$ , corroborou a existência de intermediários moleculares previstos para surgir durante os processos de degradação ao longo das vias metabólicas específicas (SU *et al.*, 2025). Estes dados ressaltam a relevância do aprofundamento no estudo de organismos aquáticos, sobretudo de bactérias que sejam facilmente manipuláveis do ponto de vista genético.

## DESAFIOS E PERSPECTIVAS

O uso de enzimas para biorremediação de ambientes contaminados apresenta perspectivas promissoras e desafios significativos. As enzimas, particularmente aquelas derivadas de microrganismos, oferecem uma alternativa ecológica e econômica aos métodos tradicionais de remediação química e física. Eles são capazes de degradar uma ampla gama de poluentes, incluindo hidrocarbonetos, metais pesados e pesticidas, em formas não tóxicas. No entanto, a aplicação prática da biorremediação baseada em enzimas é dificultada por vários fatores, incluindo estabilidade enzimática, variabilidade ambiental e problemas de escalabilidade. Esses desafios devem ser enfrentados para realizar plenamente o potencial da biorremediação mediada por enzimas.

## REFERÊNCIAS

ABUBAKAR, A. *et al.* Crude oil biodegradation potential of lipase produced by *Bacillus subtilis* and *Pseudomonas aeruginosa* isolated from hydrocarbon contaminated soil. **Environmental Chemistry and Ecotoxicology**, [s.l.], v. 6, no January, p. 26–32, 2024. ISSN: 25901826, DOI: 10.1016/j.enceco.2023.12.001.

ANISHA, G. S. Biopharmaceutical applications of  $\alpha$ -galactosidases. **Biotechnology and Applied Biochemistry**, [s.l.], v. 70, no 1, p. 257–267, 2023. ISSN: 14708744, DOI: 10.1002/bab.2349.

ASH, K.; KUMAR MISHRA, S. Protease Enzymes: Present Status and Future Perspectives for Industrial Sector. **International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences**, [s.l.], v. 12, no 2, p. 311–323, 2023. ISSN: 23197692, DOI: 10.20546/ijcmas.2023.1202.029.

BARRIOS-RODRÍGUEZ, R. *et al.* Associations of accumulated persistent organic pollutants in breast adipose tissue with the evolution of breast cancer after surgery. **Science of the Total Environment**, [s.l.], v. 897, no March, 2023. ISSN: 18791026, DOI: 10.1016/j.scitotenv.2023.165373.

BARROWS, J. M.; GOLEY, E. D. Synchronized Swarmers and Sticky Stalks: *Caulobacter crescentus* as a Model for Bacterial Cell Biology. **Journal of Bacteriology**, [s.l.], v. 205, no 2, 2023. ISSN: 0021-9193, DOI: 10.1128/jb.00384-22.

BASHA, P. A. Oil degrading lipases and their role in environmental pollution. **Recent Developments in Applied Microbiology and Biochemistry: Volume 2**. [s.l.]: Elsevier Inc., 2020. 269–277 p. ISBN: 9780128214060, DOI: 10.1016/B978-0-12-821406-0.00025-4.

BASTOLLA, C. L. V. *et al.* Emerging and legacy contaminants on the Brazilian southern coast (Santa Catarina): A multi-biomarker approach in oysters *Crassostrea gasar* (Adanson, 1757). **Science of the Total Environment**, [s.l.], v. 925, no March, 2024. ISSN: 18791026, DOI: 10.1016/j.scitotenv.2024.171679.

BIAN, Y. *et al.* An Enzyme-Induced Carbonate Precipitation Method for Zn<sup>2+</sup>, Ni<sup>2+</sup>, and Cr(VI) Remediation: An Experimental and Simulation Study. **Applied Sciences (Switzerland)**, [s.l.], v. 14, no 15, 2024. ISSN: 20763417, DOI: 10.3390/app14156559.

BRANDAO, T. A. S. et al. Phosphoryl and sulfuryl transfer. **Reference Module in Chemistry, Molecular Sciences and Chemical Engineering**. [s.l.]: Elsevier Inc., 2016. v. 8, p. 315–348. ISBN: 9780080453828, DOI: 10.1016/b978-008045382-8.00684-5.

BULLO, G. T. et al. Lipases: market study and potential applications of immobilized derivatives. **Biofuels, Bioproducts and Biorefining**, [s.l.], v. 18, no 5, p. 1676–1689, 2024. ISSN: 19321031, DOI: 10.1002/bbb.2607.

CARVALHO, J. K. et al. Microbial lipases: propitious biocatalysts for various biotechnological applications lipases. **REA - Revista de estudos ambientais (Online)**, [s.l.], v. 25, no 1, p. 48–66, 2023. DOI: 10.7867/1983-1501.2023V25N1P48-66.

CASTILLA, A.; GIORDANO, S. R.; IRAZOQUI, G. Extremophilic lipases and esterases: Characteristics and industrial applications. **Microbial Extremozymes: Novel Sources and Industrial Applications**, cap 16. [s.l.]: Elsevier Inc., 2021. p. 207–222. ISBN: 9780128229453, DOI: 10.1016/B978-0-12-822945-3.00001-4.

CHAUDHARY, S.; SINDHU, S. S. Microbiome-mediated remediation of heavy metals: Impact on soil health, crop production, and ecosystem sustainability. **Microbiome-Assisted Bioremediation**. [s.l.]: Elsevier Inc., 2024. v. 2001, p. 257–312. ISBN: 9780443219115, DOI: 10.1016/b978-0-443-21911-5.00019-2.

CHETTRI, D. et al. Role of extremophiles and their extremozymes in biorefinery process of lignocellulose degradation. **Extremophiles**, [s.l.], v. 25, no 3, p. 203–219, 2021. ISBN: 0079202101, ISSN: 14334909, DOI: 10.1007/s00792-021-01225-0.

DAVE, D. et al. Microbes as a boon for the bane of heavy metals. **Environmental Sustainability**, [s.l.], v. 3, no 3, p. 233–255, 2020. ISBN: 0123456789, ISSN: 2523-8922, DOI: 10.1007/s42398-020-00112-2.

FU, Y. et al. Water-Regulated Mechanisms for Degradation of Pesticides Paraoxon and Parathion by Phosphotriesterase: Insight from QM/MM and MD **Simulations. Chemistry - An Asian Journal**, [s.l.], v. 17, no 14, p. 1–10, 2022. ISSN: 1861471X, DOI: 10.1002/asia.202200439.

GAMAGE, M. et al. Evaluation of the Potential of Fungal Acid Proteases of *Aspergillus flavus*, *Aspergillus niger* and *Penicillium* sp. to Produce Shrimp-Waste Protein Hydrolysates with Degraded Antigenic Proteins. **Journal of Dry Zone Agriculture**, [s.l.], v. 8, no 1, p. 21–37, 2022. ISSN: 2012-8673, DOI: 10.4038/jdza.v8i1.53.

GHAFOOR, I. et al. A Review on Emerging Strategies for Heavy Metal Remediation from Various Sources. **Journal of Quality Assurance in Agricultural Sciences**, [s.l.], v. 3, no 01, p. 38–46, 2023. ISSN: 2958-6844, DOI: 10.38211/jqaas.2023.3.40.

HASAN, H. A. H. Fungal utilization of organophosphate pesticides and their degradation by *Aspergillus flavus* and *A. sydowii* in soil. **Folia Microbiologica**, [s.l.], v. 44, no 1, p. 77–84, 1999. ISSN: 00155632, DOI: 10.1007/BF02816226.

HOFF, J. et al. *Vibrio natriegens*: an ultrafast-growing marine bacterium as emerging synthetic biology chassis. **Environmental Microbiology**, [s.l.], v. 22, no 10, p. 4394–4408, 2020. ISSN: 1462-2912, DOI: 10.1111/1462-2920.15128.

HOSEE, Y. N. Applications of *Escherichia Coli* Esterases for Bioremediation and Treatment of Wastewater Organic Chemical Pollutants. **Journal of Environmental Impact and Management Policy**, [s.l.], no 45, p. 1–22, 2024. DOI: 10.55529/jeimp.45.1.22.

IQRA ARSHAD et al. A Review on the Synergistic Approaches for Heavy Metals Bioremediation: Harnessing the Power of Plant-Microbe Interactions. **Lahore Garrison University Journal of Life Sciences**, [s.l.], v. 8, no 2, p. 268–286, 2024. ISSN: 2519-9404, DOI: 10.54692/lgujls.2024.0802343.

JAMAL, G. A. et al. Proteases, a powerful biochemical tool in the service of medicine, clinical and pharmaceutical. **Preparative Biochemistry and Biotechnology**, [s.l.], v. 55, no 1, p. 1–25, 2024. ISSN: 15322297, DOI: 10.1080/10826068.2024.2364234.

KIM, Y. et al. Glycosidase-targeting small molecules for biological and therapeutic applications. **Chemical Society Reviews**, [s.l.], v. 52, no 20, p. 7036–7070, 2023. ISSN: 1460-4744, DOI: 10.1039/D3CS00032J.

KOCABAŞ, D. S.; LYNE, J.; USTUNOL, Z. Hydrolytic enzymes in the dairy industry: Applications, market and future perspectives. **Trends in Food Science and Technology**, [s.l.], v. 119, p. 467–475, 2022. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2021.12.013>.

KUMAR, V.; DWIVEDI, S. K. Mycoremediation of heavy metals: processes, mechanisms, and affecting factors. **Environmental Science and Pollution Research**, [s.l.], v. 28, no 9, p. 10375–10412, 2021. ISSN: 16147499, DOI: 10.1007/s11356-020-11491-8.

LI, T. et al. Effect of inoculating thermophilic bacterial consortia on compost efficiency and quality. **Waste Management**, [s.l.], v. 170, no May, p. 341–353, 2023. ISSN: 18792456, DOI: 10.1016/j.wasman.2023.09.023.

MCDONALD, A. G.; TIPTON, K. F. Enzyme nomenclature and classification: the state of the art. **FEBS Journal**, [s./], v. 290, no 9, p. 2214–2231, 2023. ISSN: 17424658, DOI: 10.1111/febs.16274.

MEDHAT REHAN AND ABDULLAH S. ALSOHIM. Bioremediation of heavy metals. In: Environmental Chemistry and Recent Pollution Control Approaches. [no place]: [no publisher], 2019. v. **IntechOpen**, p. 15. ISBN: 0000957720, ISSN: 17187729, DOI: 10.5772/intechopen.88339. Disponível em: <<https://www.intechopen.com/books/advanced-biometric-technologies/liveness-detection-in-biometrics>>.

MOULATLET, G. M. et al. A systematic review on metal contamination due to mining activities in the Amazon basin and associated environmental hazards.

**Chemosphere**, [s./], v. 339, no April, p. 139700, 2023. ISSN: 18791298, DOI: 10.1016/j.chemosphere.2023.139700.

NEKVASILOVÁ, P. et al. Engineered Glycosidases for the Synthesis of Analogs of Human Milk Oligosaccharides. **International Journal of Molecular Sciences**, [s./], v. 23, no 8, 2022. ISSN: 14220067, DOI: 10.3390/ijms23084106.

OLGA, S. et al. Removal of heavy metals from Industrial brownfields by Hydrolysate from waste chicken feathers in intention of circular Bioeconomy. **Environmental Advances**, [s./], v. 16, no January, p. 100521, 2024. ISSN: 26667657, DOI: 10.1016/j.envadv.2024.100521.

OUYANG, B. et al. Recent Advances in  $\beta$ -Glucosidase Sequence and Structure Engineering: A Brief Review. **Molecules**, [s./], v. 28, no 13, p. 1–18, 2023. ISSN: 14203049, DOI: 10.3390/molecules28134990.

PARK, D. M.; JIAO, Y. Modulation of Medium pH by *Caulobacter crescentus* Facilitates Recovery from Uranium-Induced Growth Arrest. **Applied and Environmental Microbiology**, [s./], v. 80, no 18, p. 5680–5688, 2014. ISSN: 0099-2240, DOI: 10.1128/AEM.01294-14.

PATEL, J.; ZHANG, Q. et al. Genetic Engineering of *Caulobacter crescentus* for Removal of Cadmium from Water. **Applied Biochemistry and Biotechnology**, [s./], v. 160, no 1, p. 232–243, 2010. ISSN: 0273-2289, DOI: 10.1007/s12010-009-8540-0.

PATEL, J.; WILSON, G. et al. Self-immobilization of Recombinant *Caulobacter crescentus* and Its Application in Removal of Cadmium from Water. **Applied Biochemistry and Biotechnology**, [s./], v. 162, no 4, p. 1160–1173, 2010. ISSN: 0273-2289, DOI: 10.1007/s12010-009-8885-4.

PATEL, R. J.; MOHAPATRA, S.; HANSDA, A. Mycoremediation of Metallic Pollutants. Em: PRESS, C. (Org.). **Eco-Restoration of the Polluted Environment: a Biological Perspective**. primeira e ed. [s./]: Taylor & Francis, 2024. p. 53–65. ISBN: 9781040099377, DOI: 10.1201/9781003423393-3.

PERSEL, C. et al. Antimicrobial activity of immobilized mycocins in sodium alginate on fecal coliforms. **Water Science and Technology**, [s./], v. 91, no 5, p. 581–591, 2025. ISBN: 0000000195867, ISSN: 19969732, DOI: 10.2166/wst.2025.028.

POIRIER, A. et al. Heavy metal removal from water using the metallogelestion properties of a new glycolipid biosurfactant. **Journal of Surfactants and Detergents**, [s./], v. 26, no 2, p. 175–184, 2023. ISSN: 15589293, DOI: 10.1002/jsde.12629.

RAKLAMI, A. et al. Plants—Microorganisms-based bioremediation for heavy metal cleanup: Recent developments, phytoremediation techniques, regulation mechanisms, and molecular responses. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 23, n. 9, p. 5031, 2022. DOI: 10.3390/ijms23095031

RASTOGI, S.; KUMAR, R. Remediation of heavy metals using non-conventional adsorbents and biosurfactant-producing bacteria. **Environmental Degradation: Causes and Remediation Strategies**, cap 10. [s./]: [s.n.], 2020. p. 133–153. DOI: 10.26832/aesa-2020-edcrs-010.

REHAN, M.; ALSOHIRI, A. S. Bioremediation of heavy metals. **Environmental Chemistry and Recent Pollution Control Approaches**. [s./]: [s.n.], 2019. v. IntechOpen, p. 15. ISBN: 0000957720, ISSN: 17187729, DOI: 10.5772/intechopen.88339.

SANGEETA, R. Microbial Degradation of Organophosphate Pesticides: A Review. **Microbial Fermentation and Enzyme Technology**, cap 14. [s./]: [s.n.], 2020. p. 207–226. ISBN: 9780367183844, DOI: 10.1201/9780429061257.

SATHYA, C.; KARMEGAM, N.; LALITHA, S. Mitigation of heavy metal toxicity in pigeon pea by plant growth promoting *Pseudomonas alcaliphila* strain PAS1 isolated from contaminated environment. **Environmental Geochemistry and Health**, [s./], v. 46, no 11, p. 1–17, 2024. ISBN: 0123456789, ISSN: 15732983, DOI: 10.1007/s10653-024-02220-y.

SAYQAL, A.; AHMED, O. B. Advances in Heavy Metal Bioremediation: An Overview. **Applied Bionics and Biomechanics**, [s./], v. 2021, 2021. ISSN: 17542103.

SHARMA, A. et al. Role of Microbial Hydrolases in Bioremediation. Em: KUMAR, A.; SHARMA, S. (Orgs.). **Microbes and Enzymes in Soil Health and Bioremediation. Singapore**: Springer Singapore, 2019. p. 149–164. ISBN: 978-981-13-9117-0, DOI: 10.1007/978-981-13-9117-0\_7.

SIMÃO et al. Exploring biodegradable alternatives: microorganism-mediated plastic degradation and environmental policies for sustainable plastic management. In: **Archives of microbiology**, v. 206, no 12, p. 457, 2024. ISBN: 0123456789, ISSN: 1432072X, DOI: 10.1007/s00203-024-04170-6. Disponível em: <<https://doi.org/10.1007/s00203-024-04170-6>>.

SILVA BERNARDO, B. DA; KOPPLIN, B. W.; DAROIT, D. J. Bioconversion of Fish Scales and Feather Wastes by *Bacillus* sp. CL18 to Obtain Protease and Bioactive Hydrolysates. **Waste and Biomass Valorization**, [s.l.], v. 14, no 4, p. 1045–1056, 2023. ISBN: 0123456789, ISSN: 1877265X, DOI: 10.1007/s12649-022-01907-6.

SONG, Y.-J. et al. Prospects of Pseudomonas in Microbial Fuel, Bioremediation, and Sustainability. **ChemSusChem**, [s.l.], v. 202401324, no 18, p. 1–17, 2024. ISSN: 1864-5631, DOI: 10.1002/cssc.202401324.

STEFANELLO, et al. Isolamento e análise funcional do gene que codifica uma proteína ligadora de cálcio em *Caulobacter crescentus*. SBG (Org.). Em: *52o Congresso Brasileiro de Genética*. Foz do Iguaçu: [s.n.], 2006. ISBN: 9788589109062.

STUBBINS, Mia. Synthetic Biology : The Future of Bioremediation. In: **Wootton Stem Journal**. 2025

SU, C. et al. Bioremediation of complex organic pollutants by engineered *Vibrio natriegens*. **Nature**, [s.l.], v. 642, no 8069, p. 1024–1033, 2025. ISSN: 0028-0836, DOI: 10.1038/s41586-025-08947-7.

SUI, B. et al. Recent advances in the biodegradation of polyethylene terephthalate with cutinase-like enzymes. **Frontiers in Microbiology**, [s.l.], v. 14, no October, p. 1–24, 2023. ISSN: 1664302X, DOI: 10.3389/fmicb.2023.1265139.

SWAIN, R. K. Evaluation of Heavy Metal Concentrations in Enzyme Embedded Poly Lactic Acid (EPLA) by ICP-OES: Lipase from *Candida Rugosa*. **International Journal for Research in Applied Science and Engineering Technology**, [s.l.], v. 12, no 3, p. 1843–1848, 2024. DOI: 10.22214/ijraset.2024.59210.

TEMPORITI, M. E. E. et al. Fungal Enzymes Involved in Plastics Biodegradation. **Microorganisms**, [s.l.], v. 10, no 6, p. 1–27, 2022. ISSN: 20762607, DOI: 10.3390/microorganisms10061180.

THOMA, F.; BLOMBACH, B. Metabolic engineering of *Vibrio natriegens*. **Essays in Biochemistry**, [s./], v. 65, no 2, p. 381–392, 2021. ISSN: 0071-1365, DOI: 10.1042/EBC20200135.

TRAN, T. N. et al. Conversion of Fishery Waste to Proteases by *Streptomyces speibonae* and Their Application in Antioxidant Preparation. **Fishes**, [s./], v. 7, no 3, p. 1–16, 2022. ISSN: 24103888, DOI: 10.3390/fishes7030140.

ULLAH, H. et al. Journal of Chemistry: Education Research and Practice. [s./], v. 2, no 1, p. 277–289, 2018.

VARDAR-YEL, N.; TÜTÜNCÜ, H. E.; SÜRMELİ, Y. Lipases for targeted industrial applications, focusing on the development of biotechnologically significant aspects: A comprehensive review of recent trends in protein engineering. **International Journal of Biological Macromolecules**, [s./], v. 273, no P1, p. 132853, 2024. ISSN: 18790003, DOI: 10.1016/j.ijbiomac.2024.132853.

VINCENT, C. S. et al. Production, Partial Purification, and Characterization of Lipase from *Aspergillus niger* and Its Application in Treatment of Vegetable Oil Effluent. **Biomolecular Engineering**, v. 7, n. 1, p. 1–7, 2022. ISSN: 2578-8876, DOI: 10.11648/j.cbe.20220701.11.

VIVEK, K.; SANDHIA, G. S.; SUBRAMANIYAN, S. Extremophilic lipases for industrial applications: A general review. **Biotechnology Advances**, [s./], v. 60, no June, p. 108002, 2022. ISSN: 07349750, DOI: 10.1016/j.biotechadv.2022.108002.

VOLARIĆ, A. et al. Microbial bioremediation of heavy metals. **Hemisjka Industrija**, [s./], v. 75, no 2, p. 103–115, 2021. ISSN: 22177426, DOI: 10.2298/HEMIND200915010V.

WITHERS, S. G. Enzymatic cleavage of glycosides: How does it happen? **Pure and Applied Chemistry**, [s./], v. 67, no 10, p. 1673–1682, 1995. ISSN: 13653075, DOI: 10.1351/pac199567101673.

XU, Z.; LEI, Y.; PATEL, J. Bioremediation of soluble heavy metals with recombinant *Caulobacter crescentus*. **Bioengineered Bugs**, [s./], v. 1, no 3, p. 207–212, 2010. ISSN: 1949-1018, DOI: 10.4161/bbug.1.3.11246.

YAGNIK, S. M.; ARYA, P. S.; RAVAL, V. H. Microbial enzymes in bioremediation. **Biotechnology of Microbial Enzymes: Production, Biocatalysis, and Industrial Applications**, Segunda edição, cap 24. [s./]: INC, 2023. p. 685–708. ISBN: 9780443190599, DOI: 10.1016/B978-0-443-19059-9.00010-4.

# 9

*José Rivaldo dos Santos Filho  
Rúbia Carvalho Gomes Corrêa  
Cristina Giatti Marques de Souza  
Adelar Bracht  
Rosane Marina Peralta*

## CONTRIBUIÇÕES RELEVANTES DO LABORATÓRIO DE BIOQUÍMICA DE MICRORGANISMOS NAS ÁREAS DE BIORREMEDIADAÇÃO ENZIMÁTICA E SUSTENTABILIDADE

**Laboratório LBM/UEM:  
Soluções Sustentáveis com Microrganismos**

**Biorremediação:  
Limpando o Meio Ambiente**

**Degradação de Poluentes**  
Enzimas transformam herbicidas, pesticidas e corantes em substâncias menos tóxicas.

**Biosorção em Água**  
Biomassa de fungos é usada para remover contaminantes de soluções aquosas.

**Imobilização de Enzimas**  
Técnica que aumenta a eficiência e permite a reutilização das enzimas no processo.

**Valorização de Resíduos:  
Criando Novos Produtos**

**Extração de Bioativos**  
Resíduos como cascas e sementes geram compostos para as áreas de alimentos e saúde.

**Aplicações Potenciais**  
As pesquisas têm impacto nas indústrias de alimentos, biocombustíveis e recuperação ambiental.

Alimentos → Biocombustíveis → Recuperação Ambiental

Alimento  
HO-OH  
Saúde  
HO-OH  
HO-OH

### RESUMO:

O Laboratório de Bioquímica de Microrganismos da Universidade Estadual de Maringá (LBM/UEM) dedica-se à pesquisa em bioquímica e biotecnologia, com foco em biorremediação e valorização de resíduos agroindustriais. Suas investigações abrangem o uso de microrganismos e suas enzimas na degradação de poluentes (herbicidas, pesticidas, corantes industriais e outros compostos orgânicos recalcitrantes), contribuindo para soluções sustentáveis para a descontaminação ambiental. Estudos demonstram a eficácia de enzimas ligninolíticas, como lacases e peroxidases, na transformação desses compostos em

substâncias menos tóxicas. Além disso, o laboratório estuda estratégias de biossorção, utilizando biomassa fúngica para remover contaminantes de soluções aquosas. Para aumentar a eficiência e possibilitar a reutilização das enzimas, o LBM/UEM atua na imobilização de enzimas. Outro aspecto importante das pesquisas desenvolvidas no LBM/UEM é a valorização de resíduos orgânicos, como cascas e sementes de frutos e materiais lignocelulósicos, através da extração de bioativos de interesse na área de alimentos e da saúde. As pesquisas desenvolvidas no LBM/UEM têm impacto ambiental significativo e aplicações potenciais na indústria de alimentos, biocombustíveis e na recuperação de áreas degradadas. O laboratório reafirma seu compromisso com o desenvolvimento de tecnologias verdes e inovação na área de bioquímica de microrganismos.

**Palavras-chave:** biorremediação, economia circular, enzimas, fungos

## INTRODUÇÃO

O Laboratório de Bioquímica de Microrganismos da Universidade Estadual de Maringá (LBM/UEM) é um centro de excelência em pesquisa e desenvolvimento vinculado ao Departamento de Bioquímica da Universidade Estadual de Maringá. O LBM/UEM iniciou suas atividades de pesquisa no início da década de 90, buscando compreender as interações positivas dos microrganismos com a espécie humana e o ambiente.

Os projetos de pesquisa desenvolvidos no laboratório encaixam-se nos seguintes temas, podendo um projeto pertencer a mais de um deles:

**(a) Bioquímica de Microrganismos e produção e aplicação de enzimas fúngicas,** onde investigamos os mecanismos bioquímicos de fungos para produção de enzimas aplicáveis nas indústrias de alimentos, cosméticos, fármacos e tratamento de resíduos.

**(b) Biorremediação de compostos poluentes,** onde desenvolvemos soluções sustentáveis usando microrganismos e suas enzimas para degradar resíduos tóxicos e recuperar ambientes contaminados.

**(c) Valorização de resíduos e economia circular,** onde avaliamos como agregar valor a resíduos agroindustriais extraíndo e caracterizando bioativos promovendo sustentabilidade e reaproveitamento dentro da lógica da economia circular.

O LBM/UEM desde sua criação (1990) atuou fortemente em diversos programas de Pós-graduação da UEM, destacando-se os Programas de Pós-graduação em Ciências Biológicas, Bioquímica, Biotecnologia Ambiental e Ciência de Alimentos. Dessa forma atuou igualmente o longo de 35 anos na formação de recursos humanos (mestres e doutores) nestas áreas. Sempre teve também forte participação nos programas de iniciação científica da UEM.

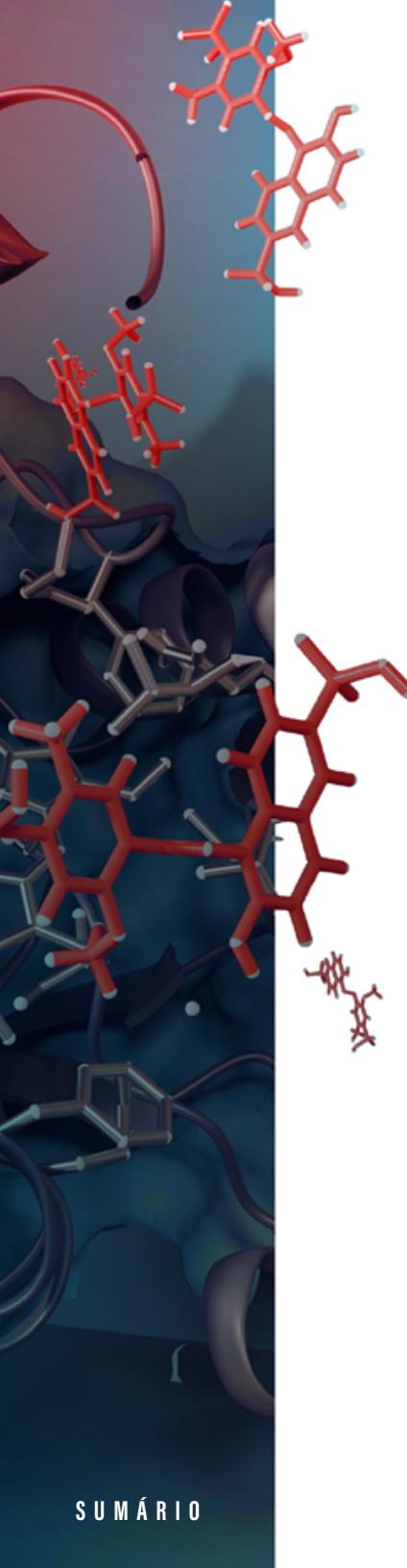
O LBM/UEM possui uma infraestrutura que permite a utilização de técnicas avançadas na purificação e caracterização de enzimas, tais como cromatografia, eletroforese e métodos espectrofotométricos. Está equipado também para realizar análises voltadas à identificação de compostos oriundos da degradação enzimática dos poluentes ambientais e caracterização de bioativos extraídos de resíduos vegetais. Ao longo dos anos vêm desenvolvendo suas pesquisas contando com diversas parcerias nacionais e internacionais.

No texto que segue vamos comentar resumidamente as principais contribuições do LBM nas áreas de biorremediação enzimática e sustentabilidade, tomando como base algumas das publicações mais relevantes.

## BIOQUÍMICA DE MICRORGANISMOS E ENZIMAS FÚNGICAS

*Backes et al., Properties and kinetic behavior of free and immobilized laccase from *Oudemansiella canarii*: Emphasis on the effects of NaCl and Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> on catalytic activities. International Journal of Biological Macromolecules 281, 136565, 2024.*  
<https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2024.136565>

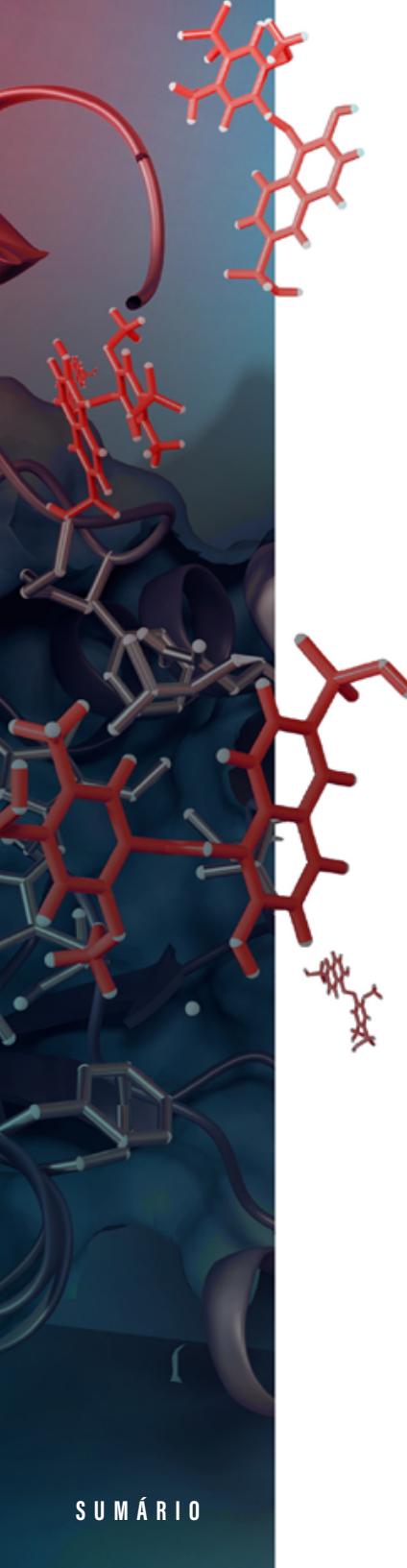
Este estudo demonstra uma potencialização da lacase de *Oudemansiella canarii* na degradação de corantes sintéticos para reduzir sua toxicidade. A imobilização de enzimas melhora a utilização em processos de degradação e o presente trabalho obteve sucesso na imobilização da lacase supramencionada em MANAE-agarose. A imobilização melhorou o pH, a estabilidade térmica e o armazenamento. Ambas, as enzimas livre e imobilizada, apresentaram cinética de Michaelis-Menten com o substrato 2,2'-azino-bis(ácido 3-etilbenzotiazolino-6-sulfônico) (ABTS) com valores de Km de  $0,056 \pm 0,003$  e  $0,195 \pm 0,022$  mM, respectivamente. A imobilização aumentou o



valor da  $V_{max}$  em 1,27 vezes. NaCl causou inibição incompleta (hiperbólica), que pode ser descrita satisfatoriamente pelo mecanismo de um substrato e um modificador. A imobilização reduziu a inibição máxima por NaCl de 80,2 para 55,7%. O efeito do  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  foi predominantemente de estimulação, mas inibição da enzima livre ocorreu em altas concentrações de substrato. A estimulação da enzima imobilizada por  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  foi muito mais pronunciada. Dependeu fortemente da concentração de substrato e foi muito mais forte (até 300%) em baixas concentrações de substrato. Os efeitos combinados de substrato e sulfato na lacase imobilizada puderam ser descritos satisfatoriamente pelo mecanismo de um-substrato um-modificador. As respostas modificadas da lacase imobilizada de *O. canarii* ao NaCl e ao  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  favorecem consideravelmente seu uso como ferramenta em processos de biorremediação, pois a contaminação ambiental por sais frequentemente representa um forte desafio operacional.

*Backes et al, Laccases in food processing: Current status, bottlenecks and perspectives. Trends in Food Science & Technology 115, 445-460, 2021.*  
<https://doi.org/10.1016/j.tifs.2021.06.052>

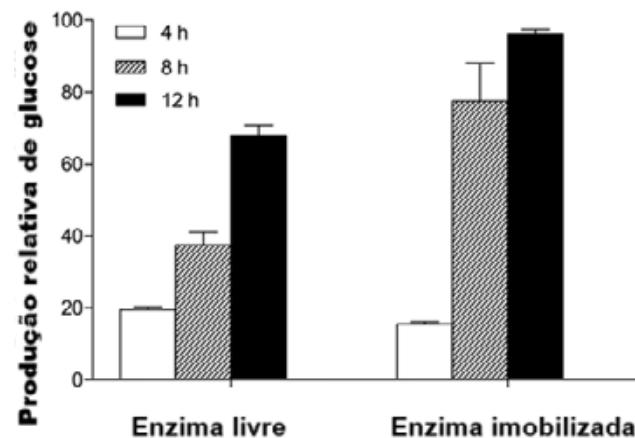
Esta é uma revisão crítica sobre os usos atuais de lacases no processamento de alimentos, onde foram discutidos os principais gargalos para sua popularização e delineadas perspectivas futuras. Foram considerados relatórios científicos e patentes, abrangendo preferencialmente os últimos cinco anos. As lacases (benzeno-diol: oxigênio oxidoredutases, EC 1.10.3.2) catalisam a oxidação de uma ampla variedade de substratos orgânicos e inorgânicos, tipicamente *p*-difenóis, com a concomitante redução de oxigênio ( $\text{O}_2$ ) a água. Diversas moléculas que ocorrem naturalmente em alimentos e bebidas, como, por exemplo, fenóis, carboidratos, ácidos graxos insaturados e proteínas contendo tióis, podem ser modificadas por lacases. Portanto, a interação entre uma lacase e essas moléculas pode e tem sido amplamente explorada pela indústria alimentícia para diversos fins tecnológicos. Os diversos usos tradicionais das lacases

A vertical decorative strip on the left side of the page features a complex arrangement of molecular models. It includes several red and grey 3D ball-and-stick models of organic molecules, some with multiple rings and substituents. A large, dark blue circular structure, possibly representing a protein or enzyme, is positioned at the top. Below it, more molecular models are scattered across a dark blue background.

no processamento de alimentos, incluindo as indústrias de panificação, bebidas e laticínios, foram detalhados. A par disto, no entanto, esforços especiais foram desenvolvidos na análise de perspectivas futuras. Estas últimas incluem a aplicação das lacases na síntese de novos compostos com propriedades funcionais, como atividades antioxidantes e antimicrobianas. Não menos atenção foi dedicada aos desenvolvimentos recentes na área de reticulação de polímeros, como proteínas e polissacarídeos. A expansão da produção da própria lacase e, especialmente, dos novos produtos derivados de suas aplicações no setor alimentício será essencial para a redução de custos e, consequentemente, para a expansão do mercado.

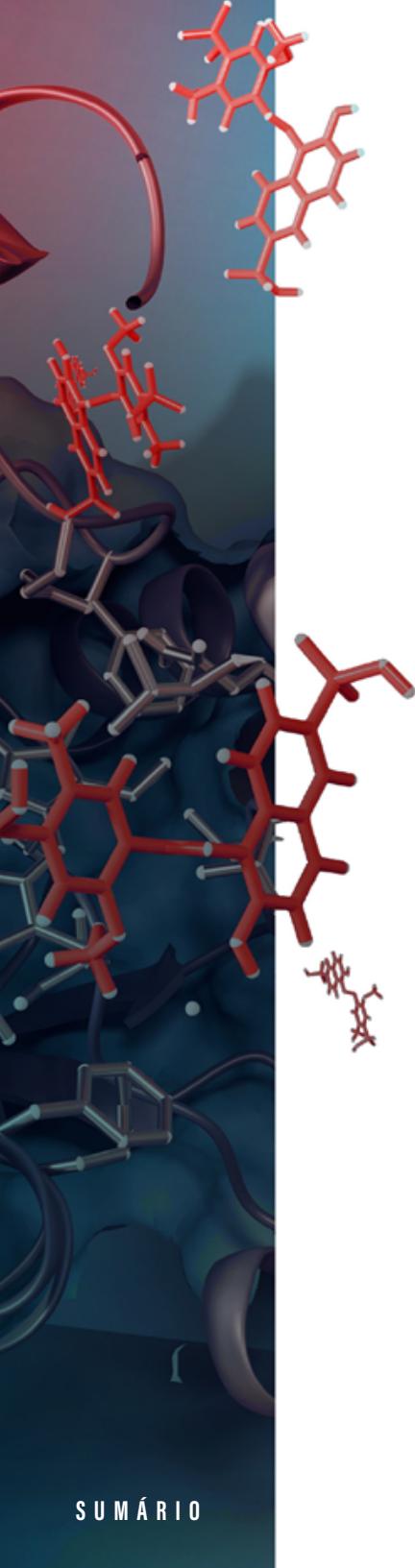
*Nishida et al. Immobilization of Aspergillus awamori  $\beta$ -glucosidase on commercial gelatin: An inexpensive and efficient process. International Journal of Biological Macromolecules 111, 1206-1213, 2018. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2018.01.146>*

Uma  $\beta$ -glicosidase de *Aspergillus awamori* com peso molecular de 180 kDa foi produzida em culturas em estado sólido utilizando uma mistura de folhas da coroa do abacaxi e farelo de trigo. A produção máxima da enzima ( $820 \pm 30$  U/g de substrato) foi obtida após 8 dias de cultivo a  $28^\circ\text{C}$  e umidade inicial de 80%. A enzima bruta foi imobilizada eficientemente em gelatina comercial reticulada com glutaraldeído. A imobilização alterou a cinética da enzima, cujo comportamento não pôde mais ser descrito por uma função de saturação do tipo Michaelis-Menten. A avaliação comparativa da enzima livre e imobilizada mostrou que a enzima imobilizada foi mais termoestável e menos inibida pela glicose do que a forma livre. Em consequência dessas propriedades, a enzima imobilizada foi capaz de hidrolisar a celobiose mais extensamente (Figura 1). Em associação com a celulase de *Trichoderma reesei*, a  $\beta$ -glicosidase livre e imobilizada aumentou a liberação de glicose da celulose em 3 e 5 vezes, respectivamente. A imobilização da  $\beta$ -glicosidase de *A. awamori* em gelatina comercial reticulada com glutaraldeído é um método eficiente e barato, permitindo a reutilização da enzima por pelo menos 10 vezes.

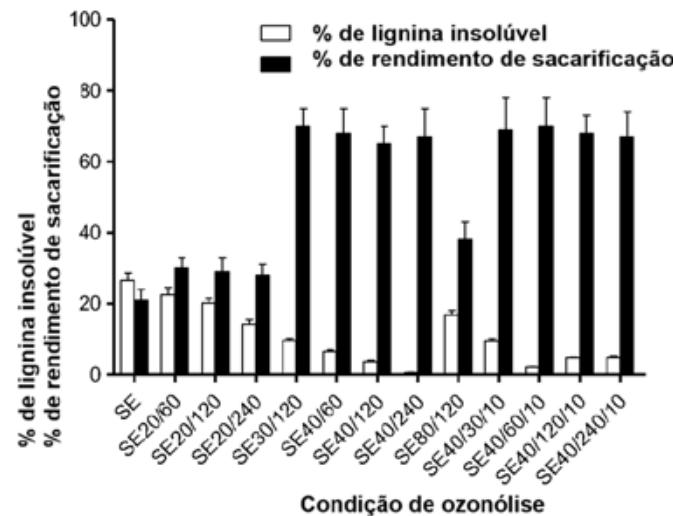
**Figura 1 - Hidrólise da celobiose pela  $\beta$ -glucosidase de *A. awamori* livre e imobilizada**

*Andersen et al., Improving enzymatic saccharification of Eucalyptus grandis branches by ozone pretreatment. Wood Science and Technology 53, 49-69, 2019.*  
<https://doi.org/10.1007/s00226-018-1061-7>

A ozonólise é um método potencialmente eficaz para o pré-tratamento de biomassa lignocelulósica para melhorar a produção de açúcares fermentáveis via hidrólise enzimática. Os galhos eliminados de eucaliptos podem representar uma produção de cerca de 30 milhões de m<sup>3</sup> de material lignocelulósico anualmente somente no Brasil. Tentativas de desenvolver estratégias para o uso racional dessa biomassa são, portanto, bem-vindas. Neste estudo, galhos de *Eucalyptus grandis* foram pré-tratados com ozônio na tentativa de aumentar a sacarificação enzimática. A ozonólise resultou na degradação da lignina com perdas insignificantes de celulose e pequenas perdas de hemicelulose. A redução no teor de lignina de 26,63 para 9,53% já resultou na melhoria máxima do rendimento da sacarificação (de 20 para 68%). Os resultados indicam que o pré-tratamento com ozônio pode ser uma maneira promissora de aumentar a digestibilidade enzimática da serragem de eucalipto de galhos eliminados de árvores para sua conversão em açúcares fermentáveis (Figura 2).

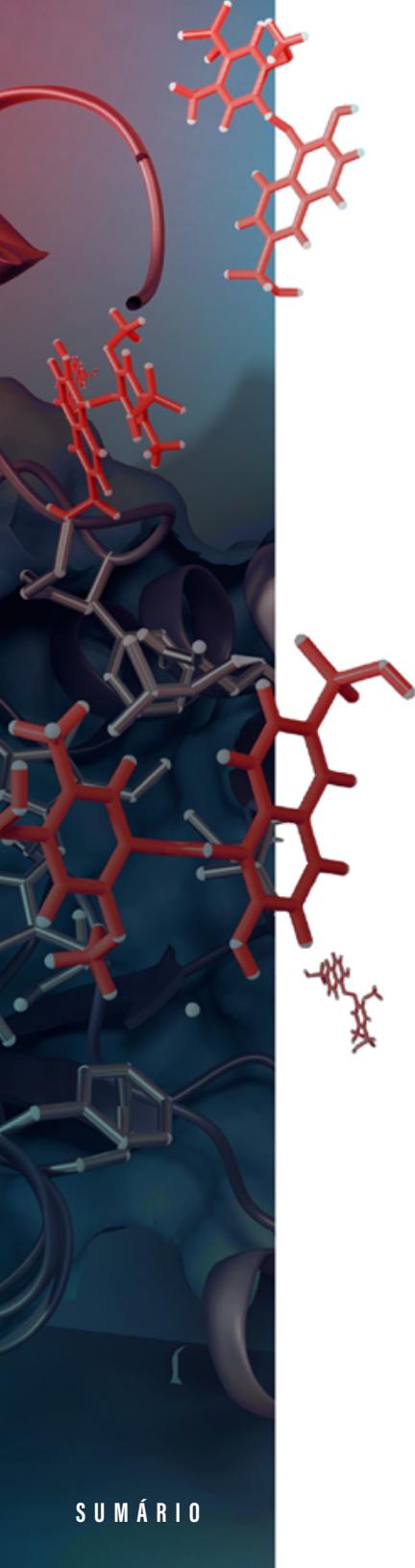


**Figura 2** - Degradação de lignina e rendimento de sacarificação de ramos de eucalipto não tratados e tratados com ozônio. Os ramos de eucalipto não tratados são simplesmente rotulados como SE. Em todas as amostras pré-tratadas com ozônio, o primeiro número após SE é o tempo de reação do ozônio em minutos; o segundo número é o teor de umidade; e o terceiro número identifica as amostras para as quais o pré-tratamento com ozônio foi conduzido a um pH inicial de 10.



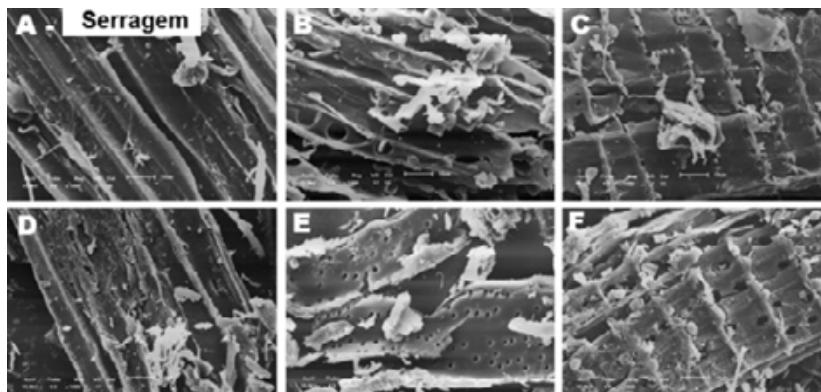
*Castoldi et al., Biological pretreatment of Eucalyptus grandis sawdust with white-rot fungi: study of degradation patterns and saccharification kinetics. Chemical Engineering Journal 258, 240-246, 2014. <https://doi.org/10.1016/j.cej.2014.07.090>*

Os fungos de podridão branca *Ganoderma lucidum*, *Phanerochaete chrysosporium*, *Pleurotus ostreatus*, *Pleurotus pulmonarius* e *Trametes* sp foram utilizados para pré-tratamento biológico de serragem de *Eucalyptus grandis*. Análises por microscopia eletrônica de varredura e espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier mostraram que *P. ostreatus* e *P. pulmonarius*



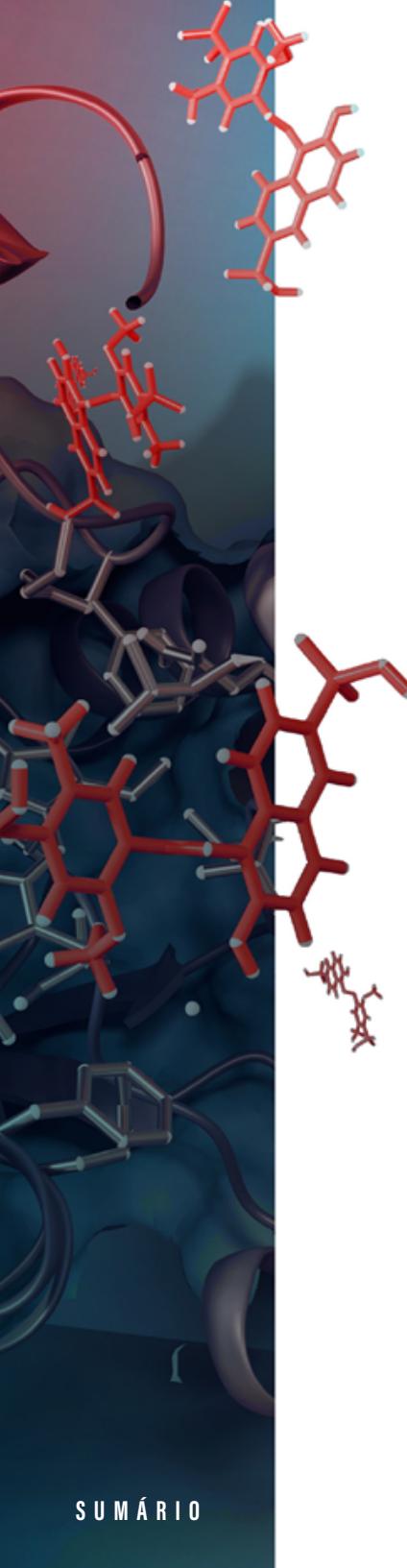
promoveram modificações seletivas mais extensas no conteúdo de lignina (Figura 3). A hidrólise enzimática da celulose de serragem de *E. grandis* com e sem pré-tratamento biológico foi analisada em termos de uma equação que leva em conta o atraso inicial que precede a obtenção da taxa máxima de hidrólise, a presença e exaustão de uma fração facilmente hidrolisável e a presença de uma segunda fração mais difícil de ser hidrolisada. A equação pôde ser ajustada a todas as curvas experimentais, incluindo a curva de hidrólise da celulose microcristalina para fins de comparação. Em termos gerais, os pré-tratamentos biológicos diminuíram o atraso inicial, aumentaram a fração facilmente hidrolisável e geraram uma segunda fração hidrolisável. A geração de uma fração de celulose facilmente hidrolisável obedeceu à seguinte sequência decrescente: *P. ostreatus* (16,7% da celulose total) > *P. pulmonarius* (15,4%) > *Trametes* sp. (10,1%) ≫ *P. chrysosporium* (2,8%) ≈ sem tratamento (2,8%). A geração da segunda fração hidrolisável foi mais eficiente no caso dos pré-tratamentos com *P. pulmonarius* e *P. ostreatus*. Para este último, a quantidade total de açúcares redutores liberados após 48 h de sacarificação da serragem foi aumentada de 2,5 µmol/mL para 48,0 µmol/mL.

**Figura 3** - Microscopia eletrônica de varredura da serragem de eucalipto. Controle (A); após pré-tratamento biológico com *G. lucidum* (B); *P. chrysosporium* (C); *P. ostreatus* (D); *P. pulmonarius* (E) e *Trametes* sp (F). Nas imagens, barras = 10 µm.



*Moreira-Gasparin et al., Purification and characterization of an efficient poultry feather degrading-protease from *Myrothecium verrucaria*. Biodegradation 20, 727-736, 2009. <https://doi.org/10.1007/s10532-009-9260-4>*

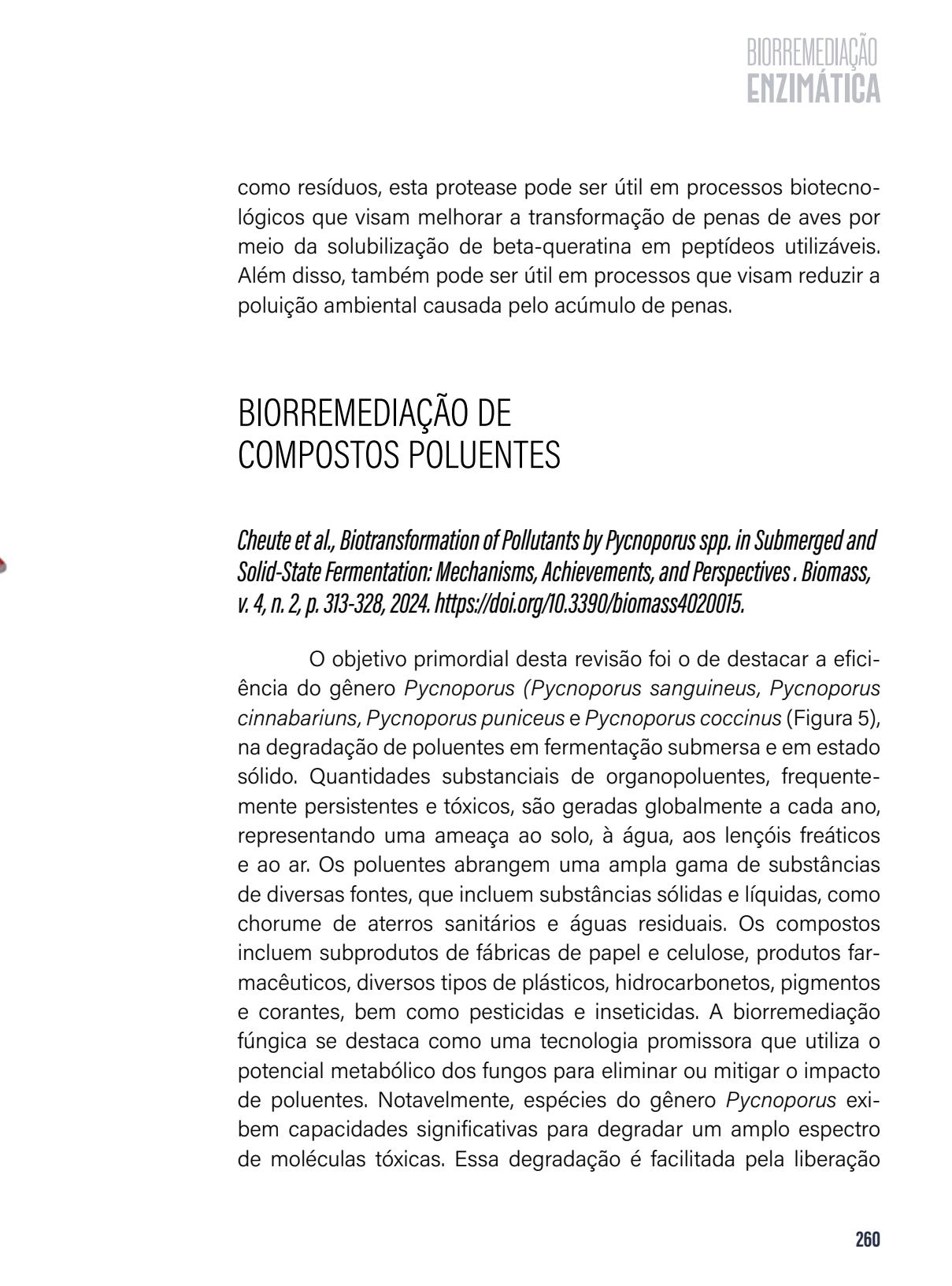
O objetivo deste trabalho foi caracterizar uma protease alcalina do fungo filamentoso *Myrothecium verrucaria* e explorar sua capacidade de degradar penas de aves nativas. A enzima foi purificada até a homogeneidade usando uma única etapa cromatográfica. A recuperação foi alta, 62%, com uma atividade específica de 12.851,8 U/mg de proteína. A enzima é uma pequena proteína monomérica com massa molecular de  $22 \pm 1,5$  kDa. Apresentou pH ótimo de 8,3 e foi estável em uma ampla faixa de pH (5,0-12,0). A temperatura ótima foi de 37 °C, com estabilidade térmica em temperaturas de até 45 °C. A enzima apresentou eficiência de 80,3% na degradação de farinha de penas de aves, liberando aminoácidos e peptídeos solúveis. Foi capaz de hidrolisar beta-queratina sem a necessidade de redução química ou enzimática das ligações dissulfeto. Considerando que, diariamente, as plantas de processamento de aves produzem penas



como resíduos, esta protease pode ser útil em processos biotecnológicos que visam melhorar a transformação de penas de aves por meio da solubilização de beta-queratina em peptídeos utilizáveis. Além disso, também pode ser útil em processos que visam reduzir a poluição ambiental causada pelo acúmulo de penas.

## BIORREMEDIÇÃO DE COMPOSTOS POLUENTES

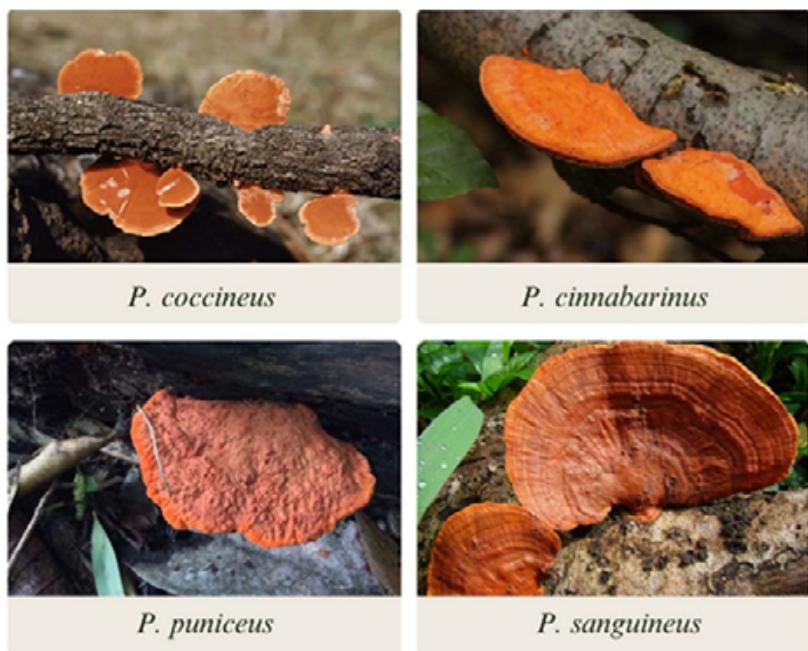
*Cheute et al., Biotransformation of Pollutants by *Pycnoporus* spp. In Submerged and Solid-State Fermentation: Mechanisms, Achievements, and Perspectives. Biomass, v. 4, n. 2, p. 313-328, 2024. <https://doi.org/10.3390/biomass4020075>.*



O objetivo primordial desta revisão foi o de destacar a eficiência do gênero *Pycnoporus* (*Pycnoporus sanguineus*, *Pycnoporus cinnabariuns*, *Pycnoporus puniceus* e *Pycnoporus coccinus*) (Figura 5), na degradação de poluentes em fermentação submersa e em estado sólido. Quantidades substanciais de organopoluentes, frequentemente persistentes e tóxicos, são geradas globalmente a cada ano, representando uma ameaça ao solo, à água, aos lençóis freáticos e ao ar. Os poluentes abrangem uma ampla gama de substâncias de diversas fontes, que incluem substâncias sólidas e líquidas, como chorume de aterros sanitários e águas residuais. Os compostos incluem subprodutos de fábricas de papel e celulose, produtos farmacêuticos, diversos tipos de plásticos, hidrocarbonetos, pigmentos e corantes, bem como pesticidas e inseticidas. A biorremediação fúngica se destaca como uma tecnologia promissora que utiliza o potencial metabólico dos fungos para eliminar ou mitigar o impacto de poluentes. Notavelmente, espécies do gênero *Pycnoporus* exibem capacidades significativas para degradar um amplo espectro de moléculas tóxicas. Essa degradação é facilitada pela liberação

de enzimas ligninolíticas, especialmente lacases, e enzimas celulares pertencentes ao sistema monooxigenase do citocromo P450. A laccase, superproduzida pelo gênero *Pycnoporus*, é notável por seu alto potencial redox. Estudos recentes conduzidos na última década destacam consistentemente o gênero *Pycnoporus* como um forte concorrente no campo da biotecnologia branca.

**Figura 4 - As quatro espécies do gênero *Pycnoporus***

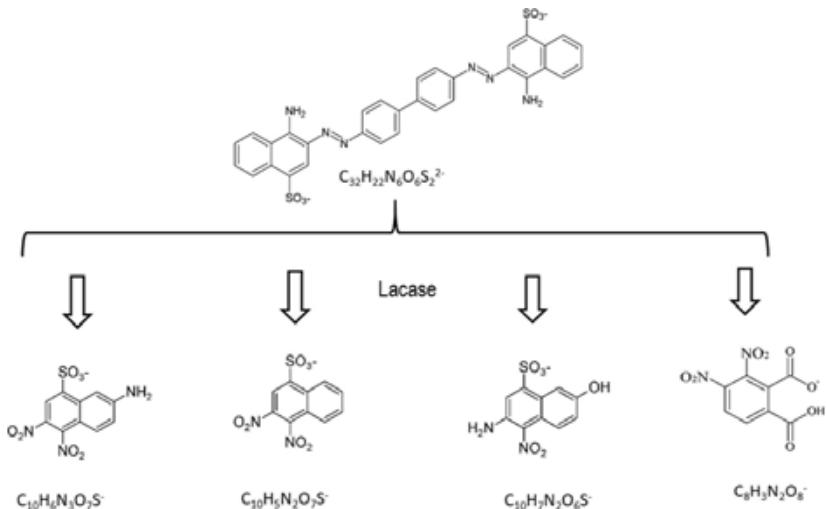


*Lark et al., Enzymatic degradation and detoxification of azo dye Congo red by a new laccase from *Oudemansiella canarii*. Bioresource Technology 289, 121655, 2019.  
<https://doi.org/10.1016/j.biortech.2019.121655>*

Uma laccase com peso molecular de 41 kDa foi produzida pelo fungo de podridão branca *Oudemansiella canarii* quando cultivado

em fermentação em estado sólido numa mistura de bagaço de cana-de-açúcar e farelo de trigo como substrato. A enzima (5U) foi capaz de descolorir 80% de 50 mg/L de vermelho Congo em 24 h a 30 °C e pH 5,5. A relação entre a taxa de descoloração e a concentração do corante obedeceu à cinética de Michaelis-Menten, com valores de  $K_m$  e  $V_{max}$  de  $46,180 \pm 6,245 \mu\text{M}$  e  $1,840 \pm 0,101 \mu\text{mol/min}$ , respectivamente. A espectroscopia no infravermelho com transformada de Fourier (FTIR) e a espectrometria de massas permitiram concluir que a lacase atua não apenas no grupo cromóforo do corante, mas também que cliva diferentes ligações covalentes, causando uma fragmentação efetiva da molécula (Figura 5). A ação da lacase causou uma redução significativa na toxicidade, conforme indicado pelo teste Microtox. Em conclusão, a lacase de *O. canarii* pode ser útil em futuras estratégias biológicas visando a degradação de corantes azo.

**Figura 5 - Metabólitos com os menores valores de  $m/z$  formados em consequência da degradação do vermelho de Congo**

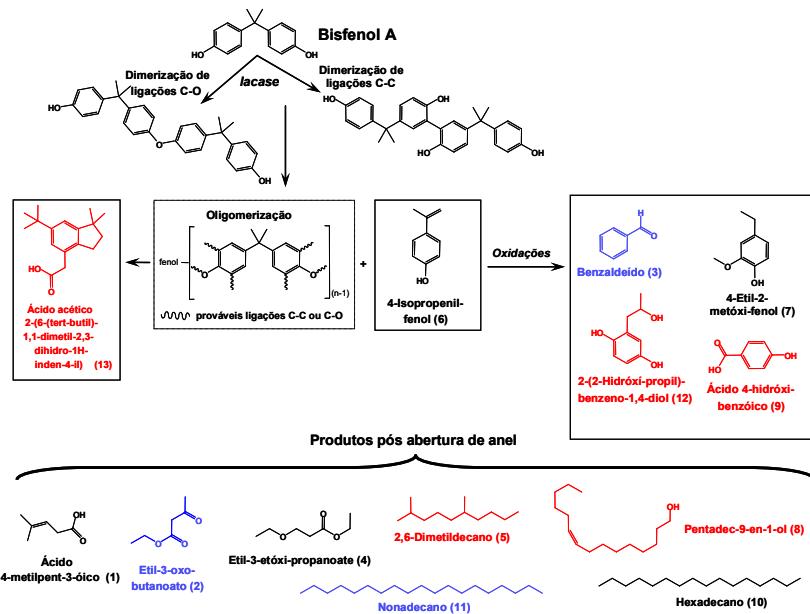


Fonte: Iark et al. (2019).

*De Freitas et al., Removal of bisphenol A and evaluation of ecotoxicity of degradation products by laccases from Pleurotus ostreatus and Pleurotus pulmonarius. Chemical Engineering Journal 330, 1361-1369, 2017.*  
<https://doi.org/10.1016/j.cej.2017.08.051>

Bisfenol A (BPA) é um composto disruptor endócrino continuamente liberado no ambiente e pouco degradado em estações de tratamento de águas residuais. Neste trabalho, lacases brutas de *Pleurotus ostreatus* e *Pleurotus pulmonarius* foram usadas pela primeira vez para degradar BPA em solução aquosa. O BPA residual foi quantificado por HPLC e os metabólitos de BPA produzidos pela ação das lacases foram identificados por GC-MS. As lacases fúngicas, a uma concentração de 8 U/L, removeram 100% e 85%, respectivamente, do BPA de soluções nas quais este composto estava presente nas concentrações de 100 e 200 mg/mL. Treze metabólitos aromáticos e alifáticos de BPA foram identificados, incluindo *p*-isopropenilfenol, ácido metilpent-3-óico, etil-3-etóxi propanoato e 4-etil-2-metoxifenol (Figura 6). A toxicidade aguda do BPA diminuiu de 85% para menos de 5% com o uso da lacase de *P. ostreatus*. Por outro lado, a lacase de *P. pulmonarius* não causou redução na toxicidade, possivelmente porque pelo menos um metabólito do BPA foi tão tóxico quanto o próprio composto original (representados na figura abaixo em vermelho). Os resultados deste estudo sugerem um método viável para a remoção completa do BPA de ambientes poluídos usando lacase bruta de *P. ostreatus*.

Figura 6 - Metabólitos identificados da degradação de BPA pela lacase de *O. canarii*

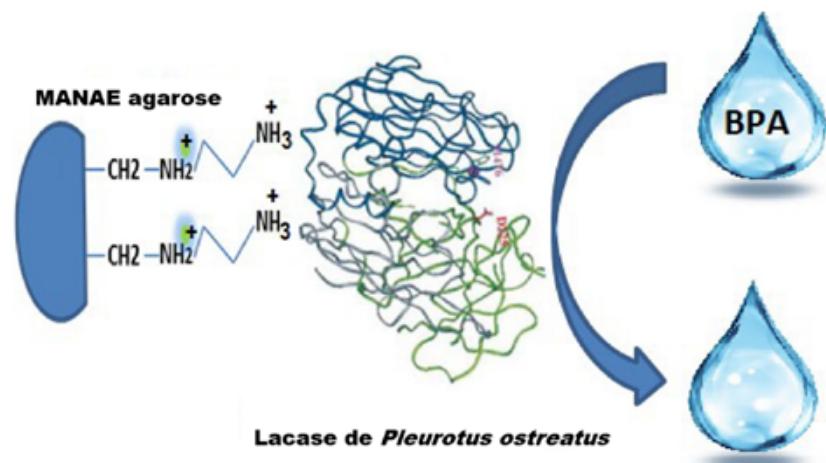


Brugnari et al., A highly reusable MANAE-agarose-immobilized *Pleurotus ostreatus* laccase for degradation of bisphenol A. *Science of the Total Environment* 634, 1346-1351, 2018. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.04.051>

O bisfenol A (BPA) é um composto disruptor endócrino continuamente liberado no meio ambiente e que é pouco degradado em estações de tratamento de águas residuais. Um estudo anterior demonstrou que a lacase livre de *Pleurotus ostreatus* é eficiente na degradação de BPA, produzindo metabólitos menos tóxicos. Neste estudo, essa lacase foi imobilizada com sucesso em MANAE-agarose pela técnica de adsorção iônica (Figura 7), melhorando sua eficiência na degradação de BPA e suas estabilidades térmica e de armazenamento. Além disso, a enzima imobilizada reteve >90% de sua capacidade inicial de degradar BPA após 15 ciclos de reutilização.

A lacase de *P. ostreatus* immobilizada em MANAE-agarose pode ser uma alternativa econômica para a degradação em larga escala de BPA em sistemas aquosos.

**Figura 7 - Esquema da imobilização por adsorção iônica da lacase de *P. ostreatus* no suporte MANAE-agarose**

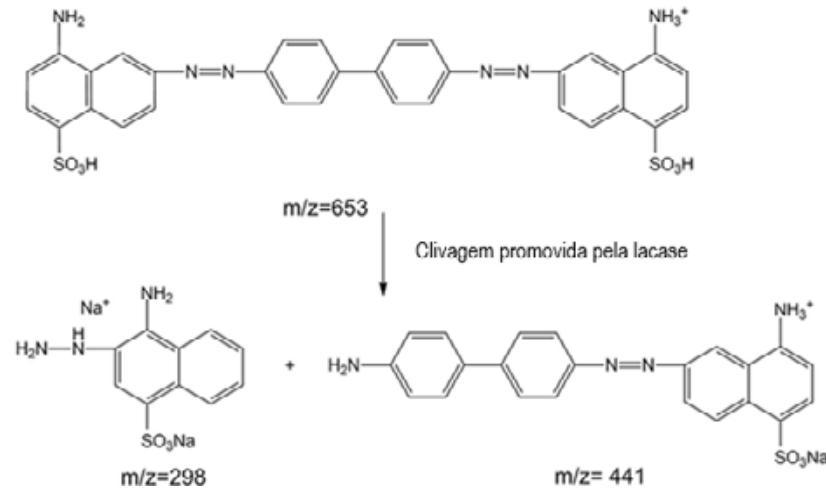


*Mota et al., Decolourization of Congo Red by Ganoderma lucidum Laccase: Evaluation of Degradation Products and Toxicity. Water, Air, and Soil Pollution 226, 351-362, 2015. <https://doi.org/10.1007/s11270-015-2612-2>*

Diversas lacases de diferentes origens têm sido utilizadas em processos de descoloração de corantes. No entanto, apenas em um número reduzido de estudos foram realizados esforços para identificar os metabólitos produzidos pelo tratamento enzimático, bem como para avaliar a toxicidade dos produtos de degradação. Considerando essas lacunas, o objetivo deste trabalho foi utilizar uma laccase de *Ganoderma lucidum* na descoloração do corante sintético vermelho Congo (C.I. nº 22120, Direct Red 28), amplamente utilizado na indústria têxtil. Após 6 h de tratamento a pH 4,0 e 40 °C, a enzima

foi capaz de descolorir 80% do vermelho Congo. Espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier (FTIR), espectroscopia fotoacústica (PAS) e espectrometria de massas permitem concluir que a lacase alterou efetivamente a estrutura do vermelho Congo, reduzindo a cor por meio da modificação dos grupos cromóforos e de outras partes da molécula. Vários produtos de degradação com  $m/z+$  variando de 298 a 745 foram identificados. Propõe-se que a primeira etapa de degradação poderia ser uma clivagem assimétrica da ligação azo presente na estrutura do vermelho Congo, conforme esquematizado abaixo, formando o intermediário com  $m/z+$  298. Os resultados também sugerem uma redução na toxicidade do vermelho Congo após o tratamento com lacase, conforme indicado pelo modelo de germinação de sementes de alface. Em conclusão, a lacase de *G. lucidum* poderia ser usada em uma nova estratégia de biorremediação com o corante azo.

**Figura 8 - Mecanismo proposto para a clivagem inicial do vermelho de Congo promovida pela lacase de *Ganoderma lucidum***

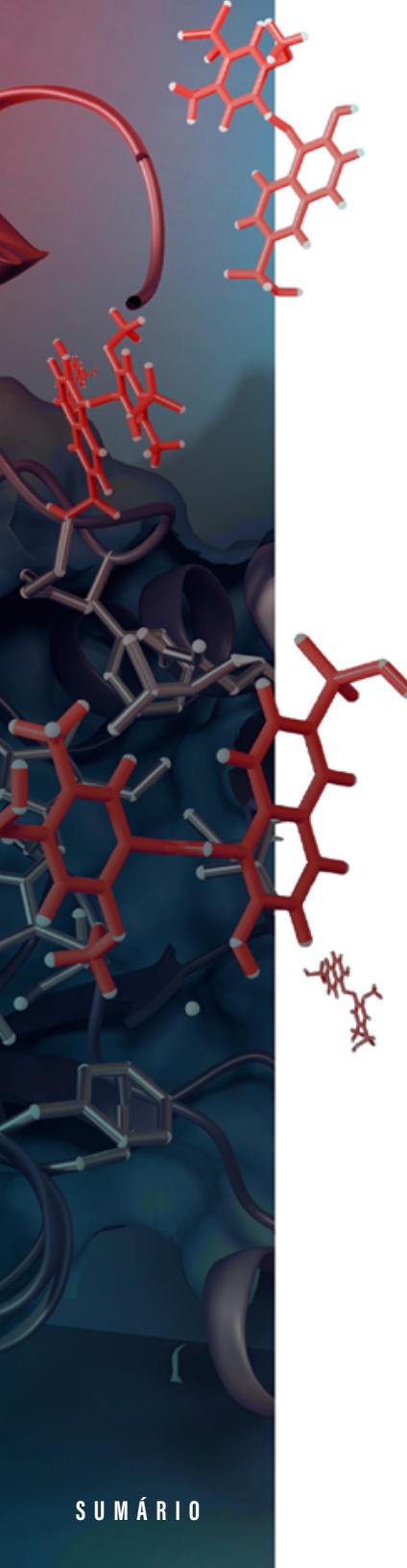


Maciel et al, Biosorption of herbicide picloram from aqueous solutions by live and heat-treated biomasses of *Ganoderma lucidum* (Curtis) P. Karst and *Trametes* sp. *Chemical Engineering Journal* 215-216, 331-338, 2013.  
<https://doi.org/10.1016/j.cej.2012.09.127>

A remoção do herbicida picloram de soluções aquosas foi avaliada com biomassas vivas e tratadas termicamente com *Ganoderma lucidum* e *Trametes* sp. como biossorventes. A análise de infravermelho por transformada de Fourier (FTIR) foi realizada para caracterizar as biomassas dos fungos. Os grupos funcionais que geralmente estão envolvidos em processos de biossorção (ou seja, carboxila, amino e fosfato) foram identificados em ambas as biomassas fúngicas. Estudos cinéticos mostraram que o processo de biossorção seguiu o mecanismo de pseudo-segunda ordem e a difusão em filme foi indicada como a etapa limitante da velocidade do processo. Um aumento na capacidade de remoção de picloram foi alcançado usando as biomassas dos fungos tratadas termicamente. Os efeitos da concentração de picloram e do pH da solução foram estudados com biomassa tratada termicamente de *G. lucidum*. A biossorção de picloram foi afetada pelo pH da solução e a maior remoção foi alcançada em pH 4. Os dados experimentais do perfil isotérmico foram adequadamente descritos pelo modelo de Langmuir. O modelo de Dubinin-Radushkevich sugeriu o envolvimento de um mecanismo químico de troca iônica no processo de biossorção.

Coelho-Moreira et al, Degradation of Diuron by *Phanerochaete chrysosporium*: Role of Ligninolytic Enzymes and Cytochrome P450. *Biomed Research International* 2013, 1-9, 2013. <https://doi.org/10.1155/2013/251354>

O fungo da podridão branca *Phanerochaete chrysosporium* foi investigado quanto à sua capacidade de degradar o herbicida diuron em culturas estacionárias líquidas. A presença de diuron aumentou a produção de lignina peroxidase em relação às culturas controle, mas afetou apenas ligeiramente a produção da manganês

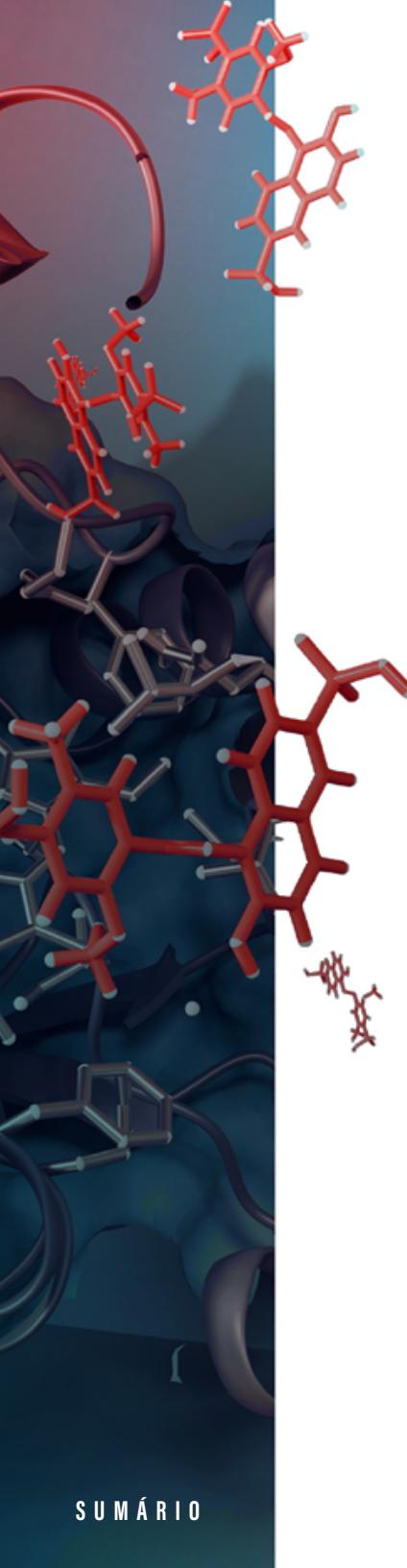
A vertical decorative strip on the left side of the page features a complex arrangement of molecular models. It includes several red and grey 3D ball-and-stick models of organic molecules, some with aromatic rings and others more branched. A few purple ribbon-like structures, likely representing proteins or enzymes, are also visible. The overall aesthetic is scientific and organic.

peroxidase. O herbicida na concentração de 7 µ g/mL não causou nenhuma redução na produção de biomassa e foi quase completamente removido após 10 dias. Concomitantemente com a remoção do diuron, dois metabólitos, DCPMU [1-(3,4-diclorofenil)-3-metilureia] e DCPU [(3,4-diclorofenil)ureia], foram detectados no meio de cultura nas concentrações de 0,74 µg/mL e 0,06 µg/mL, respectivamente. As enzimas ligninolíticas extracelulares brutas não foram eficientes na degradação in vitro do diuron. Além disso, o 1-aminobenzotriazol (ABT), um inibidor do citocromo P450, inibiu significativamente a degradação do diuron e a produção de metabólitos. Foi observada redução significativa na toxicidade avaliada pelo bioensaio com *Lactuca sativa* L. nas culturas após 10 dias de cultivo. Conclui-se que *P. chrysosporium* pode metabolizar o diuron eficientemente sem o acúmulo de produtos tóxicos.

## VALORIZAÇÃO DE RESÍDUOS E ECONOMIA CIRCULAR

Polo et al., Inhibitory Effects of Aqueous and Hydroalcoholic Extracts from Jatobá Coat (*Hymenaea courbaril* L.) on Pancreatic Amylase and Starch Absorption. *Plants* 14, 1133, 2025. <https://doi.org/10.3390/plants14071133>

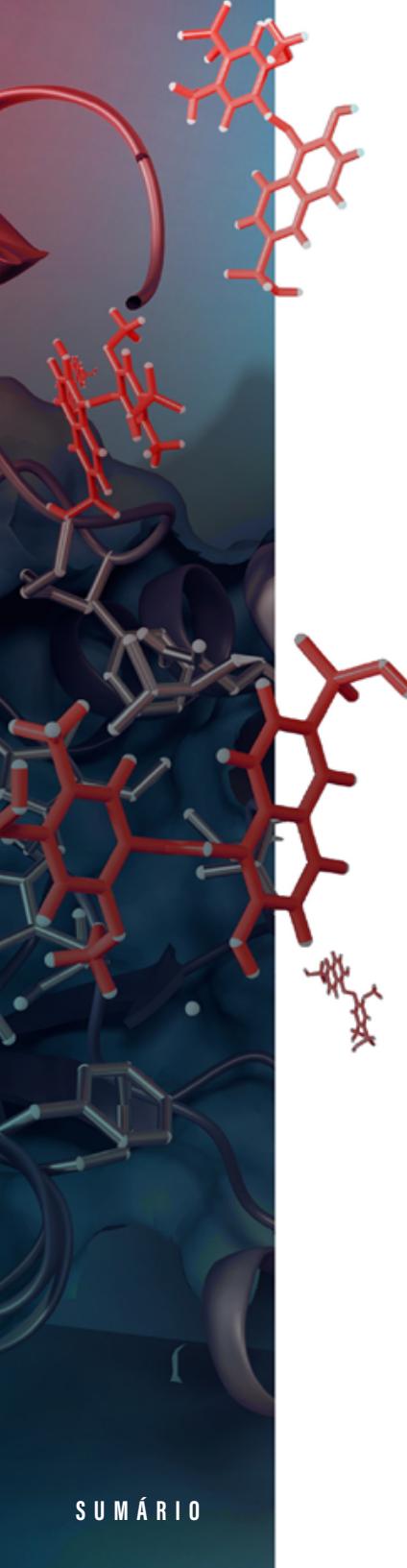
O Jatobá (*Hymenaea courbaril*) é uma árvore nativa e abundante no Brasil. A casca do fruto é um sub-produto que resulta da fabricação da farinha e que é usualmente descartado. Atualmente, no âmbito do conceito de economia circular, esforços tem sido desenvolvidos para encontrar aplicações economicamente viáveis para os bioresíduos de jatobá. Neste contexto, o presente estudo consiste em tentativas de encontrar possíveis aplicações da casca do fruto de jatobá no controle da glicemia, dada a perspectiva de que preparações desta parte da planta sejam capazes de inibir a



atividade da  $\alpha$ -amilase. Extratos aquoso e hidroetanólico foram usados. Experimentos *in vitro* incluiram estudos cinéticos detalhados sobre a reação catalisada pela  $\alpha$ -amilase. A absorção de amido *in vivo* foi investigada através do teste de tolerância ao amido em camundongos. Valores de  $IC_{50}$  para os extratos aquoso e hidroalcoólico foram de  $81.98 \pm 3.53 \mu\text{g/mL}$  and  $51.06 \pm 0.42 \mu\text{g/mL}$ , respectivamente. A inibição foi do tipo não-competitivo. Ambos os extratos reduziram a hiperglicemia causada pela administração de amido em camundongos, o extrato aquoso tendo sido efetivo ao longo de uma faixa maior de doses do que o extrato hidroalcoólico. Esta ação pode ser atribuída à inibição da  $\alpha$ -amilase. Estudos *in silico* sugerem que dímeros de procianidina, taxifolina 7-O-ramnosídeo e quer cetina 7-ramnosídeo podem contribuir para a inibição. Porém, outras moléculas ainda não identificadas podem também estar envolvidas. Os resultados indicam que os extratos aquoso e hidroalcoólico da casca do jatobá merecem investigações adicionais como possíveis moduladores da glicemia após a ingestão de amido ou alimentos ricos neste polissacarídeo.

*Kungel et al, Antioxidant and antimicrobial activities of a purified polysaccharide from yerba mate (*Ilex paraguariensis*). International Journal of Biological Macromolecules 114, 1161-1167, 2018. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2018.04.020>*

Este estudo investigou as propriedades antioxidantes, antimicrobianas e citotóxicas de um polissacarídeo purificado das folhas de erva-mate. O polissacarídeo de erva-mate apresentou atividade antioxidante proeminente, avaliada pela atividade de sequestro de radicais 2,2-difenil-1-picril-hidrazila ( $IC_{50} = 1,25 \pm 0,10 \text{ mg/mL}$ ), ácido 3-etil benzotiazolino-6-sulfônico ( $IC_{50} = 0,41 \pm 0,05 \text{ mg/mL}$ ) e atividade de sequestrante de radical hidroxila ( $IC_{50} = 3,36 \pm 0,31 \text{ mg/mL}$ ). A atividade antioxidante avaliada pelo poder de redução de íons férricos (FRAP) e pelo ensaio de absorção de radicais de oxigênio (ORAC), expressa em equivalentes de trolox, foi de  $20,84 \pm 1,61 \mu\text{M TE/mg}$  e  $556,30 \pm 12,83 \mu\text{M TE/mg}$ , respectivamente.



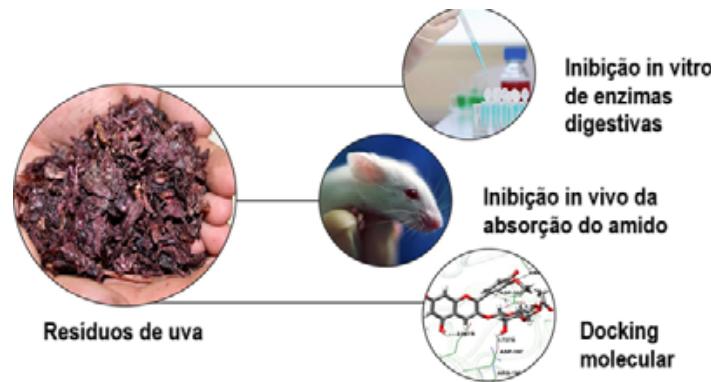
O polissacarídeo de erva-mate purificado apresentou alta atividade antimicrobiana contra diversas cepas bacterianas e fúngicas; no entanto, não apresentou citotoxicidade contra as quatro linhagens celulares tumorais humanas avaliadas.

*Kato-Schwartz et al. Potential anti-diabetic properties of Merlot grape pomace extract: An in vitro, in silico and in vivo study of  $\alpha$ -amylase and  $\alpha$ -glucosidase inhibition. Food Research International 137, 109462, 2020. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2020.109462>*

Uma abordagem prática para controlar a glicemia no diabetes é usar produtos naturais de plantas que retardam a hidrólise de açúcares complexos e promovem a diminuição da liberação de unidades glicosil no plasma sanguíneo. Polifenólicos têm sido descritos como sendo eficazes na inibição de amilases e  $\alpha$ -glicosidases. O bagaço de uva é um importante subproduto da indústria vinícola, ainda rico em muitos compostos, como polifenólicos. Neste contexto, o objetivo deste estudo foi pesquisar possíveis efeitos de um extrato de bagaço de uva sobre as  $\alpha$ -amilases e  $\alpha$ -glicosidases salivares e pancreáticas, bem como sobre a absorção intestinal de glicose (Figura 9). O extrato de bagaço de uva Merlot (MGPE) foi preparado usando uma mistura hidroalcoólica (40% etanol + 60% água). A inibição in vitro foi quantificada usando amido de batata (para amilases) e maltose (para  $\alpha$ -glicosidase) como substratos. A inibição in vivo foi avaliada por meio de testes de tolerância a amido e maltose em ratos com ou sem administração de MGPE. A classificação dos compostos do extrato quanto à sua afinidade com as  $\alpha$ -amilases foi realizada por simulações computacionais usando três programas diferentes. Ambas as  $\alpha$ -amilases, pancreática e salivar, foram inibidas pelo MGPE. No entanto, nenhuma inibição da  $\alpha$ -glicosidase foi detectada. Os valores de  $IC_{50}$  foram de  $90 \pm 10 \mu\text{g/mL}$  e  $143 \pm 15 \mu\text{g/mL}$  para as amilases salivar e pancreática, respectivamente. Cineticamente, essa inibição apresentou um padrão complexo, com múltiplas ligações dos constituintes do extrato às enzimas. Além disso, as simulações

de docking molecular indicaram que diversas substâncias fenólicas, como peonidina-3-O-acetilglicosídeo, queracetina-3-O-glicuro-nídeo e isorhamnetina-3-O-glicosídeo, além da catequina, foram os polifenóis mais provavelmente responsáveis pela inibição da  $\alpha$ -amilase causada pelo MGPE. O surto hiperglicêmico, um fenômeno comum após a administração de amido, foi substancialmente inibido pelo MGPE. Os resultados obtidos sugerem que o MGPE pode ser adequado para manter os níveis sanguíneos normais após a ingestão de alimentos.

**Figura 9 - Avaliações in vitro, in silico e in vivo de extratos de resíduos de uva no metabolismo de carboidratos**



*Vieira et al. Valorization of Peach Palm (*Bactris gasipaes* Kunth) Waste: Production of Antioxidant Xylooligosaccharides. Waste and Biomass Valorization 12, 6727-6740, 2021. <https://doi.org/10.1007/s12649-021-01457-3>*

No Brasil, a produção e o consumo de palmito, especialmente de *Bactris gasipaes* Kunth, geram um grande número de subprodutos lignocelulósicos. Este estudo relata a obtenção de xilo-oligosacarídeos (XOS) a partir de xilanas extraídas desses resíduos. As xilanas de resíduos de pupunha (bainha interna e casca) foram extraídas usando um tratamento alcalino suave com rendimentos de

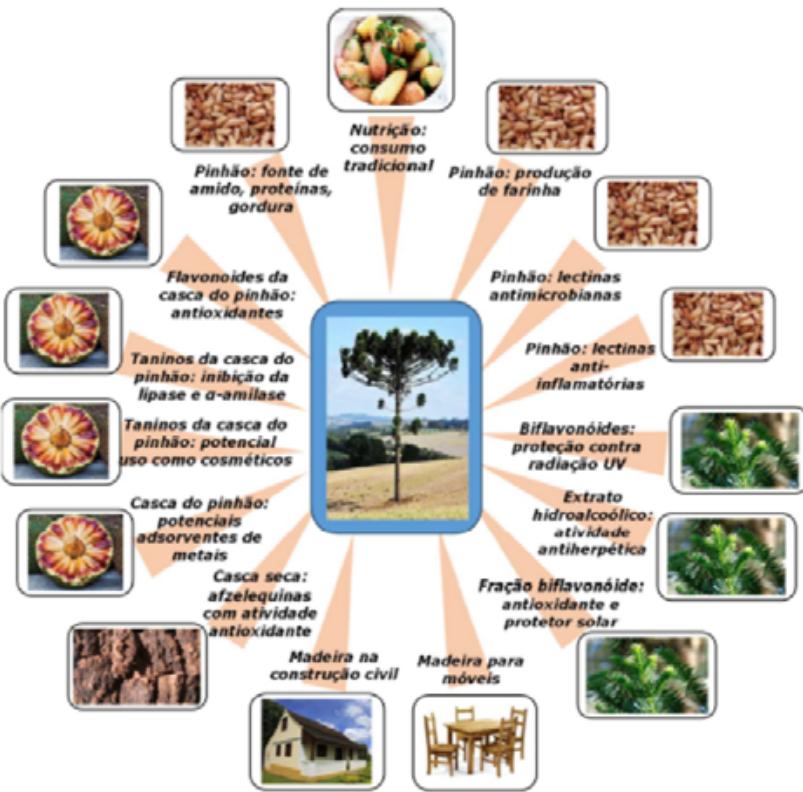
recuperação de 82% e 80%, respectivamente. Os XOS foram obtidos por hidrólise enzimática empregando uma xilanase comercial com rendimentos de bainha interna de xilana e casca de xilana de 50,1% e 48,8%, respectivamente. O potencial antioxidante das XOS foi medido empregando cinco dos procedimentos mais comumente usados. Em termos gerais, os XOS das xilananas de resíduos de pupunha apresentaram maior capacidade antioxidante do que as XOS obtidas das xilananas comerciais. As estruturas químicas das XOS foram determinadas por espectrometria de massa (ESI-MS). Os espectros de ESI-MS sugerem que XOS com unidades agrupadas de xilose ou arabinose variam de 2 a 5 (com diferença de 132 Da) e como íons adutores de sódio  $[M + Na]^+$  na faixa de 100–1000 m/z. Esses resultados indicam que resíduos de pupunha podem ser explorados para a produção de XOS, que podem ser aplicados como antioxidantes naturais em alimentos funcionais e preparações farmacêuticas.

**Figura 10** - Esquema das análises realizadas em resíduos de pupunha para obtenção de xiolo-oligossacarídeos



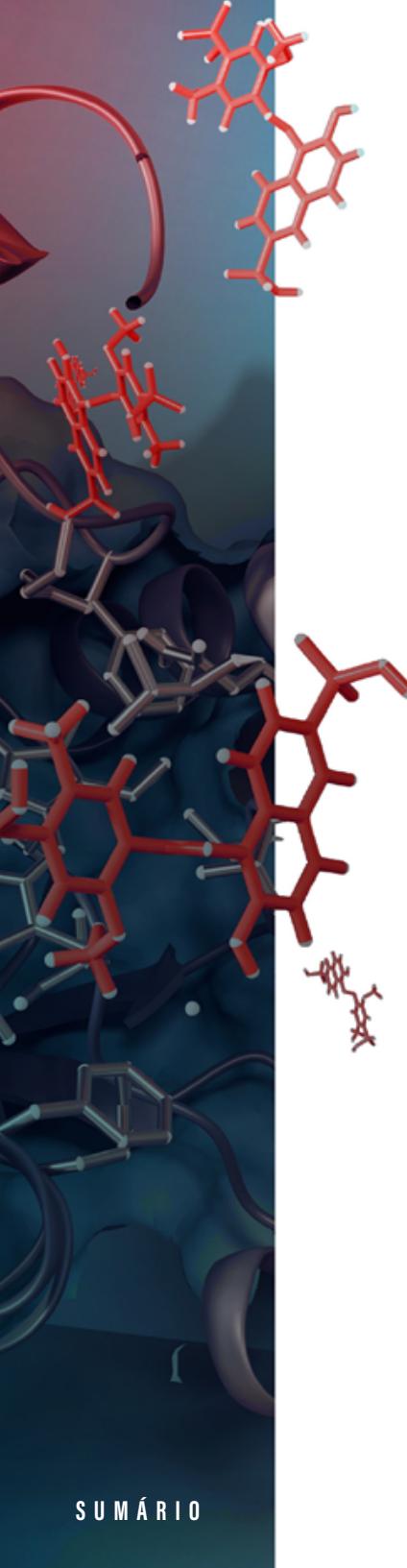
Peralta et al, *Biological activities and chemical constituents of Araucaria angustifolia: an effort to recover a species threatened by extinction.* Trends in Food Science & Technology (Regular Ed.), 54, 85-93, 2016.  
<https://doi.org/10.1016/j.tifs.2016.05.013>

Esta revisão apresenta os detalhes mais recentemente descobertos sobre a composição química das diversas partes da *Araucaria angustifolia* (Bert.) O. Kuntze (*Araucaria brasiliensis*). Ênfase é dada aos principais compostos ou frações isolados e identificados e suas bioatividades correspondentes. A planta, também conhecida conhecida como pinheiro-do-paraná, é a única gimnosperma nativa da Mata Atlântica no Brasil e possui grande importância econômica, cultural e social. Sua semente, conhecida como pinhão, é consumida desde a pré-história. Além dos aspectos nutricionais, diferentes partes da *A. angustifolia* também são utilizadas na medicina popular brasileira para o tratamento de reumatismo, infecções respiratórias, fadiga, anemia, entre outras doenças. A exploração madeireira reduziu drasticamente a população da espécie e, atualmente, a *A. angustifolia* é classificada como vulnerável ao risco de extinção. Além das propriedades nutricionais do pinhão, particularmente como fonte de amido, esta revisão revela que diversas atividades biológicas foram encontradas em diferentes partes de *A. angustifolia* (folhas, casca e tegumento do pinhão), conforme ilustrado pela Figura abaixo. Foram detectadas atividade protetora contra danos ao DNA induzidos por luz ultravioleta, além de atividades antioxidante, anti-inflamatória, antiviral e inibidora de enzimas digestivas. Investigações futuras devem incluir partes de *A. angustifolia* atualmente descartadas, como a casca, as brácteas e o tegumento do pinhão, com potencial para uso nas indústrias farmacêutica e cosmética. Estudos sobre *A. angustifolia* devem combinar dois elementos importantes: a necessidade de preservação de um ecossistema típico e a implementação das florestas de *A. angustifolia* como uma verdadeira alternativa econômica para os moradores locais.

**Figura 11 - Aproveitamento integral dos resíduos de *Araucaria angustifolia***

SILVA et al., Inhibition of salivary and pancreatic  $\alpha$ -amylases by a pinhão coat (*Araucaria angustifolia*) extract rich in condensed tannin. Food Research International 56, 1-8, 2014. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2013.12.004>

O objetivo do presente trabalho foi investigar o possível efeito inibitório de um extrato de casca de pinhão rico em tanino condensado sobre a atividade de  $\alpha$ -amilases (salivares humanas e pancreáticas suínas). Experimentos com o inibidor clássico de  $\alpha$ -amilase, acarbose, e um tanino condensado de *Acacia mearnsii*

A vertical decorative column on the left side of the page features a repeating pattern of abstract molecular structures. These structures are composed of red and grey spheres connected by lines, resembling ball-and-stick models of organic molecules. They are arranged in a staggered, overlapping fashion along the entire height of the column.

foram feitos para fins comparativos. A análise por espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier do tanino da casca de pinhão revelou uma maior proporção de procianidinas para prodelfinidinas quando comparado ao tanino de *A. mearnsii*. O extrato da casca de pinhão rico em tanino condensado foi um inibidor eficaz da  $\alpha$ -amilase salivar humana e pancreática suína. A inibição foi do tipo misto S-parabólico I-parabólico. Para a  $\alpha$ -amilase salivar humana as constantes de inibição foram  $56,88 \pm 5,74$  e  $103,27 \pm 11,85$   $\mu\text{g/L}$ . Para a  $\alpha$ -amilase pancreática suína, as constantes de inibição foram menores, ou seja,  $20,25 \pm 1,97$  e  $46,79 \pm 4,57$   $\mu\text{g/L}$ . A sequência de potência decrescente foi: acarbose > extrato da casca do pinhão rico em tanino > tanino de *A. mearnsii*. Similarmente à acarbose e ao tanino de *A. mearnsii*, o extrato da casca do pinhão também foi eficaz na diminuição dos níveis glicêmicos pós-prandiais em ratos após administração de amido. As propriedades inibitórias do extrato da casca do pinhão indicam que ele pode ser usado para suprimir a hiperglicemia pós-prandial em pacientes diabéticos.

# ÍNDICE REMISSIVO

## A

afinidade 68, 69, 70, 71, 72, 75, 78, 79, 80, 81, 82, 83, 87, 149, 175, 270  
algoritmos 70, 72, 73, 88  
ancoragem molecular 70  
AutoDock Vina 73, 85, 86, 87, 92

## B

biodegradação 12, 18, 20, 21, 22, 30, 39, 43, 44, 45, 50, 57, 58, 68, 84, 95, 114, 135, 137, 142, 147, 163, 166, 169, 171, 172, 205, 226, 230, 231  
biorremediação 12, 15, 16, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 36, 38, 39, 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 47, 48, 49, 50, 52, 53, 55, 56, 57, 58, 59, 61, 62, 67, 68, 69, 75, 76, 77, 78, 79, 81, 82, 88, 93, 94, 96, 97, 98, 99, 100, 102, 103, 105, 106, 107, 108, 109, 112, 114, 115, 116, 117, 120, 121, 133, 134, 135, 139, 140, 141, 142, 143, 147, 150, 158, 159, 162, 163, 165, 166, 167, 169, 172, 174, 175, 176, 177, 181, 182, 187, 188, 191, 192, 198, 199, 201, 202, 203, 205, 210, 213, 220, 221, 222, 223, 225, 226, 227, 228, 230, 232, 235, 236, 237, 238, 239, 240, 241, 249, 250, 251, 253, 254, 260, 266  
biorremediação enzimática 15, 16, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 36, 38, 39, 41, 43, 45, 46, 48, 52, 55, 56, 57, 58, 59, 61, 62, 67, 69, 133, 159, 162, 222, 236, 238, 249, 253

bisfenol A 44, 85, 142, 171, 172, 179, 264

## C

cadeias 78, 86, 161, 173, 195  
caixa de docking 87  
conformações 70, 71, 72  
contaminantes ambientais 60, 69, 227  
corantes industriais 15, 33, 35, 47, 69, 95, 97, 144, 145, 165, 250

## D

derivados de plásticos 68, 69, 77  
docking molecular 68, 69, 70, 72, 73, 74, 75, 76, 77, 83, 84, 85, 88, 202, 271

## E

efeitos dinâmicos 88  
energia de ligação 84  
enzimas 12, 14, 15, 16, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 29, 31, 35, 39, 46, 55, 56, 58, 60, 68, 69, 70, 75, 76, 77, 78, 82, 84, 88, 93, 94, 95, 96, 97, 98, 99, 104, 105, 106, 107, 108, 109, 110, 112, 113, 116, 117, 118, 119, 120, 121, 134, 135, 136, 137, 139, 142, 143, 144, 145, 146, 147, 148, 149, 150, 159, 160, 163, 164, 165, 167, 169, 171, 176, 181, 187, 188, 189, 190, 191, 192, 193, 195, 200, 201, 202, 204, 207, 209, 210, 211, 214, 221, 222, 224, 225, 226, 227, 228, 229, 230, 231, 232, 233, 235, 236, 237, 238, 241, 250, 251, 252, 253, 261, 268, 270, 273

enzimas oxidoreduases 68, 69, 135

estabilidade estrutural 94, 101

## F

flexibilidade molecular 88  
função de pontuação 72  
fundamentos do docking molecular 68, 69

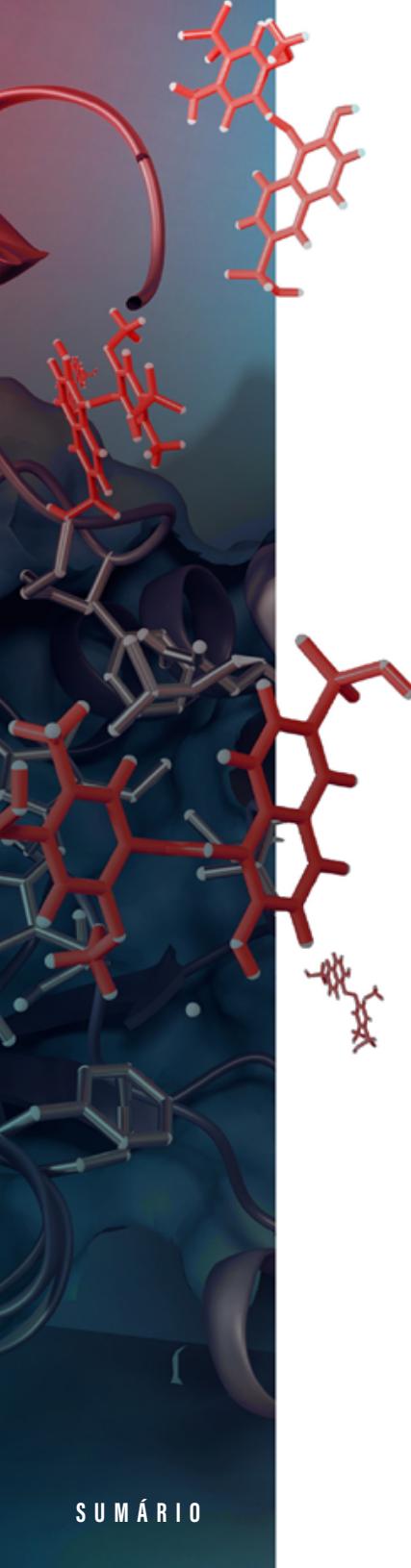
## H

hidrocarbonetos aromáticos 22, 47, 68, 69, 77, 82, 83, 102, 134, 141, 159, 162, 165, 167, 178, 179, 200, 201

hidrolases 16, 225, 226, 228, 232

## I

inteligência artificial 74, 88, 121, 214  
interação eletrostática 72  
interação entre ligante e receptor 87



**L**

lacase 21, 77, 79, 80, 81, 84, 85, 86, 159, 160, 161, 165, 166, 167, 169, 170, 171, 172, 173, 174, 175, 177, 178, 179, 180, 253, 254, 255, 261, 262, 263, 264, 265, 266

ligante 70, 71, 72, 73, 79, 81, 85, 86, 87, 209

**M**

mecanismo catalítico 161, 193

mecanismo de interação 56, 68

modelagem molecular 210

moléculas de baixa massa molecular 70

**P**

parâmetros energéticos 70

poluentes 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 38, 39, 40, 43, 46, 47, 48, 49, 50, 53, 55, 56, 57, 60, 61, 68, 69, 75, 76, 77, 88, 99, 96, 98, 106, 111, 117, 118, 122, 134, 135, 138, 142, 144, 145, 146, 147, 148, 150, 159, 161, 162, 164, 165, 167, 168, 172, 177, 179, 181, 188, 190, 191, 192, 199, 200, 201, 202, 204, 210, 212, 214, 220, 223, 224, 225, 226, 230, 234, 236, 237, 239, 240, 241, 250, 252, 253, 260

poluentes ambientais 17, 22, 38, 68, 75, 95, 144, 148, 188, 199, 253

predição 73, 81, 88

preparo do receptor 85

proteínas 22, 70, 73, 94, 98, 106, 112, 121, 136, 182, 188, 192, 193, 202, 206, 209, 211, 214, 221, 222, 224, 225, 227, 228, 254, 255

**R**

receptor 70, 71, 72, 73, 75, 85, 87, 90, 91, 161

resíduos-chave 68, 83

**S**

simulações computacionais 68, 270

simulações de docking 69, 73, 77, 81, 83, 84, 85

sítio ativo 77, 82, 83, 85, 87, 107, 111, 113, 114, 148, 189, 192, 193, 200, 202

solventes 15, 19, 23, 31, 42, 44, 48, 74, 88, 94, 99, 100, 102, 104, 109, 115, 116, 117, 118, 120, 164, 166, 208, 210, 239

substrato 24, 32, 58, 69, 77, 84, 85, 97, 99, 107, 110, 111, 136, 140, 142, 156, 160, 166, 175, 189, 190, 192, 195, 199, 200, 202, 205, 206, 231, 232, 253, 254, 255, 262

**T**

técnica computacional 69

tutorial prático 68, 70, 84

**U**

UCSF Chimera 73, 85, 86

**V**

variantes enzimáticas 69

visualização molecular 73



[WWW.PIMENTACULTURAL.COM](http://WWW.PIMENTACULTURAL.COM)

# BIORREMEDIACÃO ENZIMÁTICA