



INTEGRAÇÃO DE LACASES DE *PLEUROTUS PULMONARIUS* EM SISTEMAS DE BIORREMEDIAÇÃO PARA BIOCONVERSÃO DE EFLUENTES TÊXTEIS

Laura Paes Carvalho¹; Clarisse de Pontes Lima²; André Rodrigues de Carvalho Júnior³; Kélita Lourrany Teixeira Santos³; Luiz Fernando Romanholo Ferreira³

¹Graduação/PIBIC – Universidade Católica de Brasília;

²Graduação/PIBIC – Universidade Católica de Brasília;

³Programa de Pós-graduação em Ciências Genômicas e Biotecnologia - Universidade Católica de Brasília;

E-mail: laura.paes@a.ucb.br; clarisse.lima@a.ucb.br; andre.junior@a.ucb.br;
kelita.teixeira@a.ucb.br; luiz.romanholo@p.ucb.br.

RESUMO

A indústria têxtil gera efluentes com corantes de difícil degradação ambiental. Este trabalho avaliou o crescimento de *Pleurotus pulmonarius* e a produção de enzimas ligninolíticas utilizando *pulp wash* de laranja como substrato agroindustrial. O fungo apresentou adequada adaptação em meios sólido e líquidos, com expressiva atividade de lacase e manganês peroxidase. Na descoloração do corante *Reactive Black 5*, o extrato de *pulp wash* foi eficiente em concentrações moderadas ($120 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$), sofrendo inibição em cargas superiores. O cultivo em vinhaça apresentou maior estabilidade frente a elevadas concentrações do poluente. A lacase apresentou perfil ácido e mesofílico, com desempenho ótimo a pH 5,0 e 40 °C. Conclui-se que o bioprocesso é promissor para a biorremediação em condições operacionais moderadas.

Palavras-chave: Indústria têxtil. Biorremediação. Lacase.

INTRODUÇÃO

A indústria têxtil demanda alto consumo hídrico nas etapas de beneficiamento e tingimento, gerando efluentes com elevada carga poluidora e forte coloração devido à perda de 10% a 15% dos corantes (SANTOS et al., 2020). Descartados sem tratamento adequado, esses efluentes comprometem ecossistemas aquáticos, prejudicando organismos fotossintetizantes e oferecendo riscos à saúde humana (HASSAAN et al., 2017; ORZECOWSKI et al., 2018). Devido à origem sintética dos corantes, os tratamentos convencionais mostram-se insuficientes isoladamente, além de apresentarem alto custo e baixa eficiência em concentrações inferiores a 100 mg/L (JEYAKUMAR et al., 2022).

Diante disso, a micorremediação surge como uma solução pela capacidade do micélio fúngico de degradar compostos xenobióticos. Fungos da podridão branca destacam-se por produzirem enzimas ligninolíticas eficientes na descoloração de corantes sintéticos. Entre eles, o basidiomiceto *Pleurotus pulmonarius* (Fr.) Singer é promissor por apresentar elevado crescimento e síntese de enzimas como peroxidases e, principalmente, lacases (BETTIN et al., 2014). As lacases (EC 1.10.3.2) são oxidases multicobre capazes de catalisar a oxidação de compostos fenólicos e aminas aromáticas presentes nos corantes, tendo a água como único subproduto (FERREIRA et al., 2022; SU et al., 2018). Estudos demonstraram a eficiência de *P. pulmonarius* e de suas lacases na descoloração de efluentes têxteis (KAMIDA et al., 2005), respaldando o potencial da espécie para aplicação em processos de remediação ambiental.



OBJETIVO

O presente trabalho tem por objetivo aprofundar o estudo do potencial de descoloração de efluentes têxteis com o extrato enzimático bruto e a caracterização bioquímica da lacase em meio aquoso de *P. pulmonarius*, visando avaliar sua eficiência e viabilidade para processos de biorremediação.

MÉTODO

O fungo *Pleurotus pulmonarius* (CCIBT020) foi cultivado em meio sólido MEA e meio líquido (extrato de malte, 100 mL, 28 °C, 150 rpm). Testes de detecção em meio sólido foram acrescidos de guaiacol. A preservação foi mantida pelo método de Castellani (discos de 10,8 mm em água estéril). Para a indução enzimática, produziu-se extrato de *pulp wash* de laranja por higienização, trituração do bagaço/casca com água e filtração em material fibroso, armazenado sob refrigeração.

Foram preparados reagentes em tampão succinato de sódio (20 mM, pH 4,5): vermelho de fenol 0,01%, lactato de sódio 250 mM, albumina bovina 0,5%, MnSO₄ e H₂O₂ 30%. A atividade de lacases foi determinada a 25 °C em placa de 96 poços (180 µL de tampão acetato 0,2 M, 180 µL de amostra e 40 µL de ABTS 5 mM), monitorando-se a absorbância a 420 nm por 90 segundos. A atividade de manganês peroxidase (MnP) foi avaliada pela oxidação do vermelho de fenol (100 µL de amostra e 100 µL de solução reagente), incubada a 30 °C por 5 min, interrompida com NaOH (8 µL) e lida a 610 nm.

A separação proteica por SDS-PAGE foi conduzida em gel de poliacrilamida a 12% (fases concentradora e separadora), contendo Tris-HCl (pH 8,8 e 6,8), SDS 10%, APS 10% e TEMED, sendo estocada em tampão Tris-Glicina-SDS.

O microensaio de descoloração do corante *Reactive Black 5* (RB5; 100 a 500 mg · L⁻¹) foi conduzido em triplicata (200 µL/poço), contendo 100 µL do tratamento (amostra, controle negativo, controle inativado a 100 °C por 5 min e controle de corante) e 100 µL de RB5. Leituras a 597 nm ocorreram 10 min após a montagem.

O pH ótimo da lacase (pH 2,0 a 8,0) foi determinado em Tampão Universal UB4 (20 mM) com ABTS 5 mM (90 µL de tampão, 90 µL de extrato e 20 µL de ABTS), lido a 420 nm (25 °C). A temperatura ótima (25 a 60 °C, a cada 0,5 °C) utilizou 180 µL de UB4 no pH ótimo, 180 µL de extrato e 40 µL de ABTS 400 µL total), lida a 420 nm. A atividade relativa (%) foi calculada pela razão entre a atividade na condição testada e a atividade máxima obtida.

RESULTADOS

O cultivo de *Pleurotus pulmonarius* em MEA apresentou micélio branco e cottonoso, com viragem cromática avermelhada em guaiacol, confirmando a secreção de enzimas oxidativas. O cultivo submerso gerou biomassa e a preservação por Castellani manteve a viabilidade fúngica. O processamento de resíduos cítricos por *pulp wash* rendeu 55 L de extrato hidrossolúvel rico em nutrientes.

Os ensaios enzimáticos demonstraram alta reprodutibilidade: a lacase apresentou cinética linear ($R^2 = 0,99$) com desvio < 5%, e a manganês peroxidase (MnP) confirmou atividade pela oxidação do vermelho de fenol. O gel SDS-PAGE (12%) foi padronizado para caracterização proteica posterior.

Na descoloração do corante *Reactive Black 5* (RB5; 40 °C, 300 rpm, 60 min), não houve degradação imediata expressiva. O extrato de *pulp wash* atingiu ápice em 120 mg·L⁻¹ (15,3%),

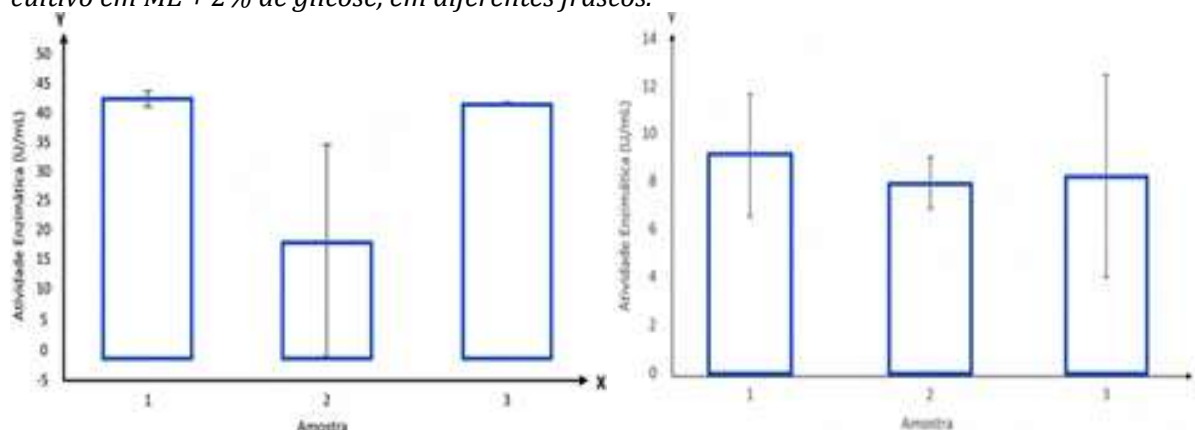


reduzindo em 160 e 200 mg·L⁻¹ (8,1% e 9,9%) por inibição por substrato, e registrando 9,7% e 5,9% em 40 e 80 mg·L⁻¹. Em comparação, a vinhaça superou o *pulp wash* em 40 e 80 mg·L⁻¹ (diferença média de 2,2%) e em 160 e 200 mg·L⁻¹ (15,4%, superior em 9,1%), embora o *pulp wash* tenha sido superior em 120 mg·L⁻¹ (5,5% acima).

A lacase apresentou perfil ácido, com pH ótimo 5,0 (880,93 U·mL⁻¹), mantendo 253,77 (pH 3,0), 590,12 (pH 4,0), 618,65 (pH 6,0) e 245,54 U·mL⁻¹ (pH 7,0), e mínimos em pH 2,0 (153,90 U·mL⁻¹) e 8,0 (91,90 U·mL⁻¹). A temperatura ótima em UB4 (pH 5,0) ocorreu a 40 °C (719,61 U·mL⁻¹), com menor atividade a 25 °C (444,17 U·mL⁻¹) e declínio após 40 °C por desnaturação térmica, confirmando o perfil mesofílico do fungo.

Figura 1

Atividade enzimática de lacase e de manganês peroxidase de *P. pulmonarius*, respectivamente, após cultivo em ME + 2% de glicose, em diferentes frascos.



Nota: Os valores de atividade foram expressos em média U/mL, e o desvio padrão foram feitos com base nos valores das triplicatas.

Fonte: Elaborada pelo autor (2026).

CONCLUSÃO

O cultivo de *Pleurotus pulmonarius* em *pulp wash* cítrico demonstrou eficácia na produção de biomassa e na indução do complexo ligninolítico. A oxidação do guaiacol e os ensaios cinéticos comprovaram elevada atividade de lacase e manganês peroxidase (MnP), garantindo reprodutibilidade para a caracterização proteica e o direcionamento biotecnológico do fungo.

Na decoloração do corante *Reactive Black 5* (RB5), o extrato de *pulp wash* foi eficiente em concentrações moderadas, sofrendo inibição por excesso de substrato em cargas elevadas, enquanto o extrato de vinhaça exibiu maior estabilidade e tolerância ao poluente. A lacase apresentou perfil estritamente ácido e mesofílico, com declínio catalítico em condições extremas por desnaturação do sítio ativo.

Assim, a valorização do resíduo cítrico, associada ao potencial de *P. pulmonarius* consolidase como uma alternativa sustentável, de baixo custo e com forte aplicabilidade na descontaminação de efluentes têxteis recalcitrantes sob condições operacionais moderadas.

REFERÊNCIAS



- Bettin, F., Rosa, L. O., Montanari, Q., Calloni, R., Gaio, T. A., Malvessi, E., Silveira, M. M., & Dillon, A. J. P. (2011). Growth, kinetics, production, and characterization of extracellular laccases from *Pleurotus sajor-caju* PS-2001. *Process Biochemistry*, 46(3), 758–764. <https://doi.org/10.1016/j.procbio.2010.11.022>
- Ferreira, J., Neves, A., Batista, J., Costa, R., & Porto, A. (2022). Seleção e produção de lacases a partir da fermentação em estado sólido de fungos filamentosos. *Revista Multidisciplinar em Saúde*, 3(2), 1–7. <https://doi.org/10.51161/remis/3382>
- Hassaan, M. A., & El Nemr, A. (2017). Health and environmental impacts of dyes: Mini review. *American Journal of Environmental Science and Engineering*, 1(3), 64–67.
- Jeyakumar, P., Debnath, C., Vijayaraghavan, R., & Muthuraj, M. (2023). Trends in bioremediation of heavy metal contaminations. *Environmental Engineering Research*, 28(4), Article 210631. <https://doi.org/10.4491/eer.2021.631>
- Kamida, H. M., Durrant, L. R., Monteiro, R. T. R., & Armas, E. D. (2005). Biodegradação de efluente têxtil por *Pleurotus sajor-caju*. *Química Nova*, 28(4), 629–632. <https://doi.org/10.1590/S0100-40422005000400014>
- Orzechowski, J., Rampinelli, J. R., Silveira, M. L. L., Bonatti-Chaves, M., & Furlan, S. A. (2018). Avaliação do potencial de descoloração e de detoxificação de corantes têxteis por lacase de *Pleurotus sajor-caju*. *Evidência*, 18(1), 59–80. <https://doi.org/10.18593/eba.v18i1.17082>
- Santos, K., Neves, A., Cruz, N., Pequeno, A., Silva, R., Nascimento, T., Nascimento, D., Costa, R., Silva, M., & Porto, A. (2020). Descoloração de efluente de uma lavanderia de beneficiamento têxtil localizada em Toritama/PE por fungo filamentoso. *Brazilian Journal of Development*, 6(1), 3338–3350. <https://doi.org/10.34117/bjdv6n1-240>
- Su, J., Fu, J., Wang, Q., Silva, C., & Cavaco-Paulo, A. (2018). Laccase: A green catalyst for the biosynthesis of poly-phenols. *Critical Reviews in Biotechnology*, 38(2), 294–307. <https://doi.org/10.1080/07388551.2017.1354353>

Financiamento: Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq).