

Imobilização de lacase de *Myceliophthora thermophila* em MOF Ce-UiO-66 e utilização na remoção de corante

Igor M. da Silva¹, João Victor V. da Silva¹, Gabrielle A.R. da Silva¹, Erika de Q. Eugenio², Marta A. P. Langone^{1*}

¹Laboratório de Tecnologia Enzimática, Instituto de Química, Universidade do Estado do Rio de Janeiro (UERJ), Rua São Francisco Xavier, 524, PHLC, sl. 325, 20550-900, Rio de Janeiro – RJ, Brasil.

²Departamento de Química e Ambiental, Faculdade de Tecnologia, Universidade do Estado do Rio de Janeiro (DEQA/FAT/UERJ), Av. Dr. Omar Dibo Calixto Afrange, 27537-000, Resende – RJ, Brasil.

*marta.langone@gmail.com

Resumo/Abstract

RESUMO - A degradação de corantes têxteis utilizando lacases surge como uma alternativa atraente para a mitigação da poluição dos corpos hídricos, um problema significativo causado pela indústria têxtil. O objetivo deste trabalho foi utilizar a lacase comercial livre de *Myceliophthora thermophila* e imobilizada em MOF-Ce-UiO-66 para remoção do corante alaranjado de metila. A enzima livre apresentou remoção máxima de 35% do corante, a 50 °C, empregando 2,5% (v/v) da lacase. A imobilização da lacase foi feita por adsorção física e obteve-se eficiência de 100%. O biocatalisador imobilizado foi utilizado na remoção do alaranjado de metila, alcançando cerca de 83% de remoção após 1,5 h. Apesar da alta remoção com o derivado imobilizado, o mesmo efeito foi observado com o suporte puro, indicando que a adsorção física do corante pelo MOF foi o principal fator para sua remoção.

Palavras-chave: Lacase, MOF, corante, imobilização.

ABSTRACT - The degradation of textile dyes using laccases emerges as an attractive alternative for mitigating water body pollution, a significant issue caused by the textile industry. The objective of this study was to use both free commercial laccase from *Myceliophthora thermophila* and laccase immobilized on Ce-UiO-66 MOF for the removal of methyl orange dye. The free enzyme achieved a maximum dye removal of 35% at 50 °C using 2.5% (v/v) laccase. Immobilization was performed via physical adsorption, reaching 100% immobilization efficiency. The immobilized biocatalyst was employed for methyl orange removal, achieving approximately 83% removal after 1.5 hours. Despite the high removal rate with the immobilized derivative, the same effect was observed with the pure support, indicating that the physical adsorption of the dye by the MOF was the main factor responsible for its removal.

Keywords: Laccase, MOF, dye, immobilization.

Introdução

Lacases (EC 1.10.3.2) são enzimas da classe das oxirredutases que catalisam a oxidação de diversos compostos fenólicos e não fenólicos, como fenóis clorados, dioxinas, pesticidas, cresóis, fármacos e corantes sintéticos. Os produtos obtidos pela ação dessas enzimas são compostos menos tóxicos e mais facilmente removíveis do ambiente (1). Entre suas principais aplicações industriais, destaca-se a degradação de corantes sintéticos, amplamente utilizados na indústria têxtil.

Atualmente, mais de 10.000 corantes sintéticos são utilizados mundialmente, com um consumo anual estimado em 700 mil toneladas. O setor têxtil responde por mais da metade desse volume (2). Em 2023, o mercado global da

indústria têxtil foi avaliado em quase 2 bilhões de dólares, com projeção de crescimento anual de 7,4% até 2030 (3). Apesar da relevância econômica, o setor têxtil representa uma importante fonte de poluição hídrica devido ao descarte de corantes e compostos tóxicos nos corpos d'água (4). Estima-se que entre 10% e 25% dos corantes utilizados no tingimento têxtil não se fixam às fibras e acabam sendo liberados nos efluentes industriais, frequentemente descartados sem tratamento adequado, gerando sérios impactos ambientais (5).

Dentre os corantes utilizados, os corantes azo representam cerca de 65% dos corantes comerciais, devido à sua alta eficiência e baixo custo. No entanto, são recalcitrantes, tóxicos e potencialmente mutagênicos e carcinogênicos, afetando a qualidade da água, reduzindo os

níveis de oxigênio dissolvido e comprometendo processos fotossintéticos (5,6).

Diversos métodos têm sido empregados no tratamento de efluentes contendo corantes, incluindo rotas físicas, químicas e biológicas (5). Nesse contexto, a biocatálise, com aplicação das lacases, destaca-se como uma abordagem limpa, eficiente e sustentável para a degradação desses compostos (1). Quando imobilizadas, as lacases apresentam maior estabilidade térmica, maior vida útil e podem ser recuperadas e reutilizadas, tornando o processo de tratamento de efluentes mais viável economicamente (1). Estudos recentes mostram a eficácia das lacases imobilizadas na degradação de corantes sintéticos (7) entre outros compostos. Redes metalorgânicas (MOFs), por sua vez, são materiais reconhecidos de alta área superficial com potencial para formação de compósitos com catalisadores homogêneos e ao mesmo tempo capazes de adsorver uma considerável quantidade de corantes (8,9).

Neste trabalho, investigou-se a aplicação da lacase comercial de *Myceliophthora thermophila* (Novozymes Latin America Ltda) na remoção do corante azo alaranjado de metila, utilizado como modelo em estudos de degradação. Além disso, avaliou-se a imobilização da enzima em MOF sintetizada pelo grupo de pesquisa. A incorporação da enzima em suportes como MOFs visa a obtenção de biocatalisadores mais estáveis e eficientes, ampliando o potencial de aplicação das lacases na degradação de corantes sintéticos industriais. Essa abordagem contribui para o desenvolvimento de tecnologias ambientalmente mais sustentáveis e economicamente viáveis para o tratamento de efluentes e para a promoção de práticas industriais mais ecológicas.

Experimental

Materiais

A enzima utilizada foi a lacase de *Myceliophthora thermophila* expressa em *Aspergillus oryzae*, comercializada sob o nome Sustine® 330 pela Novozymes Latin America Ltda. O corante alaranjado de metila foi adquirido da Vetec Química Fina Ltda., enquanto o ácido 2,2'-azino-bis(3-etilbenzotiazolina-6-sulfônico (ABTS) foi obtido da Merck.

Determinação da concentração de proteína

A determinação da concentração de proteínas na lacase comercial foi baseada na metodologia descrita por Bradford, usando albumina sérica bovina como padrão (10).

Determinação da atividade enzimática

A atividade enzimática da lacase foi determinada por meio da oxidação de 1 mL de ABTS 3 mmol L⁻¹ em tampão acetato de sódio (10 mmol L⁻¹ em pH 5), acrescida de 25 µL de solução enzimática previamente diluída de 1:100 no mesmo tampão, e 1 mL adicional do tampão (11). A reação

foi monitorada pelo aumento da absorbância a 418 nm, utilizando cubeta espectrofotométrica com caminho óptico de 1 cm. O coeficiente de extinção molar (ϵ) do ABTS foi considerado como 36.000 mol L⁻¹cm⁻¹. Uma unidade de atividade enzimática (U) foi definida como a quantidade de enzima capaz de oxidar 1 µmol de ABTS por minuto nas condições descritas. A atividade foi determinada por meio da equação 1.

$$A\left(\frac{U}{\text{mL}}\right) = \frac{f \times 10^3 \times V_f}{\epsilon \times V_{\text{enz}}} \text{ (Equação 1)}$$

Onde:

f = coeficiente linear da curva;

V_f = volume final do meio reacional (mL);

ϵ = coeficiente de extinção molar do ABTS;

V_{enz} = volume de extrato enzimático (mL).

Testes catalíticos utilizando a lacase livre

A reação foi conduzida com alaranjado de metila a 50 mg L⁻¹, sob agitação constante e temperatura controlada, e a degradação do corante foi monitorada ao longo do tempo pela redução da absorbância a 450 nm, com leituras realizadas em intervalos de até 240 minutos. Nas reações com o uso da lacase livre, foram avaliados os efeitos do pH, da temperatura e da concentração enzimática na eficiência de remoção do alaranjado de metila.

Efeito do pH

A influência do pH na descoloração do alaranjado de metila foi avaliada utilizando tampões de acetato de sódio 100 mmol L⁻¹ nos pHs 4, 5 e 6, a 40 °C, empregando 10 mL de solução do corante (10 mg) e 2,5% v/v de enzima.

Efeito da temperatura

A influência da temperatura foi investigada a 30, 40, 50 e 60 °C, utilizando 2,5% v/v de enzima em 10 mL de solução de alaranjado de metila (50 mg L⁻¹).

Efeito da concentração de biocatalisador

O efeito da concentração de enzima foi estudado empregando as seguintes concentrações de lacase: 0,5; 1; 2 e 2,5 % v/v. As reações foram conduzidas a 50 °C e 50 mg L⁻¹ de alaranjado de metila.

Síntese do suporte de imobilização MOF Ce-UiO-66

A rede metalorgânica Ce-UiO-66 foi sintetizada por meio do método solvotermal. Inicialmente, pesou-se 0,223 g de ácido tereftálico (TPA) que foi dissolvido em 15 mL de N,N-dimetilformamida (DMF) sob agitação moderada. Em seguida, 5 mL de uma solução 0,27 mol L⁻¹ de nitrato de cério amoniacal (CAN) foram adicionados lentamente à solução de TPA, sob agitação contínua.

A mistura resultante foi transferida para um balão de fundo redondo e submetida a aquecimento em banho de óleo a 100 °C por 15 minutos, sob sistema de refluxo. Após o

resfriamento à temperatura ambiente, o produto formado foi centrifugado e lavado sucessivamente com DMF e etanol, visando a remoção de impurezas residuais. Por fim, o sólido foi seco a 100 °C por 17 horas, obtendo-se o MOF Ce-UiO-66, utilizado como suporte para a imobilização da lacase.

Caracterização do suporte de imobilização MOF Ce-UiO-66

O suporte Ce-UiO-66 sintetizado foi caracterizado pelas técnicas de: espectroscopia no infravermelho (FTIR), difração de raios X (DRX) e microscopia eletrônica de varredura (MEV). A técnica de FTIR foi realizada com o espectrômetro Perkin Elmer Frontier com passo de 1 cm e uso de uma pastilha de KBr. O difratômetro Bruker Advance D8 com fonte de radiação de cobre Ka foi utilizado para a obtenção do difratograma com passo angular de 0,02 ° por passo. A micrografia de varredura foi adquirida por um microscópio de canhão de emissor de campo JEOL JSM7100FT com tensão de aceleração de 20 kV e detector de elétrons secundários. As amostras foram dispersas em acetona e gotejadas em um vidro de óxido de estanho dopado com flúor (FTO) para a análise de MEV.

Imobilização da lacase

A imobilização da enzima foi conduzida por incubação de 5 mL da solução enzimática (0,1 mg mL⁻¹) com 50 mg do suporte MOF Ce-UiO-66, em tampão acetato de sódio 5 mmol L⁻¹ (pH 5). A mistura foi acondicionada em um tubo Falcon de 50 mL e mantida sob agitação suave a 25 °C (±1 °C), em placa agitadora de rolos, por 2 horas.

O acompanhamento do processo foi realizado por meio da determinação da concentração proteica no sobrenadante, no início e ao final da imobilização, utilizando o método de Bradford (10). Adicionalmente, foi avaliada a atividade enzimática residual pela oxidação do substrato ABTS, comparando-se os valores da solução enzimática inicial (tempo zero) com aqueles do sobrenadante ao final das 2 horas.

Após a imobilização, o derivado enzimático obtido (lacase-MOF) foi lavado com 10 mL de tampão acetato, seguido de filtração a vácuo. O material retido foi então armazenado em dessecador à temperatura ambiente até sua utilização.

A eficiência de imobilização (%) foi calculada com base na diferença entre a concentração de proteína da solução enzimática inicial (antes do contato com o suporte) e do sobrenadante ao final do processo de imobilização. A partir desse valor e da quantidade de suporte utilizada (mg), foi possível estimar a carga de proteína imobilizada por grama de suporte (mg/g).

Testes catalíticos com o derivado lacase-MOF

Os ensaios com o derivado lacase-MOF foram realizados no reator EasyMax (Mettler-Toledo), empregando alaranjado de metila (50 mg L⁻¹), a 50 °C por 1,5 h. A massa do biocatalisador imobilizado foi ajustada de modo a conter

a mesma quantidade de proteína presente na reação com lacase livre a 1% v/v, permitindo a comparação direta entre as duas condições experimentais. Esse ajuste foi feito com base na eficiência de imobilização e na quantidade de proteína adsorvida por grama de suporte. Ensaios controle com o suporte *in natura* (sem enzima) também foram realizados para avaliar sua influência na degradação do corante.

Resultados e Discussão

Caracterização da lacase comercial

A solução comercial de lacase de *Myceliophthora thermophila* foi inicialmente caracterizada quanto ao teor de proteínas e à atividade catalítica. A concentração proteica determinada pelo método de Bradford foi de 13,9 mg mL⁻¹. A atividade enzimática, medida com base na oxidação do substrato ABTS, foi de 359,55 U mL⁻¹, sendo que uma unidade enzimática (U) foi definida como a quantidade de enzima capaz de oxidar 1 μmol de ABTS por minuto, sob as condições estabelecidas.

Esses parâmetros foram utilizados como referência para os ensaios de imobilização e para o ajuste da quantidade de biocatalisador em testes comparativos entre as formas livre e imobilizada da enzima.

Caracterização da MOF Ce-UiO-66

A caracterização da MOF sintetizada foi realizada por espectroscopia no infravermelho (FTIR), difração de raios X (DRX) e microscopia eletrônica de varredura (MEV).

O espectro de FTIR do material obtido é apresentado na Figura 1. É possível observar diversas bandas características atribuídas aos grupos funcionais presentes na estrutura de UiO-66. As bandas entre 1000 e 1400 cm⁻¹ correspondem aos modos de estiramento e deformação do sistema aromático do ligante orgânico ácido tereftálico. A banda em 748 cm⁻¹ é atribuída à ligação do tipo μ₃-O, típica dos oxo-clusters metálicos presentes na unidade de construção secundária (SBU) do Ce-UiO-66. As bandas observadas em 1384 cm⁻¹ e 1560 cm⁻¹ correspondem aos modos de estiramento simétrico e assimétrico dos grupos carboxilato, confirmando a coordenação do ligante ao centro metálico, conforme descrito por Valenzano et al. (12).

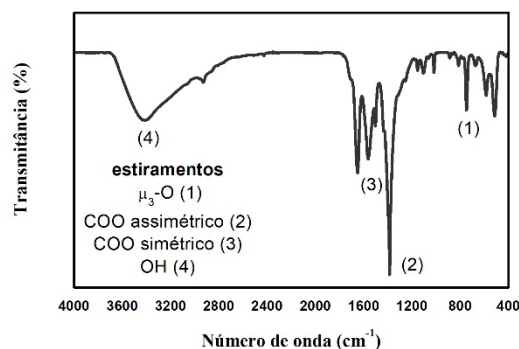


Figura 1. Espectro de infravermelho de Ce-UiO-66.

A estrutura cristalina do material foi confirmada por difratometria de raios X (Figura 2), cujo padrão de difração apresenta picos bem definidos e compatíveis com o padrão de referência para o Ce-UiO-66 descrito por Lammert et al. (13). Os picos de difração em baixo ângulo, anterior a 10° , revelam distâncias interplanares que estão relacionadas com o reconhecido sistema microporoso da MOF (13).

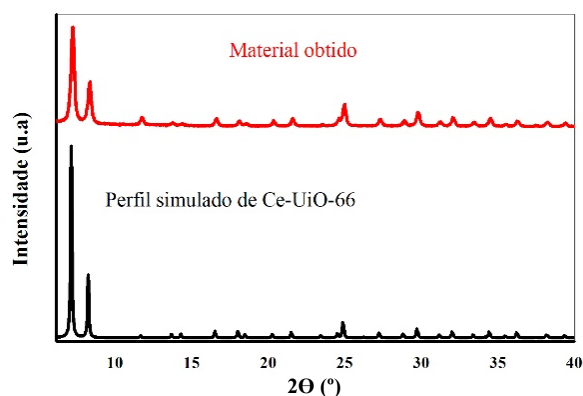


Figura 2. Difratograma de Ce-UiO-66 sintetizado e comparação com perfil da literatura.

As análises morfológicas por microscopia eletrônica de varredura (MEV) (Figura 3) mostraram partículas com morfologia irregular, predominantemente poliedros quadriláteros truncados, sem uma forma bem definida. As partículas apresentaram diâmetro médio entre 200 e 400 nm. O fundo das imagens mostra o suporte condutor de FTO utilizado para dispersão da amostra durante a análise de microscopia.

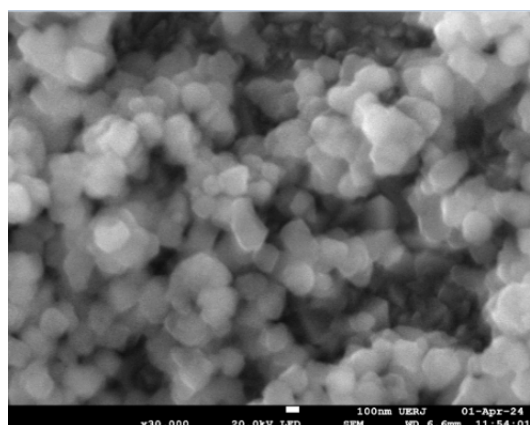


Figura 3. Micrografia de microscopia eletrônica de varredura da MOF sintetizada.

Efeito do pH

Inicialmente o efeito do pH na remoção do corante alaranjado de metila (10 mg L^{-1}) foi avaliado empregando 2,5% v/v da lacase comercial, na temperatura de 40°C . Os resultados obtidos estão ilustrados na Figura 4.

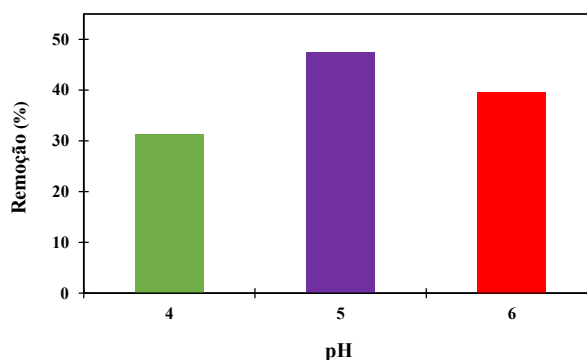
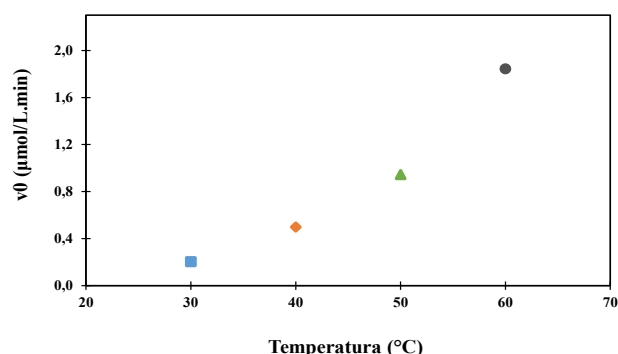


Figura 4. Efeito do pH após 4h de reação entre alaranjado de metila (10 mg L^{-1} em tampão de acetato de sódio 100 mmol L^{-1}) e a lacase (2,5% v/v), a 40°C .

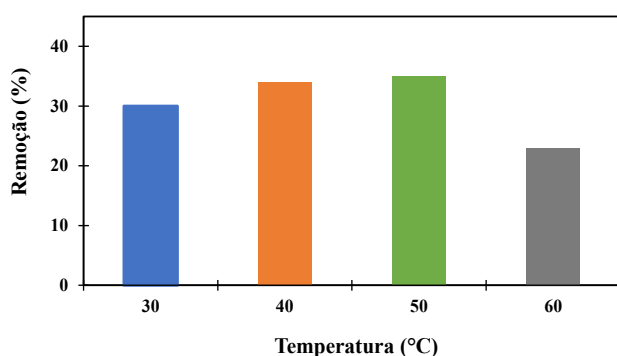
A reação conduzida em pH 5 apresentou a maior eficiência na remoção do corante alaranjado de metila, resultando em aproximadamente 47% de descoloração após 4 horas. Esse resultado está em concordância com a literatura, que aponta que lacases, em geral, exibem pH ótimo em condições ácidas, variando entre 3,5 e 5,5, e temperaturas ideais de atividade entre 30 e 55°C (14).

Efeito da temperatura

O efeito da temperatura na remoção do corante alaranjado de metila (50 mg L^{-1}) foi avaliado empregando 2,5% v/v da lacase comercial, nas temperaturas de 30 , 40 , 50 e 60°C . Conforme ilustrado na Figura 5a, observou-se que o aumento da temperatura promoveu um incremento na velocidade inicial da reação, como era esperado devido à maior energia cinética das moléculas reagentes. Contudo, a reação realizada a 60°C apresentou uma remoção inferior do corante após 4 horas de ensaio (Figura 5b), sugerindo a ocorrência de desnaturação térmica da enzima. Assim, a temperatura de 50°C foi considerada a condição ideal, proporcionando maior atividade catalítica sem comprometer a estabilidade da lacase. Silveira et al. (15) também relataram que a faixa de temperatura entre 40 e 50°C foi a mais favorável para a atividade da lacase de *Marasmiellus palmivorus* na remoção do corante alaranjado de metila, corroborando os resultados obtidos neste estudo.



(a) Efeito da temperatura na velocidade inicial



(b) Efeito da temperatura na remoção do alaranjado de metila após 4h

Figura 5. Efeito da temperatura na velocidade inicial (a) e na remoção do alaranjado de metila pela lacase após 4h (b). Testes realizados com 2,5% v/v de enzima, 10 mL de solução de corante a 50 mg L⁻¹ em tampão acético 100 mmol L⁻¹ (pH 5).

Efeito da concentração de biocatalisador

Com o objetivo de aumentar a eficiência na remoção do alaranjado de metila, foi investigado o efeito da concentração da lacase comercial livre na reação. Os experimentos foram realizados com concentrações enzimáticas variando de 0,5 a 2,5% v/v. Os resultados demonstraram que, independentemente da concentração empregada, a conversão do corante não ultrapassou 35%. Observou-se ainda que o perfil cinético das reações foi semelhante entre as diferentes concentrações testadas, com exceção da concentração de 0,5% v/v, que apresentou uma velocidade inicial inferior (Figura 6).

Dessa forma, a concentração de 1% v/v foi escolhida para a padronização dos ensaios subsequentes com o derivado enzimático imobilizado, por apresentar desempenho cinético satisfatório aliado a um uso mais econômico do biocatalisador.

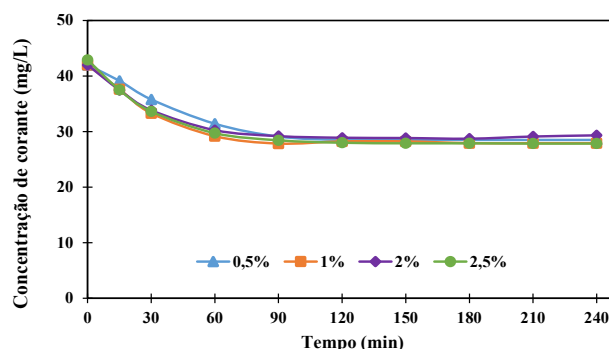


Figura 6. Progresso da reação de remoção do alaranjado de metila (50 mg L⁻¹), a 50 °C, catalisada por lacase (0,5; 1; 2 e 2,5% v/v), em pH=5.

Imobilização da lacase

A aplicação de enzimas em sua forma livre é frequentemente limitada por condições operacionais severas (extremos de pH e temperatura), uma vez que muitas enzimas apresentam baixa estabilidade térmica ou estrutural nesses ambientes, resultando na perda de sua atividade catalítica. Para contornar essas limitações e viabilizar sua aplicação em processos industriais, a imobilização enzimática tem se mostrado uma estratégia eficaz.

A imobilização proporciona diversas vantagens, incluindo o aumento da estabilidade térmica e operacional da enzima, maior resistência a agentes desnaturantes, facilidade de separação do meio reacional e possibilidade de reutilização do biocatalisador. Além disso, a imobilização viabiliza o uso de sistemas reacionais contínuos, como reatores de leito fixo ou fluidizado, contribuindo para a eficiência e economicidade do processo.

Com o objetivo de aprimorar a eficiência de remoção do corante alaranjado de metila, avaliou-se a imobilização da lacase em na MOF sintetizada. A imobilização da enzima alcançou 100% de eficiência de adsorção da proteína em 30 minutos (Figura 7).

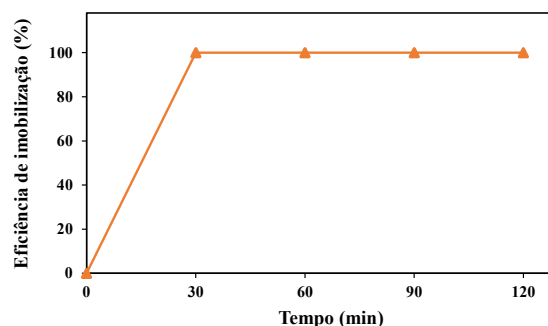


Figura 7. Cinética da adsorção da lacase em MOF-Ce-UiO-66. Condição da imobilização: 5 mL da lacase a 0,1 mg mL⁻¹, com 50 mg do suporte MOF-Ce-UiO-66, a 25 °C (±1 °C).

Teste catalítico com o derivado Lacase-MOF Ce-UiO-66

Após a imobilização da lacase na MOF Ce-UiO-66, avaliou-se sua aplicação na descoloração do corante alaranjado de metila. Para fins comparativos, utilizou-se uma massa do biocatalisador imobilizado contendo uma quantidade de proteína equivalente à presente em uma solução de lacase livre a 1% (v/v). Ensaios adicionais foram realizados com o suporte puro, para avaliar sua capacidade de adsorção, e com o sistema sem catalisador, apenas sob aquecimento a 50 °C. Os resultados indicaram eficiências de remoção similares, em torno de 83%, tanto para o suporte quanto para o derivado lacase-MOF, sugerindo que a adsorção sobre o material foi o principal mecanismo de remoção do corante. Esse efeito pode ser explicado em virtude das interações do alaranjado de metila, um corante aniônico, e os sítios de potencial zeta positivo presentes na superfície dos MOFs, como seus sítios de Ce(IV), gerando atração eletrostática entre as moléculas do corante e a superfície do material (16). A reação com a enzima livre (1% v/v) resultou em uma remoção de 33% do corante, enquanto não se observou alteração na concentração do alaranjado de metila na ausência de catalisador durante o período de reação de 1,5 horas.

Conclusões

As condições ideais para a atuação da lacase comercial de *Myceliophthora thermophila* na remoção do corante alaranjado de metila foram pH 5, temperatura de 50 °C e concentração enzimática de 2,5% (v/v). A enzima foi eficientemente imobilizada na MOF Ce-UiO-66, alcançando 100% de eficiência de adsorção e capacidade de carga de 8,23 mg de proteína por grama de suporte. O biocatalisador imobilizado apresentou desempenho superior ao da enzima livre nas mesmas condições reacionais, promovendo 83% de remoção do corante, frente aos 35% obtidos com a lacase livre. No entanto, testes com o suporte puro também resultaram em aproximadamente 83% de remoção, sugerindo que a elevada eficiência observada se deve principalmente à capacidade adsorvente do MOF-Ce-UiO-66. Avaliações adicionais com maiores concentrações de corante, bem como estudos de estabilidade térmica e reusabilidade do derivado imobilizado, são necessárias para aprimorar o desempenho do processo enzimático.

Agradecimentos

Os autores agradecem à UERJ e ao CNPq pelo suporte e pelo financiamento da pesquisa.

Referências

1. S. A. G. Z. Morsy, A. K. Elsayed; M. T. ElSayed; M. A. Ghazy; M. A. E. Mahmoud. *Front. Microbiol.* **2020**, *11*, 1–8.
2. S. Sudarshan; R. Raja; K.K. Doddapaneni; M. P. Nandakumar; S. Ramalingam; V. Arul, *J. Appl. Microbiol.* **2023**, *134*, 1–23.
3. Grand View Research. *Enzymes Market Growth & Trends*; Disponível em: <https://www.grandviewresearch.com/press-release/global-enzymes-market>. Acesso em: 01/05/25.
4. B. Harsanto; I. M. Jaya; D. L. Sari, *Sustainability* **2023**, *15*, 1–21.
5. A. R. Al-Tohamy; S. S. Ali; F. Li; K. M. Okasha; Y. A.-G. Mahmoud; T. Elsamahy; H. Jiao; Y. F. Sun, *J. Ecotoxicol. Environ. Saf.* **2022**, *231*, 113160.
6. B. Lellis; C. Z. Fávaro-Polonio; J. A. Pamphile; J. C. Polonio, *Biotechnol. Res. Innov.* **2019**, *3*, 275–290.
7. M. Bilal; M. Asgher; R. Parra-Saldivar; H. Hu; W. Wang; X. Zhang; H. M. N. Iqbal, *J. Environ. Manage.* **2019**, *240*, 253–264.
8. S. Ren; Y. Lin; J. Ma; J. Zhang, *Appl. Biochem. Biotechnol.* **2024**, *196*, 1669–1684.
9. F. Ahmadijokani; N. Rezaei; M. A. Shokrgozar; S. Shirazian; P. Huo, *Prog. Mater. Sci.* **2022**, *125*, 100904.
10. M. M. Bradford, *Anal. Biochem.* **1976**, *72*, 248–254.
11. C. Johannes; A. Majcherczyk, *J. Biotechnol.* **2000**, *78*, 193–199.
12. L. Valenzano; B. Civalleri; S. Chavan; S. Bordiga; M. H. Nilsen; S. Jakobsen; K. P. Lillerud; C. Lamberti, *Chem. Mater.* **2011**, *23*, 1700–1718.
13. M. Lammert; M. T. Wharmby; S. Smolders; B. Bueken; A. Lieb; K. A. Lomachenko; D. E. De Vos, *Chem. Commun.* **2015**, *51*, 12578–12581.
14. P. Baldrian, *FEMS Microbiol. Rev.* **2006**, *30*, 215–242.
15. T. R. Silveira; M. M. Machado; R. C. B. Alves; L. T. O. Furlan; M. A. P. Langone, *Biocatal. Agric. Biotechnol.* **2020**, *30*, 101859.
16. B. L. Tran; H. H. Cao; H. T. Nguyen; A. T. Dinh, *Microporous Mesoporous Mater.* **2019**, *277*, 149–153.