



UNIVERSIDADE FEDERAL DA FRONTEIRA SUL
CAMPUS ERECHIM
CURSO DE ENGENHARIA AMBIENTAL E SANITÁRIA

DANIELE VANIA COPINI

**PEROXIDASES: OBTENÇÃO, RECUPERAÇÃO E APLICAÇÃO NA ÁREA
AMBIENTAL**

ERECHIM

2022

DANIELE VANIA COPINI

**PEROXIDASES: OBTENÇÃO, RECUPERAÇÃO E APLICAÇÃO NA ÁREA
AMBIENTAL**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado
ao curso de Engenharia Ambiental e Sanitária
da Universidade Federal da Fronteira Sul,
campus Erechim apresentado como requisito
para obtenção do título de Bacharel em
Engenharia Ambiental e Sanitária.

Orientadora: Prof^a Dr^a. Helen Treichel

Coorientadora: Me. Aline Frumi Camargo

ERECHIM

2022

Bibliotecas da Universidade Federal da Fronteira Sul - UFFS

Copini, Daniele Vania

Peroxidases: obtenção, recuperação e aplicação na área ambiental / Daniele Vania Copini. -- 2022.
31 f.

Orientadora: Doutora Helen Treichel

Co-orientadora: Mestre Aline Frumi Camargo

Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação) -
Universidade Federal da Fronteira Sul, Curso de
Bacharelado em Engenharia Ambiental e Sanitária,
Erechim, RS, 2022.

1. Peroxidases; microbial peroxidases; mechanisms of action of peroxidases; emerging strategies e peroxidases application. I. Treichel, Helen, orient. II. Camargo, Aline Frumi, co-orient. III. Universidade Federal da Fronteira Sul. IV. Título.

DANIELE VANIA COPINI

**PEROXIDASES: OBTENÇÃO, RECUPERAÇÃO E APLICAÇÃO NA ÁREA
AMBIENTAL**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado
ao curso de Engenharia Ambiental e Sanitária
da Universidade Federal da Fronteira Sul,
campus Erechim apresentado como requisito
para obtenção do título de Bacharel em
Engenharia Ambiental e Sanitária.

Este trabalho de conclusão de curso foi defendido e aprovado pela banca examinadora
em 29/03/2022.

Banca examinadora:



Prof.^a Dr.^a Helen Treichel

Orientadora



Me. Aline Frumi Camargo

Coorientadora



Eng. Natalia Klanovicz

Membro titular

AGRADECIMENTOS

A Deus, pelo dom da vida e por ter sido minha força nesses últimos tempos.

A todos da minha família que realmente me apoiaram e incentivaram durante esta longa jornada. Agradeço em especial a minha mãe Lourdes, por ser essa mulher guerreira, inspiração de todos os meus dias, minhas conquistas serão sempre para te ver feliz. Agradeço ao meu pai Clair, pelo apoio financeiro concedido, principalmente nos primeiros anos de faculdade. Agradeço ao meu irmão Alexandro, pela parceria e companheirismo de vida, pelas felicidades compartilhadas e por todo auxílio prestado neste tempo de graduação.

Agradeço à família May, pelo apoio incondicional e por sempre me receberem de braços abertos, principalmente em tempos de pandemia para poder assistir às aulas. Vocês são mais importantes do que imaginam.

Gratidão ao meu amor, meu melhor amigo, parceiro para todas as horas, presente que Deus colocou em minha vida, meu namorado Fernando. Tu és a pessoa mais maravilhosa do mundo e se estou chegando até aqui é porque você me fez ser forte para tanto. Agradeço também aos meus sogros, por todo apoio e paciência, finalmente a nora de vocês vai se formar.

Agradeço muito à minha estrelinha, vó Helena, que partiu no meio da minha jornada acadêmica, mas que foi a pessoa mais importante para que tudo isso pudesse se tornar realidade. Serei eternamente grata por tudo que a senhora fez e continua fazendo por mim. Gratidão também ao meu avô Antônio, que me acolheu e foi minha companhia durante este último ano de faculdade.

Agradeço de forma especial à minha orientadora Helen Treichel por ser essa pessoa maravilhosa e por ter depositado em mim tamanha confiança, sei que poderia ter sido melhor. Obrigada pelos ensinamentos e por toda paciência durante o tempo de laboratório e TCC. Todos os aprendizados ficarão para a vida. Gratidão à minha coorientadora Aline Frumi Camargo, por ter aceito este compromisso e por não ter medido esforços para me ajudar em todos os momentos. Duas pessoas iluminadas e acolhedoras que transbordam bondade em seus corações, a vocês eu desejo tudo que há de mais bonito neste mundo!

Agradeço também ao pessoal do LAMIBI, por todo o conhecimento a mim repassado nestes anos e pela amizade, que certamente permanecerá.

Gratidão a todos os professores, essenciais para a minha formação, e aos colegas e amigos, sem vocês esta caminhada não faria sentido.

Enfim, agradeço a quem de uma forma ou de outra contribuiu para que o meu sonho se realizasse. Muita luz para todos e que venham os novos desafios!

RESUMO

As altas taxas de poluição ambiental nos últimos anos têm intensificado a preocupação com o meio ambiente e favorecem a implementação de formas para minimização dos impactos ambientais. A utilização de peroxidases como método alternativo de degradação de poluentes vêm se tornando cada vez mais importante para o setor ambiental. O objetivo desta revisão foi compilar dados de artigos publicados entre o período de 2016 a 2022, sobre as fontes microbianas de peroxidases, os mecanismos de ação, as estratégias de melhoramento enzimático e por fim, as aplicações potenciais em biorremediação e bioherbicidas. Neste contexto, destacam-se as peroxidases provenientes de fungos, bactérias e leveduras, como a lignina peroxidase (LiP), a manganês peroxidase (MnP), a peroxidase versátil (VP) e a peroxidase descolorante de corante (DyP). Tendo em vista os desafios para a utilização das peroxidases, como custos para obtenção e baixa estabilidade, foram pesquisadas novas formas de tratamento para auxiliar no melhoramento da atividade enzimática das mesmas, como a utilização de micro-ondas, ultrassom e campos magnéticos, além de condições de reação adequadas e sistemas de imobilização que possibilitam a reutilização das enzimas. Para o mecanismo de ação, o compilado de estudos indica que as peroxidases possuem um grupo heme onde o íon de ferro se encontra no estado de oxidação Fe(III) e este íon é oxidado por uma molécula de peróxido originando a espécie ferrilo Fe(IV)=O que possui alto potencial oxidante, reduzindo-se quando oxida o substrato orgânico da peroxidase, ao final do ciclo, o ferro volta ao estado de oxidação inicial. Por serem capazes de catalisar reações redox para inúmeros substratos, as peroxidases são consideradas importantes catalisadores para diversas aplicações industriais, medicinais e biotecnológicas, principalmente como remediadoras de solos e águas residuais e, ainda podem apresentar função de controle biológico, como bioherbicidas. Percebe-se a importância das peroxidases na área ambiental por serem enzimas versáteis de grande aplicabilidade e a implementação de novas técnicas de otimização de reações contribui para o melhoramento da atividade enzimática o que favorece a utilização das mesmas.

Palavras-chave: Peroxidase. Fontes microbianas. Mecanismo de Ação. Estratégias emergentes. Biorremediação. Bioherbicidas.

ABSTRACT

In recent years, the high rates of environmental pollution have intensified concern for the environment and favored implementing ways to minimize environmental impacts. The use of peroxidases as an alternative method of pollutant degradation has become increasingly crucial for the environmental sector. The objective of this review was to compile data from articles published between 2016 and 2022, on microbial sources of peroxidases, mechanisms of action, enzyme improvement strategies and, finally, potential applications in bioremediation and bioherbicides. Because of the challenges for the use of peroxidases, such as costs for obtaining and low stability, new forms of treatment were researched to help improve their enzymatic activity, such as the use of microwaves, ultrasound, and magnetic fields, in addition to suitable reaction conditions and immobilization systems that enable the reuse of enzymes. In this context, peroxidases from fungi, bacteria and yeasts stand out, such as lignin peroxidase (LiP), manganese peroxidase (MnP), versatile peroxidase (VP) and bleaching dye peroxidase (DyP). The compilation of studies indicates that the peroxidases have a heme group where the iron ion is in the Fe(III) oxidation state for the mechanism of action. This ion is oxidized by a peroxide molecule, giving rise to the ferryl species Fe(IV)=O what has high oxidizing potential, being reduced when it oxidizes the organic substrate of peroxidase, at the end of the cycle, the iron returns to the initial oxidation state. As they can catalyze redox reactions for numerous substrates, peroxidases are considered important catalysts for various industrial, medicinal and biotechnological applications, mainly as soil and wastewater remediators. They can still have a biological control function, as bioherbicides. The importance of peroxidases in the environmental area for being versatile enzymes of great applicability. The implementation of new techniques of optimization of reactions contributes to the improvement of the enzymatic activity, which favors their use.

Keywords: Peroxidase. Microbial sources. Mechanism of action. Emerging strategies. Bioremediation. Bioherbicides.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	3
2 OBJETIVOS.....	5
2.1 OBJETIVO GERAL.....	5
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	5
3 METODOLOGIA.....	6
4 FONTES MICROBIANAS DE PEROXIDASES	7
5 MECANISMOS DE AÇÃO DAS PEROXIDASES.....	10
6 ESTRATÉGIAS PARA MELHORAMENTO DE ATIVIDADE ENZIMÁTICA E REUTILIZAÇÃO DE PEROXIDASES.....	12
6.1 Imobilização	12
6.2 Sistemas Reacionais	13
6.3 Condições Reacionais.....	14
7 APLICAÇÕES – BIORREMEDIAÇÃO E BIOHERBICIDA	16
7.1 Biorremediação	16
7.2 Bioherbicidas	17
9 CONCLUSÃO	19
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	20

1 INTRODUÇÃO

As últimas décadas vêm sendo marcadas pelo desenvolvimento econômico, industrial e tecnológico aliado ao elevado crescimento populacional no Brasil e no mundo. Estes eventos estão relacionados à escassez de recursos naturais e a alta poluição ambiental (BILAL *et al.*, 2017).

O estabelecimento de regulamentos ambientais e a conscientização por parte da sociedade, forçam cada vez mais o setor industrial a implementar formas de tratamento para os efluentes e os resíduos sólidos gerados em seus processos produtivos de acordo com os padrões definidos pela legislação, antes de realizar o descarte no ambiente. Desse modo, se faz necessária a implementação de alternativas que reduzam ou eliminem os impactos ambientais para que se obtenha um ambiente mais saudável (ELY *et al.*, 2016).

Neste contexto, destaca-se a utilização das peroxidases que vêm sendo amplamente estudadas devido às suas funcionalidades e às suas diversas aplicações industriais (BILAL *et al.*, 2018).

Peroxidases são enzimas classificadas como oxirredutases que possuem a função de catalisar reações de oxidação na presença de peróxidos, como o peróxido de hidrogênio, por exemplo (TEKCHANDANI; GURUPRASAD, 1998). As principais fontes de peroxidases são as plantas, os microrganismos e os animais (HAMID; KHALIL-UR-REHMAN, 2009).

Estudos recentes destacam fungos e bactérias, normalmente ligninolíticos, como ótimas fontes para a produção extracelular de peroxidases (SINGH; BILAL; IQBAL; RAJ, 2021). Dentre os microrganismos que produzem peroxidases destacam-se os basidiomicetos conhecidos como fungos da podridão-branca, como o *Phanerochaete chrysosporium* que produz lignina peroxidase (LiP), manganês peroxidase (MnP) e peroxidase versátil (VP) (BIKO; VILJOEN-BLOOM; VAN ZYL, 2020; VENKATADRI; IRVINE, 1993; NAGHDI *et al.*, 2018). Fungos filamentosos dos gêneros *Trichoderma* sp. e *Aspergillus* sp. também são importantes para obtenção de peroxidases (CAMARGO *et al.*, 2020; COLONIA *et al.*, 2019). Já em relação às bactérias, destacam-se as já documentadas *Streptomyces viridosporus* T7A, *Rhodococcus* sp, *Nocardia autotrophica*, *Microbacterium* sp. (FALADE *et al.*, 2017).

De modo geral, enzimas possuem alguns desafios atrelados à sua aplicação, como o alto custo para a obtenção, a falta de reciclabilidade, vida útil curta e baixa estabilidade. Sendo assim, é necessário implementar técnicas de tratamento para que a capacidade de ação das

peroxidases se mantenha constante (BILAL; BARCELÓ; IQBAL, 2020; OLIVEIRA; SANTOS; BUFFON, 2021).

Neste contexto, surgem algumas técnicas que visam melhorar a atividade enzimática das peroxidases, como a utilização de micro-ondas, de ultrassom e de campos magnéticos. Estas técnicas são alternativas que vêm sendo estudadas com a finalidade de otimizar os processos nos quais as peroxidases podem ser inseridas (OLIVEIRA; SANTOS; BUFFON, 2021).

A reutilização de enzimas também emerge como uma estratégia para reduzir o consumo das mesmas e o custo do processo de produção. Uma técnica bastante empregada é a imobilização enzimática que consiste na conversão de uma enzima solúvel na forma insolúvel, ligando-a a um material sólido (PETRONIJEVIĆ *et al.*, 2021).

Por serem capazes de catalisar reações redox para inúmeros substratos, as peroxidases são consideradas importantes catalisadores para diversas aplicações industriais, medicinais e biotecnológicas. Além disso, as peroxidases possuem capacidade de degradar muitos poluentes ambientais, como herbicidas, pesticidas, dioxinas, hidrocarbonetos de petróleo, entre outros (BILAL *et al.*, 2018).

O processo de biorremediação utilizando enzimas microbianas têm se tornado comum nos últimos tempos por ser capaz de degradar poluentes presentes em efluentes industriais, solos contaminados e corpos d'água (DARWESH; MATTER; EIDA, 2019). As peroxidases liberadas pelos microrganismos que atuam nos processos de biorremediação são importantes pois facilitam a biodegradação de poluentes através de catálise diminuindo a energia de ativação (SARAVANAN *et al.*, 2021b).

As enzimas oxirredutases, provenientes de fungos e bactérias, têm se destacado no tratamento de efluentes apresentando grande potencial para remediação de corantes (BILAL *et al.*, 2016). Os efluentes de indústrias têxteis apresentam-se como um problema ao ambiente devido à sua alta carga orgânica, originada pela presença de componentes coloridos tóxicos que podem conter sais, metais pesados, tensoativos, entre outros poluentes. De modo geral, os corantes são compostos estáveis que resistem aos métodos físicos e químicos de tratamento e o acúmulo de lodo pode causar problemas de poluição secundária, portanto, a utilização de enzimas, como as peroxidases, apresenta-se como alternativa promissora na descoloração e degradação de corantes em efluentes (DARWESH; MATTER; EIDA, 2019; OLIVEIRA; SANTOS; BUFFON, 2021).

Assim, este artigo de revisão visa apresentar um panorama da funcionalidade das enzimas peroxidases, abordando tópicos, como a identificação de fontes microbianas de

peroxidases, mecanismo de ação, estratégias para melhoramento de atividade enzimática e por fim, aplicações na área ambiental na forma de biorremediação e bioherbicidas.

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Apresentar uma visão geral da funcionalidade das enzimas peroxidases e suas potenciais aplicações na área ambiental.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Identificar fontes de obtenção de peroxidases, com atenção especial as peroxidases microbianas;
- Explicar possíveis mecanismos de ação das peroxidases;
- Apresentar estratégias e desafios para incrementar a atividade e/ou recuperação da peroxidase em sistemas biotecnológicos;
- Demonstrar aplicações potenciais das peroxidases na área ambiental.

3 METODOLOGIA

No intuito de obter informações no cenário existente sobre peroxidases e sua aplicação ambiental utilizando informações confiáveis para um documento de revisão, o estudo foi desenvolvido por meio da compilação de dados encontrados em bases científicas como: *Scopus*, *Science Direct*, *Google Acadêmico*, *Pubmed* e Periódicos CAPES.

Para isso, foram selecionados artigos entre o período de 2016 e 2022, utilizando as seguintes palavras-chaves em inglês: “*peroxidases*”, “*microbial peroxidases*”, “*mechanisms of action of peroxidases*”, “*emerging strategies*”, e “*peroxidases application*”.

4 FONTES MICROBIANAS DE PEROXIDASES

As peroxidases (EC 1.11.1.X) são enzimas classificadas como oxirredutases que possuem a finalidade de estimular a oxidação de substratos utilizando peróxidos, principalmente o peróxido de hidrogênio (H_2O_2). Estas enzimas possuem formas distintas e são provenientes de várias fontes, como vegetais, animais e microrganismos (OLIVEIRA; SANTOS; BUFFON, 2021).

As peroxidases podem ser consideradas hemicas ou não hemicas. O grupo heme consiste em um grupo prostético composto por um átomo de ferro ligado a um anel orgânico heterocíclico denominado protoporfirina IX (BERTOZO, 2017).

As peroxidases que contém heme podem ser classificadas em dois grupos: o grupo encontrado em animais e o grupo encontrado em microrganismos e plantas, sendo este último dividido em três classes. A Classe I é constituída principalmente por três tipos de enzima: a enzima intracelular, que engloba o citocromo C peroxidase e é produzida por leveduras; a enzima ascorbato peroxidase (APX), que é produzida por plantas e, por fim, a catalase peroxidase, enzima de origem bacteriana. A Classe II envolve a síntese de enzimas por meio de fungos, destacando a lignina peroxidase (LiP) e a manganês peroxidase (MnP). Já a Classe III engloba peróxidos sintetizados por plantas (SHARMA, DANGI E SHUKLA, 2018).

Ainda de acordo com Sharma, Dangi e Shukla (2018), o grupo de peroxidases não hemicas pode ser classificado como tiol peroxidase, alquilhidroperoxidase, haloperoxidase, manganês catalase e NADH peroxidase.

A literatura aborda inúmeras pesquisas sobre peroxidases, e nota-se que, em sua maioria, estão relacionadas à obtenção a partir de fontes vegetais. Embora as fontes vegetais de peroxidases sejam mais abundantes e mais estudadas, muitas pesquisas comprovam a obtenção e viabilidade das mesmas por meio de microrganismos (OLIVEIRA; SANTOS; BUFFON, 2021), conforme apresentado na Tabela 1.

Fungos e bactérias estão ganhando destaque na literatura por serem bons produtores de peroxidase (SINGH; BILAL; IQBAL; RAJ, 2021). Os fungos possuem potencial para sintetizar enzimas de forma intracelular e extracelular, e estas podem ser utilizadas como forma de tratamento para micropoluentes, minimizando assim os impactos ambientais (NAGHDI *et al.*, 2018).

Os basidiomicetos, conhecidos como fungos da podridão-branca, produzem enzimas hidrolíticas e modificadoras de lignina capazes de promover a degradação da madeira na

natureza (METREVELI *et al.*, 2017). A lignina peroxidase (LiP), a manganês peroxidase (MnP), a peroxidase versátil (VP) e a peroxidase descolorante de corante (DyP) são exemplos de enzimas que podem degradar compostos prejudiciais ao ambiente como pesticidas, corantes e outros poluentes orgânicos (BIKO; VILJOEN-BLOOM; VAN ZYL, 2020; ZHANG *et al.*, 2019; SALDARRIAGA-HERNÁNDEZ *et al.*, 2020). O *Trichoderma* sp. e o *Aspergillus* sp. são exemplos de gêneros de fungos filamentosos que produzem lignina peroxidase (CAMARGO *et al.*, 2020; COLONIA *et al.*, 2019).

A lignina peroxidase e a manganês peroxidase são as enzimas mais estudadas e que apresentam maior potencial para a degradação de substâncias tóxicas (SHARMA; DANGI; SHUKLA, 2018). Em estudos realizados por Zhang *et al.* (2019) e Barber, Liu e Smith (2020), foi relatado que as peroxidases do tipo manganês e lignina possuem capacidade de degradar antibióticos como ciprofloxacina, norfloxacina e sulfametoxazol, além de poluentes que contenham fenóis.

As bactérias são microrganismos caracterizados por possuírem crescimento acelerado, maior resistência às adversidades do ambiente e maior destreza quanto à capacidade de manuseio de seu genoma, quando comparadas aos fungos. Algumas bactérias também produzem peroxidases e esta síntese acontece de forma extracelular (FALADE *et al.*, 2017).

As bactérias dos gêneros *Pseudomonas* sp., *Bacillus* sp. e *Streptomyces* sp. são exemplos de microrganismos dos quais pode-se obter peroxidases (MOUSSAVI; HADDAD, 2019; FALADE *et al.*, 2017).

As leveduras são fungos unicelulares de grande importância desde a antiguidade (HITTINGER; STEELE; RYDER, 2018). Comparando com bactérias e fungos filamentosos, pode-se afirmar que as leveduras possuem maior resistência às alterações de pH e maior capacidade de biodegradação de poluentes (ALI; AL-TOHAMY; SUN, 2022a).

Algumas leveduras isoladas de *Coptotermes formosanus*, uma espécie de cupim que se alimenta de madeira, vem sendo estudadas com o objetivo de produzir a enzima manganês peroxidase (MnP) que hidrolisa substratos de lignina na natureza e pode ser utilizada para degradar corantes (ALI; AL-TOHAMY; SUN, 2022a). Embora alguns estudos demonstrem a importância das leveduras, a literatura apresenta lacunas em relação à produção de peroxidases por meio deste tipo de fungo.

Tabela 1: Exemplos de microrganismos produtores de peroxidases.

Microrganismos	Espécies	Enzimas sintetizadas	Referências
Fungos	<i>Phanerochaete chrysosporium</i>	Lignina Peroxidase (LiP); Manganês Peroxidase (MnP)	ZHANG <i>et al.</i> (2019)
	<i>Phanerochaete sordida</i> YK-624	Lignina Peroxidase (LiP); Manganês Peroxidase (MnP)	WANG <i>et al.</i> (2021)
	<i>Pleurotus eryngii</i>	Peroxidase versátil (VP)	(ĐURĐIĆ <i>et al.</i> (2020)
	<i>Phlebia radiata</i>	Manganês Peroxidase (MnP)	MÄKINEN <i>et al.</i> (2018)
	<i>Pleurotus ostreatus</i>	Manganês Peroxidase (MnP)	BILAL <i>et al.</i> (2021); KÓZKA <i>et al.</i> (2020)
	<i>Bjerkandera adusta</i>	Peroxidase versátil (VP); Peroxidase descolorante de corante (DyP)	NAGHDI <i>et al.</i> (2018); SÁNCHEZ-ALEJANDRO <i>et al.</i> (2016); TIAN <i>et al.</i> (2016)
	<i>Trichoderma koningiopsis</i>	Lignina Peroxidase (LiP)	CAMARGO <i>et al.</i> (2020)
	<i>Aspergillus oryzae</i>	Lignina Peroxidase (LiP)	FAN <i>et al.</i> (2019)
Bactérias	<i>Bacillus subtilis</i>	Peroxidase descolorante de corante (DyP)	DHANKHAR <i>et al.</i> (2020)
	<i>Pseudomonas putida</i> MET94	Peroxidase descolorante de corante (DyP)	BARBOSA <i>et al.</i> (2020)
	<i>Rhodococcus jostii</i> RHA1	Peroxidase descolorante de corante (DyP)	TIAN <i>et al.</i> (2016)
	<i>Serratia liquefaciens</i>	Lignina Peroxidase (LiP)	HAQ <i>et al.</i> (2016)
Leveduras	<i>Meyerozyma caribbica</i>	Manganês Peroxidase (MnP)	ALI; AL-TOHAMY; SUN (2022)
	<i>Debaryomyces hansenii</i>	Manganês Peroxidase (MnP)	ALI <i>et al.</i> (2019); ALI <i>et al.</i> (2022b)
	<i>Vanrija humicola</i>	Manganês Peroxidase (MnP)	ALI <i>et al.</i> (2019); ALI <i>et al.</i> (2022b)

5 MECANISMOS DE AÇÃO DAS PEROXIDASES

As enzimas são proteínas que possuem um sítio ativo ao qual o substrato associa-se favorecendo a ocorrência da reação catalisada (SANTACRUZ-JUÁREZ *et al.*, 2021). O mecanismo de reação das enzimas oxirredutases é estimulado por uma diferença de potencial que ocorre entre o centro ativo destas enzimas e o substrato (BARBER; LIU; SMITH, 2020).

As peroxidases possuem capacidade de catalisar reações como peroxidação, oxidação, decomposição catalítica e hidroxilação (OLIVEIRA; SANTOS; BUFFON, 2021). Elas podem ser classificadas como hemicas quando contém o grupo prostético heme protoporfirina IX (BIKO; VILJOEN-BLOOM; VAN ZYL, 2021), que consiste em um sistema de anéis heterocíclicos unidos com um átomo de Fe(II), no estado ferroso, ocupando a posição central do anel.

As peroxidases classificadas como hemicas possuem um grupo heme onde o íon de ferro se encontra no estado de oxidação Fe(III) entre ciclos catalíticos. Este íon é oxidado por uma molécula de peróxido originando a espécie ferrilo Fe(IV)=O, onde um átomo de oxigênio liga-se por uma ligação dupla ao íon Fe⁴⁺. A espécie química ferrilo possui alta capacidade oxidante reduzindo-se quando oxida o substrato orgânico da peroxidase. No fim do ciclo catalítico, o ferro volta ao estado de oxidação inicial.

As peroxidases classificadas como hemicas contém o grupo prostético heme protoporfirina IX (BIKO; VILJOEN-BLOOM; VAN ZYL, 2021), que consiste em um sistema de anéis heterocíclicos unidos com um átomo de Fe(II), no estado ferroso, ocupando a posição central do anel.

Os mecanismos catalíticos das peroxidases ocorrem em várias etapas e são semelhantes para LiP e MnP, sendo assim, explicados sob um ponto de vista comum (BIKO; VILJOEN-BLOOM; VAN ZYL, 2021; NAGHDI *et al.*, 2018). Na primeira etapa da reação peroxidativa, a interação entre o átomo férrico (Fe III) do grupo heme e o peróxido de hidrogênio (H₂O₂) produz hidroperóxido férrico, onde ocorre a protonação do oxigênio distal originando assim, o composto I. Na segunda etapa, o composto formado é caracterizado pela espécie ferrila (Fe IV=O) que se liga à porfirina radical. Esta redução produz o composto II, onde o ferro ainda é encontrado no estado de Fe IV mas sem o radical porfirina. Para originar o composto III na terceira etapa, uma molécula de oxigênio liga-se ao Fe II da peroxidase (OLIVEIRA; SANTOS; BUFFON, 2021).

As peroxidases conhecidas como descolorantes de corantes (DyPs) também são peroxidases hemicas que possuem capacidade de degradar lignina e outros compostos pela oxidação de mediadores redox (SALDARRIAGA-HERNÁNDEZ *et al.*, 2020; GONZALO *et al.*, 2016).

Já a peroxidase versátil (VP), embora tenha o mecanismo de ação semelhante a todas as outras peroxidases, possui uma diferença em relação à Lignina e à Manganês Peroxidase, apresentando uma oxidação eficiente de Mn(II) à Mn(III) e Mn(II), sendo essa transformação independente de substratos aromáticos. Esta característica de atividade independente que as VPs possuem têm favorecido a aplicação das mesmas na oxidação fenólica e não fenólica de corantes industriais e, além disso, a geração de Mn(III) contribui para a oxidação de diferentes poluentes (NAGHDI *et al.*, 2018).

6 ESTRATÉGIAS PARA MELHORAMENTO DE ATIVIDADE ENZIMÁTICA E REUTILIZAÇÃO DE PEROXIDASES

6.1 Imobilização

As enzimas vêm sendo cada vez mais utilizadas como biocatalisadores substituindo catalisadores químicos em vários tipos de processos. Esta substituição tem propiciado a obtenção de novas enzimas e estimulado o melhoramento da atividade de enzimas já consolidadas (BERNAL; RODRÍGUEZ; MARTÍNEZ, 2018).

A imobilização enzimática é um exemplo de técnica que pode ser utilizada para viabilizar o reuso de enzimas e desta forma, reduzir os custos do processo. A imobilização enzimática consiste em agregar uma enzima solúvel a um suporte sólido estável para gerar uma espécie enzimática insolúvel. O objetivo desta técnica é proporcionar à enzima alta atividade catalítica e alta estabilidade em relação às condições adversas do ambiente, como altas temperaturas e valores extremos de pH, além disso, também propicia o reuso da enzima e pode evitar a desnaturação ou inibição da mesma (BERNAL; RODRÍGUEZ; MARTÍNEZ, 2018; SARAVANAN *et al.*, 2021b; VIANCELLI *et al.*, 2020).

As enzimas, em geral, podem ser imobilizadas por diferentes métodos, como a encapsulação em membranas poliméricas, a adsorção em materiais hidrofóbicos, a ligação covalente a uma matriz insolúvel ou por reticulação, entre outros (FURLANI *et al.*, 2020).

O encapsulamento é um método de imobilização caracterizado como físico e irreversível onde a enzima fica confinada em um suporte. O objetivo desta técnica é reciclar enzimas para que possam ser reutilizadas, evitando que as mesmas se degradem em função das condições do ambiente (BIALAS; REICHINGER; BECKER, 2021).

A encapsulação em membranas poliméricas é um tipo de encapsulamento que ocorre por meio da síntese da rede polimérica ao redor da enzima, fazendo com que a enzima fique aprisionada em sua estrutura (FURLANI *et al.*, 2020).

A técnica de adsorção enzimática, além de ocorrer por meio de interações hidrofóbicas, também pode ocorrer por meio de ligações de hidrogênio ou força de *Van der Waals*. A adsorção em materiais insolúveis hidrofóbicos consiste na imobilização de enzimas por meio de partículas de característica hidrofóbica. Após o processo de adsorção hidrofóbica, as enzimas mudam suas conformações sofrendo ativação interfacial de forma semelhante ao que ocorre na interface com seu substrato natural (FURLANI *et al.*, 2020; POTA *et al.*, 2021).

A ligação covalente de enzimas a uma matriz insolúvel consiste em uma forte interação química entre as moléculas da enzima e os substratos ativados, melhorando assim, a estabilização da enzima e evitando que a mesma percole para o meio da reação durante o processo (GHASEMI *et al.*, 2021).

As formas de imobilização citadas anteriormente vêm se mostrando importantes pois propiciam o melhoramento das propriedades enzimáticas e da estabilidade da enzima. Aliado a isso, estes métodos favorecem a reutilização dos catalisadores e consequentemente a diminuição nos custos de processo (REMONATO *et al.*, 2022).

6.2 Sistemas Reacionais

Os métodos que envolvem o aperfeiçoamento de reações enzimáticas estão geralmente atrelados a fatores como modificação enzimática, pré-tratamento do substrato e aprimoramento da combinação enzima-substrato. Essas melhorias podem ser alcançadas por meio de métodos químicos, físicos e genéticos (WANG *et al.*, 2018).

Ao mesmo tempo que foram descritos e implementados vários inibidores e formas de tratamento físico para a atividade de enzimas, a influência de novas abordagens de tratamento como o tratamento ultrassônico, a radiação de micro-ondas e os campos magnéticos, além de novas formas de inativação de enzimas, como a alta pressão hidrostática e o dióxido de carbono em fase densa, são métodos que ainda estão em aprimoramento (LI; TANG, 2021; POKHREL *et al.*, 2022).

A utilização de irradiação por meio de micro-ondas tem se mostrado uma alternativa para fornecimento de energia para sistemas químicos. As micro-ondas promovem a expansão da temperatura e das taxas de reação das enzimas devido ao aumento da agitação das moléculas em razão da irradiação. Estudos apontam que após pré-tratamento por micro-ondas, as atividades enzimáticas de peroxidases de farelo de arroz aumentaram significativamente (107,4%) em relação à enzima sem pré-tratamento. Portanto, as micro-ondas se mostraram um tratamento promissor para ativação enzimática das peroxidases em geral (OLIVEIRA; SANTOS; BUFFON, 2021).

A técnica de ultrassom é um sistema de ondas sonoras que possuem frequência maior que 20 kHz, ou seja, superior ao limite da audição humana. Esta técnica possui várias aplicações por possuir alta capacidade de penetração e grande direcionalidade, podendo ser utilizada na medicina, esterilização, indústria militar e alimentícia, entre outros (LI; TANG, 2021). Por meio do fenômeno de cavitação, a utilização do ultrassom contribui para o melhoramento enzimático,

e para isso, envolve três mecanismos distintos: o efeito térmico, atrelado à alta temperatura em pequenas áreas, a formação de radicais livres, e por fim, as forças mecânicas cisalhantes (OLIVEIRA; SANTOS; BUFFON, 2021).

Algumas pesquisas indicam que utilizando ultrassom de baixa potência é possível obter o estímulo da atividade enzimática das peroxidases, e que, este estímulo diminui ao ser utilizado ultrassom de alta potência pois exige alto consumo de energia (LI; TANG, 2021).

Em relação à aplicação de campos magnéticos como técnica para melhoramento enzimático, pode-se dizer que os mesmos possuem fácil operação e baixo custo para implementação (OLIVEIRA; SANTOS; BUFFON, 2021). Os campos magnéticos externos possuem capacidade de alterar a cinética de reação dos elétrons que se encontram desemparelhados e que estão envolvidos na atividade catalítica da enzima. Isso gera um estresse oxidativo, provocando alterações na atividade, na concentração e no tempo de vida dos radicais livres envolvidos na reação (FRAGA *et al.*, 2019; OLIVEIRA; SANTOS; BUFFON, 2021; EMANDADI; GHOLIZADEH; HOUSAINDOKHT, 2021).

Outros estudos ainda indicam que, para melhorar os parâmetros operacionais das enzimas, pode-se utilizar métodos de engenharia de proteínas que incluem evolução direta e desenho racional de proteínas, estas técnicas promovem uma melhoria mais direta das propriedades catalíticas das enzimas (WASAK *et al.*, 2019).

6.3 Condições Reacionais

Existem alguns parâmetros que podem auxiliar na obtenção de melhores condições para as reações enzimáticas. Alguns destes parâmetros são o pH, a temperatura, o tempo de reação, a constante K_m de Michaelis-Menten e a velocidade máxima V_{max} . A constante K_m mede o grau de afinidade que a enzima tem pelo substrato, portanto quanto menor for o valor dessa constante, mais afinidade a enzima terá pelo substrato (OLIVEIRA; SANTOS; BUFFON, 2021).

As enzimas em geral, consideradas catalisadores verdes, possuem uma grande exploração industrial para aplicação em remediação por funcionarem em amplas faixas de pH e temperatura. Entretanto, sabe-se que a atividade enzimática pode ser muito afetada pelo pH (BILAL *et al.*, 2017).

De acordo com estudos, as enzimas possuem uma faixa de pH ótimo na qual atingem a máxima atividade catalítica, sendo que para a maioria das peroxidases essa faixa está entre 5 e 6. A faixa de pH ótimo pode ser explicada pela ionização de cadeias laterais de aminoácidos

presentes no sítio ativo da enzima que participam de interações que mantêm a estrutura proteica. Sendo assim, o pH adequado favorece a taxa de reação máxima e a desnaturação das proteínas pode ser evitada (OLIVEIRA; SANTOS; BUFFON, 2021).

Ainda de acordo com Oliveira, Santos e Buffon (2021), outro fator que influencia muito na atuação das enzimas é a temperatura, já que o aumento da temperatura de uma reação aumenta a energia disponível para os reagentes atingirem o estado de transição. Entretanto, sabe-se que a exposição de enzimas a temperaturas muito altas provoca a desnaturação das proteínas. Os autores relatam que a temperatura ideal obtida para a atividade da peroxidase varia de 15 a 70°C, e que ao passar deste valor, sua atividade diminui cerca de 58,8%, chegando à completa inativação a 90°C.

Com base nisso, as técnicas de tratamento e melhoramento enzimático, aliadas às boas condições operacionais, propiciam melhor aproveitamento das enzimas favorecendo a reutilização das mesmas, além de minimizar custos e tempo hábil.

7 APLICAÇÕES – BIORREMEDIAÇÃO E BIOHERBICIDA

7.1 Biorremediação

A biorremediação é um processo que consiste no tratamento biológico de águas residuais ou solos contaminados utilizando microrganismos como fungos, bactérias e leveduras, com a finalidade de degradar poluentes em formas menos tóxicas (SARAVANAN *et al.*, 2021a; SARAVANAN *et al.*, 2021b). Os microrganismos podem fazer a decomposição dos poluentes orgânicos utilizando-os com fontes de carbono e energia, podem realizar a degradação através de cometa-bolismo, alterando as características de solubilidade em água e reduzindo a toxicidade (DZIOŃEK; WOJCIESZYŃSKA; GUZIK, 2016).

Existem inúmeras técnicas que podem ser implementadas para tratar efluentes ou solos contaminados, entretanto, a biorremediação se mostra mais vantajosa por ser de fácil operação, ter custo reduzido e possuir abordagem ambientalmente correta (SARAVANAN *et al.*, 2021b). A utilização de biomassa de microrganismos para degradar contaminantes resulta em um processo lento que diminui a viabilidade da aplicação da biorremediação. Entretanto, as enzimas têm se mostrado promissoras para amenizar este problema (SHARMA; DANGI; SHUKLA, 2018).

Os microrganismos utilizados no processo de biorremediação sintetizam vários tipos de enzimas como o grupo das oxirredutases, que inclui as oxigenases e as peroxidases, e o grupo das hidrolases, que engloba as lipases por exemplo (SARAVANAN *et al.*, 2021b; SHARMA; DANGI; SHUKLA, 2018).

As enzimas são consideradas ótimas ferramentas para a realização da biorremediação de águas residuais, favorecendo a redução da poluição ambiental. Elas são responsáveis por catalisar reações utilizando diversos substratos (BILAL, 2018). Neste contexto, as peroxidases atuam na biorremediação catalisando reações de redução na presença de peróxido de hidrogênio (H_2O_2), gerando assim, radicais livres reativos durante a oxidação de compostos orgânicos.

As enzimas chamadas de ligninolíticas, sintetizadas por microrganismos, possuem capacidade de degradar de forma eficiente os poluentes industriais como polímeros recalcitrantes e corantes, que podem estar presentes em águas residuais. A lignina peroxidase e a manganês peroxidase são exemplos de enzimas ligninolíticas (ALI; AL-TOHAMY; SUN, 2022).

As peroxidases de manganês (EC 1.11.1.13) são um tipo de enzima glicoproteica extracelular que hidrolisa substratos de lignina na natureza. As peroxidases de manganês são as enzimas mais importantes durante o catabolismo fúngico da lignina e estão ganhando destaque na biorremediação devido à sua capacidade de hidrolisar lignina (ALI; AL-TOHAMY; SUN, 2022a). Estas enzimas oxidam Mn^{2+} originando Mn^{3+} que posteriormente catalisa a oxidação de estruturas fenólicas e radicais fenoxi (BILAL *et al.*, 2017).

As peroxidases, provenientes de *Phanerochaete chrysosporium* por exemplo, são responsáveis pela degradação de compostos nitroaromáticos TNT (2,4,6-trinitrotolueno) (SHARMA; DANGI; SHUKLA, 2018).

A lignina peroxidase (EC 1.11.1.14) possui propriedades capazes de oxidar compostos aromáticos gerando radicais livres catiônicos que através de suas múltiplas vias, favorecem reações como abertura de anel, desmetilação e dimerização de fenol (BILAL *et al.*, 2017).

Outra enzima ligninolítica muito aplicada na biorremediação é a peroxidase versátil (EC 1.11.1.16). Esta enzima é uma forma híbrida da manganês peroxidase e da lignina peroxidase, e apresenta propriedades similares às mesmas, sendo capaz de oxidar compostos com ou sem fenóis de forma parecida com a catálise realizada pela manganês peroxidase (TEIXEIRA; SIQUEIRA; BATISTA, 2016).

Atualmente, a presença de poluentes em concentrações elevadas, como hidrocarbonetos, pesticidas, metais pesados e produtos de origem petrolífera persistem no meio ambiente sendo provenientes dos setores industriais e agrícolas (SHARMA; DANGI; SHUKLA, 2018; LI; LI; ZHOU, 2021). Em função disso, os solos estão cada vez mais contaminados prejudicando a biota existente e consequentemente levando à degradação ambiental. As peroxidases podem ser boas alternativas para biodegradar inúmeros compostos encontrados em águas e solos contaminados.

7.2 Bioherbicidas

A produção agrícola tem aumentado consideravelmente nos últimos anos e as ervas daninhas têm se apresentado como um problema potencial (SOUZA *et al.*, 2017). A competição por nutrientes, que podem estar presentes no solo e na água, acaba ocasionando perdas de rendimento e danos à qualidade da produção (CAMARGO *et al.*, 2020).

Sabe-se que a utilização de produtos químicos para o controle de ervas daninhas favorece o aumento da produção agrícola, entretanto, o uso demasiado destes produtos vem

ocasionando danos à saúde humana e ao ambiente, e além disso, estimula o aumento da resistência das plantas daninhas (CAVALCANTE *et al.*, 2021; SOUZA *et al.*, 2017).

Com base nestas informações e na preocupação que se tem atualmente com a preservação ambiental, formas de controle biológico vêm sendo implementadas com a finalidade de amenizar a poluição ocasionada principalmente por herbicidas utilizados no controle de plantas invasoras.

Os bioherbicidas são uma forma alternativa de controle para ervas daninhas nas plantações. Originados à base de plantas ou de microrganismo fitopatogênicos, este tipo de herbicida afeta somente a planta alvo, apresenta baixa toxicidade e é adequado para produção de alimentos orgânicos (CAMARGO *et al.*, 2020).

Em seus trabalhos, Camargo *et al.* (2020), Ulrich *et al.* (2021) e Cavalcante *et al.* (2021) comprovaram que a aplicação de *Trichoderma koningiopsis* causou fitotoxicidade em ervas daninhas e em plantas de pepino, confirmando assim, que as peroxidases encontradas no fungo possuem potencial bioherbicida.

9 CONCLUSÃO

Esta revisão realizou uma abordagem sobre as peroxidases de fontes microbianas, mecanismos de ação, estratégias de melhoramento e principais aplicações na área ambiental. Com base nisso, conclui-se que a aplicação das peroxidases como forma de diminuir a degradação ambiental vêm se tornando um método promissor, pois esta classe de enzimas possui potencial considerável na transição energética e pesquisas em relação ao seu mecanismo de ação têm facilitado o aprimoramento destas enzimas.

A lignina peroxidase (LiP), a manganês peroxidase (MnP) e a peroxidase versátil (VP) se destacam na biodegradação de inúmeros poluentes, contribuindo para um meio ambiente mais saudável.

Observa-se também uma tendência no uso de métodos alternativos para melhorar a transferência de massa nas reações enzimáticas das peroxidases, como os tratamentos de ultrassom, micro-ondas e campos magnéticos, que visam eliminar a necessidade de produtos químicos. Dessa forma, atualmente busca-se processos que sejam eficientes e ecologicamente corretos visando desenvolvimento mais sustentáveis.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALI, Sameh Samir; AL-TOHAMY, Rania; SUN, Jianzhong. Performance of *Meyerozyma caribbica* as a novel manganese peroxidase-production yeast inhabiting wood-feeding termite gut symbionts for azo dye decolorization and detoxification. **Science Of The Total Environment**, v. 806, p. 150665, fev. 2022a.
- ALI, Sameh Samir; AL-TOHAMY, Rania; KHALIL, Maha A., HO, Shih-Hsin; FU, Yinyi; SUN, Jianzhong. Exploring the potential of a newly constructed manganese peroxidase-producing yeast consortium for tolerating lignin degradation inhibitor while simultaneously decolorizing and detoxifying textile azo dye wastewater. **Bioresource Technology**, p. 126861, 17 febr. 2022.b
- ALI, Sameh Samir; AL-TOHAMY, Rania; SUN, Jianzhong; WU, Jian; HUIZI, Liu. Screening and construction of a novel microbial consortium SSA-6 enriched from the gut symbionts of wood-feeding termite, *Coptotermes formosanus* and its biomass-based biorefineries. **Fuel**, v. 236, p. 1128-1145, 15 jan. 2019.
- BARBER, Edward A.; LIU, Ziyi; SMITH, Stephen R. Organic Contaminant Biodegradation by Oxidoreductase Enzymes in Wastewater Treatment. **Microorganisms**, v. 8, p. 122, 16 jan. 2020.
- BARBOSA, Catarina; SILVEIRA, Célia M.; SILVA, Diogo; BRISSOS, Vânia; HILDEBRANT, Peter; MARTINS, Lígia O.; TODOROVIC, Smilja. Immobilized dye-decolorizing peroxidase (DyP) and directed evolution variants for hydrogen peroxidase biosensing. **Biosensors and Bioelectronics**, v. 153, p. 112055, 01 apr. 2020.
- BERNAL, Claudia; RODRÍGUEZ, Karen; MARTÍNEZ, Ronny. Integrating enzyme immobilization and protein engineering: An alternative path for the development of novel and improved industrial biocatalysts. **Biotechnology Advances**, v. 36, p. 1470-1480, sep./oct. 2018.
- BERTOZO, Luiza de Carvalho. **Desenvolvimento de Sonda Fluorescente para Determinação Específica da Atividade Halogenante das Enzimas Mieloperoxidase e Peroxidase de Eosinófilos**. 2017. 128 f. Dissertação (Mestrado) - Faculdade de Ciências, Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Materiais, Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Bauru – SP, 2017.
- BIALAS, Friedrich; REICHINGER, Daniela; BECKER, Christian Fw. Biomimetic and biopolymer-based enzyme encapsulation. **Enzyme And Microbial Technology**, v. 150, p. 109864, oct. 2021.
- BIKO, Odwa D.V.; VILJOEN-BLOOM, Marinda; VAN ZYL, Willem H. Microbial lignin peroxidases: applications, production challenges and future perspectives. **Enzyme And Microbial Technology**, v. 141, p. 109669, nov. 2020.
- BILAL, Muhammad; ASGHER, Muhammad; IQBAL, Munawar; HU, Hongbo; ZHANG, Xuehong. Chitosan beads immobilized manganese peroxidase catalytic potential for

detoxification and decolorization of textile effluent. **International Journal Of Biological Macromolecules**, v. 89, p. 181-189, ago. 2016.

BILAL, Muhammad; ASGHER, Muhammad; PARRA-SALDIVAR, Roberto; HU, Hongbo; WANG, Wei; ZHANG, Xuehong; IQBAL, Hafiz M.N. Immobilized ligninolytic enzymes: an innovative and environmental responsive technology to tackle dye-based industrial pollutants - a review. **Science OfThe Total Environment**, v. 576, p. 646-659, jan. 2017.

BILAL, Muhammad; BARCELÓ, Damiá; IQBAL, Hafiz M.N. Nanostructured materials for harnessing the power of horseradish peroxidase for tailored environmental applications. **Science OfThe Total Environment**, v. 749, p. 142360, dec. 2020.

BILAL, Muhammad; QAMAR, Sarmad Ahmad; YADAV, Vivek; CHENG, Hairong; KHAN, Mujeeb; ADIL, Syed Farooq; TAHERZADEH, Mohammad J.; IQBAL, Hafiz M.N. Exploring the potential of ligninolytic armory for lignin valorization – A way forward for sustainable and cleaner production. **Journal Of Cleaner Production**, v. 326, p. 129420, dec. 2021.

BILAL, Muhammad; RASHEED, Tahir; IQBAL, Hafiz M.N.; YAN, Yunjun. Peroxidases-assisted removal of environmentally-related hazardous pollutants with reference to the reaction mechanisms of industrial dyes. **Science OfThe Total Environment**, v. 644, p. 1-13, dec. 2018.

CAMARGO, Aline Frumi; VENTURIN, Bruno; BORDIN, Eduarda Roberta; SCAPINI, Thamarys; STEFANSKI, Fábio Spitz; KLANOVICZ, Natalia; DALASTRA, Caroline; KUBENECK, Simone; PRECZESKI, Karina Paula; ROSSETTO, Vanusa. A Low-Genotoxicity Bioherbicide Obtained from *Trichoderma koningiopsis* Fermentation in a Stirred-Tank Bioreactor. **Industrial Biotechnology**, v. 16, n. 3, p. 176-181, 1 jun. 2020.

CAVALCANTE, Bianca D'arck Melo; SCAPINI, Thamarys; CAMARGO, Aline Frumi; ULRICH, Alessandro; BONATTO, Charline; DALASTRA, Caroline; MOSSI, Altemir José; FONGARO, Gislaine; PIERO, Robson Marcelo Di; TREICHEL, Helen. Orange peels and shrimp shell used in a Fermentation process to produce an aqueous extract with bioherbicide potential to weed control. **Biocatalisys and Agricultural Biotechnology**, v. 32, p. 101947, mar. 2021.

COLONIA, Brigitte Sthepani Orozco; WOICIECHOWSKI, Adenise Lorenci; MALANSKI, Rodrigo; LETTI, Luiz Alberto Junior; SOCCOL, Carlos Ricardo. Pulp improvement of oil palm empty fruit bunches associated to solid-state biopulping and biobleaching with xylanase and lignin peroxidase cocktail produced by *Aspergillus* sp. LPB-5. **Bioresource Technology**, v. 285, p. 121361, ago. 2019.

DARWESH, Osama M.; MATTER, Ibrahim A.; EIDA, Mohamed F. Development of peroxidase enzyme immobilized magnetic nanoparticles for bioremediation of textile wastewater dye. **Journal Of Environmental Chemical Engineering**, v. 7, n. 1, p. 102805, febr. 2019.

DHANKHAR, Poonam; DALAL, Vikram; MAHTO, Jai Krishna; GURJAR, Bhola Ram; TOMAR, Shailly; SHARMA, Ashwani Kumar; KUMAR, Pravindra. Characterization of dye-

decolorizing peroxidase from *Bacillus subtilis*. **Archives of Biochemistry and Biophysics**, v. 693, p. 108590, 30 oct. 2020.

DURđIć, Karla Ilić; OSTAFE, Raluca; DELMAŁ, Aleksandra Đurđević; POPOVIć, Nikolina; SCHILLBERG, Stefan; FISCHER, Rainer; PRODANOVIć, Radivoje. Saturation mutagenesis to improve the degradation of azo dyes by versatile peroxidase and application in form of VP-coated yeast cell walls. **Enzyme And Microbial Technology**, v. 136, p. 109509, may. 2020.

DZIOŃEK, Anna; WOJCIESZYŃSKA, Danuta; GUZIK, Urszula. Natural carriers in bioremediation: A review. **Electronic Journal Of Biotechnology**, v. 23, p. 28-36, jul. 2016.

ELY, Cynthia; KEMPKA, Aniel P.; SKORONSKI, Everton. Aplicação de Peroxidasas no Tratamento de Efluentes. **Revista Virtual de Química**, v. 8, n. 5, 27 jul. 2016.

EMANDADI, Narjes; GHOLIZADEH, Mostafa; HOUSAINDOKHT, Mohammad Reza. Investigation of static magnetic field effect on horseradish peroxidase enzyme activity and stability in enzymatic oxidation process. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 170, p. 189-195, 15 febr. 2021.

FALADE, Ayodeji O.; EYISI, Onyedikachi A.L.; MABINYA, Leonard V.; NWODO, Uchechukwu U.; OKOH, Anthony I. Peroxidase production and ligninolytic potentials of fresh water bacteria *Raoultella ornithinolytica* and *Ensifer adhaerens*. **Biotechnology Reports**, v. 16, p. 12-17, dec. 2017.

FRAGA, Fernanda Cristina; VALÉRIO, Alexsandra; OLIVEIRA, Vanessa Almeida de; DI LUCCIO, Marco; OLIVEIRA, Débora de. Effect of magnetic field on the Eversa® Transform 2.0 enzyme: Enzymatic activity and structural conformation. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 122, p. 653-658, 01 febr. 2019.

FURLANI, Izadora L.; AMARAL, Bruno S.; OLIVEIRA, Regina V.; CASS, Quezia B. Imobilização Enzimática: conceito e efeitos na proteólise. **Química Nova**, São Paulo, v. 43, n. 4, p. 463-473, apr. 2020.

GHASEMI, Saba; YOUSEFI, Maryam; NIKSERESHT, Ahmad; OMIDI, Hoda. Covalent binding and in-situ immobilization of lipases on a flexible nanoporous material. **Process Biochemistry**, v. 102, p. 92-101, mar. 2021.

GONZALO, Gonzalo de; COLPA, Dana I.; HABIB, Mohamed HM; FRAAIJE, Marco W. Bacterial enzymes involved in lignin degradation. **Journal of Biotechnology**, v. 236, p. 110-119, 20 oct. 2016.

HAMID, Mohsina; KHALIL-UR-REHMAN. Potential applications of peroxidases. **Food Chemistry**, v. 115, n. 4, p. 1177-1186, ago. 2009.

HAQ, Izharul; KUMAR, Sharad; KUMARI, Vineeta; SINGH, Sudheer Kumar; RAJ, Abhay. Evaluation of bioremediation potentiality of ligninolytic *Serratia liquefaciens* for detoxification of Pulp and paper mill effluent. **Journal of Hazardous Materials**, v. 305, p. 190-199, 15 marc. 2016.

HITTINGER, Chris Todd; STEELE, James L.; RYDER, David S. Diverse yeasts for diverse fermented beverages and foods. **Current Opinion In Biotechnology**, v. 49, p. 199-206, febr. 2018.

KÓZKA, Bartosz; NAŁCZ-JAWECKI, Grzegorz; TURJO, Jadwiga; GIEBUŹTOWICZ, Joanna. Application of *Pleurotus ostreatus* to efficient removal of selected antidepressants and immunosuppressants. **Journal Of Environmental Management**, v. 273, p. 111131, nov. 2020.

LI, Tian; LI, Ruixiang; ZHOU, Qixing. The application and progress of bioelectrochemical systems (BESs) in soil remediation: a review. **Green Energy & Environment**, v. 6, n. 1, p. 50-65, febr. 2021.

LI, Fengmao; TANG, Yunming. The activation mechanism of peroxidase by ultrasound. **Ultrasonics Sonochemistry**, v. 71, p. 105362, marc. 2021.

MÄKINEN, Mari A.; RISULAINEN, Netta; MATTILA, Hans; LUNDELL, Taina K. Transcription of lignocellulose-decomposition associated genes, enzyme activities and production of ethanol upon bioconversion of waste substrate by *Phlebia radiata*. **Applied Microbiology And Biotechnology**, v. 102, n. 13, p. 5657-5672, 4 may. 2018.

METREVELI, Eka; KACHLISHVILI, Eva; SINGER, Steven W.; ELISASHVILI, Vladimir. Alteration of white-rot basidiomycetes cellulase and xylanase activities in the submerged co-cultivation and optimization of enzyme production by *Irpex lacteus* and *Schizophyllum commune*. **Bioresource Technology**, v. 241, p. 652-660, oct. 2017.

MOUSSAVI, Gholamreza; HADDAD, Fatemeh Abbaszadeh. Bacterial peroxidase-mediated enhanced biodegradation and mineralization of bisphenol A in a batch bioreactor. **Chemosphere**, v. 222, p. 549-555, may. 2019.

NAGHDI, Mitra; TAHERAN, Mehrdad; BRAR, Satinder Kaur; KERMANS SHAHI-POUR, Azadeh; VERMA, Mausam; SURAMPALLI, R.Y. Removal of pharmaceutical compounds in water and wastewater using fungal oxidoreductase enzymes. **Environmental Pollution**, v. 234, p. 190-213, mar. 2018.

OLIVEIRA, Francine Kerstner de; SANTOS, Lucielen Oliveira; BUFFON, Jaqueline Garda. Mechanism of action, sources, and application of peroxidases. **Food Research International**, v. 143, p. 110266, may. 2021.

PETRONIJEVIĆ, Mirjana; PANIĆ, Sanja; SAVIĆ, Saša; AGBABA, Jasmina; JAZIĆ, Jelena Molnar; MILANOVIĆ, Marija; ĐURIĆ-MLADENOVIĆ, Nataša. Characterization and application of biochar-immobilized crude horseradish peroxidase for removal of phenol from water. **Colloids And Surfaces B: Biointerfaces**, v. 208, p. 112038, dec. 2021.

POKHREL, Prashant Raj; BOULET, Camille; YILDIZ, Semanur; SABLANI, Shyam; TANG, Juming; BARBOSA-CÁNOVAS, Gustavo V. Effect of high hydrostatic on microbial inactivation and quality changes in carrot-orange juice blends at varying pH. **LWT**, v. 159, p. 113219, 01 apr. 2022.

POTA, Giulio; BIFULCO, Aurelio; PARIDA, Dambarudhar; ZHAO, Shanyu; RENTSCH, Daniel; AMENDOLA, Eugenio; CALIFANO, Valeria; COSTANTINI, Aniello. Tailoring the hydrophobicity of wrinkled silica nanoparticles and of the adsorption medium as a strategy for immobilizing lipase: An efficient catalyst for biofuel production. **Microporous And Mesoporous Materials**, v. 328, p. 111504, dec. 2021.

REMONATO, Daniela; MIOTTI JR., Rodney H.; MONTI, Rubens; BASSAN, Juliana; PAULA, Ariela Veloso de. Applications of immobilized lipases in enzymatic reactor: A review. **Process Biochemistry**, v. 114, p. 1-20, mar. 2022.

SALDARRIAGA-HERNÁNDEZ, Sara; VELASCO-AYALA, Carolina; FLORES, Paulina Leal-Isla; ROSTRO-ALANIS, Magdalena Jesús; PARRA-SALDIVAR, Roberto; IQBAL, Hafiz MN; CARRILLO-NIEVES, Danay. Biotransformation of lignocellulosic into industrially relevant product with the aid of fungi-derived lignocellulolytic enzymes. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 161, p. 1099-1116, 15 oct. 2020.

SÁNCHEZ-ALEJANDRO, Flor; JUAREZ-MORENO, Karla; BARATTO, Maria Camilla; BASOSI, Riccardo; VAZQUEZ-DUHALT, Rafael. Tryptophan-surface modification of versatile peroxidase from *Bjerkandera adusta* enhances its catalytic performance. **Journal Of Molecular Catalysis B: Enzymatic**, v. 124, p. 45-51, febr. 2016.

SANTACRUZ-JUÁREZ, Ericka; BUENDIA-CORONA, Ricardo E.; RAMÍREZ, Ramsés E.; SÁNCHEZ, Carmen. Fungal enzymes for the degradation of polyethylene: Molecular docking simulation and biodegradation pathway proposal. **Journal Of Hazardous Materials**, v. 411, p. 125118, 5 jun. 2021.

SARAVANAN, A.; KUMAR, P. Senthil; JEEVANANTHAMW, S.; KARISHMA, S.; TAJSABREEN, B.; YAASHIKAA, P.R.; RESHMA, B. Effective water/wastewater treatment methodologies for toxic pollutants removal: Processes and applications towards sustainable development. **Chemosphere**, v. 280, p. 130595, oct. 2021a.

SARAVANAN, A.; KUMAR, P. Senthil; VO, Dai-Viet N.; JEEVANANTHAM, S.; KARISHMA, S.; YAASHIKAA, P.R. A review on catalytic-enzyme degradation of toxic environmental pollutants: Microbial enzymes. **Journal Of Hazardous Materials**, v. 419, p. 126451, 5 oct. 2021b.

SINGH, Anil Kumar; BILAL, Muhammad; IQBAL, Hafiz M.N.; RAJ, Abhay. Lignin peroxidase in focus for catalytic elimination of contaminants — A critical review on recent progress and perspectives. **International Journal Of Biological Macromolecules**, v. 177, p. 58-82, apr. 2021.

SHARMA, Babita; DANGI, Arun Kumar; SHUKLA, Pratyosh. Contemporary enzyme based technologies for bioremediation: A review. **Journal Of Environmental Management**, v. 210, p. 10-22, 15 mar. 2018.

SOUZA, Angélica Rossana Castro de; BALDONI, Daiana Bortoluzzi; LIMA, Jessica; PORTO, Vitória; MARCUZ, Camila; MACHADO, Carolina; FERRAZ, Rafael Camargo; KUHN, Raquel C.; JACQUES, Rodrigo J. S.; GUEDES, Jerson V. C.; MAZUTTI, Marcio A.

Selection, isolation, and identification of fungi for bioherbicide production. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 48, p. 101-108, jan./mar. 2017.

TEIXEIRA, Tallyta Santos; SIQUEIRA, Félix Gonçalves de; BATISTA, Ryhára Dias. Enzimas microbianas de desconstrução da parede celular: novas abordagens. **Revista Eletrônica de Energia**, v. 6, n. 1, p. 27-37, jan./dec. 2016.

TEKCHANDANI, Sunita; GURUPRASAD, K.N. Modulation of a guaiacol peroxidase inhibitor by UV-B in cucumber cotyledons. **Plant Science**, v. 136, n. 2, p. 131-137, sep. 1998.

TIAN, J. H; POURCHER, A. M.; KLINGELSCMITT, F.; ROUX, S. Le; PEU, P. Class P dye-decolorizing peroxidase gene: Degenerated primers design and phylogenetic analysis. **Journal Of Microbiological Methods**, v. 130, p. 148-153, nov. 2016.

ULRICH, Alessandro; LERIN, Lindomar Alberto; CAMARGO, Aline Frumi; SCAPINI, Thamarys; DIERING, Naudio Ladir; BONAFIN, Fábio; GASPARETTO, Ilana Giachini; CONFORTIN, Tássia Carla; SANSONOVICZ, Patricia Fátima; FABIAN, Robson Luis. Alternative bioherbicide based on *Trichoderma koningiopsis*: enzymatic characterization and its effect on cucumber plants and soil organism. **Biocatalysis And Agricultural Biotechnology**, v. 36, p. 102127, sep. 2021.

VENKATADRI, Rajagopalan; IRVINE, Robert L. Cultivation of *Phanerochaete chrysosporium* and production of lignin peroxidase in novel biofilm reactor systems: hollow fiber reactor and silicone membrane reactor. **Water Research**, v. 27, n. 4, p. 591-596, apr. 1993.

VIANCELLI, Aline; MICHELON, William; ROGOVSKI, Paula; CADAMURO, Rafael Dorighello; SOUZA, Estêvão Brasiliense de; FONGARO, Gislaine; CAMARGO, Aline Frumi; STEFANSKI, Fábio Sptiza; VENTURIN, Bruno; SCAPINI, Thamarys. A review on alternative bioprocesses for removal of emerging contaminants. **Bioprocess And Biosystems Engineering**, v. 43, n. 12, p. 2117-2129, 17 jul. 2020.

WANG, Jianqiao; SUZUKI, Tomohiro; MORI, Toshio; YIN, Ru; DOHRA, Hideo; KAWAGISHI, Hirokazu; HIRAI, Hirofumi. Transcriptomics analysis reveals the high biodegradation efficiency of white-rot fungus *Phanerochaete sordida* YK-624 on native lignin. **Journal Of Bioscience And Bioengineering**, v. 132, n. 3, p. 253-257, sep. 2021.

WANG, Danli; YAN, Lufeng; MA, Xiaobin; WANG, Wenjun; ZOU, Mingming; ZHONG, Jianjun; DING, Tian; YE, Xingqian; LIU, Donghong. Ultrasound promotes enzymatic reaction by acting on diferente targets: Enzymes, substrates and enzymatic reaction systems. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 119, p. 453-461, nov. 2018.

WASAK, Agata; DROZD, Radosław; JANKOWIAK, Dorota; RAKOCZY, Rafał. The influence of rotating magnetic fiel on bio-catalytic dye degradation using the horseradish peroxidase. **Biochemical Engineering Journal**, v. 147, p. 81-88, 15 jul. 2019.

ZHANG, Ting; CAI, Ling; XU, Bentuo; LI, Xicheng; QIU, Wenhui; FU, Caixia; ZHENG, Chunmiao. Sulfadiazine biodegradation by *Phanerochaete chrysosporium*: Mechanism and degradation product identification. **Chemosphere**, v. 237, p. 124418, 2019.