

UEMASUL



UNIVERSIDADE ESTADUAL DA REGIÃO TOCANTINA DO MARANHÃO
CENTRO DE CIÊNCIAS EXATAS, NATURAIS E TECNOLÓGICAS
CURSO DE QUÍMICA LICENCIATURA

CAIO NUNES DE SOUZA

**DEGRADAÇÃO ENZIMÁTICA DO FUNGICIDA CARBENDAZIM
UTILIZANDO MICROESFERAS DE ALGINATO-QUITOSANA-PEROXIDASE**

IMPERATRIZ
2023

CAIO NUNES DE SOUZA

**DEGRADAÇÃO ENZIMÁTICA DO FUNGICIDA CARBENDAZIM
UTILIZANDO MICROESFERAS DE ALGINATO-QUITOSANA-PEROXIDASE**

Trabalho de conclusão de curso apresentada ao curso de Pós-graduação Lato Sensu em Ciências Ambientais da Universidade Estadual da Região Tocantina do Maranhão - UEMASUL, como requisito para obtenção do grau de Especialista em Ciências Ambientais.

Orientador: Prof. DSc. José Fábio França Orlanda

IMPERATRIZ
2023

S729d

Souza, Caio Nunes de

Degradação enzimática do fungicida carbendazim utilizando microesferas de alginato-quitosana-peroxidase. / Caio Nunes de Souza. – Imperatriz, MA, 2023.

19 f.

Trabalho de Conclusão de Curso (Especialização em Ciências Ambientais) – Universidade Estadual da Região Tocantina do Maranhão – UEMASUL, Imperatriz, MA, 2023.

1. Batata-doce. 2. Enzimas - Proxidase. 3. Carbendazim - fungicida. 4. Imperatriz - MA. I. Título.

CDU 635.2

RESUMO

Devido ao crescimento da população mundial nas últimas décadas e a rápida industrialização, tem-se observado aumento dos níveis de contaminação com resíduos de agroquímicos no meioambiente. Um dos agroquímicos mais utilizados na agricultura é o carbendazim (metil benzimidazol-2-ilcarbamato), classificado como fungicida sistêmico de amplo espectro, elevada toxicidade e bioacumulação. As enzimas aparecem na atualidade como uma medida sustentável e rentável na biotecnologia como uma ótima opção de pesquisa. Com isso, o presente trabalho de conclusão de curso visa avaliar a degradação enzimática do carbendazim empregando as enzimas peroxidase (POD) extraídas de tubérculos do batata-doce (*Ipomeas batatas* (L) lam.) e imobilizadas em matriz de alginato-quitosana. As amostras de tubérculos de batata-doce foram adquiridas no Mercado Municipal de Imperatriz (MA). A polpa foi retirada e armazenada em frascos de vidro envolvidos com papel-alumínio e mantidas a 5

°C. O extrato bruto enzimático foi obtido a partir de uma massa de 25 g da amostra e homogeneizado com 100 mL de tampão fosfato 0,1 mol L⁻¹. A atividade da POD foi determinada utilizando guaiacol e como substrato. As enzimas foram imobilizadas empregando 100 mL do extrato enzimático bruto, 3 g de esferas de alginato e 50 mL de água destilada, agitação por 3 horas e lavadas com água deionizada. A porcentagem de imobilização do carbendazim foi determinada mediante análise da atividade enzimática, antes e após o contato com as esferas de alginato. A degradação enzimática do carbendazim foi realizada metodologia espectrofotométrica empregando cloreto de ferro (III) e ferrocianeto de potássio para formar um composto colorido. Os resultados mostraram que a POD apresentou atividade enzimáticas de 3,6 U mL⁻¹ na faixa de pH 7,0. O estudo do tratamento térmico dos extratos não foi eficiente para a inativação a 75 °C.. As esferas de alginato imobilizadas com as enzimas apresentaram morfologia esferoides; massa de 0,09 g ± 0,004; diâmetro de 5 mm ± 0,5; coloração branco-amarelo e 30,18% de imobilização. A quantificação do fungicida carbendazim empregando método espectrofotométrico apresentou excelente linearidade, fundamental para a obtenção de resultados seguros e confiáveis na determinação do carbendazim. A Lei de Beer foi obedecida na faixa de concentração de 4,0 a 14 mg L⁻¹ de carbendazim, com coeficiente de correlação linear (R²) igual a 0,9951, que descreve a relação existente entre as variáveis concentração e absorvância. No estudo de degradação enzimática, os resultados mostraram que nas condições experimentais testadas ocorreu a degradação do carbendazim em todas

as concentrações analisadas, com percentual de 51,30 a 62,21%, no tempo de 5 a 30 minutos de reação. A partir dos resultados obtidos neste trabalho, verificamos que a degradação fungicida carbendazim utilizando sistemas enzimáticos imobilizados é um eficiente método de descontaminação de agrotóxicos.

Palavras-chave: Batata-doce; Peroxidase; Enzimas; Carbendazim.

ABSTRACT

Due to the growth of the world population in the last decades and the rapid industrialization, an increase in the levels of contamination with agrochemical residues in the environment has been observed. One of the most used agrochemicals in agriculture is carbendazim (methyl benzimidazol-2-ylcarbamate), classified as a broad-spectrum systemic fungicide, high toxicity and bioaccumulation. Enzymes currently appear as a sustainable and profitable measure in biotechnology as a great research option. Thus, this course conclusion work aims to evaluate the enzymatic degradation of carbendazim using peroxidase enzymes (POD) extracted from sweet potato tubers (*Ipomeas potato* (L) lam.) and immobilized in alginate-chitosan matrix. Samples of sweet potato tubers were purchased at the Municipal Market of Imperatriz (MA). The pulp was removed and stored in glass jars wrapped with aluminum foil and kept at 5°C. The crude enzymatic extract was obtained from a mass of 25 g of the sample and homogenized with 100 ml of 0.1 mol L⁻¹ phosphate buffer. POD activity was determined using guaiacol and as a substrate. The enzymes were immobilized using 100 mL of crude enzymatic extract, 3 g of alginate spheres and 50 mL of distilled water, stirring for 3 hours and washed with deionized water. The percentage of carbendazim immobilization was determined by analyzing the enzymatic activity, before and after contact with the alginate balls. The enzymatic degradation of carbendazim was performed by spectrophotometric methodology employing iron (III) chloride and potassium ferrocyanide to form a colored compound. The results showed that POD presented enzymatic activities of 3,6 U mL⁻¹ in the pH range 7,0. The study of the heat treatment of the extracts was not efficient for inactivation at 75 °C. The alginate spheres immobilized with the enzymes showed spheroid morphology; mass 0,09 g ± 0,004; diameter of 5 mm ± 0,5; white-yellow color and 30,18% immobilization. The quantification of the carbendazim fungicide using the spectrophotometric method showed excellent linearity, essential for obtaining safe and reliable results in the determination of carbendazim. Beer's Law was followed in the concentration range of 4,0 to 14 mg L⁻¹ of carbendazim, with a linear correlation coefficient (R²) equal to 0,9951, which describes the relationship between the concentration and absorbance variables. In the study of enzymatic degradation, the results showed that under the experimental conditions tested, degradation of carbendazim occurred at all concentrations analyzed, with a percentage of 51,30 to 62,21%, within 5 to 30 minutes of reaction time. From the results obtained in this work, we verified that carbendazim fungicidal degradation using immobilized enzymatic systems is an efficient method of decontamination of pesticides.

Key words: Sweet potato; Peroxidase; Enzymes; Carbendazim.



Sumário

2	JUSTIFICATIVA	3
3	OBJETIVOS	4
3.2	Objetivos específicos	4
4	FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA.....	5
5	METODOLOGIA.....	7
5.2	Extração e caracterização da enzima peroxidase	7
5.3	Efeito do pH na atividade enzimática	8
5.4	Efeito da temperatura na atividade enzimática	8
5.5	Preparação das microesferas de alginato-quitosana.....	8
5.6	Imobilização da enzima peroxidase em matriz de alginato-quitosana	9
5.7	Determinação do fungicida carbendazim.....	9
5.8	Estudo da degradação enzimática do carbendazim em meio aquoso	9
5.9	Teste de genotoxicidade dos resíduos da biodegradação com <i>Allium cepa</i>	10
5.10	Análises estatísticas	10
5	CRONOGRAMA DE ATIVIDADES	11



1 INTRODUÇÃO

A crescente demanda na produção de alimentos para o mercado mundial exigiu cada vez mais o emprego de novas tecnologias que aperfeiçoassem o processo de cultivo, propiciando um aumento da qualidade e quantidade dos alimentos disponíveis no mercado (XIAOMIN et al., 2018).

Os fungicidas são produtos químicos capazes de prevenir infecções nos tecidos de plantas vivas por fungos fitopatogênicos. Atualmente o conceito mais abrangente diz que fungicidas são compostos químicos empregados no controle de doenças causadas por fungos, bactérias e algas (GARCIA, 1999).

O fungicida benzimidazólico metil-2-benzimidazole-carbato (MBC), fórmula molecular $C_9H_9N_3O_2$, conhecido popularmente como carbendazim, é largamente utilizado no combate de pragas em lavouras de algodão, citros, feijão, soja e trigo. Apresenta à sua degradação lenta, o que torna o MBC um composto quimicamente estável (MEREL et al., 2018).

Apesar dos benefícios, esses produtos acabam tendo como alvo final o solo, podendo causar impactos negativos como intoxicação aos cultivos em sucessão; degradação da matéria orgânica; eutrofização de águas superficiais e subterrâneas; bem como a redução da microbiota, biodiversidade e da qualidade do solo (MORENO-MATEOS et al., 2015). Desta forma, o ambiente edáfico terá dificuldade de responder a tratamentos reparatórios (ROMAN et al., 2007).

As principais técnicas disponíveis para descontaminação por agroquímicos envolvem principalmente processos de adsorção, precipitação, degradação química, eletroquímica, fotoquímica e biodegradação que apresentam eficiência variável ou transferência de fase dos poluentes, exigindo um tratamento para posterior descarte. (WANG et al., 2016).

Os tratamentos enzimáticos encontram-se em acelerado esforço de investigação, tendo vindo a ser propostos por muitos investigadores como alternativa a alguns processos convencionais de tratamento de efluentes. Isso se deve a vantagens que apresentam, tais como seletividade e eficiência (mesmo em concentrações baixas) e ao desenvolvimento em nível de produção de enzimas, traduzido na sua disponibilidade comercial a mais baixo preço (BARROS, T. F. S, 2017).



2 JUSTIFICATIVA

A contaminação ambiental por agroquímicos tem sido apontada como um dos maiores problemas da sociedade moderna. O carbendazim é um fungicida benzimidazólico que é de amplo espectro e largamente utilizado, metabólito do benomil. O uso de fungicida é frequente na agricultura usado para controlar doenças vegetais em cereais e frutas, incluindo cítricos, bananas, morangos, abacaxis, e pomos é um dos mais detectados nos solos brasileiros fazendo-se necessário uma tecnologia de descontaminação.

Os tratamentos enzimáticos têm se mostrado uma alternativa melhor diferentemente dos catalizadores químicos convencionais, as enzimas são catalizadores naturais altamente específicos capazes de discriminar não somente as reações, como também os subprodutos. Além disso, as enzimas exibem uma elevada atividade catalítica sob condições brandas de temperatura, pressão e pH.

Em razão disso, o desenvolvimento de novos materiais baseados em matrizes poliméricas, a serem empregados para a imobilização de enzimas de interesse biotecnológico, tem se tornado um campo de pesquisa muito atraente.

A imobilização enzimática favorece a robustez e mais resistência as mudanças do meio ambiente nacional. Com isso, o presente trabalho de conclusão de curso pretende investigar as microesferas de alginato-quitosana-peroxidase na degradação enzimática do fungicida carbendazim.



3 OBJETIVOS

3.1 Objetivo geral

Avaliar a potencial degradação enzimática do fungicida carbendazim utilizando peroxidase de tubérculo de *Ipomea batatas* (L.) Lam (batata doce) e imobilizada em esferas de alginato-quitosana.

3.2 Objetivos específicos

- Extrair, quantificar e caracterizar a enzima peroxidase, a partir do tubérculo de *Ipomea batatas*;
- Determinar as melhores condições para uma melhor atuação da enzima peroxidase variando os fatores fundamentais, tais como: pH, temperatura, quantidade de H₂O₂, concentração da enzima e fungicida;
- Avaliar a eficiência da imobilização enzima peroxidase em matriz polimérica de alginato-quitosana;
- Investigar a degradação enzimática do fungicida carbendazim no solo e em meio aquoso empregando as esferas imobilizadas;



4 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

As substâncias químicas destinadas à proteção de culturas agrícolas e áreas urbanas contra a ação danosa na forma de vida animal e/ou vegetal são denominadas pesticidas, também conhecidos como agroquímicos, agrotóxicos, biocidas, defensivos agrícolas e praguicidas (MOURA, 2008).

O comportamento dos agrotóxicos no solo é variável e resultante das características distintas de cada composto, tais como massa molecular e suas propriedades físico-químicas (CABRERA, 2008) além das características físico-químicas do solo e condições climáticas. Estes atributos são determinantes para sua interação no solo, por meio de processos de retenção (sorção, absorção e adsorção), de transformação (degradação química e biológica) e de transporte (deriva, volatilização, lixiviação e carreamento superficial), e por interações entre esses processos (ARIAS et al., 2005; ARIAS-ESTÉVEZ et al., 2008.).

Em relação ao carbendazim, na avaliação dos resultados, foram considerados os LMRs estabelecidos nas monografias do carbendazim e do tiofanato-metílico, cujos resíduos são expressos como carbendazim. Isso significa que os resíduos de carbendazim também podem ter sido ocasionados pelo uso de produtos à base de tiofanato-metílico, uma vez que este se converte em carbendazim (ANVISA, 2019).

Conforme divulgado no Portal Eletrônico da Anvisa, o Carbendazim foi colocado em reavaliação devido à preocupação em relação aos seguintes aspectos toxicológicos: mutagenicidade, toxicidade para o desenvolvimento e toxicidade reprodutiva. Ainda, esse ingrediente ativo foi o mais detectado no Programa de Análise de Resíduos em Alimentos (PARA) entre 2013 e 2015, sendo caracterizado risco agudo para o consumo de alimentos monitorados, e ficou entre os mais detectados entre 2017 e 2018 (ANVISA, 2019).

Considerando-se os resultados obtidos no ciclo 2017/2018, foi realizada a avaliação do risco agudo para todos os resíduos detectados de agrotóxicos que possuem Dose de Referência Aguda (DRfA) estabelecida, parâmetro de segurança toxicológica aguda. Mediante as condições assumidas, fontes de dados e metodologia utilizada, os resultados da



referida avaliação indicaram que 0,89% das amostras analisadas representam um potencial de risco agudo à saúde (ANVISA, 2019).

Comum meio eficiente, econômico e técnica ambientalmente correta, a biodegradação surgiu como uma alternativa potencial às técnicas convencionais. No entanto, o processo de biodegradação de muitos pesticidas não foi totalmente investigado (SUN et al., 2010). Esta ferramenta biotecnológica consiste na utilização de todo microorganismos, de ocorrência natural ou introduzida, ou enzimas isoladas para degradar contaminantes persistentes em compostos menos ou não-tóxicos (FANTROUSSI; AGATHOS, 2005).

As abordagens enzimáticas para a degradação de poluentes são uma área de biorremediação relativamente nova e promissora pesquisa que tem atraído muito interesse devido à sua especificidade de substrato relaxada, eficiência e facilidade de manuseio (SARATALE et al, 2011; HUSAIN; HUSAIN, 2007). As enzimas oxidoredutase, como peroxidases, lacases e tirosinase, têm sido usadas principalmente na degradação de corantes, pois podem gerar radicais livres que eventualmente facilitam as reações de clivagem de ligação e levar à degradação de poluentes (KECK,1997).

Peroxidases (EC 1.11.1.7; doador: peróxido de hidrogênio oxidoreductase) são proteínas heme que catalisam a oxidação de uma ampla variedade de peróxidos. Mais comumente, as peroxidases catalisam a oxidação de substratos orgânicos, enquanto reduz H_2O_2 a água. Este processo envolve reações múltiplas e uma série de formas enzimáticas intermediárias, e é conhecido como mecanismo de PoulouseKraut, que desempenha um papel fundamental em várias respostas metabólicas de todas as peroxidases (POULOS, 1993).

Esta oxido-redutase catalisa uma reação na qual o hidrogênio o peróxido atua como o aceitador e outro composto atua como o doador de átomos de hidrogênio (RODRIGO et al., 1996). Na presença de peróxido, peroxidase de tecidos vegetais pode oxidar uma ampla gama de compostos fenólicos compostos, tais como guaiacol, catecol, pirogalol, ácido clorogênico e catequina (ONSA et al., 2004).



5 METODOLOGIA

5.1 coletas das amostras de batata doce

As amostras das raízes tuberosas de batata doce serão coletadas em sítios localizados no município de Imperatriz (MA) e transportadas em caixas térmicas para o Laboratório de Biotecnologia Ambiental (LABITEC) da UEMASUL. Após a coleta, as amostras serão separadas, lavadas em água corrente e água destilada. Em seguida, será retirado o excesso de água, separação da polpa e casca para posterior análise.

5.2 Extração e caracterização da enzima peroxidase

A extração e caracterização da enzima peroxidase extraída dos tubérculos da batata doce serão realizadas conforme Ponting e Joslyn (1948).

As extrações serão obtidas a partir de uma massa de 25 g da raiz em pequenas fatias e 100 mL de tampão Sorensen 0,1 mol. L⁻¹ (pH 7,0). Em seguida esse material será filtrado, centrifugado a 18000 xg a 4 °C durante 5 minutos. O sobrenadante (fonte enzimática) será separado e armazenado a 4°C para posterior análise.

A análise de peroxidase será determinada usando-se o substrato guaiacol e peróxido de hidrogênio, como descrito por Khan e Robinson (1994) com modificações. A mistura de 1,5 mL de tampão Sorensen 0,1 mol. L⁻¹ (pH 7) será previamente incubada a 25 °C durante 10 minutos. Em seguida será adicionado 0,4 mL de solução H₂O₂ 0,33% em tampão Sorensen 0,1 mol. L⁻¹ (pH 7) e 0,2 mL do sobrenadante do extrato enzimático. A reação será acompanhada utilizando o femto 800XI durante 5 minutos para cada amostra onde será registrado os valores variantes no intervalo de 30 segundos a 20°C.

Os valores obtidos vão servir para realizar os cálculos estatísticos a fim de determinar um número para a atividade enzimática dentro dos 5 minutos (uma atividade de enzima da peroxidase será definida como a quantidade de enzima que causa um aumento de 0,001 unidades de absorvância por minuto).



5.3 Efeito do pH na atividade enzimática

O efeito do pH na atividade da enzima peroxidase será determinado conforme Khan e Robinson (1994), com modificações. O extrato enzimático será preparado contendo 100 mL da solução tampão com variação da faixa de pH, 3,6 a 5 utilizando os sistemas de tampão acetato, tampão Sorensen (fosfato) de 5 a 8, tampão Sorensen (Glicocol-HCl, Glicocol-NaOH) de 9 a 13 (MORITA, 2007) e 25 g da amostra da fruta será batido no liquidificador por 5 min até que chegue a uma solução homogênea, em seguida será filtrada e incubada. Logo após, serão realizadas a análise da atividade enzimática da melhor faixa de pH que ocorre a maior atividade enzimática.

5.4 Efeito da temperatura na atividade enzimática

O extrato enzimático será preparado contendo 100 mL da solução tampão e 25 g da amostra, em seguida será filtrada, incubada e levada em banho-maria por 10 min e com variação na faixa de temperatura de 20 a 100 °C. Logo após, será realizada a análise da atividade enzimática como descrito por Khan e Robinson (1994) com modificações, a fim de determinar os valores e obter à observação dos resultados da melhor temperatura em que ocorre a maior atividade enzimática.

5.5 Preparação das microesferas de alginato-quitosana

As esferas de alginato-quitosana serão preparadas a partir de uma solução aquosa de alginato de cálcio 2% (m/m), com repouso de 24 horas. Essa solução será gotejada com o auxílio de uma bureta em uma solução aquosa de CaCl_2 (0,1 mol L⁻¹) e quitosana 1% (m/m) sob agitação. Ao final do gotejamento as microesferas serão separadas da solução de cloreto de cálcio, lavadas 4 vezes com água deionizada para a remoção total dos íons de cálcio livres e armazenadas em frascos escuros (XIAO; FEI, 2013; SILVA et al., 2006).



5.6 Imobilização da enzima peroxidase em matriz de alginato-quitosana

A imobilização da peroxidase na matriz polimérica de alginato-quitosana será realizada utilizando 100 mL de uma suspensão enzimática em meio, 2,0 g de esferas de alginato-quitosana e 50 mL de água deionizada, com agitação constante por 3 horas. Em seguida, serão separados os glóbulos formados, lavados com água destilada e armazenadas em recipientes de vidro âmbar, para posterior análise de degradação enzimática (XIAO; FEI, 2013; SILVA et al., 2006).

O percentual de imobilização (%) será calculado dividindo-se a concentração enzimática antes e após a imobilização, utilizando a seguinte equação:

$$\% = \frac{(C_{x \text{ antes de imobilização}} - C_{x \text{ após imobilização}}) * 100}{C_{x \text{ antes de imobilização}}}$$

Em que: Cx: concentração enzimática.

5.7 Determinação do fungicida carbendazim

A análise espectrofotométrica do fungicida carbendazim será realizada empregando a metodologia proposta por Naidu et al. (2011), com adaptações.

Nos ensaios serão utilizadas alíquotas de solução padrão de carbendazim (1 a 50 $\mu\text{g mL}^{-1}$) para balões volumétricos de 10 mL. Em seguida, serão adicionados 1 mL de sulfato de ferro (II) 0,2 mol L⁻¹ e 1 mL de ferricianeto de potássio 0,2 mol L⁻¹. A solução será mantida em banho-maria por 15 min a 60 °C para o desenvolvimento completo da cor. Após o resfriamento serão completados o volume com água deionizada. O complexo formado com o carbendazim será extraído com 10 mL de clorofórmio em funil de separação, com agitação por 2 minutos. A fase orgânica será separada e analisada em Espectrofotômetro Femto 800 XI no comprimento de onda de 478 nm.

5.8 Estudo da degradação enzimática do carbendazim em meio aquoso

Os experimentos para avaliar a degradação do fungicida carbendazim em fase aquosa, pela enzima peroxidase extraída do tubérculo batata-doce na forma livre e imobilizada em



Universidade Estadual
da Região Tocantina
do Maranhão

alginato-quitosana serão realizados vários experimentos, variando o pH de (3 a 14), concentração do herbicida (0 a 10 mg L⁻¹), quantidade de enzima (2,985 a 29,85 U mL⁻¹) e temperatura (20 a 80 °C).

O acompanhamento da degradação será realizado em espectrofotômetro Femto 800XI. As leituras de absorvância serão feitas para o carbendazim no comprimento de onda de 478 nm. O cálculo para determinar a porcentagem de remoção será feito de acordo com a equação:

$$\% \text{ de Degradação} = \frac{Absinicial - Absfinal}{Absinicial} * 100$$

5.9 Teste de genotoxicidade dos resíduos da biodegradação com *Allium cepa*

As análises de genotoxicidade dos resíduos da degradação de carbendazim serão determinadas empregando o bioindicador *Allium cepa* (PASTORI et al., 2015).

5.10 Análises estatísticas

Os dados serão submetidos à análise de variância, teste de Tukey e teste de Fisher, com $p < 0,05\%$ para comparação das médias, com o auxílio do programa estatístico Sisvar (FERREIRA, 2014).



5 CRONOGRAMA DE ATIVIDADES

Atividades	Meses											
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
Etapa 01. Familiarização dos métodos laboratorial	X	X	X									
Etapa 02. Levantamento bibliográfico	X	X	X									
Etapa 03. Coleta de amostras de frutas			X	X	X	X						
Etapa 04. Extração, purificação e caracterização enzimática			X	X	X	X						
Etapa 05. Preparação das esferas de alginato-quitosana				X	X	X						
Etapa 06. imobilização da enzima peroxidase em matriz polimérica					X	X						
Etapa 07. Determinação do fungicida carbendazim						X	X	X	X			
Etapa 08. Estudo da degradação enzimática do carbendazim								X	X	X	X	
Etapa 09. Avaliação toxicológica							X	X	X	X	X	
Etapa 10. Tratamento dos dados experimentais			X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
Etapa 11. Elaboração da monografia										X	X	X



6 REFERÊNCIAS

- A. A. Khan & D. S. Robinson, Hydrogen donor specificity of mango isoperoxidases. **Food Chemistry**. 49(5): 407-410. 1994.
- A. Keck, J. Klein, M. Kudlich, A. Stolz, H.J. Knackmuss, R. Mattes, Reduction of azo dyes by redox mediators originating in the naphthalenesulfonic acid degradation pathway of *Sphingomonas* sp. strain BN6, Appl. **Environ. Microbiol.** 63 (1997) 3684–3690.
- Arias-Estevez et al. Atrazine sorption dynamics in organic matter rich-soils. **Bull Environ Contam Toxicol.** 75, 264–271. 2005.
- ARIAS-ESTEVEZ, M. The mobility and degradation of pesticides in soils and the pollution of groundwater resources. **Agriculture, Ecosystems and Environment.** 123, 247–260. 2008.
- BARROS, T. F. S. **Qualidade, potencial funcional e perfil bioquímico de porções de infrutescências do abacaxizeiro ‘Pérola’, ‘Vitória’ e ‘Imperial’.** Areia, Centro de Ciências Agrárias, Universidade Federal da Paraíba, 2017, 127p. Trabalho de Tese em Agronomia.
- CABRERA et al. Estimativa de risco de contaminação das águas por agrotóxicos na região sul do estado do RS. **Quim. Nova**, Vol. 31, No. 8, 1982-1986, 2008.
- El Fantroussi, S. and Agathos, S.N. Is bioaugmentation a feasible strategy for pollutant removal and site bioremediation?. **Curr. Opin. Biotechnol.** 8, 268-275. 2005.
- Ferreira, D. F. Sisvar: a guide for its bootstrap procedures in multiple comparisons. **Ciência e Agrotecnologia**, 38(2),109-112, 2014.
- GARCIA, A. Fungicidas I: **utilização no controle químico de doenças e sua ação contra os fitopatógenos.** Porto Velho: EMBRAPA-CPAF. Rondônia, 1999. 26p.
- M. Husain, Q. Husain. Applications of redox mediators in the treatment of organic pollutants by using oxidoreductive enzymes: a review, Crit. Rev. **Environ. Sci. Technol.** (38)1–42. 2007.
- Merel et al. Occurrence and overlooked sources of the biocide carbendazim in wastewater and surface water. **Environmental Pollution**, Elsevier Ltd, v. 239, n. 5, p. 512–521, abr./2018.
- MORENO-MATEOS et al. Ecosystem response to interventions : lessons from restored and created wetland ecosystems. **Journal of Applied Ecology.** v. 52. n. 6. p. 1528–1537. 2015.
- MORITA, Tokio Rosely M. V. Assumpção. Revista Manual de Soluções, Reagentes e Solventes. 2. Ed **Editora Blucher**, 2007.
- MOURA, A. O. SÍNTESE E APLICAÇÃO DE MAGADIÍTA NA LIBERAÇÃO CONTROLADA DE HERBICIDAS. 126p. **Dissertação de Mestrado, Instituto de Química, Universidade de Brasília**, Brasília. 2ª Ed. 2008.



Universidade Estadual
da Região Tocantina
do Maranhão

Onsa et al. Purification and characterization of membrane-bound peroxidases from *Metroxylon sagu*. **Food Chem.** 85 (3), 365–376. 2004.

Pastori, T.; Kuhn, A.W.; Tedesco, M.; Hoffmann, C. E.; Neves, L. A. S.; Canto-Dorow, T. S.; Tedesco, S. B. Ação genotóxica e antiproliferativa de *Polygonum punctatum* Elliott (Polygonaceae) sobre o ciclo celular de *Allium cepa* L. **Rev. Bras. Pl. Med.**, 17(2), 186-194, 2015.

PONTING, J.D.; JOSLYN, M.A Ascorbic acid oxidation and browning in apple tissue extracts. **Archives of Biochemistry**, New York, v.19, p. 47-63, 1948.

Portal ANVISA. *Monografia carbendazim*. **Brasília: Resolução RE no 635 de 27/02/09 (DOU de 02/03/09)**. Disponível em:

<<http://portal.anvisa.gov.br/wps/wcm/connect/b17ca88047458b58951fd53fbc4c6735/c4.pdf?MOD=AJPERES>>, 2009. Acesso em: 11, julho 2023.

R.G. Saratale, G.D. Saratale, J.S. Chang, S.P. Govindwar, Bacterial decolorization and degradation of azo dyes: a review, J. Taiwan Inst. **Chem. Eng.** 42 (2011) 138–157.

Rodrigo et al. Thermal inactivation at high temperatures and regeneration of green asparagus peroxidase. **J. Food Protect.** 59 (10), 1065–1071. 1996.

ROMAN et al. **Como funcionam os herbicidas**: da biologia à aplicação. 1. Ed. Passo. Fundo: Gráfica Editora Berthier. 2007. 160p.

Silva et al .Microencapsulation of Hemoglobin in Chitosan-coated Alginate Microspheres Prepared by Emulsification/Internal Gelation. **The AAPS Journal.** 7(4):903-913. 2006.

Sun et al. Conidia immobilization of T-DNA inserted *Trichoderma atroviride* mutant AMT-28 with dichlorvos degradation ability and exploration of biodegradation mechanism. **Bioresource Technol.** 101, 9197-9203. 2010.

T.L. Poulos. Peroxidases. **Curr. Opin. Biotechnol.** (4)484-489. 1993.

V. S. Naidu N et al. Spectrophotometric determination of carbendazim in its formulations and environmental samples. **ChemTech Res.** 3(4):1728-1733. 2011.

Wang et al. Multi-walled carbon nanotubes with selected properties for dynamic filtration of pharmaceuticals and personal care products. **Water Research**, Elsevier Ltd, v. 92, n. 5, p. 92–104, abr./2016.

Xiao et al Fabrication of distilled water-soluble chitosan/alginate functional multilayer composite microspheres. **Carbohydrate Polymers.** 98:1366-1370. 2013.

Xu et al. Carbendazim residues in vegetables in China between 2014 and 2016 and a chronic carbendazim exposure risk assessment. **Food Control**, Elsevier Ltd, v. 91, n. 5, p. 20-25, dez./2015.