

**UNIVERSIDADE TECNOLÓGICA FEDERAL DO PARANÁ**

**DAVID AARON DE PAULI FLAKSBERG**

**EFEITO DE INDUTORES NATURAIS E SINTÉTICOS NA PRODUÇÃO DE  
LACASES FÚNGICAS**

**CURITIBA**

**2021**

**DAVID AARON DE PAULI FLAKSBERG**

**EFEITO DE INDUTORES NATURAIS E SINTÉTICOS NA PRODUÇÃO DE  
LACASES FÚNGICAS**

**Effect of natural and synthetic inducers on the production of fungi laccases**

Trabalho de conclusão de curso de graduação apresentado como requisito para obtenção do título de Bacharel em Química, do Departamento Acadêmico de Química e Biologia da Universidade Tecnológica Federal do Paraná (UTFPR) Câmpus Curitiba.

Orientadora: Profa. Dra. Giselle Maria Maciel

**CURITIBA**

**2021**



[4.0 Internacional](https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/)

Esta licença permite remixe, adaptação e criação a partir do trabalho, para fins não comerciais, desde que sejam atribuídos créditos ao(s) autor(es) e que licenciem as novas criações sob termos idênticos. Conteúdos elaborados por terceiros, citados e referenciados nesta obra não são cobertos pela licença.

**DAVID AARON DE PAULI FLAKSBERG**

**EFEITO DE INDUTORES NATURAIS E SINTÉTICOS NA PRODUÇÃO DE  
LACASES FÚNGICAS**

Trabalho de conclusão de curso de graduação apresentado como requisito para obtenção do título de Bacharel Química, do departamento de Química e Biologia da Universidade Tecnológica Federal do Paraná (UTFPR).

Data de aprovação: 30 de novembro de 2021

---

Prof. Dr. Charles Windson Isidoro Haminiuk  
Doutorado  
Universidade Tecnológica Federal do Paraná

---

Profa. Dra. Giselle Maria Maciel  
Doutorado  
Universidade Tecnológica Federal do Paraná

---

Profa. Dra. Marlene Soares  
Doutorado  
Universidade Tecnológica Federal do Paraná

**CURITIBA**

**2021**

## RESUMO

As lacases, enzimas pertencentes à família das multi-cobre oxidases, ganharam destaque nos últimos anos devido às suas propriedades e ação catalítica. Essas enzimas são produzidas principalmente por fungos ligninolíticos e atuam na catálise de uma variedade de substratos orgânicos e inorgânicos por meio da abstração de um elétron. Para isso, reduzem moléculas de oxigênio em moléculas de água sendo, portanto, um oxidante limpo. Por esses motivos, as lacases podem ser aplicadas em uma variedade de processos químicos e biotecnológicos em indústrias como a de papel, tecidos, alimentícia, cosméticos, além de atuar na biodegradação de poluentes e tratamento de efluentes. Todavia, sua utilização em larga escala é limitada por alguns fatores como longos períodos de produção e altos custos. Essas dificuldades podem ser contornadas pela utilização de componentes do meio de cultivo que atuem como indutores de produção de lacases durante o bioprocessamento. Por isso, esse trabalho tem como objetivo realizar um levantamento bibliográfico sobre o papel dos indutores tanto sintéticos quanto naturais na produção de lacases por fungos. Para isso, foram utilizadas uma base de dados, o Google Acadêmico e as palavras-chaves para busca em português “lacase” e “indutores” e em inglês “*laccase*” e “*inducers*”. Os artigos científicos mais relevantes e publicados nos últimos 5 anos foram selecionados. No total 24 trabalhos foram escolhidos, sendo que íons cobre, íons manganês e a xilidina se destacaram como indutores sintéticos. Ademais, o guaiacol, o ácido ferúlico e o bagaço de cana-de-açúcar são indutores naturais frequentemente utilizados na produção de lacases.

**Palavras-chave:** Lacases; Indutores; Aplicações; Fungos.

## ABSTRACT

Belonging to the family of multi-copper oxidase enzymes, laccases have gained prominence in recent years due to their properties and catalytic action. Produced mainly by ligninolytic fungi, these enzymes act in the catalysis of a variety of organic and inorganic substrates through the abstraction of an electron. For it, they reduce oxygen molecules into water molecules so are, therefore, a clean oxidant. For these reasons, this enzyme can be applied in a variety of chemical and biotechnological processes in industries such as paper, textiles, food, cosmetics, moreover laccases can act in the biodegradation of pollutants and effluent treatment. However, its large-scale use is limited by factors such as long production periods and high costs. These difficulties can be overcome by using components of the culture medium that act as inducers of laccase production during the bioprocess. Therefore, this work aims to carry out a bibliographical survey on the role of both synthetic and natural inducers in the production of laccases by fungi. For this, a database, Academic Google and the keywords for search in Portuguese “lacase” and “indutores” and in English “laccase” and “inducers” were used. The most relevant scientific articles published in the last 5 years were selected. A total of 24 works were chosen, with copper ions, manganese ions and xyloidine standing out as synthetic inducers. Furthermore, guaiacol, ferulic acid and sugarcane bagasse are natural inducers frequently used in the production of laccases.

**Keywords:** Laccases; Inducers; Applications; Fungi.

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

<b>Figura 1 – Comparação da função de lacases de diferentes organismos. ....</b>	<b>12</b>
<b>Figura 2 – Estrutura simplificada do sítio ativo de uma lacase .....</b>	<b>14</b>
<b>Figura 3 – Representação do ciclo catalítico da lacase.....</b>	<b>14</b>
<b>Figura 4 – Mecanismo de oxidação pelo sistema lacase-mediador.....</b>	<b>16</b>
<b>Figura 5 – Etapas laboratoriais de cultivo para obtenção do extrato enzimático .....</b>	<b>17</b>
<b>Figura 6 – Ciclo básico no estudo de extratos enzimáticos de lacase .....</b>	<b>21</b>
<b>Figura 7 – Aplicações industriais de lacase.....</b>	<b>31</b>

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1 – Espécie fúngica, indutores, forma de produção e atividade máxima de lacases em diferentes bioprocessos .....</b>	<b>22</b>
<b>Tabela 2 – Aplicações biotecnológicas de lacases .....</b>	<b>32</b>

## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO</b> .....	<b>8</b>
<b>2</b>	<b>OBJETIVOS</b> .....	<b>10</b>
<b>2.1</b>	<b>Objetivo geral</b> .....	<b>10</b>
<b>2.2</b>	<b>Objetivos específico</b> .....	<b>10</b>
<b>3</b>	<b>FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA</b> .....	<b>11</b>
<b>3.1</b>	<b>Fungos basidiomicetos e suas enzimas ligninolíticas</b> .....	<b>11</b>
<b>3.2</b>	<b>Lacases</b> .....	<b>12</b>
3.2.1	Histórico .....	12
3.2.2	Ação catalítica, estrutura e propriedades .....	13
<b>3.3</b>	<b>Produção de lacases</b> .....	<b>16</b>
<b>3.4</b>	<b>Indutores de lacases</b> .....	<b>17</b>
<b>4</b>	<b>METODOLOGIA</b> .....	<b>19</b>
<b>5</b>	<b>RESULTADOS E DISCUSSÃO</b> .....	<b>20</b>
<b>5.1</b>	<b>ESTRATÉGIA CONVENCIONAL DE PRODUÇÃO DE LACASES FÚNGICAS</b> .....	<b>20</b>
<b>5.2</b>	<b>FATORES QUE AFETAM A ATIVIDADE CATALÍTICA DAS LACASES</b> .....	<b>21</b>
5.2.1	O efeito da concentração dos indutores sintéticos no aumento da atividade enzimática.....	25
5.2.2	Vantagens de indutores naturais em relação aos sintéticos .....	27
<b>5.3</b>	<b>Principais aplicações das lacases</b> .....	<b>31</b>
<b>6</b>	<b>CONCLUSÃO</b> .....	<b>34</b>
	<b>REFERÊNCIAS</b> .....	<b>35</b>

## 1 INTRODUÇÃO

As lacases são enzimas multicobre-oxidases produzidas por fungos, bactérias, plantas e insetos. Elas apresentam o potencial de oxidar diversas substâncias utilizadas nas indústrias (aminas aromáticas, fenóis, corantes) através da redução de moléculas de oxigênio em moléculas de água sendo, portanto, consideradas como oxidantes limpo. Ainda mais, possuem relevante função em diversas indústrias como a de papel, de tecidos, de cosméticos e na de biodegradação de poluentes (RODRÍGUEZ COUTO; TOCA HERRERA, 2006; WANG *et al.*, 2019).

Mesmo com o amplo potencial biotecnológico, as lacases ainda não são aplicadas em larga escala. Isso se deve principalmente à baixa produtividade, períodos longos de produção, altos custos, baixa atividade catalíticas e algumas incompatibilidades com processos industriais. Entretanto, foi constatado que a aplicação de indutores adequados pode resolver esses problemas, uma vez que eles têm a capacidade de aumentar tanto a produção quanto a atividade catalítica das lacases, além de diminuir seu período de produção (BERTRAND; MARTÍNEZ-MORALES; TREJO-HERNÁNDEZ, 2013, 2017).

Nesse sentido, os indutores são divididos entre químicos ou sintéticos e naturais. Os indutores químicos são compostos aromáticos tais quais catecol, ácido 2,2'-azino-bis(3-etilbenzotiazolina-6-sulfônico) (ABTS) e xilidina, além de íons metálicos como  $\text{Cu}^{2+}$ ,  $\text{Fe}^{2+}$  e  $\text{Mn}^{2+}$ . Já quanto aos indutores naturais, diferentes resíduos agroindustriais são utilizados, entre esses: bagaço de maçã, casca de laranja, vinhaça, palha de trigo, serragem, entre outros.

A agroindústria gera uma grande quantidade de resíduos cuja composição é rica em açúcares, vitaminas e minerais, como exemplos tem-se a casca de arroz, bagaço de uva bordô e o bagaço de cana de açúcar. Esse último contém cerca de 50% de celulose, 25% de hemicelulose e 25% de lignina é um dos maiores subprodutos agroindustriais celulósicos gerados no Brasil. Ademais, esses resíduos são facilmente assimilados por microrganismos, o que os tornam adequados para utilização como substratos alternativos e indutores de baixo custo para a produção enzimática, além de reduzir a degradação ambiental causada pela disposição

inadequada desses resíduos na natureza (PANDEY *et al.*, 2000; ROSALES; RODRÍGUEZ COUTO, 2005; SCHIMIDT, 2019).

Assim, o objetivo desse trabalho foi realizar um levantamento bibliográfico sobre o efeito dos indutores sintéticos e naturais na produção de lacases fúngicas.

## **2 OBJETIVOS**

### **2.1 Objetivo geral**

Realizar um levantamento bibliográfico sobre o efeito dos indutores sintéticos e naturais na produção de lacases fúngicas.

### **2.2 Objetivos específico**

- Discutir sobre a estratégia convencional de produção de lacases fúngicas.
- Determinar os fatores que afetam a atividade catalítica das lacases.
- Verificar o efeito da concentração dos indutores sintético no aumento da atividade enzimática.
- Verificar as vantagens de indutores naturais em relação aos sintéticos.
- Discutir as principais aplicações das lacases.

### **3 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA**

#### **3.1 Fungos basidiomicetos e suas enzimas ligninolíticas**

Diversos fungos que atacam madeira na natureza são capazes de degradar a lignina, polímero aromático natural mais abundante na Terra. Entre aqueles, os basidiomicetos são considerados um grupo muito promissor, em razão de suas capacidades de produzirem enzimas lignolíticas e se ajustarem a diferentes condições ambientais (BAJPAI; ANAND; BAJPAI, 2006; MACIEL; CASTRO E SILVA; RIBEIRO, 2010; TEN HAVE; TEUNISSEN, 2001).

Dentre os basidiomicetos, os fungos da podridão branca são os que se destacam, uma vez que são capazes de quebrarem completamente a lignina em dióxido de carbono e água. Ainda mais, esses fungos são os maiores produtores de enzimas capazes de oxidar lignina. O nome podridão branca se dá em razão de deixarem a madeira branca durante o processo de degradação, o qual ocorre com o crescimento micelial sobre a madeira (TEN HAVE; TEUNISSEN, 2001).

A habilidade de oxidar a lignina é decorrente do sistema enzimático extracelular desses organismos, os quais secretam enzimas junto com alguns mediadores no ambiente e, assim, garantem uma contínua degradação da lignina na natureza. Ademais, outro fator importante é a boa organização das hifas, que conseguem penetrar as paredes celulares das plantas com eficiência. Ainda mais, as principais enzimas com essa função são a lignina peroxidase, manganês peroxidase e fenol-oxidase contendo cobre, conhecidas como lacases (BAJPAI; ANAND; BAJPAI, 2006; MACIEL; CASTRO E SILVA; RIBEIRO, 2010; TEN HAVE; TEUNISSEN, 2001).

Dada sua versatilidade, as enzimas lignolíticas vem aumentando sua demanda e substituindo diversos processos industriais convencionais. Desse modo, elas possuem aplicação em vários setores, entre eles, o alimentício, o de combustíveis, o de cosméticos, o de polpa e papel, entre outros. Isso acontece em razão da capacidade dessas enzimas em removerem substâncias xenobióticas complexas e produzirem produtos poliméricos. Por esse motivo, os fungos lignolíticos tornaram-se atrativos na biorremediação de poluentes, na degradação de

corantes e no processo de branqueamento de papel, por exemplo. (BERTRAND; MARTÍNEZ-MORALES; TREJO-HERNÁNDEZ, 2013; MACIEL; CASTRO E SILVA; RIBEIRO, 2010; REZENDE; SOCCOL; FRANÇA, 2016).

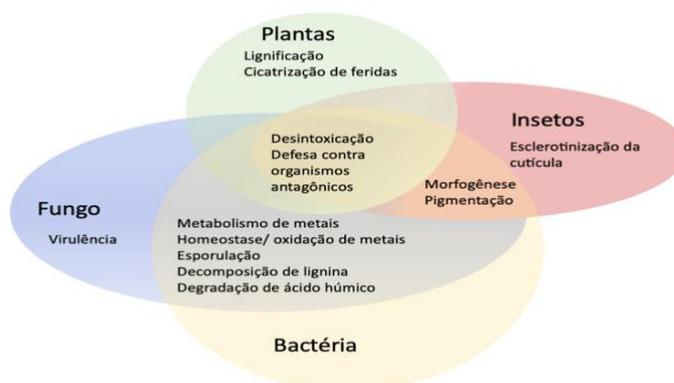
## 3.2 Lacases

### 3.2.1 Histórico

Lacases são enzimas multicobre oxidase com importantes aplicações biotecnológicas. Essas enzimas foram descobertas em 1883, no látex da árvore laca japonesa *Toxicodendron vernicifluum*, pelo pesquisador Yoshida. Posteriormente, lacases foram encontradas em plantas, em algumas bactérias, insetos e fungos (JANUSZ *et al.*, 2020; RODRÍGUEZ-COUTO, 2019).

Dependendo da fonte, as lacases possuem funções biológicas diferentes. Desta forma, lacases presentes em plantas tem como funções manter a estrutura da parede celular e curar feridas. Já no caso de fungos e bactérias, as lacases atuam na degradação da lignina (para ganhar acesso à hemicelulose e à celulose das plantas), degradação de ácido húmico, além de proteção contra agentes externos. Por fim, em insetos a lacase atua na esclerotinização da cutícula, pigmentação e defesa (JANUSZ *et al.*, 2020). Na Figura 1 podem-se observar as diferentes atuações das lacases dependendo de sua origem.

Figura 1 – Comparação da função de lacases de diferentes organismos.



Fonte: Janusz *et al.* (2020).

A relevância das lacases veio da capacidade de degradar compostos similares à lignina, como: hidrocarbonetos policíclicos aromáticos, corantes têxteis, entre outras substâncias, desde que possuam potencial de redução menores que da enzima. Além disso, as lacases são consideradas como catalisadores verdes, uma vez que, em sua ação catalítica, o oxigênio molecular é reduzido à água (RODRÍGUEZ-COUTO, 2018).

Foi verificado 100 anos após o descobrimento das lacases que a ação catalítica delas podia ser estendida para compostos não fenólicos com o uso dos chamados mediadores redox, o que aumentou o interesse nessa enzima (RODRÍGUEZ COUTO; TOCA HERRERA, 2006).

### 3.2.2 Ação catalítica, estrutura e propriedades

A sítio catalítico das lacases em geral é composto por quatro átomos de cobre, os quais são classificados em três grupos de acordo com propriedades espectroscópicas e magnéticas. (CHRISTOPHER; YAO; JI, 2014; RODRÍGUEZ-COUTO, 2018)

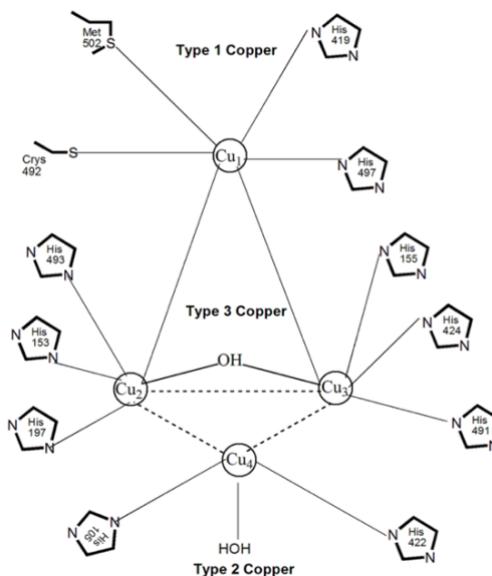
O cobre do tipo 1 é responsável pela oxidação do substrato e pelo potencial redox da lacase, além de contribuir para a coloração azul das lacase por possuir absorção característica em 610 nm. Esse cobre está ligado a uma cisteína, uma metionina e duas histidinas. (CHRISTOPHER; YAO; JI, 2014; RODRÍGUEZ-COUTO, 2018)

O cobre do tipo 2, ligado a duas histidinas e uma molécula de água, não possui absorção no espectro, sendo assim, incolor. Entretanto, possui um sinal característico de ressonância por ser paramagnético. (CHRISTOPHER; YAO; JI, 2014; RODRÍGUEZ-COUTO, 2018)

O cobre tipo 3 é diamagnético e absorve em 330 nm. Ele possui como ligante três histidinas. Dois desses cobres com um tipo 2 formam um centro trinucleares que é responsável por catalisar a fixação e redução do oxigênio em água (CHRISTOPHER; YAO; JI, 2014; RODRÍGUEZ-COUTO, 2018).

A Figura 2 mostra a estrutura dessa enzima e indica o tipo de cada átomo de cobre.

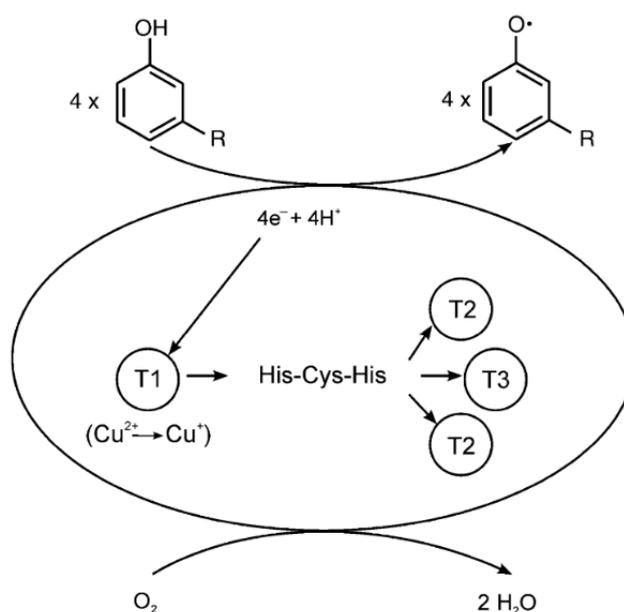
Figura 2 – Estrutura simplificada do sítio ativo de uma lacase



Fonte: Christopher; Yao; Ji, (2014).

Assim, a ação catalítica das lacases é devido aos diferentes centros de cobre na enzima. O substrato é oxidado pelo cobre T1 e o oxigênio é reduzido à água no sítio tri-nuclear T2/ T3, sendo que, provavelmente, o tripeptídeo formado de duas histidinas e uma cisteína transporta os elétrons entre os átomos de cobre. Esse mecanismo está representado na Figura 3 (BALDRIAN, 2006).

Figura 3 – Representação do ciclo catalítico da lacase



Fonte: Baldrian (2006).

Na forma nativa das lacases, os quatro cobres estão totalmente oxidados, o que ajuda nas etapas iniciais da degradação da lignina. Ainda mais, às ligações de hidrogênio e às ligações de sal entre os átomos de cobre garantem a estabilidade da estrutura das lacases (CHRISTOPHER; YAO; JI, 2014).

As lacases são classificadas em alto (0,6-0,8 V) e baixo (0,4-0,6 V) potencial redox de acordo com as propriedades dos átomos de cobre nela contidos, sendo que as de bactérias, de insetos e de plantas possuem baixos potenciais, ao contrário das fúngicas estão entre os mais altos potenciais, com destaque para os fungos da podridão branca (CHRISTOPHER; YAO; JI, 2014; JANUSZ et al., 2020).

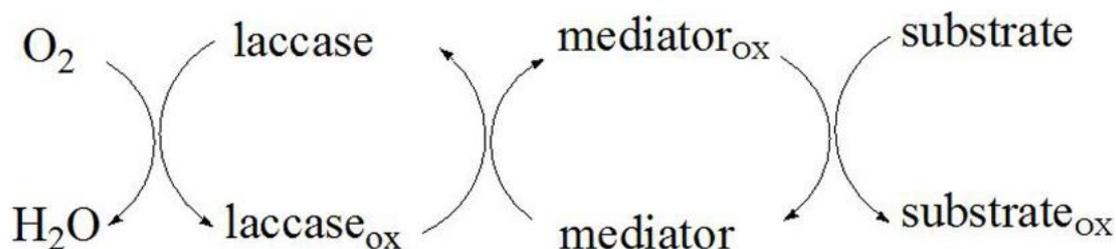
Além disso, as propriedades, estabilidade e atividade da enzima varia bastante dependendo da origem, temperatura, pH, meio e forma de cultivo, podendo até formar isoformas distintas. Todavia, as lacases normalmente são estáveis em pH ácido (3-6) e temperatura variando entre 40 e 70 °C. Ainda mais, ponto isoelétrico dessa enzima é cerca de 4 (BERTRAND; MARTÍNEZ-MORALES; TREJO-HERNÁNDEZ, 2013; RODRÍGUEZ-COUTO, 2018).

Como já foi citado, a ação catalítica dessas enzimas está diretamente relacionada ao potencial redox do cobre tipo 1. Entretanto, lacases, mesmo de alto potencial, não conseguem catalisar a oxidação de diversos substratos em razão do impedimento estérico. Contudo, com a ajuda de mediadores, isso é possível (CHRISTOPHER; YAO; JI, 2014).

Em razão do tamanho pequeno, os mediadores conseguem atuar como transportadores de elétrons entre a enzima e o substrato superando, assim, o efeito estérico que impede que o substrato entre no sítio ativo da enzima. Esse efeito faz com que ocorra a diminuição da reatividade das lacases a medida que aumenta a massa molar substrato, mas com a aplicação de mediadores adequados o efeito estérico pode ser superado (CHRISTOPHER; YAO; JI, 2014).

As reações em um sistema com mediadores ocorrem da seguinte maneira: na etapa inicial os mediadores são oxidados pela enzima a compostos instáveis com alto potencial redox. Estes conseguem atingir alvos internos de uma estrutura complexa e, assim, oxidar esse substrato, simultaneamente com a redução à sua forma inicial e assim recomençar o ciclo, como mostra a Figura 4 (CHRISTOPHER; YAO; JI, 2014).

Figura 4 – Mecanismo de oxidação pelo sistema lacase-mediador



Fonte: Christopher et al. (2014).

### 3.3 Produção de lacases

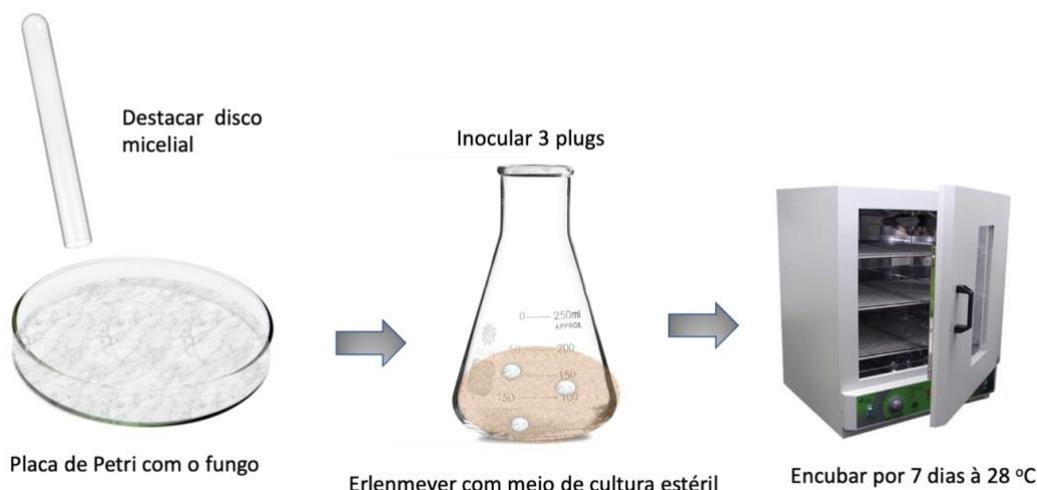
As lacases são produzidas por diversos organismos, entretanto os basidiomicetos se destacam. Ademais, entre eles os gêneros mais estudados são os *Trametes*, *Pleurotus*, *Lentinula*, *Pycnoporus*, *Phanerochaete* e *Agaricus*. Isso se dá em razão da maior facilidade de cultivo e com a vantagem de o extrato enzimático produzido ser excretado no meio de cultura sendo assim facilmente obtido (BERTRAND; MARTÍNEZ-MORALES; TREJO-HERNÁNDEZ, 2013).

Assim, a produção de lacases fúngicas normalmente são realizadas de duas formas distintas, por cultivo submerso ou no estado sólido/semisólido. O cultivo submerso consiste em inocular o fungo em meio líquido contendo os nutrientes necessários para o seu crescimento em meio aeróbico sob agitação (RODRÍGUEZ COUTO; TOCA HERRERA, 2006).

Enquanto isso, no cultivo em meio sólido ou semisólido utiliza-se substratos como suporte/fonte de nutrientes para o crescimento do fungo. Essa forma de cultivo é considerada um dos melhores métodos para produção de enzimas lignolíticas a partir de fungos, uma vez que as condições simulam seus habitats naturais. Ainda mais, por esse método é possível a utilização de resíduos agroindustriais, o que barateia a produção e estimula a economia circular (BERTRAND; MARTÍNEZ-MORALES; TREJO-HERNÁNDEZ, 2013; RODRÍGUEZ-COUTO, 2018).

A Figura 5 mostra uma sugestão das etapas laboratoriais do cultivo para obtenção do extrato enzimático.

**Figura 5 – Etapas laboratoriais de cultivo para obtenção do extrato enzimático**



**Fonte: Autoria própria (2021).**

### 3.4 Indutores de lacases

Para tornar viáveis aplicações industriais é necessário grandes quantidades de enzima a baixo custo. Assim, estratégias para aumentar a produtividade de lacases são essenciais. (SCHIMIDT, 2019).

Nos fungos basidiomicetos, as lacases extracelulares são produzidas em pequenas quantidades, todavia sua produção pode ser estimulada utilizando uma grande variedade de substâncias normalmente relacionadas ou derivadas da lignina. Esses compostos são chamados de indutores, uma vez que induzem a produção da enzima pelos fungos (GALHAUP et al., 2002; GALHAUP; HALTRICH, 2001).

Os indutores podem ser divididos em duas categorias, sintéticos (químicos) ou naturais. Os indutores sintéticos incluem substâncias químicas aromáticas e fenólicas como 2,5-Xilidina, além de, íons metálicos tais quais  $\text{Cu}^{2+}$ ,  $\text{Mn}^{2+}$  e  $\text{Cd}^{2+}$ . Já os naturais incluem farelos de trigo, casca de arroz, cevada e compostos fenólicos naturais como guaiacol e ácido ferúlico (BERTRAND; MARTÍNEZ-MORALES; TREJO-HERNÁNDEZ, 2013; ROSALES; RODRÍGUEZ COUTO, 2005; STRONG; CLAUS, 2011).

Muitos dos indutores químicos apresentam alta toxicidade e alto custo fazendo com que indutores naturais sejam uma alternativa. Isso porque, a indústria de processamento de alimentos gera grandes quantidades de resíduos cuja composição é rica em açúcares, vitaminas, minerais e indutores. Esses, são facilmente assimilados por microrganismos. Isso os torna muito adequados como

matérias-primas para a produção de metabólitos secundários de importância industrial. Desse modo, a produção enzimática pode ser feita com o uso de resíduos agrícolas atando como substrato e indutor para o crescimento do fungo (ROSALES; RODRÍGUEZ COUTO, 2005; SCHIMIDT, 2019).

Ainda mais, o Brasil é um dos maiores produtores agrícolas do mundo, por isso a utilização de resíduos industriais para o crescimento de microrganismos é uma boa solução tanto para a valorização dos resíduos quanto para o barateamento da produção enzimática (SCHIMIDT, 2019).

#### 4 METODOLOGIA

Um levantamento bibliográfico na literatura científica foi realizado para avaliar a utilização de componentes do meio de cultivo para atuarem como indutores de lacases fúngicas. Para isso, foi escolhido como base de dados para pesquisa, o Google Acadêmico e as palavras-chaves para busca em português “lacase” e “indutores” ou “indutores naturais” ou “indutores sintéticos” e em inglês “*laccase*” e “*inducers*” ou “*natural inducers*” ou “*synthetic inducers*”. Com o intuito de obter uma visão atual sobre o assunto foram selecionados os artigos científicos (experimentais e de revisão) mais relevantes e publicados nos últimos 5 anos.

Assim, as etapas para confecção desse trabalho foram: (A) a escolha dos artigos utilizando as palavras chaves pré-determinadas na base de dados Google Acadêmico; (B) seleção das informações mais relevantes nos artigos escolhidos; (C) descrição e discussão das informações selecionadas.

## 5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A partir dos parâmetros delineados na metodologia foram selecionados 24 artigos dos quais 16 são experimentais. Os artigos escolhidos apresentam abordagens diferentes sobre o tema, o que possibilita uma compreensão ampla sobre o uso dos indutores na produção de lacases fúngicas. Ainda mais, as pesquisas foram realizadas em diversos países entre eles Brasil, China, Espanha, México, Índia, Irã, Polônia, Portugal e Tailândia. Essa ampla variedade de países que desenvolvem trabalhos sobre o assunto reflete sua relevância. Ademais, diversos fungos foram utilizados, entretanto os gêneros *Trametes*, *Pleurotus* e *Pycnoporus* se destacaram. Além disso, na maioria das pesquisas o cultivo foi realizado por meio da fermentação submersa.

Para a discussão sobre as principais aplicações das lacases foram selecionados 17 artigos que apresentam diferentes utilidades dessas enzimas nos variados setores das indústrias.

### 5.1 ESTRATÉGIA CONVENCIONAL DE PRODUÇÃO DE LACASES FÚNGICAS

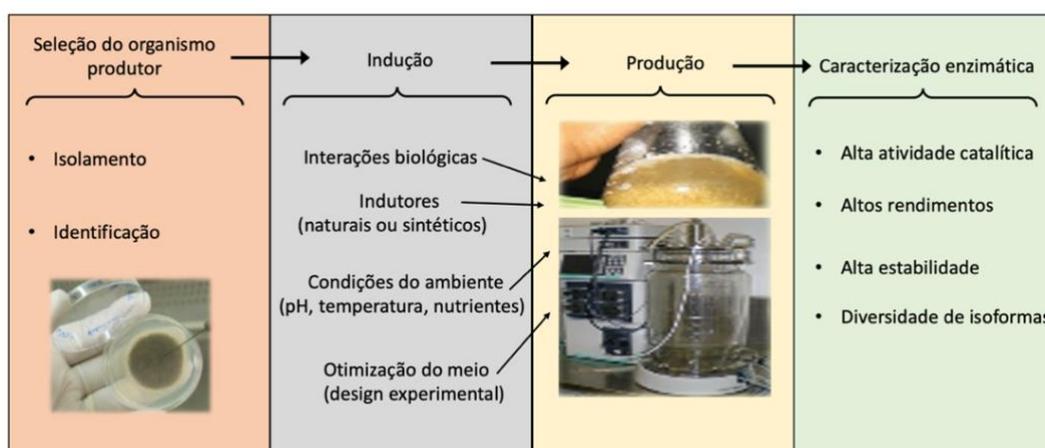
As lacases são enzimas muito promissoras para aplicação industrial. Entretanto, suas características naturais não são compatíveis com a produção em larga escala. Assim, para viabilizar sua utilização, faz-se necessário melhorar sua produtividade, diversidade e propriedades bioquímicas (BERTRAND; MARTÍNEZ-MORALES; TREJO-HERNÁNDEZ, 2017).

Para isso, diversas estratégias podem ser utilizadas, como engenharia genética e modificações químicas. Todavia, existe uma abordagem tradicional, a qual consiste na busca de organismos produtores da enzima de interesse e em seguida a otimização da produção (BERTRAND; MARTÍNEZ-MORALES; TREJO-HERNÁNDEZ, 2017).

Essa abordagem segue alguns passos básicos. O primeiro consiste na seleção do organismo que irá produzir a enzima, para isso ele deverá ser isolado e identificado. O segundo passo é a seleção do meio e dos indutores em que o cultivo será realizado. A terceira etapa é o cultivo do organismo produtor para obtenção da

lacase. Para isso deve-se definir se o processo fermentativo será realizado em fermentação sólida ou submersa e verificar as condições adequadas (pH, temperatura, humidade, nutrientes), o que muda de acordo com a fonte da enzima. Por último, são realizadas as análises físico-químicas tais quais a avaliação da atividade catalítica, rendimento e estabilidade enzimática. A Figura 6 mostra essas etapas (BERTRAND; MARTÍNEZ-MORALES; TREJO-HERNÁNDEZ, 2017).

**Figura 6 – Ciclo básico no estudo de extratos enzimáticos de lacase**



**Fonte: Adaptado de Bertrand et al. (2013).**

Esse método é prático e eficiente na busca por organismos na natureza que produzem grandes quantidades de lacases, além de ser uma forma simples e fácil de otimizar a produção da enzima por meio da avaliação de componentes no meio de cultivo que atuam como indutores dessa enzima.

## 5.2 FATORES QUE AFETAM A ATIVIDADE CATALÍTICA DAS LACASES

Variados estudos foram realizados sobre a indução de lacases. A Tabela 1 mostra alguns dos resultados da utilização de indutores na produção de lacases com suas respectivas atividades máximas e tempo de cultivo.

**Tabela 1 – Espécie fúngica, indutores, forma de produção e atividade máxima de lacases em diferentes bioprocessos**

(continua)					
<b>Fungo</b>	<b>Indutor</b>	<b>Produção</b>	<b>Dias de cultivo</b>	<b>Atividade máxima (U/L)</b>	<b>Referência</b>
<i>Ganoderma lucidum</i>	Ácido ferúlico (1 mM) Cu <sup>2+</sup> (30 µM) <i>Pinus taeda</i> 1 (g/L)	Submersa	7	785	RODRIGUES <i>et al.</i> (2019)
	<i>Trametes versicolor</i>	Submersa	6	10250	BIRHANLI; YEŞILADA (2017)
<i>Pleurotus ostreatus</i>	Cu <sup>2+</sup> (2 mM)	Submersa	16	11661,57	AN <i>et al.</i> (2020)
	Mn <sup>2+</sup> (2 mM)	Submersa	8	1796,94	
	Cu <sup>2+</sup> (2 mM) Mn <sup>2+</sup> (2 mM)	Submersa	20	21966,67	
	Cu <sup>2+</sup> (2 mM) Fe <sup>2+</sup> (2 mM) Mn <sup>2+</sup> (2 mM)	Submersa	17	14056,48	
<i>Flammulina velutipes</i>	Cu <sup>2+</sup> (2 mM)	Submersa	7	2483,06	AN <i>et al.</i> (2020)
	Cu <sup>2+</sup> (2 mM) Mn <sup>2+</sup> (2 mM)	Submersa	10	1300,93	
	Guaiacol (100 µM)	Submersa	5	31,47	
<i>Paraphoma sp.</i>	Xilidina (100 µM) Cu <sup>2+</sup> (3 mM)	Submersa	5	1499,87	DU <i>et al.</i> (2018)
	Alaranjado de metila (20 µM);	Submersa	5	16,23	
	Alaranjado de metila 20 µM; Cu <sup>2+</sup> (3 mM)	Submersa	5	1507,15	
<i>Pleurotus ostreatus</i>	Algodão (3 g)	Estado sólido	7	849.61	An <i>et al.</i> (2021)
	<i>Sophora japônica</i> (3 g)	Estado sólido	9	412.80	
<i>Ganoderma lingzhi</i>	Algodão (3 g)	Estado sólido	8	788.73	An <i>et al.</i> (2021)
<i>Cerrena unicolor</i>	<i>Pinus tabuliformis</i> e <i>Firmiana platanifolia</i>	Submersa	4	876,23	HAN <i>et al.</i> (2021)
<i>Cerrena unicolor</i> e <i>Schizophyllum commune</i>	<i>Firmiana platanifolia</i>	Submersa	6	1373,12	HAN <i>et al.</i> (2021)

Fonte: Autoria própria (2021).

Diversos fatores alteram a atividade catalítica do extrato de lacases fúngicas, entre esses, estão: a própria espécie do fungo, a forma de cultivo, a composição do meio (nutrientes, pH) e a presença de indutores. Ademais, várias pesquisas mostram essas relações, o estudo realizado por Rodrigues *et al.* (2019) é uma boa exemplificação.

Um planejamento experimental no design de Plackett-Burman foi realizado por Rodrigues *et al.* (2019) a fim de avaliar a produção de lacases pelo fungo *Ganoderma lucidum* por fermentação submersa na presença de diferentes componentes do meio de cultura, como fontes de carbono, nitrogênio e indutores de lacases. Os autores avaliaram a influência das variáveis glicose, sacarose, extrato de levedura, peptona, NaNO<sub>3</sub>, ácido ferúlico, CuSO<sub>4</sub> e *Pinus taeda* na produção enzimática.

Desse modo, Rodrigues *et al.* (2019), mediram as atividades enzimáticas dos extratos obtidos ao longo de 8 dias alterando a concentração de cada variável. Com isso houve uma significativa variação da atividade enzimática em relação à composição do meio e à quantidade de indutores adicionados a partir do 6º dia de cultivo. Com esse design, foi obtido uma atividade máxima de 785 U·L<sup>-1</sup> no sétimo dia de cultivo. Ainda mais, pelo planejamento de Plackett-Burman os autores concluíram que no extrato de *Ganoderma lucidum* um aumento na concentração de ácido ferúlico tem um efeito negativo enquanto o *Pinus taeda* tem um efeito positivo no resultado da atividade catalítica (RODRIGUES *et al.*, 2019).

Mas, não foi possível compreender o efeito exclusivo de cada indutor. Então, para isso, os autores produziram extratos enzimáticos a partir de 100 mL de meio GYP (20 g·L<sup>-1</sup> de glicose, 5 g·L<sup>-1</sup> de extrato de levedura, 5 g·L<sup>-1</sup> de peptona de caseína e 1 g·L<sup>-1</sup> de MgSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O) em frascos de 250 mL. Ademais, quantidades específicas de indutores (ácido ferúlico 2 mM, *Pinus taeda* 0,1 g·L<sup>-1</sup>, CuSO<sub>4</sub> 5 µM e lignina 0,05 g·L<sup>-1</sup>) foram adicionados em cada meio. A partir do terceiro dia de cultivo, houve um aumento significativo no valor da atividade enzimática, nos experimentos com indutores, em relação ao controle. A maior atividade foi desenvolvida com a adição do ácido ferúlico, atingindo 50 U·L<sup>-1</sup> no sétimo dia cerca de 2,5 vezes superior a ausência de indutores (RODRIGUES *et al.*, 2019).

Portanto, o uso de um planejamento experimental estatístico é muito útil na otimização do processo, já que a partir desse é possível verificar quais são as

concentrações ideais de cada substância no meio. Isso, é evidenciado pela atividade máxima atingida pelo planejamento de Plackett-Burman ser cerca de 16 vezes maior em comparação com a encontrada na adição de 2 mM de ácido ferúlico no meio contendo somente um indutor (RODRIGUES *et al.*, 2019).

O mesmo estudo também contempla a avaliação da produção da enzima em fermentação em estado sólido. Para isso, foram preparados meios contendo 1 g de serragem de *Pinus taeda* e 15 mL do meio GYP em erlenmeyers de 125 mL. Os meios foram autoclavados e, posteriormente, dois discos de aproximadamente 5-mm do micélio do fungo, armazenado em PDA, foram adicionados. Soluções de ácido ferúlico ou  $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$  com 1 mM e 30  $\mu\text{M}$ , respectivamente, foram adicionadas após 48 h de incubação. Após o período de 8 dias o extrato foi obtido, filtrado e submetido a reação com ABTS para avaliação da atividade catalítica da enzima.

Os resultados obtidos foram,  $16.63 \pm 7.23 \text{ U} \cdot \text{g}^{-1}$  de atividade para o meio de controle (sem indutores),  $144.62 \pm 38.52 \text{ U} \cdot \text{g}^{-1}$  para a adição de 1mM de ácido ferúlico e  $149.89 \pm 9.98 \text{ U} \cdot \text{g}^{-1}$  para a solução de  $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$  (RODRIGUES *et al.*, 2019).

Assim, a pesquisa de Rodrigues *et al.* (2019) colabora com a ideia de que os indutores são essenciais para otimizar a atividade catalítica das lacases.

Ademais, processos biotecnológicos dependem do uso de grandes quantidades de enzima a baixo custo. Assim, em busca de melhorar a eficiência na produção enzimática, a seleção de indutores apropriados no meio de cultivo faz-se necessária. Isso porque, aplicá-los no cultivo do fungo, normalmente, já garante um aumento na produtividade e na atividade enzimática. Desse modo, o uso de compostos para atuarem como indutores é uma forma simples e direta de otimizar a obtenção de lacases (AN *et al.*, 2018; BERTRAND; MARTÍNEZ-MORALES; TREJO-HERNÁNDEZ, 2017).

Os fungos produtores de lacases podem formar várias isoformas, estas foram detectadas em diferentes gêneros como *Trametes*, *Pleurotus* e *Pycnoporus*. Ainda mais, a expressão dessas isoformas são multifatoriais e assim dependem da fase de crescimento, idade da cultura, substratos usados, presença de indutores e processo fermentativo (AN *et al.*, 2018; BERTRAND; MARTÍNEZ-MORALES; TREJO-HERNÁNDEZ, 2017).

A secreção de lacase é uma das respostas biológica à presença de condições adversas tais quais microrganismos, xenobióticos, metais e toxinas. Desse modo, a aplicação dessas substâncias no meio pode induzir um aumento na produção enzimática. Todavia, dependendo da composição e da concentração delas no meio o efeito pode ser tanto sinérgico quanto antagônico. (DANA *et al.*, 2017; DEBNATH E SAHA, 2020; JANUSZ *et al.*, 2020; SOUZA *et al.*, 2020).

A aplicação de indutores também se mostrou eficaz na redução do tempo de produção das enzimas, o que é essencial para a da aplicação em larga escala (SOUZA *et al.*, 2020).

#### 5.2.1 O efeito da concentração dos indutores sintéticos no aumento da atividade enzimática

Nessa classificação, estão presentes íons metálicos e compostos aromáticos. Esses são considerados indutores tanto por causa de estimular um aumento na produção de lacase, como pela capacidade de modificar o perfil das isoenzimas formadas (BERTRAND; MARTÍNEZ-MORALES; TREJO-HERNÁNDEZ, 2017).

Os íons mais estudados são  $\text{Ag}^+$ ,  $\text{Mn}^{+2}$ ,  $\text{Cd}^{2+}$ ,  $\text{Zn}^{2+}$ , sendo que o íon  $\text{Cu}^{2+}$  tem destaque por compor o sítio ativo da lacase. Ainda mais, já foram reportados aumentos de até 500 vezes na produção de lacases com a aplicação de íons metálicos (AN *et al.*, 2020; BERTRAND; MARTÍNEZ-MORALES; TREJO-HERNÁNDEZ, 2017).

Birhanli e Yesilada (2017) analisaram o efeito de diferentes concentrações de cobre na indução de lacases pelo fungo *Trametes*. Desse modo, enquanto as concentrações de 0,25-1 mM de cobre apresentaram efeito sinérgico em relação ao controle, durante todos os dias de cultivo, a concentração 5 mM teve uma resposta antagônica. Nesse sentido, faz-se fundamental verificar a melhor concentração dos indutores para cada fungo.

Ainda mais, Birhanli e Yesilada (2017) estudaram a adição conjunta de vários indutores sintéticos. O melhor resultado obtido foi com a adição conjunta de 0,5 mM de  $\text{Cu}^{2+}$  e 0,5 mM de 2,5-xilidina o qual obteve  $33,61 \text{ U}\cdot\text{mL}^{-1}$ ,

correspondendo a uma melhora de 3,28 vezes em relação à atividade máxima encontrada no primeiro experimento.

An *et al.* (2020) conduziram o primeiro estudo sobre mistura de íons metálicos como indutores em fungos da podridão branca. Foram discutidos os efeitos dos íons cobre, ferro e manganês na estimulação da produção da lacase pelos fungos *Pleurotus sp.* e *F. velutipes* em fermentação submersa. Esses íons foram adicionados sozinhos ou combinados no meio basal e a concentração final de cada íon foi 2 mM. O resultado obtido mostrou que o *P. ostreatus* é um melhor produtor de lacase em comparação com o *F. velutipes*, alcançando uma atividade máxima de 24,8 vezes maior. Ademais, a adição conjunta de cobre e manganês no *P. ostreatus* se mostrou eficaz na indução de lacases adquirindo uma atividade de 1,88 vezes maior que o cobre sozinho. A adição dos indutores atrasou o pico de atividade catalítica máxima em até 15 dias.

Santana *et al.* (2018) observaram um aumento na atividade de lacase de 76% em relação aos meios contendo somente cobre ou álcool veratrílico com a adição de xilidina atingindo  $75102 \text{ U}\cdot\text{L}^{-1}$  e adiantando o pico de atividade do dia 24º para o 15º dia de cultivo na produção do fungo *Lentinus crinitus*.

Kandasamy *et al.* (2016) otimizaram a produção de lacases a partir do fungo da podridão branca, *Hexagonia hirta* MSF2 recém isolado. O resultado revelou que a adição  $500 \mu\text{M}$  de íons cobre (II) induz a produção enzimática a partir do 5º dia e atinge uma atividade máxima de  $1362 \text{ U}\cdot\text{ml}^{-1}$  no 10 dia de cultivo. Isso corresponde a cerca 160 vezes o valor do controle ( $8.33 \text{ U}\cdot\text{mL}^{-1}$ ). Ainda mais, foram verificados a adição conjunta de  $\text{CuSO}_4$  com indutores aromáticos. A 2,5 xilidina e o pirogalol se destacaram com atividades máximas  $5671 \text{ U}\cdot\text{mL}^{-1}$  e  $4537 \text{ U}\cdot\text{mL}^{-1}$ , respectivamente.

Du *et al.* (2018) avaliaram o efeito de vários indutores aromáticos e corantes sozinhos ou adicionadas com sulfato de cobre (3 mM) na produção de lacase por uma nova cepa de *Paraphoma sp.* Os autores constataram que a adição de cobre promoveu um aumento na atividade catalítica em todos os casos, atingindo valores de mais de 100 vezes superiores.

Assim, os estudos anteriores demonstram o potencial que o estudo de adição conjunta de indutores possui para a otimização da produção de lacases, entretanto essa ela só começou a ser melhor explorada recentemente.

Yadav (2018) avaliou os efeitos de três compostos aromáticos: resorcinol, anisalaldeído e xilidina como indutores de lacases no fungo *Cyathus stercoreus*. O resorcinol (10 mM) foi o que apresentou melhores resultados com  $226,7 \text{ U}\cdot\text{mL}^{-1}$  de atividade no oitavo dia o que corresponde ao aumento de 1,27 vezes em relação ao controle.

Patel (2020) concluiu que etanol e catecol são indutores eficientes na produção de uma nova cepa fúngica de *Peyronellaea pinodella* BL-3/4 do que o controle, atingindo  $88,0 \text{ U}\cdot\text{mL}^{-1}$  e  $71,0 \text{ U}\cdot\text{mL}^{-1}$ , respectivamente em 92 h de cultivo.

Corantes sintéticos também foram utilizados para induzir lacases. Foi verificado um aumento de 722% na indução de lacases na cultura de *Pycnoporus sanguineus* com a adição de ácido carmínico e 317% com adição de amarelo de alizarina em relação ao controle. Além disso, esses corantes promoveram maior desenvolvimento da biomassa fúngica (HERNÁNDEZ *et al.*, 2017).

Akpinar e Urek (2017) avaliaram o efeito e a concentração de cobre, ferro, Tween 80, nitrato de amônio e manganês na produção de lacase a partir do fungo *Pleurotus eryngii* cultivado em resíduos de pêssago. Os autores obtiveram como melhor resultado uma atividade de  $43761,33 \pm 3845 \text{ U}\cdot\text{mL}^{-1}$  no 20º dia utilizando 5 g de resíduos de pêssago  $70 \mu\text{M}$  de  $\text{Cu}^{2+}$ ,  $18 \mu\text{M}$  de  $\text{Fe}^{2+}$ , 0,025% (v/v) de Tween 80,  $4,0 \text{ g}\cdot\text{mL}^{-1}$  de nitrato de amônio e  $750 \mu\text{M}$  de  $\text{Mn}^{2+}$ .

As pesquisas relatadas evidenciam a importância da utilização de compostos no meio de cultivo para atuarem como indutores. Isso se deve ao significativo aumento da produtividade e do valor da atividade enzimática induzida por essas substâncias além da diminuição do tempo de cultivo o que viabiliza a aplicação da enzima em escalas maiores.

Todavia, os indutores sintéticos são tóxicos para os humanos e aumentam significativamente o custo de produção tornando indutores naturais como uma alternativa promissora (SCHIMIDT, 2019).

### 5.2.2 Vantagens de indutores naturais em relação aos sintéticos

Indutores naturais possuem vantagens em relação a indutores químicos em razão da possibilidade de se utilizar resíduos agroindustriais. Estes possuem grande valor energético e nutritivo, além de substâncias indutoras de lacases como

flavonoides e compostos fenólicos. Desse modo, eles podem atuar como suporte, fonte de nutrientes e indutores naturais simultaneamente (BERTRAND; MARTÍNEZ-MORALES; TREJO-HERNÁNDEZ, 2017; HERNÁNDEZ *et al.*, 2017; WANG *et al.*, 2019).

A utilização desse tipo de indutor é vantajosa pois diminui custos de produção enzimática além de minimizar efeitos relacionados ao descarte incorreto de resíduos agroindustriais, que poluem o solo, a água e o ar por modificarem suas características físico-química (DEBNATH E SAHA, 2020; DO NASCIMENTO E SILVA ALENCAR *et al.*, 2020; RICARDINO *et al.*, 2020).

Por esses motivos, diversos estudos foram realizados nos últimos anos com o objetivo de incorporar os resíduos agroindustriais no processo de produção de lacases fúngicas.

Foi constatado, em diversos trabalhos, que a atividade de lacase é influenciada pelas fontes de carbono e nitrogênio necessárias para criar condições nutricionais favoráveis para o cultivo e, assim, maximizar a produção enzimática (MARTANI *et al.*, 2017).

Nesse sentido, Almeida *et al.* (2018) testaram a produção de lacases a partir do fungo *Lentinus crinitus* utilizando resíduos agroindustriais. Como fonte de carbono foram utilizados pó de café e pellets de citros e como fonte de nitrogênio: ureia, extrato de levedura, sulfato de amônio e nitrato de sódio. A ureia se mostrou mais adequada para a produção atingindo atividade de  $37280 \text{ U}\cdot\text{mL}^{-1}$  para o pó de café e  $34107 \text{ U}\cdot\text{L}^{-1}$  para os pellets de citros. Ainda mais, foi verificado que a proporção carbono/ nitrogênio pode influenciar na atividade das enzimas de formas diferentes em cada meio. Além disso, a concentração de nitrogênio utilizando ureia ( $0,7 - 11,2 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ ) não teve influência no cultivo com pó de café, todavia, com os pellets de citros a melhor concentração foi  $11,2 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ . Por fim, o cultivo em pó de café conseguiu antecipar o pico enzimático em 4 dias em comparação com o outro meio.

Schimidt (2019) utilizou separadamente sabugo de milho (*Zea mays L. Poaceae*), fruto/semente de açaí (*Euterpe oleracea Mart. Arecaceae*) e bagaço de cana-de-açúcar (*Saccharum L. Poaceae*) proveniente da agroindústria de Goiás para induzir a produção de lacase na cepa de *Pycnoporus sanguineus* ATCC 4518. Para isso, foram utilizados dois tipos de controle: um negativo (ausência de resíduos

agroindustriais) e outro positivo (presença de indutores sintético). Em relação ao controle negativo, foi observado um aumento da atividade de todas as amostras com destaque na de açaí a qual teve atividade de  $850 \text{ U}\cdot\text{mL}^{-1}$  superando até o controle positivo ( $500 \text{ U}\cdot\text{mL}^{-1}$ ).

An *et al.* (2018) testaram a indução de diferentes cepas de *Pleurotus ostreatus* a partir de lignina alcalina sozinha ou em conjunto com outras fontes de carbono e nitrogênio como glicose e peptona. Cada cepa obteve resultado diversos ao serem cultivados em meios semelhantes. Entretanto, em geral o meio contendo somente lignina alcalina produziu os melhores resultados. Já entre a adição conjunta de lignina com peptona ou glicose, essa última se mostrou superior para melhorar a atividade enzimática.

An *et al.* (2021) avaliaram a atividade enzimática de dois fungos: *Pleurotus ostreatus* CY 568 e *Ganoderma lingzhi* Han 500 em meios contendo resíduos florestais e agrícolas. O resultado mostrou que a atividades catalíticas das lacases são influenciadas pelo tipo de resíduo adicionado. Com isso, o resíduo de algodão produziu as maiores atividade para os dois fungos.

Pinheiro *et al.* (2020) fizeram um estudo da produção de lacases a partir do fungo *Trametes versicolor* utilizando resíduos agroindustriais em diferentes escalas. O meio contendo resíduos de vinhaça e algodão obtiveram os resultados mais significativos. Ainda mais, uma adição de 0,1% de peptona no meio aumentou em 30% a produção em erlenmeyer alcançando  $2063,1 \text{ U}\cdot\text{L}^{-1}$ . Ademais, foi realizado um teste utilizando o biorreator BioFlo 310 contendo 3,3 L de carga. Assim, foi obtido uma produção de lacase de  $5005,55 \text{ U}\cdot\text{L}^{-1}$  no 12º dia. Desse modo, o trabalho mostra a possibilidade de aumento de escala na produção enzimática utilizando resíduos agroindústrias.

O cultivo utilizando resíduos agroindustriais em conjunto com indutores sintéticos também é uma opção para diminuir o custo de produção e ainda melhorar a produtividade de lacase.

Isanapong *et al.* (2017) concluíram que ao se adicionar 10 mM de álcool benzílico no cultivo de lacase a partir do fungo *Pleurotus ostreatus* em feijão mungo pode-se aumentar a produção da enzima em 58,8%.

Outro estudo interessante foi realizado por Souza *et al.* (2020). Nele os fungos *Agaricus subrufescens* U7-1 e U7-3 foram cultivados a partir de subprodutos

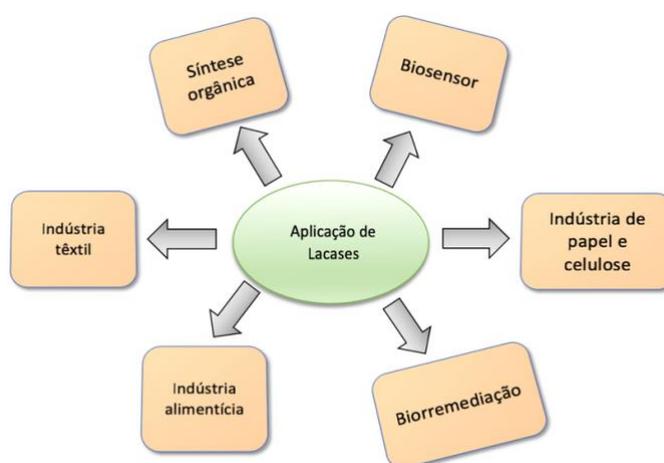
agroindustriais. Foi observado que a produção foi otimizada com menores quantidades de ureia e que o meio contendo melaço de cana-de-açúcar produziu os melhores resultados antecipando os picos em 5 dias para a cepa U7-1 e 15 dias para a U7-3. Ainda mais, a adição de outros compostos químicos ao meio de cultivo promoveu um crescimento da atividade enzimática. A vanilina se destacou nas duas cepas alcançando uma atividade máxima de lacase de  $44380 \text{ U}\cdot\text{L}^{-1}$  e antecipando o pico em 15 dias para a U7-1 o que causou um salto na produtividade do micélio. Já a cepa U7-3 atrasou o pico de atividade, entretanto produziu uma atividade equivalente a máxima do meio sem indutor ( $40250 \text{ U}\cdot\text{L}^{-1}$ ) no 10º dia e assim adiantou esse valor em 10 dias o que correspondeu a um aumento de 100% na produtividade.

Dessa forma, por mais que ainda não seja bem compreendida a forma de atuação dos indutores esses exemplos mostram a importância deles no momento da produção enzimática. Isso em razão de sua aplicação acarretar um salto na produtividade e na atividade catalítica das lacases. Assim, os resíduos agroindustriais atuando como indutores ajudam na otimização da produção e barateiam o custo. Todavia, foi observado que a aplicação conjunta de indutores naturais e sintéticos é uma forma mais promissora para melhorar o desempenho sem elevar muito o preço de produção.

### 5.3 Principais aplicações das lacases

A lacase é uma enzima versátil que necessita somente de oxigênio para ativação de sua ação catalítica. Por esse motivo, foi altamente estudada em busca de aplicações biotecnológicas. Algumas áreas de atuação dessa enzima estão retratadas na Figura 7.

Figura 7 – Aplicações industriais de lacase.



Fonte: Adaptado de Debnath e Saha (2020).

A capacidade das lacases em polimerizar moléculas torna-as adequadas para aplicações em processos na indústria alimentícia que modificam as características físico-química dos alimentos e bebidas. Assim, elas podem ser utilizadas no realce da coloração e do sabor de chá, na eliminação da turbidez de sucos, vinhos e cervejas por eliminar compostos fenólicos indesejados. Ainda mais, a enzima pode ser empregada na panificação, tratamento de águas residuais de moinhos de azeite e na determinação de algumas substâncias como ácido ascórbico (DANA *et al.* 2017; RODRÍGUEZ-COUTO 2018).

A habilidade de degradar compostos aromáticos tais quais corantes faz com que as lacases sejam apropriadas para o tratamento de efluentes nas indústrias têxteis. Além disso, a enzima pode ser utilizada na descoloração de tecidos e também na síntese de alguns corantes (DANA *et al.*, 2017; RODRÍGUEZ-COUTO, 2018).

Diversas outras aplicações foram relatadas na literatura, entre essas em combustíveis, sensores, cosméticos. A Tabela 2 mostra alguns dos estudos mais recentes sobre o potencial biotecnológico dessa enzima.

**Tabela 2 – Aplicações biotecnológicas de lacases**

Espécie fúngica	Aplicação	Referência
<i>Trametes versicolor</i>	Clarificação de suco de maçã	WANG <i>et al.</i> (2020)
<i>Pleurotus Ostreatus</i>	Síntese de nanopartícula de ouro	EL-BATAL <i>et al.</i> (2015)
<i>Fusarium equiseti</i>	Bio-branqueamento de jornal	NATHAN <i>et al.</i> (2018)
<i>Ganoderma sp.</i>	Descoloração dos corantes índigo, índigo carmim e trifenilmetano corante verde metílico	LU <i>et al.</i> (2016)
<i>Trametes sp.</i> SYBC-L4	Descoloração dos corantes vermelho do Congo, azul de anilina e índigo carmim	LI <i>et al.</i> (2014)
<i>Myceliophthora thermophila</i>	Síntese de corante	VICENTE <i>et al.</i> (2016)
<i>Trametes versicolor</i>	Biosensor para Tartrazina	MAZLAN; LEE; HANIFAH (2017)
<i>Trametes versicolor</i>	Sensor para catecol	PALANISAMY <i>et al.</i> (2017)
<i>Pleurotus ostreatus</i>	Sensor para tirosina	BATTISTA <i>et al.</i> (2016)
<i>Trametes versicolor</i> e <i>Pleurotus ostreatus</i>	Degradação de pesticidas	KARAS <i>et al.</i> (2011)
<i>Trametes versicolor</i>	Degradação de Bisfenol A	ZDARTA <i>et al.</i> (2018)
<i>Cerrena unicolor</i>	Degradação de tetraciclina	YANG <i>et al.</i> (2017)
<i>Myceliophthora thermophila</i>	Eliminação de morfina em efluentes industriais	HUBER <i>et al.</i> (2018)

**Fonte: Autoria própria (2021)**

Outro uso importante das lacases é nas indústrias de papel e celulose. Isso se deve a capacidade de deslignificação o que a torna apropriada para o processo de branqueamento do papel. Ainda mais, a utilização da enzima pode melhorar as propriedades mecânica do papel (DANA *et al.* 2017; DEBNATH; SAHA 2020).

A contaminação do solo, da água e do ar são os maiores problemas ambientais a ser enfrentados. Isso devido à extensa utilização de compostos químicos industriais, herbicidas, pesticidas etc. Todavia, em razão de suas ações catalíticas, as lacases podem degradar uma variedade de xenobióticos, hidrocarbonetos aromáticos policíclicos (PAHs), compostos fenólicos, antibióticos,

entre outros. Desse modo, essa enzima tem potencial na biorremediação e tratamento de efluentes industriais e hospitalares (DANA *et al.* 2017; DEBNATH; SAHA 2020; VISWANATH *et al.* 2014).

## 6 CONCLUSÃO

Foi constatada a influência de diversos fatores na produção de lacases fúngicas. Os principais tratados foram a composição do meio, presença de indutores e espécie fúngica. Todavia, existe uma abordagem sistemática para a produção de lacases.

Os indutores mostraram-se eficientes na melhora da produtividade e da atividade catalítica das lacases de forma que tornam viáveis o estudo da produção em escalas maiores. Entretanto, notou-se que não existe um indutor padrão para os fungos e, portanto, é preciso fazer uma otimização do tipo e concentração de indutores para cada cepa fúngica.

Os indutores naturais apresentaram-se adequados para reduzirem os custos do cultivo e substituírem parcialmente os indutores sintéticos, por serem baratos, abundantes e simularem o habitat dos fungos, o que permite ampliar suas aplicações para fonte de nutrientes e suporte.

Os estudos sobre utilização da enzima lacase em variados processos mostram seu potencial biotecnológico e atuam como uma boa justificativa para dar-se continuidade às pesquisas sobre a enzima a fim de obter-se uma maneira de aplicá-la em larga escala.

## REFERÊNCIAS

AKPINAR, M.; OZTURK UREK, R. Induction of fungal laccase production under solid state bioprocessing of new agroindustrial waste and its application on dye decolorization. **3 Biotech**, v. 7, n. 2, p. 1–10, 2017. Springer Berlin Heidelberg. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1007/s13205-017-0742-5>. Acesso em: 15 de nov. 2021

ALMEIDA, P. H. *et al.* Decolorization of remazol brilliant blue R with laccase from *lentinus crinitus* grown in agro-industrial by-products. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v. 90, n. 4, p. 3463–3473, 2018. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/aabc/a/SJwdN3DzXbHgm6LPksyDfnG/?lang=en>. Acesso em: 20 de out. 2021.

AN, Q. *et al.* Enhanced laccase activity of white rot fungi induced by different metal ions under submerged fermentation. **BioResources**, v. 15, n. 4, p. 8369–8383, 2020. Disponível em: <https://bioresources.cnr.ncsu.edu/resources/enhanced-laccase-activity-of-white-rot-fungi-induced-by-different-metal-ions-under-submerged-fermentation/>. Acesso em: 15 de nov. 2021.

AN, Q. *et al.* Evaluation of laccase production by two white-rot fungi using solid-state fermentation with different agricultural and forestry residues. **BioResources**, v. 16, n. 3, p. 5287–5300, 2021. Disponível em: <https://bioresources.cnr.ncsu.edu/resources/evaluation-of-laccase-production-by-two-white-rot-fungi-using-solid-state-fermentation-with-different-agricultural-and-forestry-residues/>. Acesso em: 15 de nov. 2021.

AN, Q.; *et al.* Effects of Different Induction Media as Inducers on Laccase Activities of *Pleurotus ostreatus* Strains in Submerged Fermentation. **BioResources**, v. 13, n. 1, p. 1143–1156, 2018. Disponível em: <https://bioresources.cnr.ncsu.edu/resources/effects-of-different-induction-media-as-inducers-on-laccase-activities-of-pleurotus-ostreatus-strains-in-submerged-fermentation/>. Acesso em: 15 de nov. 2021.

BAJPAI, P.; ANAND, A.; BAJPAI, P. K. Bleaching with lignin-oxidizing enzymes. **Biotechnology Annual Review**, v. 12, n. 06, p. 349–378, 2006. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S1387265606120104>. Acesso em: 7 de out. 2021.

BALDRIAN, P. Fungal laccases-occurrence and properties. **FEMS Microbiology Reviews**, v. 30, n. 2, p. 215–242, 2006. Disponível em: <https://academic.oup.com/femsre/article/30/2/215/2367606>. Acesso em: 7 de out. 2021.

BATTISTA, E. *et al.* Enzymatic sensing with laccase-functionalized textile organic biosensors. **Organic Electronics**, v. 40, p. 51–57, 2016. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S1566119916304645>. Acesso em: 16 de out. 2021.

BERTRAND, B.; MARTÍNEZ-MORALES, F.; TREJO-HERNÁNDEZ, M. R. Fungal laccases: Induction and production. **Revista Mexicana de Ingeniería Química**, v. 12, n. 3, p. 473–488, 2013. Disponível em: [http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1665-27382013000300010](http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1665-27382013000300010). Acesso em: 24 de out. 2021.

BERTRAND, B.; MARTÍNEZ-MORALES, F.; TREJO-HERNÁNDEZ, M. R. Upgrading Laccase Production and Biochemical Properties: Strategies and Challenges. **Biotechnology Progress**, v. 33, n. 4, p. 1015–1034, 2017. Disponível em: <https://aiche.onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/btpr.2482>. Acesso em: 03 de nov. 2021.

BIRHANLI, E.; YEŞİLADA, Ö. The effect of various inducers and their combinations with copper on laccase production of *trametes versicolor* pellets in a repeated-batch process. **Turkish Journal of Biology**, v. 41, n. 4, p. 587–599, 2017. Disponível em: <https://www.semanticscholar.org/paper/The-effect-of-various-inducers-and-their-with-on-of-Birhanli-Yeşilada/b3c923ccea5a1bfbcf0055b9c968ff3b0009ce6>. Acesso em: 10 de nov. 2021.

CHRISTOPHER, L. P.; YAO, B.; JI, Y. Lignin biodegradation with laccase-mediator systems. **Frontiers in Energy Research**, v. 2, n. MAR, p. 1–13, 2014. Disponível em: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fenrg.2014.00012/full>. Acesso em: 07 de out. 2021.

DAÂSSI, D. *et al.* Degradation of bisphenol A by different fungal laccases and identification of its degradation products. **International Biodeterioration and Biodegradation**, v. 110, p. 181–188, 2016. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0964830516300865>. Acesso em: 10 de nov. 2021.

DANA, M. *et al.* Biotechnological and industrial applications of laccase: A review. **Journal of Applied Biotechnology Reports**, v. 4, n. 4, p. 675–679, 2017. Disponível em: [http://www.biotechrep.ir/article\\_67497.html](http://www.biotechrep.ir/article_67497.html). Acesso em: 09 de nov. 2021.

DEBNATH, R.; SAHA, T. An insight into the production strategies and applications of the ligninolytic enzyme laccase from bacteria and fungi. **Biocatalysis and Agricultural Biotechnology**, v. 26, n. August 2019, p. 101645, 2020. Elsevier Ltd. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.bcab.2020.101645>. Acesso em: 09 de nov. 2021.

DU, W. *et al.* Production of a novel laccase from *Paraphoma* Sp. **Biocatalysis and Biotransformation**, v. 36, n. 4, p. 324–331, 2018. Informa UK Limited, trading as Taylor & Francis Group. Disponível em: <https://doi.org/10.1080/10242422.2018.1448798>. Acesso em: 10 de nov. 2021.

EL-BATAL, *et al.* Laccase production by *Pleurotus ostreatus* and its application in synthesis of gold nanoparticles. **Biotechnology Reports**, v. 5, n. 1, p. 31–39, 2015. Elsevier B.V. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.btre.2014.11.001>. Acesso em: 09 de nov. 2021.

GALHAUP, C.; HALTRICH, D. Enhanced formation of laccase activity by the white-rot fungus *Trametes pubescens* in the presence of copper. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 56, n. 1–2, p. 225–232, 2001. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/11499935/>. Acesso em: 09 de out. 2021.

GALHAUP, C. *et al.* Increased production of laccase by the wood-degrading basidiomycete *Trametes pubescens*. **Enzyme and Microbial Technology**, v. 30, n. 4, p. 529–536, 2002. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0141022901005221>. Acesso em: 09 de out. 2021.

HAN, M. L. *et al.* Evaluation of Laccase Activities by Three Newly Isolated Fungal Species in Submerged Fermentation With Single or Mixed Lignocellulosic Wastes. **Frontiers in Microbiology**, v. 12, n. June, p. 1–11, 2021. Disponível em: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fmicb.2021.682679/full>. Acesso em: 09 de nov. 2021.

TEN HAVE, R.; TEUNISSEN, P. J. M. Oxidative mechanisms involved in lignin degradation by white-rot fungi. **Chemical Reviews**, v. 101, n. 11, p. 3397–3413, 2001. Disponível em: <https://pubs.acs.org/doi/10.1021/cr000115l>. Acesso em: 08 de out. 2021.

HERNÁNDEZ, C. *et al.* Laccase induction by synthetic dyes in *Pycnoporus sanguineus* and their possible use for sugar cane bagasse delignification. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 101, n. 3, p. 1189–1201, 2017. Applied Microbiology and Biotechnology. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1007/s00253-016-7890-0>. Acesso em: 05 de nov. 2021.

HUBER, D. *et al.* Laccase catalyzed elimination of morphine from aqueous systems. **New Biotechnology**, v. 42, p. 19–25, 2018. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1871678417300808>. Acesso em: 09 de nov. 2021.

ISANAPONG, J. *et al.* Utilization of Organic Wastes for Laccase Production by *Pleurotus ostreatus*. **The Journal of King Mongkut's University of Technology North Bangkok**, v. 10, n. 3, p. 239–244, 2017. Disponível em: <http://ojs.kmutnb.ac.th/index.php/ijst/article/view/1132>. Acesso em: 05 de nov. 2021.

JANUSZ, G. *et al.* Laccase properties, physiological functions, and evolution. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 21, n. 3, 2020. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7036934/>. Acesso em: 05 de nov. 2021.

KANDASAMY, S. *et al.* High level secretion of laccase (LccH) from a newly isolated white-rot basidiomycete, *Hexagonia hirta* MSF2. **Frontiers in Microbiology**, v. 7, n. MAY, p. 1–12, 2016. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4870842/>. Acesso em: 07 de nov. 2021.

KARAS, P. A. *et al.* Potential for bioremediation of agro-industrial effluents with high loads of pesticides by selected fungi. **Biodegradation**, v. 22, n. 1, p. 215–228, 2011. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20635121/>. Acesso em: 07 de nov. 2021.

LI, H.-X. *et al.* In vivo and in vitro decolorization of synthetic dyes by laccase from solid state fermentation with *Trametes* sp. SYBC-L4. **Bioprocess and Biosystems Engineering**, v. 37, n. 12, p. 2597–2605, 2014. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s00449-014-1237-y>. Acesso em: 07 de nov. 2021.

LU, R. *et al.* White-rot fungus *Ganoderma* sp.En3 had a strong ability to decolorize and tolerate the anthraquinone, indigo and triphenylmethane dye with high concentrations. **Bioprocess and Biosystems Engineering**, v. 39, n. 3, p. 381–390, 2016. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26684007/>. Acesso em: 06 de nov. 2021.

MACIEL, M. J. M.; CASTRO E SILVA, A.; RIBEIRO, H. C. T. Industrial and biotechnological applications of ligninolytic enzymes of the basidiomycota: A review. **Electronic Journal of Biotechnology**, v. 13, n. 6, p. 1–13, 2010. Disponível em: [https://www.mendeley.com/catalogue/2bb9c794-0224-336c-8048-adcb8795537f/?utm\\_source=desktop&utm\\_medium=1.19.8&utm\\_campaign=open\\_catalog&userDocumentId=%7B318bfdea-8fab-467d-bc57-3c518349d65e%7D](https://www.mendeley.com/catalogue/2bb9c794-0224-336c-8048-adcb8795537f/?utm_source=desktop&utm_medium=1.19.8&utm_campaign=open_catalog&userDocumentId=%7B318bfdea-8fab-467d-bc57-3c518349d65e%7D). Acesso em: 10 de nov. 2021.

MARTANI, F.; BELTRAMETTI, F.; PORRO, D.; BRANDUARDI, P.; LOTTI, M. The importance of fermentative conditions for the biotechnological production of lignin modifying enzymes from white-rot fungi. **FEMS microbiology letters**, v. 364, n. 13, p. 1–18, 2017. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28655193/>. Acesso em: 05 de nov. 2021.

MAZLAN, S. Z.; LEE, Y. H.; HANIFAH, S. A. A new Laccase based biosensor for tartrazine. **Sensors (Switzerland)**, v. 17, n. 12, p. 1–12, 2017. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5750762/>. Acesso em: 10 de nov. 2021.

NASCIMENTO E SILVA ALENCAR, V. *et al.* Resíduos Agroindustriais: Uma Alternativa Promissora E Sustentável Na Produção De Enzimas Por Microrganismos, 2020. Disponível em: <https://ciagro.institutoidv.org/ciagro/uploads/1753.pdf>. Acesso em: 04 de nov. 2021.

NATHAN, V. K. *et al.* Biobleaching of waste paper using lignolytic enzyme from *Fusarium equiseti* VKF2: a mangrove isolate. **Cellulose**, v. 25, n. 7, p. 4179–4192, 2018. Springer Netherlands. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s10570-018-1834-z>. Acesso em: 30 de out. 2021.

PALANISAMY, S. *et al.* A novel Laccase biosensor based on laccase immobilized graphene-cellulose microfiber composite modified screen-printed carbon electrode for sensitive determination of catechol. **Scientific Reports**, v. 7, n. 1, p. 1–12, 2017. Nature Publishing Group. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1038/srep41214>. Acesso em: 10 de nov. 2021.

PANDEY, A.; SOCCOL, C. R.; NIGAM, P.; SOCCOL, V. T. Biotechnological potential of agro-industrial residues. I: Sugarcane bagasse. **Bioresource Technology**, v. 74, n. 1, p. 69–80, 2000. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S096085249900142X>. Acesso em: 04 de out. 2021.

PATEL, R. J. Orange peel as an inducer for Laccase production in a novel fungal strain *peyronellaea pinodella* BL-3/4 and optimization of its cultural parameters by single parameter approach. **Indian Journal of Science and Technology**, v. 13, n. 16, p. 1656–1667, 2020. Disponível em: <https://indjst.org/articles/orange-peel-as-an-inducer-for-laccase-production-in-a-novel-fungal-strain-peyronellaea-pinodella-bl-34-and-optimization-of-its-cultural-parameters-by-single-parameter-approach>. Acesso em: 10 de nov. 2021.

PINHEIRO, V. E.; MICHELIN, M.; VICI, A. C.; DE ALMEIDA, P. Z.; TEIXEIRA DE MORAES POLIZELI, M. DE L. *Trametes versicolor* laccase production using agricultural wastes: a comparative study in Erlenmeyer flasks, bioreactor and tray. **Bioprocess and Biosystems Engineering**, v. 43, n. 3, p. 507–514, 2020. Springer Berlin Heidelberg. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s00449-019-02245-z>. Acesso em: 01 de nov. 2021.

REZENDE, R. R.; SOCCOL, C. R.; FRANÇA, L. R. **Biotecnologia aplicada à agroindústria: Fundamentos e aplicações**. 2016. Acesso em: 10 de out. 2021.

RICARDINO, I. E. F.; SOUZA, M. N. C.; NETO, I. F. S. Vantagens E Possibilidades Do Reaproveitamento De Resíduos Agroindustriais. **Alimentos: Ciência, Tecnologia e Meio Ambiente**, v. 1, p. 55–79, 2020. Disponível em: <https://docplayer.com.br/197751399-Vantagens-e-possibilidades-do-reaproveitamento-de-residuos-agroindustriais.html>. Acesso em: 05 de nov. 2021.

RODRIGUES, E. M.; KARP, S. G.; MALUCELLI, L. C.; HELM, C. V.; ALVAREZ, T. M. Evaluation of laccase production by *Ganoderma lucidum* in submerged and solid-state fermentation using different inducers. **Journal of Basic Microbiology**, v. 59, n. 8, p. 784–791, 2019. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/jobm.201900084>. Acesso em: 05 de nov. 2021.

RODRÍGUEZ-COUTO, S. Solid-State Fermentation for Laccases Production and Their Applications. **Current Developments in Biotechnology and Bioengineering**, p. 211–234, 2018. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9780444639905000116?via%3Dihub>. Acesso em: 05 de nov. 2021.

RODRÍGUEZ-COUTO, S. Fungal Laccase: A Versatile Enzyme for Biotechnological Applications. In: A. N. Yadav; S. Mishra; S. Singh; A. Gupta (Orgs.); **Recent Advancement in White Biotechnology Through Fungi: Volume 1: Diversity and Enzymes Perspectives**. p.429–457, 2019. Cham: Springer International Publishing. Disponível em: [https://doi.org/10.1007/978-3-030-10480-1\\_13](https://doi.org/10.1007/978-3-030-10480-1_13). Acesso em: 05 de nov. 2021.

RODRÍGUEZ COUTO, S.; TOCA HERRERA, J. L. Industrial and biotechnological applications of laccases: A review. **Biotechnology Advances**, v. 24, n. 5, p. 500–513, 2006. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0734975006000619?via%3Dihub>. Acesso em: 05 de out. 2021.

ROSALES, E.; RODRÍGUEZ COUTO, S. Reutilisation of food processing wastes for production of relevant metabolites : application to laccase production by *Trametes hirsuta*. , v. 66, p. 419–423, 2005. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0260877404001682?via%3Dihub>. Acesso em: 05 de out. 2021.

SANTANA, T. T. *et al.* Metallic-aromatic compounds synergistically induce *Lentinus crinitus* laccase production. **Biocatalysis and Agricultural Biotechnology**, v. 16, n. June, p. 625–630, 2018. Elsevier Ltd. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.bcab.2018.10.018>. Acesso em: 05 de nov. 2021.

SCHIMIDT, F. **Meio Ambiente e Desenvolvimento Sustentável**. 2019. Acesso em: 05 de nov. 2021.

SOUZA, G. P. N. *et al.* Lacase de *Agaricus subrufescens* cultivado em meio com melão de cana-de-açúcar promove a descoloração de corantes sintéticos. **Research, Society and Development**, v. 9, n. 12, p. e12391210942, 2020. Research, Society and Development. Disponível em: <https://rsdjournal.org/index.php/rsd/article/view/10942>. Acesso em: 25 de out. 2021.

STRONG, P. J.; CLAUS, H. Laccase: A review of its past and its future in bioremediation. **Critical Reviews in Environmental Science and Technology**, v. 41, n. 4, p. 373–434, 2011. Disponível em: <https://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/10643380902945706>. Acesso em: 05 de out. 2021.

VICENTE, A. I. et al. Evolved alkaline fungal laccase secreted by *Saccharomyces cerevisiae* as useful tool for the synthesis of C–N heteropolymeric dye. **Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic**, v. 134, p. 323–330, 2016. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S1381117716301977>. Acesso em: 05 de out. 2021.

VISWANATH, B. *et al.* Fungal laccases and their applications in bioremediation. **Enzyme Research**, v. 2014, 2014. Disponível em: [https://www.hindawi.com/journals/er/2014/163242/?utm\\_source=google&utm\\_medium=cpc&utm\\_campaign=HDW\\_MRKT\\_GBL\\_SUB\\_ADWO\\_PAI\\_DYNA\\_JOUR\\_X&gclid=CjwKCAiA1uKMBhAGEiwAxzvX97nArnPz9YzUMK6sXYtVI3ueqMK4aFIJaojGMSr8IPvBEk7rOWeVehoC0XcQAvD\\_BwE](https://www.hindawi.com/journals/er/2014/163242/?utm_source=google&utm_medium=cpc&utm_campaign=HDW_MRKT_GBL_SUB_ADWO_PAI_DYNA_JOUR_X&gclid=CjwKCAiA1uKMBhAGEiwAxzvX97nArnPz9YzUMK6sXYtVI3ueqMK4aFIJaojGMSr8IPvBEk7rOWeVehoC0XcQAvD_BwE). Acesso em: 06 de out. 2021.

WANG, F. *et al.* Immobilization of Laccase on Magnetic Chelator Nanoparticles for Apple Juice Clarification in Magnetically Stabilized Fluidized Bed. **Frontiers in Bioengineering and Biotechnology**, v. 8, n. July, p. 1–13, 2020. Disponível em: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fbioe.2020.00589/full>. Acesso em: 05 de nov. 2021.

WANG, F. *et al.* Fungal laccase production from lignocellulosic agricultural wastes by solid-state fermentation: A review. **Microorganisms**, v. 7, n. 12, 2019. Disponível em: <https://www.mdpi.com/2076-2607/7/12/665>. Acesso em: 05 de nov. 2021.

YADAV, B. Induction of laccase in fungus, *Cyathus stercoreus* using some aromatic inducers. **Journal of Applied and Natural Science**, v. 10, n. 1, p. 445–447, 2018. Disponível em: <https://journals.ansfoundation.org/index.php/jans/article/view/1648>. Acesso em: 30 de out. 2021.

YANG, J. *et al.* Degradation of tetracycline by immobilized laccase and the proposed transformation pathway. **Journal of Hazardous Materials**, v. 322, p. 525–531, 2017. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0304389416309165>. Acesso em: 28 de out. 2021.

ZDARTA, J. *et al.* The effect of operational parameters on the biodegradation of bisphenols by *Trametes versicolor* laccase immobilized on *Hippospongia communis* spongin scaffolds. **Science of The Total Environment**, v. 615, p. 784–795, 2018. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0048969717325640>. Acesso em: 08 de nov. 2021.