



**PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
PÓS GRADUAÇÃO EM MEIO AMBIENTE E
DESENVOLVIMENTO REGIONAL**

ANGELA CRISTINA GOMES

**CAPACIDADE BIODEGRADADORA DE FUNGOS
BASIDIOMICETOS *PLEUROTUS OSTREATUS* E *GANODERMA* SP. EM
EFLUENTES DA INDÚSTRIA DO COURO**

Presidente Prudente - SP
2020



**PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
PÓS-GRADUAÇÃO EM MEIO AMBIENTE E
DESENVOLVIMENTO REGIONAL**

ANGELA CRISTINA GOMES

**CAPACIDADE BIODEGRADADORA DE FUNGOS
BASIDIOMICETOS *PLEUROTUS OSTREATUS* E *GANODERMA* SP. EM
EFLUENTES DA INDÚSTRIA DO COURO**

Dissertação de Mestrado apresentada à Pró-Reitoria de Pesquisa e Pós-Graduação, Universidade do Oeste Paulista, como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Meio Ambiente e Desenvolvimento Regional (PPGMADRE) – Área de concentração: Ciências Ambientais.

Orientador:
Prof. Dr. Hamilton Mitsugu Ishiki

Presidente Prudente - SP
2020

577.66
G633

Gomes, Angela Cristina.
Capacidade biodegradadora de fungos
basidiomicetos *Pleurotus ostreatus* e *Ganoderma* sp. em
efluentes da indústria do couro / Angela Cristina Gomes;
orientador Hamilton Mitsugu Ishiki. – Presidente Prudente,
2020.

70 f.: il.

Dissertação (Mestrado em Meio Ambiente e
Desenvolvimento Regional) - Universidade do Oeste
Paulista – Unoeste, Presidente Prudente, SP, 2020.

Bibliografia.

Orientador: Hamilton Mitsugu Ishiki

1. Cromo. 2. Curtume. 3. *Ganoderma* sp. 4. *Pleurotus
ostreatus*. I. Título.

ANGELA CRISTINA GOMES

**CAPACIDADE BIODEGRADADORA DE FUNGOS BASIDIOMICETOS *PLEUROTUS*
OSTREATUS E *GANODERMA* SP. EM EFLUENTES DA INDÚSTRIA DO COURO**

Dissertação de Mestrado apresentada à Pró-Reitoria de Pesquisa e Pós-Graduação, Universidade do Oeste Paulista, como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Meio Ambiente e Desenvolvimento Regional (MMADRE) - Área de Concentração: Ciências Ambientais.

Presidente Prudente, 17 de setembro de 2020.

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Orientador Hamilton Mitsugu Ishiki
Universidade do Oeste Paulista – Unoeste
Presidente Prudente - SP

Prof. Dr. Paulo Antonio da Silva
Universidade do Oeste Paulista - Unoeste
Presidente Prudente - SP

Prof.^a. Dra. Suely Mayumi Obara Doi
Universidade Estadual de Londrina - UEL
Londrina - PR

DEDICATÓRIA

*Ao meu esposo Jonas, pelo apoio tanto na carreira acadêmica quanto em
minha vida, sendo solícito, atencioso e prestativo...*

*E a minha querida filha Isabella, razão maior de toda a minha persistência e
teimosia...*

Perdão pelo tempo que não lhes dediquei.

AGRADECIMENTOS

A Deus pela existência, por tudo que me propiciou e pelos caminhos traçados que me fizeram evoluir como pessoa e chegar até este momento.

Ao meus pais Osman e Genilde pelas orações, pelo incentivo e pela satisfação com minhas conquistas.

Ao meu marido Jonas, que sempre esteve ao meu lado me apoiando sem questionar os horários de ausência, os locais de estudo e sendo um amigo, um auxílio e um porto seguro sempre que necessitei.

A minha filha Isabella, que mesmo sentindo a minha falta devido aos vários momentos de ausência solicitando inocentemente a minha atenção mesmo que eu não pudesse atendê-la, ainda assim foi capaz de pedir ao “papai do céu” que desse tudo certo e que eu fizesse tudo direitinho. Que ela saiba que é o meu pequeno grande milagre e a razão dos meus esforços e que a dedicação que presenciou sirva para ela compreender que somos capazes de tudo, basta acreditarmos em nossos sonhos!

Amo você, minha princesinha!

As minhas irmãs Natalia e Elidiana por serem amigas e companheiras, por serem simplesmente as minhas queridas irmãs.

Aos meus orientadores Prof. Dr. Hamilton Mitsugu Ishiki e Prof. Dr. Rogério Giuffrida, pela atenção, pelos conselhos, amizade e paciência, dedicando seu inestimável tempo à orientação e ao esclarecimento das dúvidas evidenciadas, seus ensinamentos, foram fundamentais para a conclusão deste trabalho.

A todos os técnicos do Laboratório de Química e de Microbiologia do Hospital Veterinário da UNOESTE, em especial à Daniel Ângelo Macena, Diego Guevara Magalhães, Lidian Aparecida da Silva e Sidemir Aparecida Bráz, por sua disponibilidade e constante ajuda.

Ao Curso de Pós-Graduação em Meio Ambiente e Desenvolvimento Regional, por proporcionar a oportunidade de adquirir e aperfeiçoar conhecimentos que levarei para sempre em minha vida profissional e pessoal.

À Joyce Carvalho de Andrade, secretária do Curso de Pós-Graduação em Meio Ambiente e Desenvolvimento Regional, que sempre foi solícita e atenciosa.

À Escola Técnica Prof. Dr. Antônio Eufrásio de Toledo (ETEC), por permitir-me

desenvolver parte dos meus experimentos em seu laboratório.

À Universidade do Oeste Paulista (UNOESTE) pelo curso propiciado, pelo excelente corpo docente e pelo espaço e materiais cedidos a este estudo.

À Profa. Dra. Suely Mayumi Obara Doi, docente da Universidade Estadual de Londrina (UEL), por doar as cepas dos micro-organismos utilizados neste estudo, pelos conhecimentos compartilhados e por ser uma amiga, encorajadora, carinhosa e de alegria incomparável.

Ao Sr. Nelson Janeiro Rodriguez, técnico da Universidade Estadual de Londrina (UEL), pela ajuda fornecida.

À Profa. Dra. Leila Cristina Korandt Moraes, docente da Universidade Estadual do Mato Grosso do Sul (UEMS), pela ajuda e pela amizade, por doar um pouquinho do seu tempo e seus conhecimentos sempre que necessitei.

Agradeço a todos os meus amigos em especial à Adriana Barbosa Ferreira, David Silva Nunes, Dionilso Osvaldo Fiori Júnior, Fernanda Corrêa Rosa Ponso, Lúcia Maria Pacheco e a Renata Cristina Faustino, por me apoiarem, auxiliarem e pelo carinho dedicado sempre que necessitei.

A CAPES pelo subsídio a esta pesquisa, pois o presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – (Brasil) CAPES – “Código de Financiamento 001”.

Agradeço a todos, que direta ou indiretamente, ajudaram ou apoiaram para conclusão deste trabalho.

*“... Sonho que se sonha só
É só um sonho que se sonha só
Mas sonho que se sonha junto
É realidade...”
(Raul Seixas)*

RESUMO

Capacidade biodegradadora de fungos basidiomicetos *Pleurotus ostreatus* e *Ganoderma* sp. em efluentes da indústria do couro

Durante o processo de fabricação do couro existem etapas onde se adicionam vários produtos químicos, acarretando efluentes com elevada toxicidade e uma expressiva carga orgânica. Estes efluentes são submetidos a tratamentos físicos, químicos e biológicos, essenciais para minimizar o impacto ambiental. Na etapa biológica são utilizados micro-organismos, como as bactérias, que apresentam uma boa degradação do material orgânico. Adicionalmente, a utilização de fungos no setor biotecnológico é muito atrativa devido às características que esses micro-organismos apresentam como, por exemplo, o metabolismo bastante dinâmico e rápido. Considerando estas especificidades, neste estudo foram analisadas a capacidade biodegradadora das espécies *Pleurotus ostreatus* e *Ganoderma* sp. em amostras de efluentes de um curtume, incluindo a possibilidade de redução da quantidade de cromo (III) e (VI). Para verificar a resistência dos micro-organismos à toxicidade do efluente, foram analisadas a taxa de crescimento radial com e sem a adição de efluentes e a biomassa micelial final. Observou-se que ambos os micro-organismos tiveram eficiência nos tratamentos e que o menor tempo de incubação dos fungos no efluente acarretam em melhores resultados, sendo uma redução acima de 90% para o material biodegradável (DBO e DQO) e acima de 70% para as espécies de cromo (III) e (VI). O fungo *Pleurotus ostreatus* demonstrou um maior crescimento evidenciando uma menor sensibilidade à toxicidade do meio. A fim de se verificar simultaneamente o efeito de um grande número de variáveis a partir de um número reduzido de experimentos, os experimentos para o tratamento do efluente foram realizados através de um planejamento fatorial com ponto central, utilizando como variáveis: i) o tipo de fungo; ii) o pH do meio ; iii) o tempo de exposição. Como respostas foram utilizadas a demanda química de oxigênio (DQO), a demanda bioquímica de oxigênio (DBO), a quantidade de cromo (III) e cromo (VI). Assim, foi possível perceber que o pH foi a variável que demonstrou ser mais significativa para a remoção de cromo (III) do efluente estudado devendo portanto, ser monitorado dentro das faixas estipuladas.

Palavras-chave: Cromo. Curtume. *Ganoderma* sp. *Pleurotus ostreatus*.

ABSTRACT

Biodegrading capacity of basidiomycetal fungi *Pleurotus ostreatus* and *Ganoderma* sp. in effluents from the leather industry

During the leather manufacturing process, there are stages where various chemical products are added, resulting in effluents with high toxicity and a significant organic load. These effluents are subjected to physical, chemical and biological treatments, essential to minimize the environmental impact. In the biological stage, microorganisms are used, such as bacteria, which present a good degradation of the organic material. Additionally, the use of fungi in the biotechnological sector is very attractive due to the characteristics that these microorganisms have, for example, a very dynamic and fast metabolism. Considering these specificities, in this study the biodegradation capacity was analyzed of the species *Pleurotus ostreatus* and *Ganoderma* sp. in samples of tannery effluents, including the possibility of reducing the amount of chromium (III) and (VI). To verify the resistance of the microorganisms to the effluent toxicity, the radial growth rate with and without the addition of effluents and the final mycelial biomass were analyzed. It was observed that both microorganisms were efficient in the treatments and that the shorter incubation time of fungi in the effluent results in better results, with a reduction above 90% for biodegradable material (BOD and COD) and above 70% for chromium (III) and (VI) species. The fungus taking in consideration that the *Pleurotus ostreatus* showed a greater growth demonstrating a lower sensitivity to the toxicity of the environment. In order to simultaneously verify the effect of a large number of variables from a reduced number of experiments, experiments for the treatment of the effluent were carried out through factorial planning with a central point, using as variables: i) the type of fungus; ii) the pH of the environment; iii) the exposure time. As answers, some demands as chemical oxygen demand (COD), biochemical oxygen demand (BOD), the amount of chromium (III) and chromium (VI) were used. The pH was the variable that proved to be the most significant for the removal of chromium (III) from the studied effluent therefore, it must be monitored within the stipulated ranges.

Key words: Chrome. Tannery. *Ganoderma* sp. *Pleurotus ostreatus*.

LISTA DE SIGLAS

- AICSUL – Associação de Indústria de Curtume do Rio Grande do Sul
- CAPES – Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior
- CICB – Centro das Indústrias de Curtume do Brasil
- CIESP – Centro das Indústrias do Estado de São Paulo
- FIESP – Federação das Indústrias do Estado de São Paulo
- IEDI – Instituto de Estudos para o Desenvolvimento Industrial
- IBGE – Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística
- SEAAC – Sindicato dos Empregados de Agentes Autônomos do Comércio e em Empresas de Assessoramento, Perícias, Informações e Pesquisa e de Empresas de Serviços Contábeis de Dracena e Região
- SEADE – Sistema Estadual de Análise de Dados Estatísticos

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 -	Localização da Microrregião de Presidente Prudente na base territorial do Estado de São Paulo.....	19
Figura 2 -	Fluxograma simplificado dos processos de Ribeira, Curtimento e Acabamento Molhado com os tipos de resíduos gerados em cada etapa.....	22
Figura 3 -	Fluxograma simplificado dos processos de Pré-Acabamento e Acabamento propriamente dito com os tipos de resíduos gerados em cada etapa.....	23
Figura 4 -	Modelo tradicional da taxonomia dos fungos.....	30
Figura 5 -	Fungos Basidiomicetos Cogumelos e Orelha de pau: (A) <i>Agaricus</i> sp., (B) <i>Ganoderma</i> sp. e <i>Pleurotus ostreatus</i> (C).....	31
Figura 6 -	Ciclo de vida genérico de um basidiomiceto.....	31
Figura 7 -	Resultados obtidos através do modelo de regressão para Área (cm ²) x tempo de crescimento (horas) dos fungos das espécies <i>Pleurotus ostreatus</i> e <i>Ganoderma</i> sp. e resultado obtido através do modelo de regressão para Perímetro (cm ²) x tempo de crescimento (horas) do fungo da espécie <i>Pleurotus ostreatus</i>	45
Figura 8 -	Resultado do experimento para avaliar o crescimento micelial dos fungos basidiomicetos <i>Ganoderma</i> sp. (A e B) e <i>Pleurotus ostreatus</i> (C e D), em meios de BDA (Meio 1) e BDA com adição de efluente (Meio 2)	46
Figura 9 -	Valores do pH inicial e final de cada um dos experimentos realizados.....	48
Figura 10 -	Valores da Turbidez em Unidades Nefelométricas (NTU), determinados após os tratamentos dos efluentes em cada um dos 11 experimentos e no frasco controle, sem tratamento.....	50
Figura 11 -	Resultados da porcentagem de remoção da Turbidez nos tratamentos dos efluentes em cada um dos 11 experimentos e no frasco controle, sem tratamento.....	50
Figura 12 -	Valores de DQO e DBO ₅ expressos em mg. L ⁻¹ obtidos antes e após os tratamentos de cada um dos experimentos.....	51

Figura 13 -	Porcentagem de redução de DQO e DBO ₅ dos experimentos.....	52
Figura 14 -	Porcentagem de redução de Cromo III, Cromo VI e Cromo Total de cada um dos experimentos.....	54
Figura 15 -	Valores das quantidades de Sólidos Totais, Sólidos Voláteis e Sólidos Fixo em mg. L ⁻¹	55
Figura 16 -	Resultados da análise de biomassa micelial	56
Figura 17 -	Gráficos de Pareto dos efeitos padronizados para a) Cromo (III), b) Cromo (VI), c) DQO e d) DBO ₅	58
Figura 18 -	Gráfico de efeitos principais para cromo (III).....	59

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 -	Padrões inorgânicos e orgânicos para lançamento de efluentes.	27
Tabela 2 -	Níveis das variáveis independentes e os valores utilizados (Tempo, pH, Micro-organismo) do planejamento fatorial.....	42
Tabela 3 -	Geratriz do planejamento 2^3 com ponto central em triplicata para a otimização da degradação do efluente de curtume.....	43
Tabela 4 -	Valores dos parâmetros experimentais utilizados em cada um dos experimentos.....	47
Tabela 5 -	Valores da relação entre DQO/DBO ₅	53
Tabela 6 -	Valores da concentração de Cromo III, Cromo VI e Cromo Total, em mg. L ⁻¹ , obtidos em cada experimento após o tratamento.....	54
Tabela 7-	Valores das análises de DQO, DBO ₅ , Cr (III) e Cr (VI), obtidos através da análise fatorial.....	57

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	16
2	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	18
2.1	Perfil do setor coureiro no Brasil	18
2.1.1	Setor coureiro na região de Presidente Prudente.....	19
2.2	Processamento do couro	20
2.2.1	Descrição dos processos.....	20
2.2.2	Tipos de resíduos formados.....	23
2.2.2.1	Volume de efluente (banhos).....	25
2.2.2.2	Padrões de lançamento de efluente em corpo de água.....	26
2.2.2.3	Cromo e suas características.....	27
2.2.3	Tratamento de efluentes.....	28
2.3	Fungos	29
2.3.1	Fungos basidiomicetos.....	29
2.3.2	Importância econômica e biotecnológica.....	32
3	OBJETIVO	34
3.1	Objetivo geral	34
3.2	Objetivos específicos	34
4	METODOLOGIA	35
4.1	Micro-organismos	35
4.2	Efluentes	35
4.3	Preparo da solução de efluente	35
4.4	Determinação da taxa de crescimento radial dos micro-organismos <i>Pleurotus ostreatus</i> e <i>Ganoderma</i> sp. em meio de BDA e de BDA + Efluente	36
4.5	Tratamentos biológicos do efluente por fungos basidiomicetos	37
4.6	Determinação de pH	38
4.7	Determinação da turbidez	38
4.8	Determinação da demanda química de oxigênio (DQO)	38
4.9	Determinação da demanda bioquímica de oxigênio (DBO)	39
4.10	Determinação da biomassa micelial	39

4.11	Determinação de cromo (III), cromo (VI) e cromo total	39
4.12	Teores de sólidos.....	40
4.13	Planejamento fatorial.....	42
5	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	44
5.1	Determinação da taxa de crescimento radial dos micro-organismos <i>Pleurotus ostreatus</i> e <i>Ganoderma</i> sp. em meio de BDA e de BDA + Efluente.....	44
5.2	Determinação de pH.....	46
5.3	Determinação da turbidez.....	48
5.4	Determinações da demanda química de oxigênio (DQO) e determinação da demanda biológica de oxigênio (DBO ₅)	50
5.5	Cromo (III), Cromo (VI) e Cromo total.....	53
5.6	Sólidos totais, fixos, voláteis e biomassa micelial.....	55
5.6.1	Toxicidade do efluente estudado e relação com a taxa de crescimento radial e biomassa fúngica.....	56
5.7	Planejamento fatorial.....	57
6	CONCLUSÃO.....	60
7	PERSPECTIVAS.....	61
	REFERÊNCIAS.....	62

1 INTRODUÇÃO

A cadeia produtiva do couro possui um grande impacto econômico e ambiental, visto que o processo de fabricação do couro é uma forma de agregar valor ao resíduo gerado no setor da pecuária de corte. A ausência desse seguimento destinaria para o meio ambiente grandes volumes de peles cruas, que se não transformadas em matéria-prima para os curtumes necessitaria de tratamentos como qualquer outro resíduo.

O Brasil possui atualmente 260 unidades curtumeiras ativas que transformaram um volume superior a 1.400.000 toneladas de peles em couro e movimentaram cerca de US\$ 1,1 bilhão em exportações, somente no ano de 2019 (OLIVEIRA, 2014; CICB, 2020), o que caracteriza um seguimento atrativo para a economia brasileira.

A região de Presidente Prudente, localizada a oeste do Estado de São Paulo, se destaca na produção de couros, ocupando a quinta posição no ranking estadual (SEADE, 2019). Nesta região estão localizadas três empresas curtumeiras, que somam uma produção que supera os 24.000 couros ao dia, são elas o Curtume Touro LTDA, JKempe LTDA e Vitapelli LTDA, esta última apresenta o título de maior curtume do mundo numa única planta (GUIA BRASILEIRO DO COURO, 2020; VITAPELLI, 2020).

O processo de transformação da pele em couro é altamente poluente, gerando resíduos líquidos, sólidos e gasosos. Os efluentes são os resíduos que possuem o maior impacto ambiental, pois são utilizados diversos produtos químicos e todo o material não fixado à pele é retirado por um grande volume de água. Adicionalmente, as águas residuárias são ricas em material orgânico. Toda esta diversidade de substâncias químicas é a principal responsável pelo potencial poluidor de um curtume. Conforme destacam Ganem (2007) e Pacheco (2015), a cada 1 tonelada de peles salgadas, obtém-se 250 kg de couros acabados e são consumidos de 12 a 37 m³ de água. Deste modo, os curtumes de Presidente Prudente consomem aproximadamente 15.200 m³ de água/dia, quantidade equivalente ao consumo diário de uma população de 84.000 habitantes, porém, com o potencial poluidor de uma cidade de 684.800 habitantes.

Os efluentes gerados em cada operação são submetidos a tratamentos físicos, químicos e biológicos. Estes tratamentos são essenciais para minimizar o impacto ambiental, sendo muitas vezes custosos e/ou ineficientes. Deste modo, se

faz necessária a utilização de micro-organismos na etapa biológica, pois a sua capacidade em degradar compostos orgânicos é cientificamente reconhecida, tanto para resíduos domésticos bem como industriais. Também não há como negar que certos micro-organismos possuem condições de degradar compostos químicos que são estranhos a um organismo ou sistema biológico (xenobióticos), podendo ser aplicados em processos de biorremediação, nos quais utilizam as enzimas desses micro-organismos para reduzir ou remover possíveis contaminantes ambientais (CETESB, 2007; THAPA *et al.* 2012).

O estudo da atuação dos micro-organismos no processo de tratamento de efluentes possui fundamental importância, principalmente considerando a classe dos fungos. De acordo com Tortora *et al.* (2017), os fungos pertencem a uma classe de micro-organismos capazes de metabolizar carboidratos muito complexos entre outras substâncias. Possuem ainda condições de utilizar os mais improváveis substratos, possuindo ou não deficiência de Carbono e Nitrogênio e em meios com elevada acidez, dessa forma acredita-se que essa classe de micro-organismos possam utilizar suas características para biorremediação e degradar com eficiência os compostos orgânicos e inorgânicos presentes nos efluentes de curtume que causam poluição ambiental, conseqüentemente sugerindo um aumento da eficiência dos tratamentos de efluentes para posterior despejo no meio ambiente.

Diante deste contexto foram estudados dois tipos de fungos da classe basidiomicetos (*Pleurotus ostreatus* e *Ganoderma* sp.) para avaliar a atuação desses micro-organismos no efluente selecionado, com intuito de verificar o potencial de desenvolvimento dos mesmos no efluente de curtume, destacando assim sua possível utilização no processo de tratamento de efluentes desse seguimento industrial.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Perfil do setor coureiro no Brasil

Em 2019 o Brasil produziu um total de 32.730.364 milhões de couros inteiros curtidos (IBGE, 2020), valor menor que em 2018, com o qual conquistou a quarta posição no ranking mundial de produtividade de peças de couro (IEDI, 2018). Neste mesmo ano, foram produzidas mais de 34 milhões de peças, número superior aos anos de 2017 (33.995.840 milhões de peças), de 2016 (33.608.352 milhões de peças) e de 2015 (33.129.846 milhões de peças) (IBGE, 2019a; 2019b).

O maior polo de curtumes do país situa-se no estado do Rio Grande do Sul, seguido por São Paulo, Paraná, Ceará, Bahia, Mato Grosso, Mato Grosso do Sul, Goiás, Minas Gerais e Pará, sendo São Paulo considerado o maior exportador. Em 2012, o Brasil se manteve entre os maiores produtores de couro do mundo, produzindo mais de R\$ 6 bilhões e em 2015 o setor movimentou mais de R\$ 7 bilhões, evidenciando um mercado que, mesmo na crise, conseguiu se expandir. Em 2018, as exportações brasileiras de couro atingiram US\$ 1,4 bilhão e em 2019 ficou em US\$ 1,1 bilhão. Apesar da queda nas exportações, não se pode negar que é um setor que atua significativamente na economia brasileira (JUNIOR, 2015; AICSUL, 2019; CICB, 2017a; 2020).

A análise da quantidade de curtumes em funcionamento atualmente indica um decréscimo considerável, sendo que em 2000 haviam 450 curtumes (PACHECO, 2005) e em 2015 eram 310 espalhados pelas cinco regiões do Brasil (CICB, 2017b). E esse número reduziu ainda mais, restando 260 unidades em 2019. Em contrapartida, percebe-se que a produtividade aumentou, o que significa que houve um avanço tecnológico. Destaca-se ainda que existem mais de 700 empresas ligadas à cadeia produtiva do couro no Brasil (CICB, 2019).

Consegue-se perceber que este setor pertence a uma cadeia produtiva de mudança e que há um crescimento significativo no Brasil, já que apesar da quantidade de curtumes ter diminuído o país ainda ocupa um lugar de destaque em sua produtividade.

2.1.1 Setor coureiro na região de Presidente Prudente

A Microrregião Geográfica de Presidente Prudente está localizada na porção sudoeste do Estado de São Paulo, a qual abrange uma área de 17.565 Km², correspondendo a 7% da área territorial paulista e é composta por trinta municípios conforme destaca a Figura 1 (HESPANHOL, 2000, p 163; SEAAC, 2020).

Figura 1 - Localização da Microrregião de Presidente Prudente na base territorial do Estado de São Paulo.



Fonte: Adaptado de SEAAC (2020).

Sobre o ranking de produtividade de couros no Estado de São Paulo, a região de Presidente Prudente foi considerada, até o ano de 2016, a quinta maior produtora, participando com 5% no âmbito estadual (SEADE, 2019).

A Fundação de Sistema Estadual de Análise de Dados Estatísticos (Fundação SEADE), ainda não publicou os dados referentes aos anos posteriores a 2016, porém, Morello (2019), relata que mesmo com a queda na produtividade nacional, a região

de Presidente Prudente ainda pode ser considerada uma das grandes produtoras de couro do Estado de São Paulo.

Morello (2019) descreve a importância do segmento de couro para a região, pois, mesmo no panorama atual, o diretor regional do Ciesp/Fiesp (Centro/Federação das Indústrias do Estado de São Paulo), Wadir Olivetti Junior, referencia:

Estamos concentrados numa região que possui um grande abate de animais, onde a matéria-prima fica por aqui. Estamos falando de processamento do couro, exportação, confecção, entre outros, Wadir Olivetti Junior (MORELLO, 2019, não paginado).

Apesar da alteração na produtividade a cidade de Presidente Prudente ainda permanece com três curtumes totalizando uma produção de 24.200 couros ao dia, (GUIA BRASILEIRO DO COURO, 2020).

2.2 Processamento do couro

O couro é uma pele animal que passou por processos de limpeza, estabilização e acabamento para a confecção de calçados, vestuário, estofamentos automotivos e mobiliários, além de outros artigos (PACHECO, 2005).

Fornari (2007) cita que os processos de transformação da pele em couro são baseados em três grandes etapas denominadas como Ribeiro, Curtimento e Acabamento. Assim, os curtumes são classificados de acordo com a realização parcial ou total dessas etapas.

2.2.1 Descrição dos processos

As peles depois de esfoladas seguem para os curtumes e são identificadas como “couro verde” ou são descarnadas e/ou salgadas nos próprios frigoríficos ou abatedouros. A salga é realizada quando o percurso entre o frigorífico ou abatedouro for maior que 12 horas, para que se possa evitar o desenvolvimento de micro-organismos decompositores e manter a sua conservação (PACHECO, 2006). Esta etapa não gera resíduos nos curtumes, devendo estes serem tratados nos próprios frigoríficos ou abatedouros.

A matéria-prima ao chegar ao curtume passa por um setor denominado

Ribeira, a qual contempla as seguintes sub-etapas: Classificação e pesagem, Pré-remolho, Pré-descarne, Remolho, Depilação-Caleiro, Descarne, Recorte, Divisão, Descalcinação, Purga e Píquel (FIGURA 2). A finalidade desta etapa é a de realizar a limpeza e a eliminação de todos os componentes que não irão constituir o produto final (HOINACKI *et al.*, 1994; SOUSA, 2017).

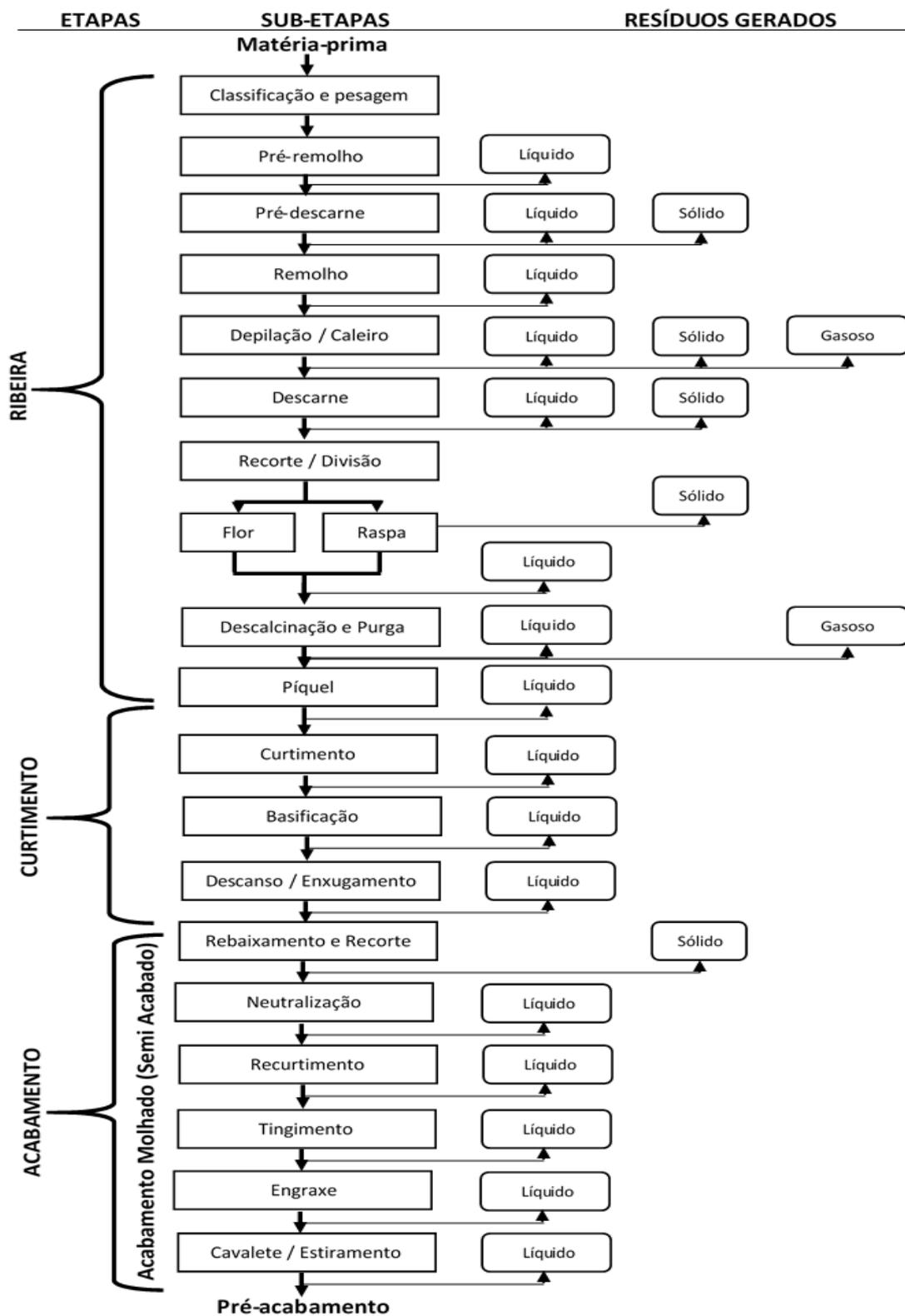
Após a limpeza da pele, esta segue para o setor de Curtimento, que possui o propósito de converter a tripa (o couro que passou pela sub-etapa de píquel) em couro, através da etapa de curtimento, a qual irá: i) estabilizá-lo contra a degradação realizada por enzimas e aumentar sua resistência contra produtos químicos; ii) elevar a sua temperatura de retração e a sua resistência à água quente; iii) reduzir ou eliminar a sua capacidade de inchamento; iv) aumentar as suas propriedades de resistências; v) diminuir a sua densidade através do isolamento das fibras; vi) reduzir a sua deformabilidade; vii) reduzir o seu encolhimento em volume, área e espessura e viii) ampliar a porosidade de sua textura fibrosa. Todos estes efeitos somente serão alcançados quando ocorre a ligação transversal nas cadeias de colágeno por vários agentes curtentes (HOINACKI *et al.*, 1994; FORNARI, 2007).

Diante da estabilidade da pele, que após o curtimento é conhecida como couro, a etapa sub-sequente é identificada como acabamento molhado, mas também pode ser conhecida como processo de semi-acabado, onde são compreendidas as etapas que irão determinar características peculiares de cada artigo (calçados, vestuários, moveleiro ou automotivo), como espessura, maciez, cor, toque, maleabilidade e resistências físico-químicas, dentre outras (HOINACKI *et al.*, 1994). A Figura 2 ilustra as etapas mais comuns utilizadas no setor de acabamento molhado.

O pré-acabamento (FIGURA 3) incluem etapas que têm como intuito retirar o excesso de água apresentado nos couros por meio de ações mecânicas e por secagem, além de executar as etapas de amaciamento, lixamento e desempoamento, que visam dar características distintas ao couro e preparar o mesmo para a etapa de acabamento (HOINACKI *et al.*, 1994; VADE-MÉCUM..., 2005, p. 104-172).

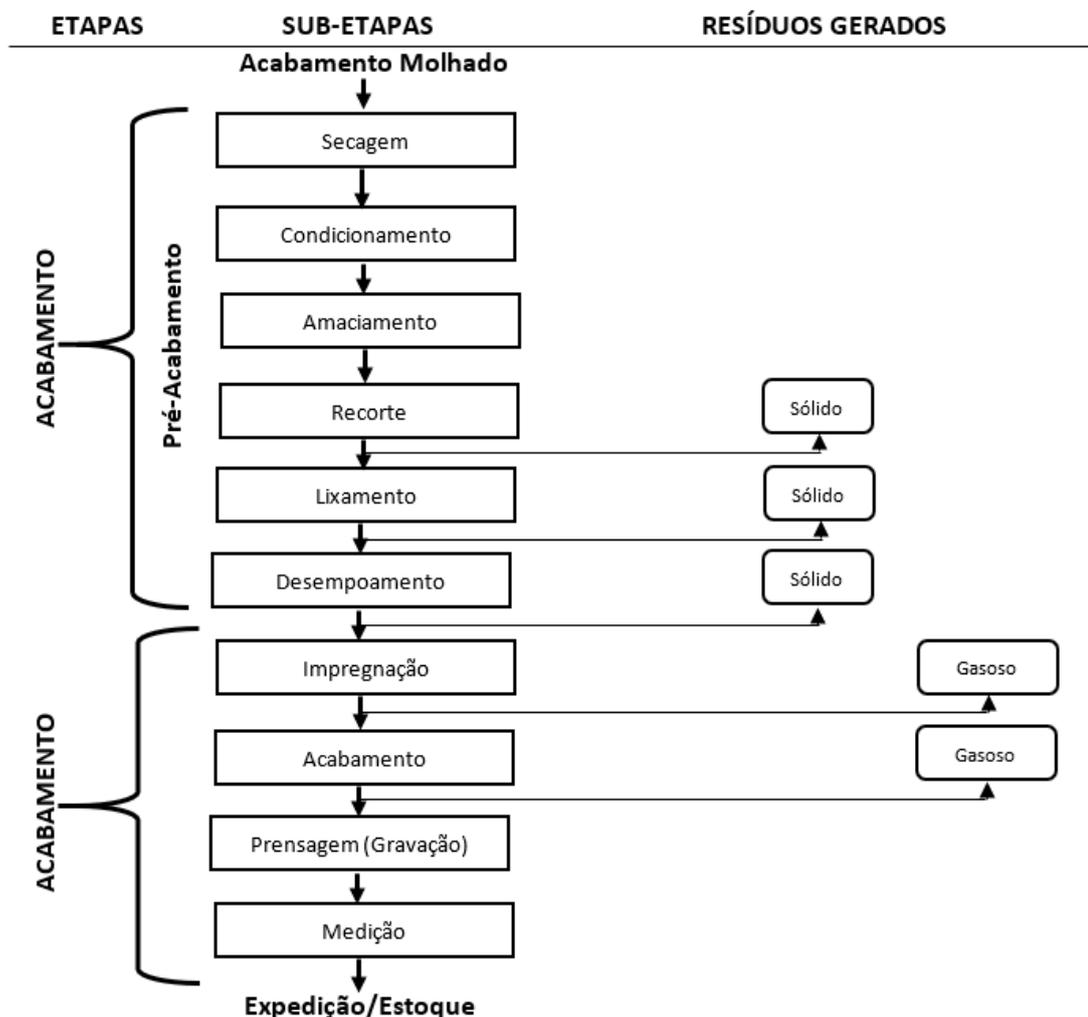
Por fim, o couro é destinado ao setor de Acabamento, onde o termo “acabamento” é utilizado para descrever uma série de processos e operações destacados na Figura 3, como impregnação, acabamento, prensagem e medição que irão incrementar as propriedades e aparência do couro, tonando-o ao final um material exclusivo (VADE-MÉCUM..., 2005, p. 173-207).

Figura 2 – Fluxograma simplificado dos processos de Ribeira, Curtimento e Acabamento Molhado com os tipos de resíduos gerados em cada etapa.



Fonte: Adaptado de Hoinacki *et al.* (1994), Vade-Mécum...(2005) e Pacheco (2005).

Figura 3 – Fluxograma simplificado dos processos de Pré-Acabamento e Acabamento propriamente dito com os tipos de resíduos gerados em cada etapa.



Fonte: Adaptado de Hoinacki *et al.* (1994), Vade-Mécum...(2005) e Pacheco (2005).

2.2.2 Tipos de resíduos formados

Ao considerar o processo de tratamento de peles em couro, é muito difícil quantificar o potencial poluidor deste setor, já que o mesmo produz uma grande quantidade de resíduos. Essa constatação se deve aos processos e ao volume de substâncias agregadas à água que tendem a criar uma demanda de oxigênio acima do normal, além de elevada toxicidade da água, geração de resíduos sólidos e poluição do ar (FIGURA 2 e 3).

Hu *et al.* (2011) e Pacheco (2015) salientam que os resíduos sólidos de maior geração são os materiais não curtidos (aparas não caleadas/caleadas, raspas e

carnaça), em torno de 350 a 400 Kg para cada tonelada de couro cru processada, 150 a 350 kg de material curtido (farelo ou pó ou serragem de rebaixadeira e aparas/tiras curtidas) e, aproximadamente 650 Kg de lodo dos sistemas de tratamento dos efluentes líquidos. Já as emissões atmosféricas são caracterizadas pelos compostos voláteis gerados como: a amônia, o sulfeto de hidrogênio, compostos aminados, material particulado sólido e os compostos orgânicos voláteis.

Sobre o resíduo líquido, este é o mais significativo devido ao grande volume de água utilizado no processo. A sua carga poluidora é de difícil classificação, apesar de agregar um percentual alto de material orgânico que influencia diretamente os resultados das análises de DBO (Demanda Biológica de Oxigênio) e DQO (Demanda Química de Oxigênio). Considerando que todo residual não fixado à pele é retirado através da água, pode-se ter uma base dessas substâncias observando os insumos utilizados no processo.

Ganem (2007) e Hu *et al.* (2011) enunciam que os resíduos formados nas primeira etapas se resumem a proteínas solúveis e aminoácidos, cloreto de sódio, surfactantes, pelos, cal, sulfeto, sais de amino, sulfeto de hidrogênio, sulfatos, cromatos e sujeiras que podem vir aderidas à pele. Estas substâncias advêm das operações iniciais de limpeza da pele para posterior tratamento, englobadas no setor denominado *beam house* que para Hoinacki (1989), Hoinacki *et al.* (1994) e Pacheco (2005 e 2015) é identificada como “Ribeira”. Esse setor contém as atividades de *soaking* que promovem a limpeza onde se utilizam diferentes tipos de surfactantes e hidratação do couro, pois este, quando salgado, dá origem ao cloreto de sódio presente no efluente, porém ainda podem conter conservantes, biocidas e fungicidas, adicionados a pele para sua preservação até que seja inserida nos processo fabril (HU *et al.*, 2011).

Após essa operação são adicionados a cal, que tem o intuito de elevar o pH e causa o inchamento da pele para posterior retirada dos pelos, através da adição de enzimas e sulfetos, na etapa identificada como *liming* (calagem ou caleagem). Na etapa denominada *fleshing* (descarne) é retirado o tecido adiposo sob a pele e realizada a “aparação” para que a pele tenha um desenho mais harmonioso e não contenham partes indesejáveis que possam fazer uso de produtos químicos desnecessariamente. A etapa de *splitting* (divisão) tem o intuito de realizar um corte horizontal que serve para padronizar a espessura do couro separando-o da raspa (HOINACKI *et al.*, 1994; PACHECO, 2005 e 2015).

Após o processo de limpeza da pele, são realizadas as operações que englobam o curtimento (*tanning*): i) *deliming* (descalcinação) que é a retirada da cal; ii) *bating* (purga), onde removem com o auxílio de enzimas o material interfibrilar; iii) *pickling* (píquel), que é caracterizada por reduzir o pH através da adição de ácidos; e iv) *tanning* (curtimento propriamente dito), onde ocorre a adição de sais de cromo trivalente e/ou inserção de outros sais curtentes como por exemplo, sais de zircônio, titânio ou alumínio, taninos vegetais, resinas ou aldeídos. Por fim, vem a etapa de *basification* (basificação), onde ocorre a elevação do pH através da adição de carbonatos e bicarbonatos de sódio, óxido de magnésio entre outros (VADE-MÉCUM..., 2005, p. 109-112; PACHECO, 2015).

Por estes motivos, o efluente gerado em curtumes apresenta elevada carga orgânica e metais pesados podendo apresentar muita espuma devido à presença de colóides e sabões (PACHECO, 2005; GANEM, 2007; HU *et al.*, 2011; BERTOLDI, *et al.* 2016; MARSAL *et al.* 2018).

2.2.2.1 Volume de efluente (banhos)

Conforme Ganem (2007) e Pacheco (2015), o alto consumo de água nos curtumes é devido à utilização no processo de diversas lavagens, as quais são efetuadas para retirar os produtos químicos que não foram aderidos a pele e que aumentam expressivamente o efluente gerado. Estima-se que utilizando 1 tonelada de peles salgadas o volume gasto em água será aproximadamente de 12 a 37 m³.

Ganem (2007) e Hu *et al.* (2011) ressaltam que a etapa mais expressiva deste volume é a Ribeira, responsável por 85% da carga poluidora dos efluentes de um curtume, quando são usados os sistemas de destruição dos pelos (HOINACKI, 1989). Para Pacheco (2015), 67 kg/T de pele, que tenham um peso médio de 23 kg/pele salgada irão produzir um carga orgânica similar ao esgoto doméstico de 54 g DBO/habitante.dia, um curtume que processe 3.000 peles/dias, a carga orgânica biodegradável seria equivalente ao de uma população com aproximadamente 85.600 habitantes, demonstrando seu alto potencial poluidor.

Compreendendo o impacto que a atividade curtumeira oferece, a Resolução Conama n° 430/2011, institui que este efluente somente será lançado nos corpos de água após o seu tratamento, cabendo aos órgãos ambientais estabelecer a carga máxima poluidora a ser lançada por uma empresa. Os padrões de lançamento de

efluentes estão definidos no art. 16, seção II desta resolução (BRASIL, 2019, não paginado).

2.2.2.2 Padrões de lançamento de efluente em corpo de água

A Seção II da Resolução Conama nº 430, de 13 de maio de 2011, Art. 16 cita as condições de lançamento de efluentes (BRASIL, 2019, não paginado):

Os efluentes de qualquer fonte poluidora somente poderão ser lançados diretamente no corpo receptor desde que obedçam as condições e padrões previstos neste artigo, resguardadas outras exigências cabíveis:

I - condições de lançamento de efluentes:

- a) pH entre 5 a 9;
- b) temperatura: inferior a 40°C, sendo que a variação de temperatura do corpo receptor não deverá exceder a 3°C no limite da zona de mistura;
- c) materiais sedimentáveis: até 1 mL/L em teste de 1 hora em cone Imhoff. Para o lançamento em lagos e lagoas, cuja velocidade de circulação seja praticamente nula, os materiais sedimentáveis deverão estar virtualmente ausentes;
- d) regime de lançamento com vazão máxima de até 1,5 vez a vazão média do período de atividade diária do agente poluidor, exceto nos casos permitidos pela autoridade competente;
- e) óleos e graxas: 1. óleos minerais: até 20 mg/L;
2. óleos vegetais e gorduras animais: até 50 mg/L;
- f) ausência de materiais flutuantes; e
- g) Demanda Bioquímica de Oxigênio (DBO 5 dias a 20°C): remoção mínima de 60% de DBO sendo que este limite só poderá ser reduzido no caso de existência de estudo de autodepuração do corpo hídrico que comprove atendimento às metas do enquadramento do corpo receptor;

II - Padrões de lançamento de efluentes:

Já o item II da mesma seção/Resolução, apresenta os padrões de lançamento de efluentes considerando os materiais inorgânicos e orgânicos (TABELA 1).

Tabela 1 - Padrões inorgânicos e orgânicos para lançamento de efluentes.

Parâmetros inorgânicos	Valores máximos
Arsênio total	0,5 mg/L As
Bário total	5,0 mg/L Ba
Boro total (Não se aplica para o lançamento em águas salinas)	5,0 mg/L B
Cádmio total	0,2 mg/L Cd
Chumbo total	0,5 mg/L Pb
Cianeto total	1,0 mg/L CN
Cianeto livre (destilável por ácidos fracos)	0,2 mg/L CN
Cobre dissolvido	1,0 mg/L Cu
Cromo hexavalente	0,1 mg/L Cr ⁺⁶
Cromo trivalente	1,0 mg/L Cr ⁺³
Estanho total	4,0 mg/L Sn
Ferro dissolvido	15,0 mg/L Fe
Fluoreto total	10,0 mg/L F
Manganês dissolvido	1,0 mg/L Mn
Mercúrio total	0,01 mg/L Hg
Níquel total	2,0 mg/l Ni
Nitrogênio amoniacal total	20,0 mg/L N
Prata total	0,1 mg/L Ag
Selênio total	0,30 mg/L Se
Sulfeto	1,0 mg/L S
Zinco total	5,0 mg/L Zn
Parâmetros orgânicos	Valores máximos
Benzeno	1,2 mg/L
Clorofórmio	1,0 mg/L
Dicloroetano (somatório de 1,1 + 1,2 cis + 1,2 trans)	1,0 mg/L
Estireno	0,07 mg/L
Etilbenzeno	0,84 mg/L
Fenóis totais (substâncias que reagem com 4-aminoantipirina)	0,5 mg/L C ₆ H ₅ OH
Tetracloroeto de carbono	1,0 mg/L
Tricloreto	1,0 mg/L
Tolueno	1,2 mg/L
Xileno	1,6 mg/L

Fonte: Brasil (2019, não paginado).

2.2.2.3 Cromo e suas características

O cromo (Cr) é um metal pesado que existe na natureza principalmente na forma de Cr (III) (cromo trivalente), considerado uma forma menos móvel e, portanto, menos tóxica, e o Cr (VI) (cromo hexavalente), geralmente associado com o oxigênio na forma de cromato (CrO₄²⁻) ou dicromato (Cr₂O₇²⁻). Quase todo o cromo hexavalente presente no meio ambiente foi oriundo de atividades humanas (SILVA E PEDROZO, 2001; SHANKER E VENKATESWARLU, 2011).

O Cr (III) é essencial para o metabolismo de carboidratos e lipídios e no estado mais oxidado (Cr VI) apresenta-se como agente carcinogênico e genotóxico (SCHROEDER MD, 1968; LEONARD *et al.*, 1984).

Pechova e Pavlata (2007) relatam que os compostos de Cr (VI) são solúveis em água, em qualquer faixa de pH, sendo perigosamente tóxicos para qualquer tipo de organismo. Já na forma trivalente não possuem tanta solubilidade em água e são nutrientes essenciais para o metabolismo energético (YANG *et al.*, 2016; WISE *et al.*, 2016 a; WISE *et al.*, 2016 b; HU *et al.*, 2016). Deste modo, a redução de cromo hexavalente para cromo trivalente caracteriza uma significativa minimização nos danos causados tanto ao meio ambiente quanto à saúde humana.

Malaviya e Singh (2016), Guemiza *et al.*, (2017), e Yu *et al.* (2017), explicam que existem várias tecnologias para a redução do cromo, tanto físico-químicas quanto biológicas, no entanto, em sua maioria são dispendiosas para aplicação em larga escala, além de produzir poluição ambiental secundárias.

2.2.3 Tratamento de efluentes

Braile e Cavalcanti (1993), Cammarota (2011) e Vargas, Jesus e Amorim (2018), citam os processos de tratamento aplicáveis aos curtumes: i) tratamento preliminar, que agrega o gradeamento, mistura e homogeneização, retenção de sebo e lançamento em vazão regularizada; ii) tratamento primário, que consiste no tratamento preliminar seguido de decantação e disposição do lodo por secagem e/ou aterro; iii) tratamento químico que contempla o tratamento preliminar ou primário seguido, ou precedido, da adição de reagentes para ajustar o pH e eliminar a cal, sulfetos e matéria orgânica; iv) tratamento biológico ou secundário, consistindo de lodos ativados e às vezes podendo aplicar a etapa v) tratamento terciário que envolve a nitrificação e a desnitrificação (PACHECO, 2015).

Mahmoud *et al.* (2011) evidenciam que os efluentes de curtume não tratados podem acarretar um grande impacto negativo ao meio ambiente. Apesar de existir diferentes estudos sobre os processos de tratamento de efluentes, que vão desde os métodos mais simples até aos mais avançados, como por exemplo, tratamentos biológicos com lodos ativados (COSTA *et al.*, 2003; OLIVEIRA *et al.*, 2009), físico-químicos de troca iônica (AGUIAR *et al.*, 2002; CASTRO *et al.*, 2019), ou com membranas filtrantes (BRIÃO E TAVARES, 2007) ou ainda os sistemas oxidativos

com H₂O₂, ozônio ou radiação ultravioleta (SCHRANK *et al.*, 2004; ALMEIDA *et al.*, 2004; SAUER *et al.*, 2006; SCHRANK *et al.*, 2007; MANENTI *et al.*, 2014; ARAÚJO *et al.*, 2016), nem todos podem ser considerados economicamente viáveis.

2.3 Fungos

Dias (1996) e Silva e Coelho (2006) explanam que os fungos juntamente com as bactérias são organismos que podem decompor compostos orgânicos do ambiente. Os fungos conseguem se desenvolver em quase todos os ambientes onde há água e matéria orgânica, sua nutrição é exclusivamente heterotrófica, podendo ser uni ou pluricelulares, possuem alta capacidade de produção de enzimas, as quais decompõem a imensa maioria de compostos orgânicos. São capazes de metabolizar carboidratos muito complexos como, por exemplo, a lignina, sendo esse aspecto um dos principais critérios para que os fungos utilizem os mais improváveis substratos como paredes de banheiro, couro de sapatos e ou jornais velhos para se desenvolverem (TORTORA *et al.*, 2017).

Claas (2007) e Tortora *et al.* (2017) relatam ainda que os fungos diferem das bactérias por apresentarem núcleo definido e diferem das algas e outros vegetais pela ausência de clorofila. A maioria dos fungos filamentosos são aeróbios e podem sobreviver em pHs baixos de até 2.0, possuindo um melhor desenvolvimento em pHs próximos de 5.0. Pode-se ainda destacar que a maioria dos fungos são mais resistentes à pressão osmótica que as bactérias, tendo condições de crescer em concentrações altas de sal ou açúcar e não necessitam de grandes quantidades de nutrientes para sua sobrevivência. Este fator é de grande importância para a biorremediação, visto que os fungos podem predominar em relação às bactérias nos efluentes que são pobres em N e P. Para efeito de estabilização da matéria orgânica os fungos são tão eficientes quanto as bactérias, porém, é difícil a sua separação do lodo do efluente no equipamento denominado sedimentador.

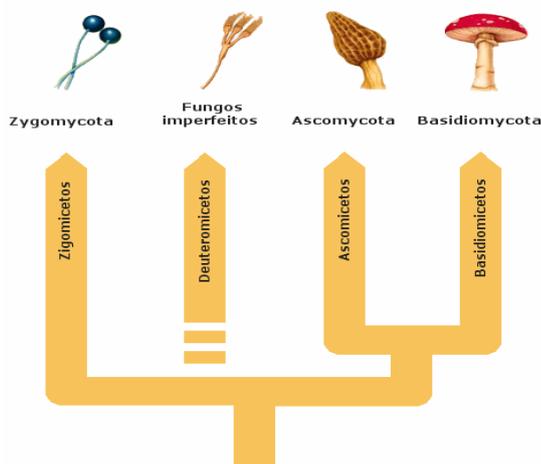
2.3.1 Fungos basidiomicetos

Os fungos são pertencentes ao Reino Fungi, apresentando um vasto número de espécies dispersados por todo o planeta, sendo que sua classificação é baseada

principalmente em sua morfologia, fisiologia e reprodutividade (SILVA E COELHO, 2006; TRABULSI E ALTERTHUM, 2015).

Salsa (2004) e Trabulsi e Alterthum (2015) citam que há três grupos taxonômicos para os fungos, os Zigomicetos, os Ascomicetos e os Basidiomicetos, porém, são exemplificados como quatro já que entram nessa ordem os “fungos imperfeitos” ou Deuteromicetos, este grupo foi classificado desta forma por não apresentar estruturas sexuadas bem identificadas, incluindo neste último o *Aspergillus* e o *Penicillium*. Os Zigomicetos são caracterizados como os fungos mais simples, possuindo hifas asseptadas, incluindo o “bolor-de-pão” e alguns parasitas de animais, já os Ascomicetos, possuem hifas cujos septos são perfurados, no qual o zigoto é substituído por um pequeno saco denominado asco, as quais podem ser exemplificadas pelas leveduras, morquelas e trufas e por fim os fungos utilizados neste estudo caracterizados como Basidiomicetos (FIGURA 4), que apresentam hifas septadas e parede quitinosa produzem esporos basidiósporos, que são suportados por um esporângio característico, o basídio e são dessa classe os cogumelos.

Figura 4 – Modelo tradicional da taxonomia dos fungos.



Fonte: Salsa (2004).

Os fungos da classe Basidiomicetos, também são conhecidos como fungos de clava ou fungos superiores, popularmente conhecidos como cogumelos e orelha de pau (FIGURA 5), possuem hifas septadas que podem ser simples ou possuírem ansas, conhecida também como septo dolipórico, o qual é utilizada para a transferência de um dos núcleos após sua divisão, sendo que, esta característica não interfere na transição do material citoplasmático de uma célula para outra. Outra

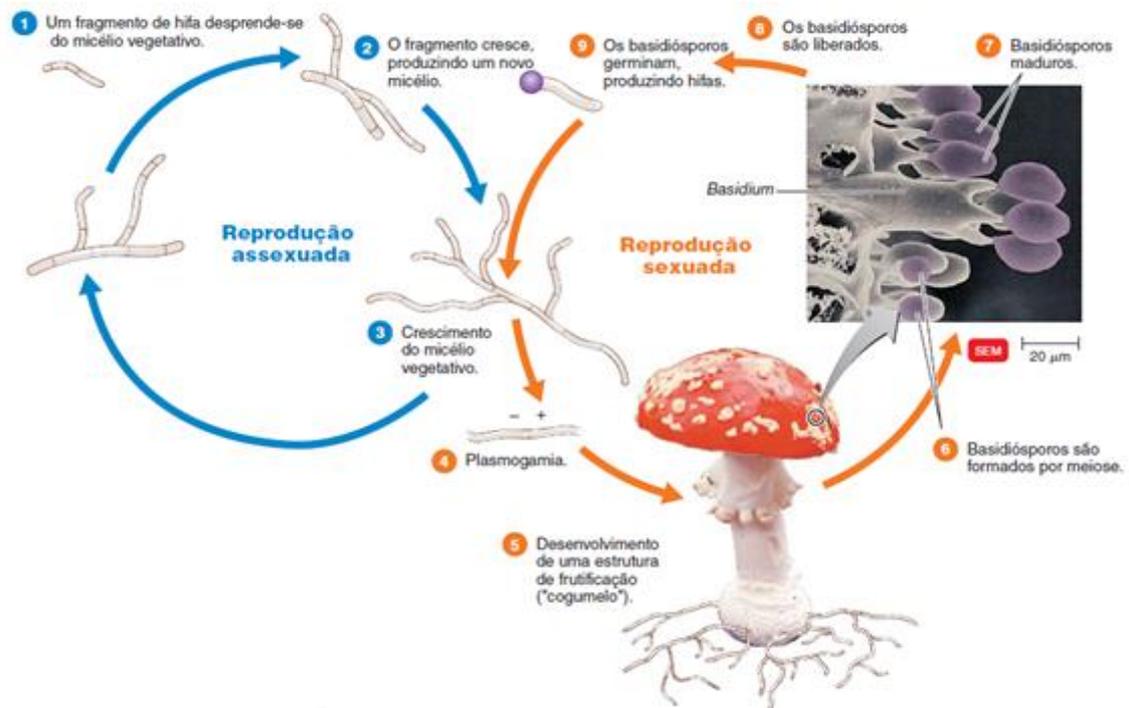
característica é a produção de ectosporos (esporos) de origem sexuada, ou seja, os basidiósporos, os quais são formados externamente em pedestal denominado basídio (FIGURA 6) (SILVA E COELHO, 2006; TORTORA et al., 2017).

Figura 5 – Fungos Basidiomicetos Cogumelos e Orelha de pau: (A) *Agaricus* sp., (B) *Ganoderma* sp. e *Pleurotus ostreatus* (C).



Fonte: Marina Capelari extraído de Silva e Coelho (2006, p.15); Informa (2012).

Figura 6 – Ciclo de vida genérico de um basidiomiceto



Os cogumelos surgem após a fusão de células originadas de duas linhagens de cruzamento opostas (+ e -).

Fonte: Tortora et al. (2017, p. 328)

Silva e Coelho (2006) enunciam que os fungos do Filo Basidiomycota são terrestres em sua grande maioria, sendo muitas das espécies, parasitas como as ferrugens que acometem as plantas e ainda outras que estabelecem relações simbióticas como os coccídeos. Podem ser divididos em dois grandes grupos, os fungos causadores de podridão branca (*white-rot fungi*) e os causadores de podridão parda (*brown-rot fungi*), os primeiros produzem enzimas que transformam as moléculas de celulose, hemicelulose e lignina em água e dióxido de carbono e quando a madeira é exposta a esta ação fúngica apresenta um aspecto esponjoso, fibroso ou laminado com cor esbranquiçada, já os fungos classificados como podridão parda degradam apenas celulose e hemicelulose não produzindo enzimas que consigam quebrar a lignina o que deixa a madeira com uma aparência amorfa e desintegrada e com a coloração parda devido à presença da lignina. Os fungos Basidiomicetos causadores da podridão branca são os únicos organismos conhecidos que conseguem transformar lignina em água e dióxido de carbono no planeta com velocidade significativa para a recomposição desses elementos a natureza, pois, Kirk e Cullen (1998), ressaltam que há ainda um terceiro grupo de fungos, pertencentes às divisões Ascomycota e Deuteromycota que podem realizar a degradação tanto de polissacarídeos quanto de lignina, denominados como fungos da podridão branda (*soft-rot fungi*), porém em velocidades muito reduzidas o que os tornam inevitavelmente inexpressivos ao meio.

2.3.2 Importância econômica e biotecnológica

Os fungos são protagonistas em diversos processos desde a antiguidade, como por exemplo, na panificação e na fabricação de bebidas alcoólicas. O *Aspergillus niger* é utilizado na produção de ácido cítrico para alimentos e bebidas desde 1914 e a *Saccharomyces cerevisiae* utilizada na fabricação de vinho e pão, além de espécies geneticamente modificadas utilizadas para a produção de proteínas e até mesmo na produção vacinas (TORTORA *et al.*, 2017). Outro fungo utilizado industrialmente é o *Trichoderma* que por ser produtor da enzima celulase, o qual se faz uso para remoção da parede celular das plantas, é empregado na produção de sucos de frutas mais puros.

São diversas as áreas de atuação dos fungos, e com as evoluções biotecnológicas, há um melhoramento de seus usos, portanto não se pode negar que

a eficiente atividade microbiana faz produzir os mais variados tipos de metabólitos, como enzimas, vitaminas e fármacos, incluindo neste contexto as pesquisas com caráter ambiental. Para Soares (1998) e Silva e Coelho (2006) a utilização de fungos basidiomicetos lignocelulolíticos no setor biotecnológico é muito atrativa devido às características apresentadas como por exemplo, o metabolismo bastante dinâmico e rápido e por serem grandes produtores de metabólitos secundários, os quais são utilizados na degradação de diferentes substratos.

Por serem heterotróficos e adsortivos, podem ser facilmente cultivados em escala laboratorial e com baixo custo, não necessitando de grandes equipamentos. São bons degradadores de substratos refratários, podendo ser utilizados em diversas áreas de biorremediação, como a biodegradação de substâncias químicas recalcitrantes e a degradação biológica no meio ambiente. Como exemplo, pode-se citar a degradação de moléculas poluentes como os pesticidas clorados (DDT), as dioxinas (2,3,7,8 – tetraclorodibenzo-p-dioxina), os hidrocarbonetos aromáticos (benzo- α -pireno), além de bifenilas policloradas, pentaclorofenol e hexaclorobenzeno, entre outros (SILVA E COELHO, 2006). Esta característica de degradação permite que moléculas de grande estabilidade química sejam quebradas pelas enzimas produzidas pelos micro-organismos, nos substratos colonizados, diminuindo a interferência da toxicidade dessas substâncias sobre os mesmos.

Lamentavelmente, o potencial biotecnológico desses micro-organismos ainda não é utilizado, pois, como destacam Azevedo *et al.* (2002) e Silva e Coelho (2006) há um número significativo de espécies desconhecidas, as quais estão na ordem de 1,5 milhões de espécies para as 69.000 identificadas. Infelizmente muitas dessas espécies de fungos estão sendo extintas mesmo antes de serem catalogadas. Esse declínio causa um prejuízo imensurável ao equilíbrio ecológico, por não se obter o potencial biotecnológico dessas espécies.

O aumento significativo da utilização de recursos naturais acarreta uma crescente geração de resíduos, os quais já ameaçam a capacidade de suporte do próprio planeta, tanto para sua ação extrativista como para resíduos formados (BARBIERI, 2016). Deste modo, qualquer medida que venha minimizar este impacto deve ser considerada e estudada. Neste contexto, podem-se destacar os fungos, que são um grande atrativo às pesquisas científicas no que se refere aos processos de biorremediação de materiais, como no solo, com substâncias recalcitrantes, resíduos e efluentes industriais.

3 OBJETIVO

3.1 Objetivo geral

Verificar se os fungos basidiomicetos (*Pleurotus ostreatus* e *Ganoderma* sp.) são capazes de biodegradar efluentes da indústria de couro.

3.2 Objetivos específicos

Ao utilizar os fungos *Pleurotus ostreatus* e *Ganoderma* sp. para realizar a degradação do efluente obtido durante o processo de fabricação de couro, têm-se como objetivos:

- Avaliar a capacidade de degradação das amostras de efluentes após a inoculação dos fungos *Pleurotus ostreatus* e *Ganoderma* sp. através de análises de Demanda Química de Oxigênio (DQO) e Demanda Bioquímica de Oxigênio (DBO);
- Verificar se há influência do pH nos tratamentos fúngico do efluente;
- Verificar se há efeito do tratamento fúngico na turbidez do efluente;
- Verificar se há efeito do tratamento fúngico no teor de sólidos fixos (SF), sólidos voláteis (SV) e sólidos totais (ST) do efluente ;
- Verificar se há efeito do tratamento fúngico no teor de cromo III (Cr III), cromo VI (Cr VI) e cromo total (Cr T) do efluente;
- Determinar a taxa de crescimento radial dos fungos *Pleurotus ostreatus* e *Ganoderma* sp. em meio de Batata Agar e Dextrose (BDA) e BDA + Efluente.
- Determinar a biomassa micelial dos fungos *Pleurotus ostreatus* e *Ganoderma* sp. após o tratamento fúngico;
- Realizar o estudo de análise fatorial, em dois níveis, para identificar a interferência do pH, do tempo e do tipo de fungo nos valores de DBO DQO e Cromo;

4 METODOLOGIA

A metodologia utilizada condiz com uma pesquisa experimental cuja abordagem é quantitativa. Todas as análises foram efetuadas no Laboratório de Química 3, Bloco Q e no Laboratório de Microbiologia do Hospital Veterinário, ambos localizados no Campus II da Universidade do Oeste Paulista - UNOESTE.

4.1 Micro-organismos

Foram utilizados os fungos basidiomicetos *Pleurotus ostreatus* e *Ganoderma* sp., cujos micélios foram obtidos da micoteca pertencente ao Departamento de Bioquímica e Biotecnologia da Universidade Estadual de Londrina (UEL). Estes foram mantidos em meio de ágar batata dextrose (BDA) à 4°C, onde sofreram repiques periódicos para a sua manutenção.

4.2 Efluentes

O efluente analisado foi obtido em uma indústria de processamento de couro da cidade de Presidente Prudente – SP, que agrega todas as etapas da fabricação do couro.

O efluente foi coletado no final do processo de fabricação e antes de sofrer qualquer tipo de tratamento, sendo portanto, considerado como efluente bruto, o qual foi utilizado como meio de cultivo para os micro-organismos em estudo.

4.3 Preparo da solução de efluente

Para o armazenamento das amostras foram utilizados três frascos plásticos esterilizados com capacidade de cinco litros, que foram mantidos em refrigeração. Antes da utilização dos efluentes, os frascos foram vigorosamente agitados para a homogeneização da amostra e, em seguida, filtrados com o auxílio de uma bomba a vácuo (modelo TE-058, marca Tecnal) e papel de filtro 80 g/m² para a retirada dos sólidos de maior massa. Ao todo foram realizados 11 experimentos mais a amostra em branco (frasco com efluente sem adição dos micro-organismos).

4.4 Determinação da taxa de crescimento radial dos micro-organismos *Pleurotus ostreatus* e *Ganoderma* sp. em meio de BDA e de BDA + Efluente

O crescimento de fungos avaliados através da medida da taxa de extensão das hifas é denominado de taxa de crescimento radial e é utilizada para a observação do crescimento. Quantificar o crescimento de fungos filamentosos não é tão fácil, pois diferente das bactérias, os fungos não crescem como células isoladas, mas sim pela produção de hifas que podem penetrar no substrato em três dimensões (GIBSON E HOCKING, 1997).

A taxa de crescimento dos micro-organismos *Pleurotus ostreatus* e *Ganoderma* sp. foi determinada em condições de laboratório. O crescimento radial de colônia dos fungos foi determinado inoculando-os em meio de cultura batata dextrose ágar (BDA) identificado como “Meio 1” e em meio de cultura de BDA mais a substituição da água pela amostra de efluente (q.s.p) identificado como “Meio 2”, o que permitiu verificar a adaptação dos micro-organismos ao meio.

Os fungos foram inoculados por um período de sete dias em estufa bacteriológica (modelo SP 101/50, marca SPLabor) a uma temperatura de $28 \pm 0,2^{\circ}\text{C}$, em 4 tubos de ensaios com tampa rosqueável de tamanho 20 x 150 mm. Para induzir a formação de basídios e basidiósporos foram inseridos em até 50% da capacidade do tubo, o caldo de extrato de levedura (meio de *Wicherham* adaptado) (LACAZ, 1991).

Vinte placas de Petri, com 90 mm de diâmetro, foram preenchidas com 20 mL de meio de cultura com BDA (Meio 1) e BDA + efluente, (Meio 2) e posteriormente foram repicadas (retirada da parte central do meio de cultura com a base de uma ponteira estéril de 6 mm de diâmetro). Em seguida, neste orifício formado foi inoculado o caldo com os micélios das colônias dos fungos e agitados em agitador Vortex (modelo Q-220, marca Quimis).

As placas foram mantidas na estufa a uma temperatura de $28 \pm 0,2^{\circ}\text{C}$, e verificadas em intervalos de 72 horas, por 12 dias, para o *Pleurotus ostreatus*, e em intervalos de 12 horas, por 4 dias, para o *Ganoderma* sp.

O monitoramento foi interrompido quando a primeira colônia atingiu as bordas da placa. A medida estimada do crescimento da massa miceliana, foi feita com o auxílio de uma régua milimétrica, e fotografado o quanto a colônia se estendia diariamente. Para a avaliação do diâmetro de crescimento foi utilizado o programa de

análise de imagens microscópicas BELView 6.2 Livre (SOFTWARE.INFORMER, 2019).

Para determinar a influência do efluente na taxa de crescimento dos fungos, ao longo do tempo, foram criados modelos de regressão polinomial quadrática. A área das colônias foi modelada em função do tempo de crescimento. Os termos utilizados na regressão foram:

$$y = \beta_0 + \beta_1x + \beta_2x^2 + \varepsilon$$

Onde:

y = parâmetro estimado

x = tempo pós-inoculação nas placas de BDA

Os modelos de regressão foram projetados no Programa R, com auxílio do pacote ggplot2 (GINESTET, 2011; R DEVELOPMENT CORE TEAM, 2019). O nível de significância adotado foi de 5%.

4.5 Tratamentos biológicos do efluente por fungos basidiomicetos

O inóculo foi preparado e transferido para as placas de Petri, contendo 20 mL do meio de BDA. Estas placas foram incubadas em estufa durante sete dias, a uma temperatura de $28 \pm 2^\circ \text{C}$ (LACAZ, 1991). Após este período foram removidas 15 esferas ($\varnothing = 1 \text{ cm}$) do meio de cultivo que estavam recobertas pelas hifas dos fungos e transferidas para os Erlenmeyer com capacidade para 1 litro contendo 500 mL do efluente de estudo.

O pH de cada um dos experimentos foram ajustados com ácido fosfórico e/ou hidróxido de amônio (1M e 0,1M), de acordo com os dados do planejamento fatorial elaborado: 4,0, 4,5 e $5,0 \pm 0,2$.

Após a inoculação dos fungos, os frascos foram incubados sem agitação, à temperatura ambiente, durante 5, 6 e 7 dias, de acordo com os dados do planejamento fatorial elaborado. Todos os ensaios foram realizados em duplicatas. Os cultivos foram interrompidos através de centrifugação a 5000 RPM em centrífuga microprocessada (modelo Q222TM216, marca Quimis) por 15 min. O sobrenadante foi coletado e

posteriormente utilizado para as determinações analíticas e a massa foi utilizada para a determinação da biomassa micelial.

4.6 Determinação de pH

Embasado nos parâmetros de melhor desenvolvimento para os fungos filamentosos, o pH de melhor eficiência é próximo de 5 (CLAAS, 2007; TORTORA *et al.*, 2017). Deste modo foram estipulados três valores de pHs para o desenvolvimento fúngico: valor mínimo (4,0), valor máximo (5,0) e valor médio (4,5) (TELLES, 2019).

As medidas de pH foram realizadas por potenciometria, utilizando um pHmetro (modelo Q400AS da marca Quimis) previamente calibrado. O pH do efluente foi monitorado diariamente e corrigidas ao valor inicial quando houve necessidade.

4.7 Determinação da turbidez

A turbidez foi mensurada antes e após o tratamento fúngico com um turbidímetro portátil (modelo 0279P marca Quimis). Antes da ação dos micro-organismos foram realizadas com amostras filtradas em papel de filtro 80 g/m², e após o tratamento foram medidas depois da centrifugação.

4.8 Determinação da demanda química de oxigênio (DQO)

A determinação de DQO foi realizada antes e após os tratamentos fúngicos segundo o método de refluxo fechado (colorimétrico) 5220 D para DQO, de acordo com a metodologia padrão descrita no *Standard Methods for the Examination of Water & Wastewater* (APHA, AWWA, WEF, 2005).

O procedimento consiste na digestão da amostra, na presença de solução de sulfato de prata em ácido sulfúrico, utilizando como solução digestora o dicromato de potássio e sulfato de mercúrio. Esta digestão ocorreu em tubos fechados, sob agitação e em seguida levado ao digestor com temperatura de 150°C, por duas horas. Ao final deste período, após o resfriamento dos tubos, foi realizada a determinação colorimétrica em um espectrofotômetro (modelo Q898DPT, marca Quimis) ($\lambda=620$ nm). As curvas de calibração foram elaboradas entre as concentrações de 20 a 800

mg. L⁻¹ O₂, utilizando como padrão uma solução de hidrogenoftalato de potássio, cuja concentração era equivalente a uma DQO de 1000 mg. L⁻¹ O₂.

4.9 Determinação da demanda bioquímica de oxigênio (DBO)

Os ensaios foram realizados antes e após os tratamentos fúngicos, de acordo com o método 5210 B, 5210 D e 5220D do *Standard Methods for the Examination of Water & Wastewater* (APHA, AWWA, WEF, 2005). Foi determinado o volume de líquido a ser colocado no frasco âmbar específico para inserção do Sistema Oxitop® (marca Merse, modelo IS-6 (11271454)) para DBO₅, seguindo as faixas de leitura de acordo com a concentração de material orgânico presente em cada amostra.

O pH de cada amostra foi corrigido entre 7,1 a 7,3. Em seguida foram adicionados 1 mL de solução tampão de fosfato 1,5 N, 1 mL de cloreto de amônio 0,71 N, 1 mL de cloreto de cálcio 0,25 N, 1 mL de sulfato de magnésio 0,41 N, 1 mL de cloreto férrico 0,0018 N e 2 mL de semente Polyseed NxP-210 Exp 3/15 Lote #201303-1-0411-60 já hidratada nos frascos âmbar específicos. Os fracos foram incubados em câmara climatizada de DBO₅, por 5 dias, a 20°C ao abrigo da luz.

4.10 Determinação da biomassa micelial

A determinação da biomassa micelial foi realizada através de gravimetria, onde a fração sólida foi centrifugada e depois submetida à secagem a 70 °C, até peso constante.

4.11 Determinação de cromo (III), cromo (VI) e cromo total

Os traços de Cr(III), Cr(VI) e o Cromo total, foram determinados por análise colorimétrica conforme o procedimento NBR 13740 (ABNT, 1996) e 3500-Cr B (APHA-WEF-AWWA, 2005), o qual se baseia na reação entre o cromo hexavalente dissolvido e a difenilcarbazida em meio ácido. O produto formado possui coloração púrpuro-avermelhada e a concentração é medida em espectrofotômetro ($\lambda=540$ nm). A mesma reação é aplicável para a determinação de cromo total, pois todo o cromo trivalente após sofrer oxidação passa para cromo hexavalente, assim a concentração de cromo

trivalente é obtida através da diferença entre os teores de cromo total e de cromo hexavalente.

Para qualificação e quantificação dos teores de Cromo (III), (VI) e total, foram executadas as análises antes e após o tratamento fúngico, utilizando como padrão uma solução previamente preparada com dicromato de potássio contendo 5 g/mL de Cr (VI).

Para a determinação de cromo hexavalente as amostras foram centrifugadas e adicionado 1 mL de ácido sulfúrico (1:1) com água destilada, 1 mL de ácido fosfórico concentrado e 2 mL de solução de difenilcarbazida. As leituras de absorvância foram efetuadas em espectrofotômetro ($\lambda=540$ nm).

A determinação de Cromo total foi realizada com a digestão das amostras, a qual ocorreu inserindo 5 mL de ácido nítrico concentrado, 2 mL de peróxido de hidrogênio a 30%, levando para aquecimento até diminuição de 60% do volume. Em seguida, inseriu-se novamente 5 mL de ácido nítrico concentrado, 10 mL de ácido sulfúrico concentrado e aquecido até o aparecimento de fumos brancos. A amostra foi resfriada e diluída com água destilada para um volume de 100 mL, os quais foram retirados 50 mL e inseridos o indicador alaranjado de metila e hidróxido de amônio concentrado até a basificação da solução. Foram então adicionados ácido sulfúrico (1:1) até a virada do indicador e mais 1 mL em excesso. Novamente foi realizado o aquecimento para a redução de 20% do volume, sendo adicionadas 2 gotas da solução de permanganato de solução de azida de sódio 0,08 M em aquecimento. Após o desaparecimento da coloração o volume foi corrigido para 50 mL.

Após todo cromo trivalente ser oxidado a hexavalente realizou-se o mesmo procedimento para a determinação do teor de Cr (VI), obtendo-se o valor de Cromo total. Ao se calcular a diferença entre o Cromo total e o Cr (VI) foi possível determinar a concentração de Cr (III) nas amostras.

4.12 Teores de sólidos

Sólidos totais (ST)

A quantidade de sólidos presentes no efluente foi determinada através do procedimento descrito por APHA (2005) 2540-B e 2540-E (APHA-WEF-AWWA, 2005). Uma amostra de 100 mL do efluente foi transferida para uma cápsula de porcelana,

previamente seca, tarada e depositada em estufa (103 a 105 °C) por aproximadamente 24 horas, até massa constante. Após o resfriamento, a cápsula foi pesada para determinação da concentração de sólidos totais, realizada através da diferença entre a massa da cápsula calcinada vazia e a massa da cápsula com amostra depois da evaporação. O valor obtido foi dividido pelo volume da amostra. A equação 1 demonstra o cálculo efetuado para sólidos totais.

$$ST(mg.L^{-1}) = \frac{(P_1 - P_0) \times 1000}{\text{volume da amostra}} \quad (\text{Equação 1})$$

Onde:

P_0 = Valor da cápsula calcinada vazia

P_1 = Valor cápsula com a amostra após secagem

Sólidos totais voláteis (SV) e totais fixo (SF)

Para a determinação do teor de sólidos voláteis e fixos foi utilizada a mesma cápsula para a determinação dos sólidos totais, conforme descrito no procedimento 2540-E (APHA-AWWA-WEF, 2005). A cápsula foi levada à mufla por um período de 30 minutos, a uma temperatura de $550^\circ\text{C} \pm 50^\circ\text{C}$, e depois transferida para o dessecador onde permaneceu até atingir a temperatura ambiente. A determinação do teor de sólidos fixos foi realizada pela diferença da massa entre o peso da cápsula + amostra sem calcinação e o peso da cápsula + amostra após calcinação, conforme demonstra a equação 2.

$$SFT(mg.L^{-1}) = \frac{(P_2 - P_0) \times 1000}{\text{volume da amostra}} \quad (\text{Equação 2})$$

Onde:

P_0 = Valor da cápsula calcinada vazia

P_2 = Valor cápsula com a amostra após calcinação

Já para a determinação de sólidos totais voláteis, foi realizada a diferença entre o valor obtido de sólidos totais e os sólidos totais fixos (EQUAÇÃO 3).

$$SVT(mg.L^{-1}) = (ST - SFT) \quad (\text{Equação 3})$$

4.13 Planejamento fatorial

A remoção de DQO, de DBO, de Cromo (III) e de Cromo (VI) foram escolhidas como variável resposta para avaliar a eficiência do tratamento de efluente com a utilização de fungos. Os experimentos para o tratamento das amostras do efluente foram realizados de forma a alterar simultaneamente o **Tempo** de tratamento, o **pH** da amostra e o **tipo de micro-organismo**. A escolha para a realização deste procedimento ocorreu ao se considerar o fato de que estas três variáveis podem se influenciar mutuamente, e o valor ideal para uma delas pode depender do valor da outra. Este comportamento é denominado de interação entre variáveis. Para a constituição da matriz de ensaios, foram consideradas 3 variáveis independentes, nos níveis mínimo (-) e máximo (+):

- (1) Tempo de tratamento
- (2) pH
- (3) Espécie do fungo

Na Tabela 2, estão apresentados os valores correspondentes aos níveis das variáveis independentes na proposta para o desenvolvimento e execução dos experimentos.

Tabela 2 – Níveis das variáveis independentes e os valores utilizados (Tempo, pH, Micro-organismo) do planejamento fatorial.

Variáveis	Níveis		
	Inferior (-)	Central (0)	Superior (+)
Tempo (dias)	5	6	7
pH	4,00	4,50	5,00
Micro-organismos	<i>Pleurotus ostreatus</i>	<i>Pleurotus ostreatus</i> e <i>Ganoderma</i> sp.	<i>Ganoderma</i> sp.

Fonte: A Autora.

O planejamento fatorial em dois níveis (máximo e mínimo), para três fatores, com ponto central: $2^3 = 2 \times 2 \times 2$, requer 8 experimentos, que, em duplicata, totalizaram 16 experimentos mais três triplicatas do ponto central, conforme demonstrado na Tabela 3.

Tabela 3 - Geratriz do planejamento 2^3 com ponto central em triplicata para otimização da degradação do efluente de curtume.

Experimento	Tempo	pH	Fungo
1	-	-	-
2	+	-	-
3	-	+	-
4	+	+	-
5	-	-	+
6	+	-	+
7	-	+	+
8	+	+	+
9	0	0	0
10	0	0	0
11	0	0	0

Fonte: A Autora.

Para a análise dos resultados, foram empregados métodos estatísticos onde as variações dos parâmetros foram os dados de entrada e os valores obtidos nas análises de DBO_5 e DQO, Cr (III) e Cr (IV) utilizados como sendo as respostas. A significância dos efeitos das variáveis e das possíveis interações entre elas foi analisada ao se aplicar a análise de variância (ANOVA).

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

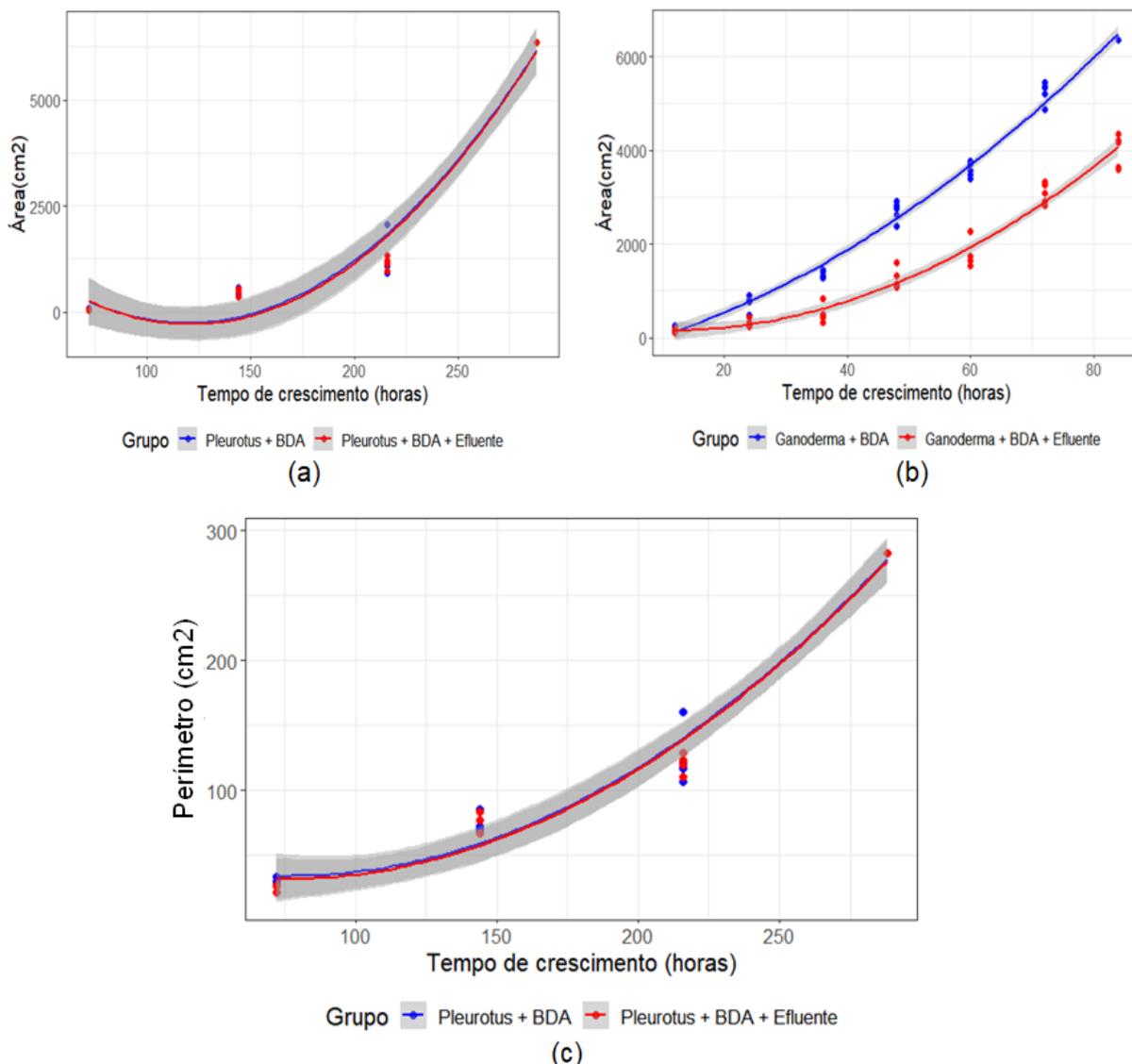
5.1 Determinação da taxa de crescimento radial dos micro-organismos *Pleurotus ostreatus* e *Ganoderma* sp. em meio de BDA e de BDA + Efluente

Os modelos de regressão polinomial, utilizados para modelar o crescimento dos fungos *Pleurotus ostreatus* e *Ganoderma* sp. em função do tempo apresentaram coeficientes de regressão positivos e estatisticamente diferentes de zero. O estudo com os fungos da espécie *Pleurotus ostreatus* demonstrou que a adição do efluente no meio de cultura não interferiu no crescimento das colônias de fungos. As Figuras 7 A e 7 C demonstram que as curvas representadas nos gráficos foram coincidentes.

Por outro lado, para a espécie *Ganoderma* sp., os modelos de regressão polinomial sugerem que a adição de efluente inibiu significativamente no desenvolvimento do fungo, considerando que as curvas representadas no gráfico da Figura 7 B são distintas.

Os resultados obtidos são similares aos de Ferreira *et al.* (2019) que estudou a tolerância de fungos da espécie *Pleurotus* ao metal Cr (VI). Em seu trabalho, Ferreira *et al.* (2019) cita que a capacidade da espécie a adaptar-se ao meio, está relacionada com a concentração do metal existente. Macaskie *et al.* (1987) e Chipasa (2003) complementam que a espécie do micro-organismo também está diretamente relacionada com essa tolerância à toxicidade e a sua respectiva biossorção.

Figura 7 – Resultados obtidos através do modelo de regressão para Área (cm²) x tempo de crescimento (horas) dos fungos das espécies *Pleurotus ostreatus* e *Ganoderma* sp. e resultado obtido através do modelo de regressão para Perímetro (cm²) x tempo de crescimento (horas) do fungo da espécie *Pleurotus ostreatus*.

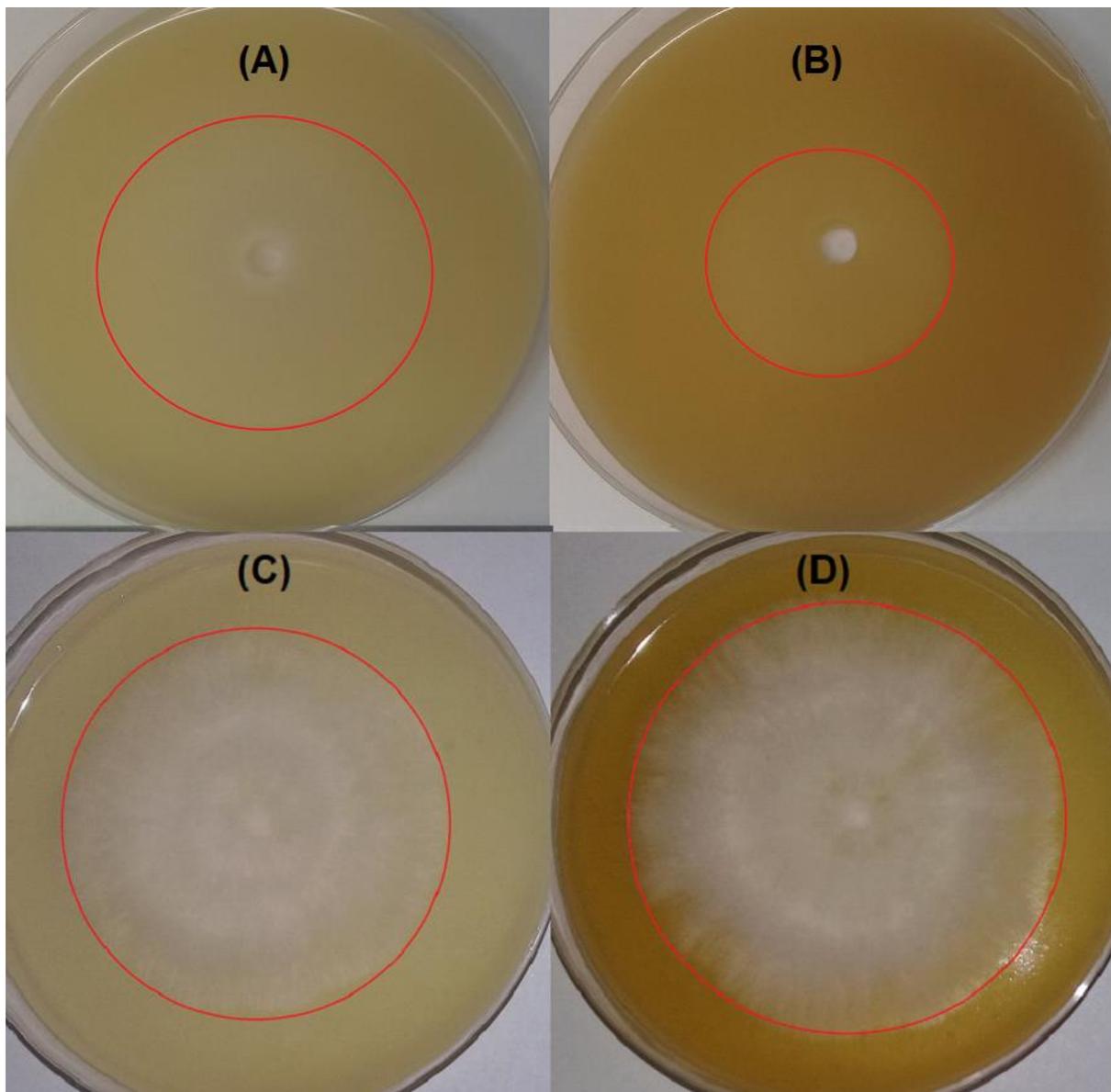


Fonte: A Autora.

Legenda: Modelo de regressão para Área (cm²) x tempo de crescimento em horas de fungos das espécies: (a) *Pleurotus ostreatus* no meio base (BDA) com (p < 0,001; R²= 0,9596) e sem adição de efluente (p < 0,001, R² = 0,9607) e (b) *Ganoderma* sp. no meio base (BDA) com (p < 0,001; R²= 0,9008) e sem adição de efluente (p < 0,001, R² = 0,9791). (c) Modelo de regressão para Perímetro (cm²) x tempo de crescimento em horas de fungos da espécie *Pleurotus ostreatus* no meio base (BDA) com e sem adição de efluente (p < 0,001, R²aj = 0,9713). As áreas demarcadas em torno das curvas de regressão representam os intervalos de confiança a 95%.

A Figura 8 demonstra o crescimento fúngico de ambas espécies e a influência do efluente no seu desenvolvimento.

Figura 8 – Resultado do experimento para avaliar o crescimento micelial dos fungos basidiomicetos *Ganoderma* sp. (A e B) *Pleurotus ostreatus* (C e D), em meios de BDA (Meio 1) e BDA com adição de efluente (Meio 2).



Fonte: A Autora.

Legenda: (A) *Ganoderma* sp. em meio 1 com 60 horas de incubação ($28 \pm 0,2^\circ\text{C}$); (B) *Ganoderma* sp. em meio 2 com 60 horas de incubação ($28 \pm 0,2^\circ\text{C}$); (C) *Pleurotus ostreatus* em meio 1 com 216 horas de incubação ($28 \pm 0,2^\circ\text{C}$); (D) *Pleurotus ostreatus* em meio 2 com 216 horas de incubação ($28 \pm 0,2^\circ\text{C}$);

5.2 Determinação de pH

Para facilitar as análises dos resultados obtidos em cada um dos experimentos realizados, a Tabela 4 apresenta os valores dos parâmetros experimentais utilizados na análise fatorial.

Tabela 4 – Valores dos parâmetros experimentais utilizados em cada um dos experimentos.

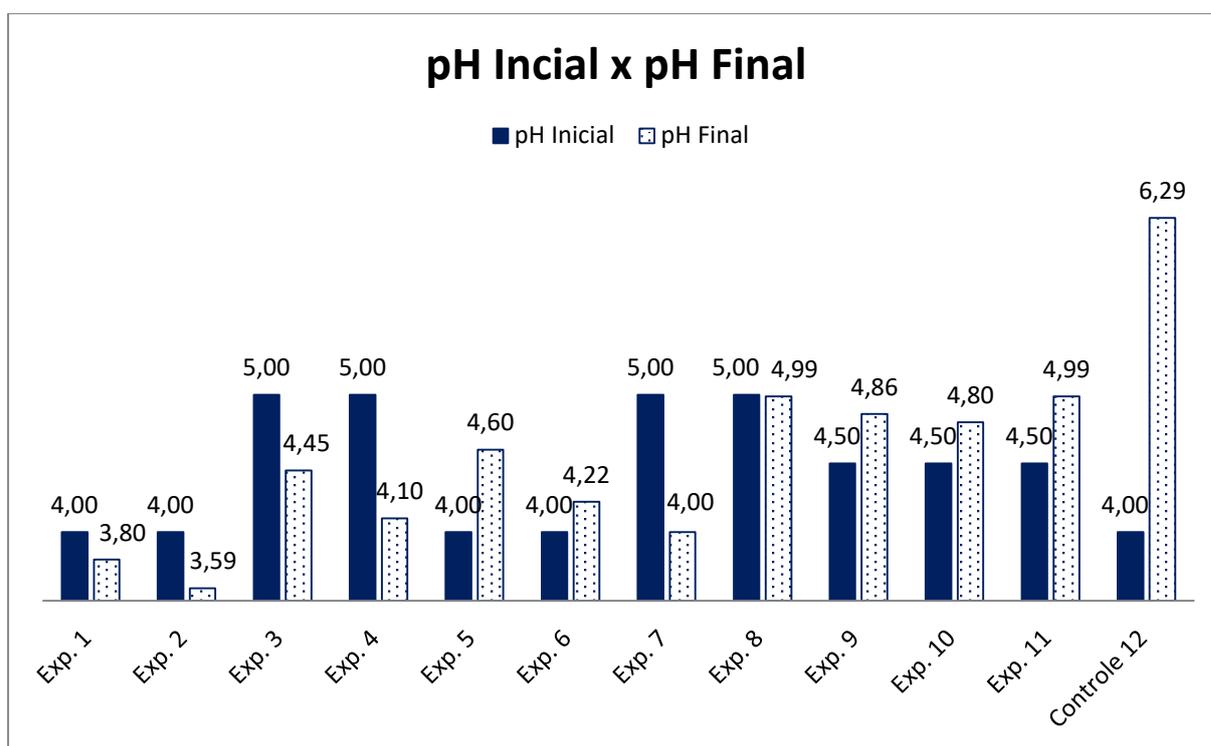
Experimento	Tempo	pH inicial	Fungo
1	- (5 dias)	- (4,00)	- (<i>Pleurotus</i>)
2	+ (7 dias)	- (4,00)	- (<i>Pleurotus</i>)
3	- (5 dias)	+ (5,00)	- (<i>Pleurotus</i>)
4	+ (7 dias)	+ (5,00)	- (<i>Pleurotus</i>)
5	- (5 dias)	- (4,00)	+ (<i>Ganoderma</i>)
6	+ (7 dias)	- (4,00)	+ (<i>Ganoderma</i>)
7	- (5 dias)	+ (5,00)	+ (<i>Ganoderma</i>)
8	+ (7 dias)	+ (5,00)	+ (<i>Ganoderma</i>)
9	0 (6 dias)	0 (4,50)	0 (<i>P + G</i>)
10	0 (6 dias)	0 (4,50)	0 (<i>P + G</i>)
11	0 (6 dias)	0 (4,50)	0 (<i>P + G</i>)

Fonte: A Autora.

Inicialmente cada um dos experimentos teve o valor do pH ajustado de acordo com os valores propostos para a análise do planejamento fatorial (TABELA 4). A Figura 9 ilustra que em todos os experimentos houve alteração no valor do pH em relação ao valor inicial. Os Experimentos 5, 6, 9, 10, 11 e o Frasco Controle (12) tiveram os valores dos pH aumentado, enquanto nos Experimentos 1, 2, 3, 4, 7 e 8 os valores do pH diminuíram. A acidez diminui à medida que a proporção de ânions OH⁻ no meio aumenta conforme o avanço das reações. Estas hidroxilas se ligam ao sítio ativo bloqueando a transferências de elétrons (BALDRIAN, 2006), o que justifica a alteração significativa do pH em todos os experimentos, a partir do primeiro dia, e alterando de forma menos expressiva nos demais dias.

No frasco Controle foi observado o oposto. Este fato ocorre devido a presença de sais de cálcio, sais amoniacais e sulfeto de sódio que são substâncias muito utilizadas no processo de limpeza da pele, tornando o pH desses efluentes elevado (FREITAS, 2007; PACHECO, 2015). O Frasco Controle também foi acidificado no início do experimento, mas sofreu aumento de pH com o passar do tempo. A existência de uma base pouco solúvel, como por exemplo o hidróxido de cálcio (FELTRE, 1996), influenciou gradativamente o pH com o passar dos dias.

Figura 9 – Valores do pH inicial e final de cada um dos experimentos realizados.



Fonte: A Autora.

Claas (2007) cita que a faixa ideal de pH para lodos ativados deve permanecer entre 6,5 a 8,5, considerando um sistema composto por colônias heterogêneas de micro-organismos (bactérias, fungos, protozoários, etc.), e que variações bruscas nos valores de pH podem causar efeito tóxico aos micro-organismos. Deste modo, para a utilização de fungos seria ideal valores de pH próximos de 5 a 6, para manter a eficiência enzimática e atuar dentro dos limites estipulados pela Resolução Conama nº 430 de 2011 (pH entre 5 a 9).

Desta forma, ao se analisar apenas os valores de pH, os experimentos que resultaram em valores próximos ao ideal para o descarte do efluente foram os experimentos 8, 9, 10 e 11.

5.3 Determinação da turbidez

Observou-se que todos os tratamentos diminuíram o material responsável pela Turbidez, em comparação com o frasco controle (Frasco 12) (FIGURA 10). Os experimentos 1, 3 e 7 foram os que apresentaram os melhores resultados, com

redução da turbidez superior a 90%, e o experimento 8 foi o que apresentou a menor resposta, com 67,71% de remoção (FIGURA 11).

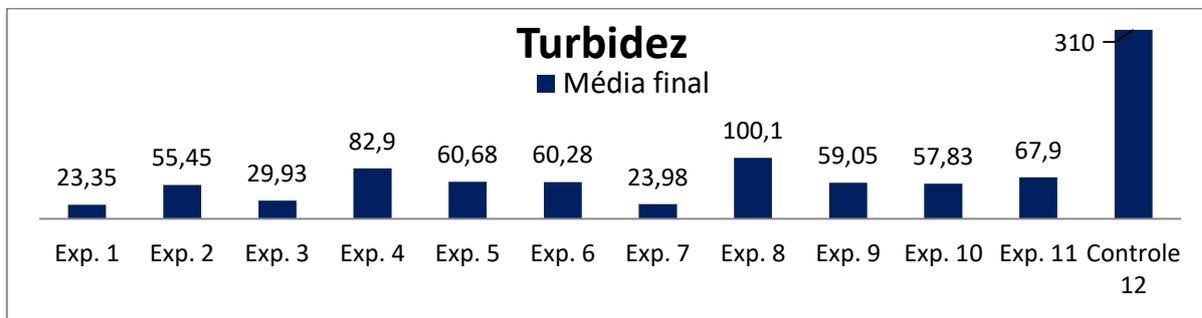
A Resolução Conama nº 430 de 2011, não cita os parâmetros de controle de turbidez para o despejo de efluentes, entretanto, Nuvolari *et al.* (2003) e Hermes *et al.* (2006) destacam que a água que apresenta uma elevada turbidez torna-se repulsiva, do ponto de vista estético.

A alta turbidez aumenta a quantidade de produtos químicos para o tratamento do efluente e o despejo sem esse tratamento pode alterar a composição do sistema. O aumento da turbidez irá reduzir a penetração da luz solar na água, afetando a fotossíntese de algas e plantas aquáticas submersas, estimulando o processo de eutrofização. Adicionalmente, a presença de sólidos sedimentáveis ou em suspensão, poderão sofrer sedimentação e formar bancos de lodo que prejudicam a biodiversidade aquática em consequência de fenômenos de decomposição anaeróbica (NUVOLARI *et al.*, 2003; HERMES *et al.*, 2006).

Mesmo não havendo limite máximo para as condições de lançamento de efluentes, neste trabalho foi considerado o valor aceitável para águas doces de classe 1 (Resolução Conama nº 357 de 2005 (Capítulo III, das Condições e Padrões de Qualidade das Águas, Seção II – Das Águas Doces, Art. 14, § I)) (BRASIL, 2019, não paginado). De acordo com esta norma, a turbidez deverá ser de no máximo 40 unidades nefelométrica de turbidez (UNT ou NTU), e por isso apenas os experimentos 1, 3 e 7 estariam dentro dos limites.

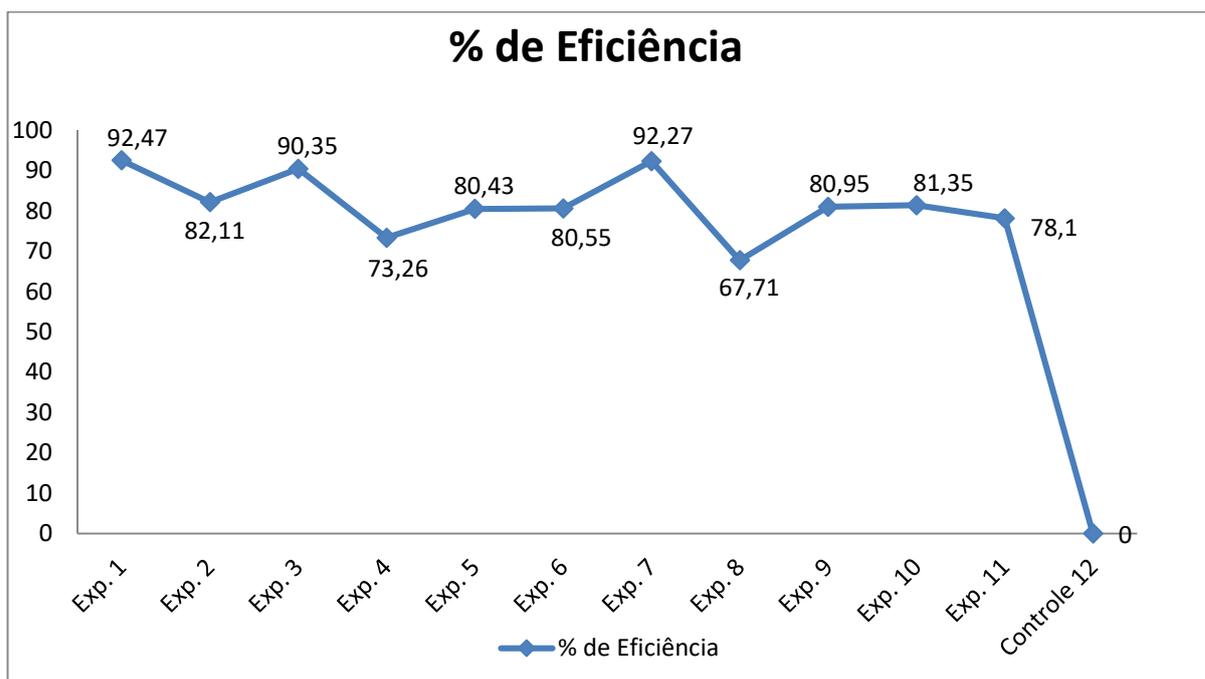
A mesma Seção II retrata a água de Classe 2, destinada à pesca amadora e à recreação de contato secundário, e cita que a turbidez pode ser de até 100 UNT. Diante dessa informação, somente o experimento 8 não estaria dentro dos limites.

Figura 10 – Valores da Turbidez em Unidades Nefelométricas (NTU), determinados após os tratamentos dos efluentes em cada um dos 11 experimentos e no frasco controle, sem tratamento.



Fonte: A Autora.

Figura 11 - Resultados da porcentagem de remoção da Turbidez nos tratamentos dos efluentes em cada um dos 11 experimentos e no frasco controle, sem tratamento.



Fonte: A Autora.

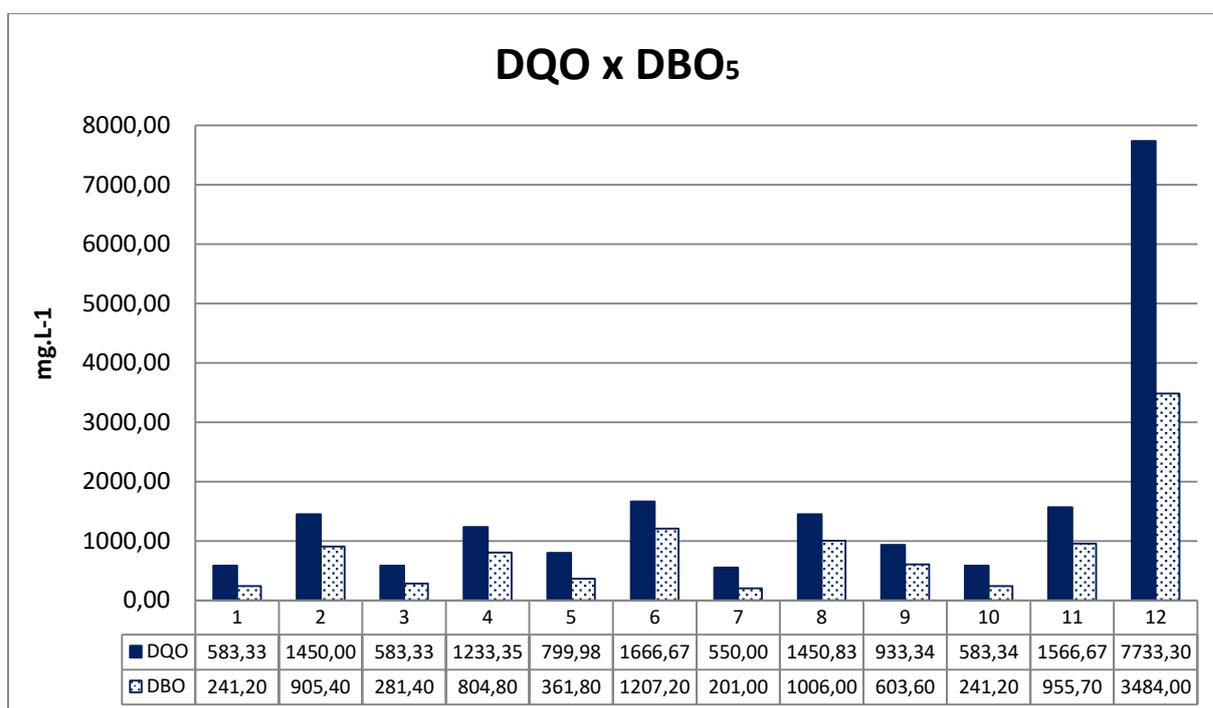
5.4 Determinações da demanda química de oxigênio (DQO) e determinação da demanda biológica de oxigênio (DBO₅)

Ao observar a Figura 12 verifica-se que as maiores reduções da DQO e DBO₅, ocorreram, respectivamente, nos experimentos 7, 1, 3, 10, 5, 9, 4, 2, 8 e 11. Destaca-

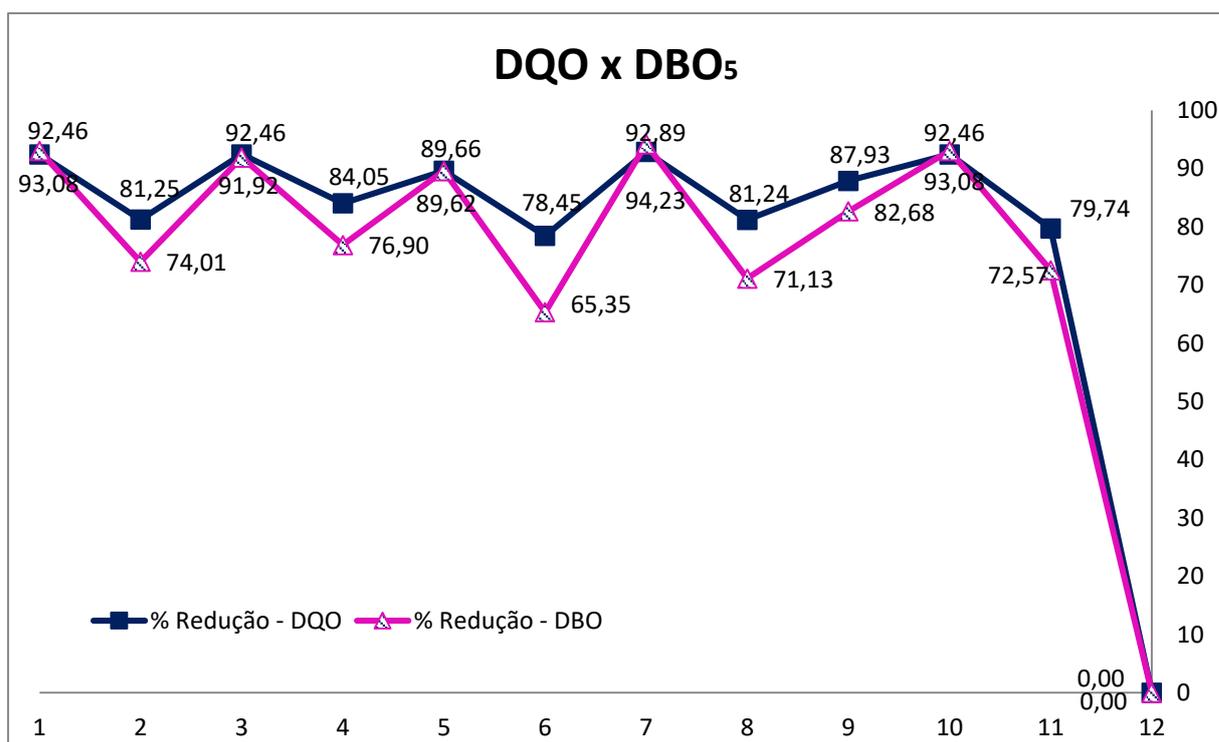
se ainda que para os experimentos 7, 1, 3 e 10 as reduções foram superiores a 90% (FIGURA 13), tanto para a DQO bem como para a DBO₅. Estes resultados demonstram que ambos os fungos foram eficientes na remoção do material orgânico presente nas amostras, sendo que o parâmetro mais relevante para a obtenção dos resultados foi o tempo de exposição menor (5 dias), corroborando com os dados na análise de turbidez.

A Resolução Conama n° 430 de 2011, cita que a remoção mínima para a DBO₅ deve ser de 60%, quando há autodepuração do corpo hídrico receptor. Pode-se verificar que os resultados de todos os experimentos estão de acordo com a Legislação. Em relação a DQO, não existem parâmetros definidos na Legislação, entretanto, o seu uso é mais recorrente considerando o tempo de resposta menor o que possibilita o monitoramento diário.

Figura 12 – Valores de DQO e DBO₅ expressos em mg. L⁻¹ obtidos antes e após os tratamentos de cada um dos experimentos.



Fonte: A Autora.

Figura 13 – Porcentagem de redução de DQO e DBO₅ dos experimentos.

Fonte: A Autora.

Os valores de DQO e DBO₅ são importantes, pois a relação existente entre estes dois parâmetros permite definir qual tipo de processo de tratamento pode ser utilizado, pois os sistemas biológicos dependem da biodegradabilidade dos despejos.

No caso de: i) uma relação DQO/DBO₅ baixa (de 1 a 2), a fração biodegradável é elevada, o que indica a provável utilização de um tratamento biológico; ii) uma relação DQO/DBO₅ elevada (de 3 a 4), a fração inerte (não biodegradável) presente no efluente é alta. Se a fração não biodegradável não for importante em termos de poluição do corpo receptor, indica a possibilidade de inserir apenas o sistema de tratamento biológico, mas se a fração biodegradável for importante em termos de poluição do corpo receptor é necessária a utilização de tratamento físico-químico (BRAILE, CAVALCANTI, 1993; VON SPERLING, 2003).

A Tabela 5 demonstra que os experimentos 1, 3, 5, 7 e 10 foram os que apresentaram as melhores biodegradabilidade do material não-inerte, pois possuem os maiores valores da relação entre DQO/DBO₅. O experimento 7 demonstrou os melhores resultados, da mesma forma que a análise de pH e da Turbidez, indicando uma atividade microbiana mais eficiente.

Tabela 5 – Valores da relação entre DQO/DBO₅.

Experimento	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
Relação entre DQO/DBO ₅	2,4	1,6	2,1	1,5	2,2	1,4	2,7	1,4	1,5	2,4	1,6	2,2

Fonte: A Autora.

5.5 Cromo (III), Cromo (VI) e Cromo total

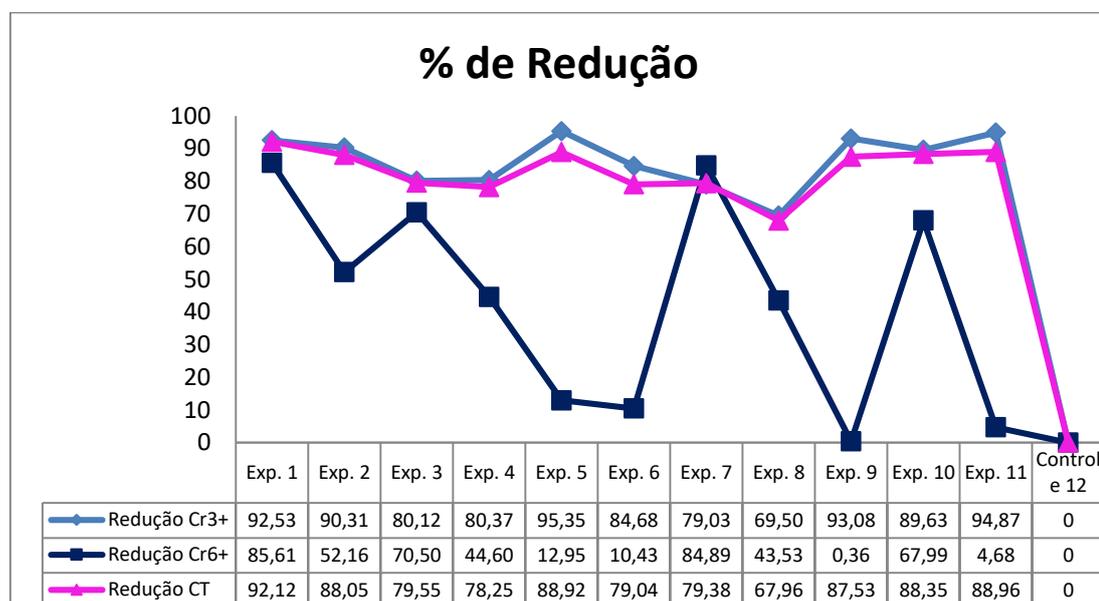
Ao observar a Figura 14 verifica-se que ocorreu uma redução significativa, superior a 70%, para o Cromo (VI), a forma mais tóxica, nos experimentos 1, 3 e 7. Buratto *et al.* (2012) e Ferreira *et al.* (2019), utilizando fungos da espécie *Pleurotus ostreatus*, também obtiveram valores significativos de remoção de Cu (II) (86% de redução) e Cr (VI) (até 100% de redução) em seus experimentos.

Nos demais experimentos verificou-se uma baixa remoção de Cromo (VI). Chipasa (2003) explica que uma das características para a diminuição da atividade microbiana em tratamentos biológicos é a presença de metais pesados nas águas residuárias, podendo causar efeitos tóxicos à biota do tratamento. Essa ação deriva da ligação dos íons metálicos às estruturas proteicas da célula, alterando a posição habitual de outros íons e prejudicando as funções metabólicas dentro da mesma.

Os experimentos 9, 10 e 11, que são o ponto central da análise fatorial, realizados em triplicata, apresentaram uma grande divergência nos resultados. Uma possível explicação seria a presença dos dois micro-organismos nos experimentos, o que pode ter favorecido uma ou outra espécie ao acaso.

Apesar dos resultados dos experimentos não terem sido tão expressivos, é possível observar na Tabela 6 que os valores para o Cromo (VI), bem como para o Cromo (III), ficaram dentro dos parâmetros estipulados pela legislação.

Figura 14 – Porcentagem de redução de Cromo III, Cromo VI e Cromo Total de cada um dos experimentos.



Fonte: A Autora.

Tabela 6 – Valores da concentração de Cromo III, Cromo VI e Cromo Total, em mg. L⁻¹, obtidos em cada experimento após o tratamento.

Experimentos	Cr ³⁺	Cr ⁶⁺	CT
1	0,0329	0,0040	0,0369
2	0,0427	0,0133	0,0560
3	0,0876	0,0082	0,0958
4	0,0865	0,0154	0,1019
5	0,0205	0,0314	0,0519
6	0,0675	0,0307	0,0982
7	0,0924	0,0042	0,0966
8	0,1344	0,0157	0,1501
9	0,0305	0,0279	0,0584
10	0,0457	0,0089	0,0546
11	0,0226	0,0291	0,0517
Controle12	0,4407	0,0278	0,4685

Fonte: A Autora.

Nota: Os valores de referência são apresentados nas condições de lançamento de efluentes da Resolução Conama n° 430/2011. Para o Cr³⁺ o valor de referência é de 1,0 mg. L⁻¹, para o Cr⁶⁺ o valor de referência é de 0,1 mg. L⁻¹ e para o Cromo total não há valores de referência.

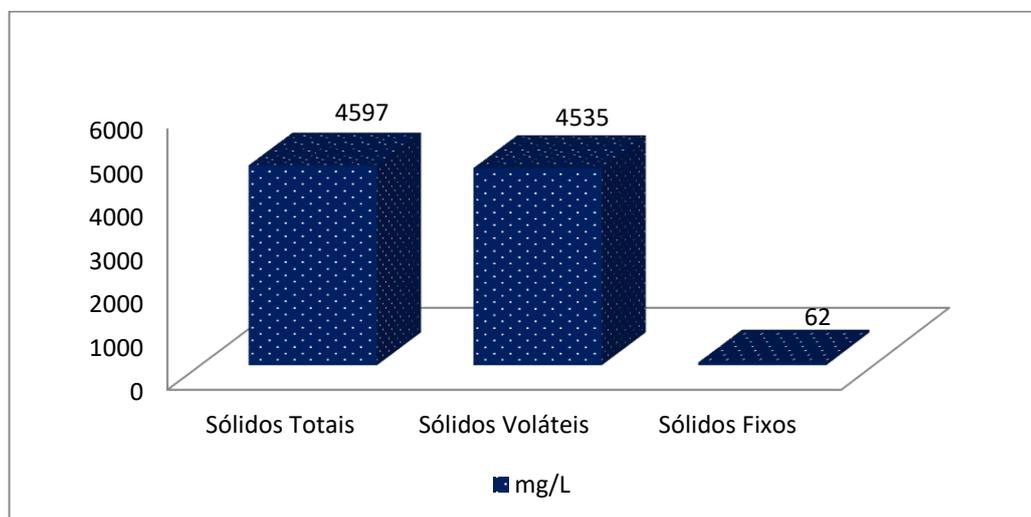
A redução do cromo hexavalente para o cromo trivalente caracteriza uma significativa diminuição dos danos causados tanto ao meio ambiente quanto à saúde humana. Os resultados obtidos demonstram que o tratamento utilizando os fungos conseguiram diminuir a quantidade de Cromo (VI) existentes nas amostras.

5.6 Sólidos totais, fixos, voláteis e biomassa micelial

A Resolução Conama nº 430/2011 não traz em seu escopo os parâmetros de sólidos totais (ST), sólidos fixos (SF) e sólidos voláteis (SV) para lançamento de efluentes, porém, esta é uma análise bastante comum dentro das Estações de Tratamento de Efluentes, pois serve como orientação das condições do material orgânico e inorgânico presente no efluente. Nuvolari *et al.* (2003), destacam que este resíduo pode contribuir na alteração de características físicas como a turbidez e o odor da água.

Neste estudo, a análise de ST, SF e SV, teve o intuito de verificar se o material orgânico presente no início poderia ser convertido em biomassa após a inoculação fúngica. A Figura 15 demonstra que a quantidade de material orgânico, representada através dos valores dos sólidos voláteis, é superior à quantidade de material inorgânico, representada através dos valores dos sólidos fixos.

Figura 15 – Valores das quantidades de Sólidos Totais, Sólidos Voláteis e Sólidos Fixo em mg. L⁻¹.



Fonte: A Autora.

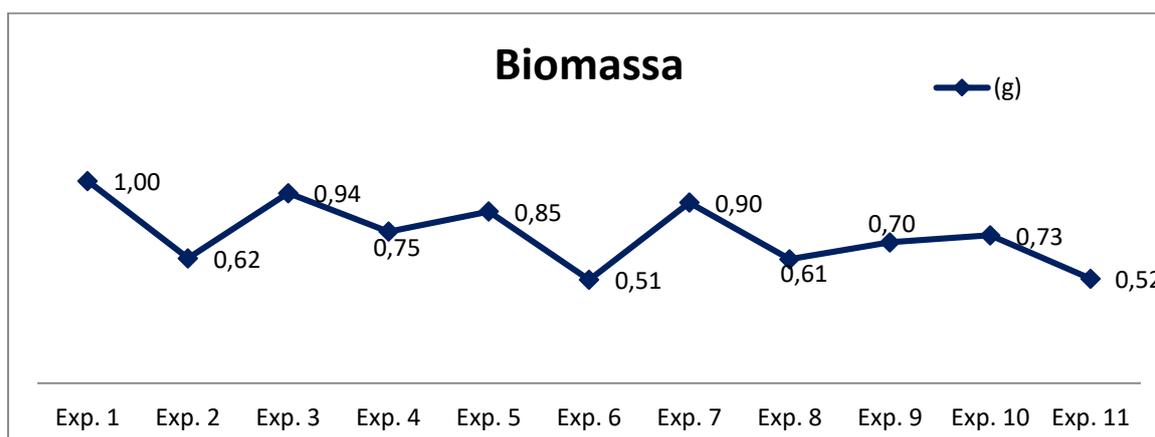
A Figura 16 demonstra os resultados encontrados para a análise da Biomassa Micelial em todos os tratamentos, com destaque para os experimentos 1, 3, 5 e 7 nas quais tiveram as maiores produtividades. Estes experimentos foram efetuados com um tempo menor, 5 dias, indicando que um tempo maior de tratamento não vai

melhorar a eficiência. Esse resultado é importante pois indica que o descarte do efluente pode ser realizado com um tempo de retenção menor.

Nunes (2001) e Bellettini et al (2019) demonstraram em seus estudos que o pH mais ácido favorecem o desenvolvimento dos fungos da espécie *Ganoderma* e da espécie *Pleurotus*. Baldrian (2006) relatou a diminuição da acidez do meio com o passar do tempo, considerando que a produção de ânions OH^- aumenta devido às reações enzimáticas.

A Figura 9 demonstra essas observações para os experimentos 1, 3 e 7, na qual inicialmente verifica-se uma redução no valor do pH e com o passar dos dias ocorre um aumento desse valor. A diminuição dos valores de pH justificaria o aumento da produção de biomassa fúngica.

Figura 16 – Resultados da análise de biomassa micelial.



Fonte: A Autora.

5.6.1 Toxicidade do efluente estudado e relação com a taxa de crescimento radial e biomassa fúngica

A análise de crescimento radial em meio de ágar batata dextrose (Meio 1) e ágar batata dextrose e efluente (Meio 2) foi realizada para averiguar a toxicidade do efluente aos micro-organismos. Os resultados demonstram que ocorreu o desenvolvimento da biomassa radial tanto nos meios de culturas “1” quanto no “2”. Foi observado que para o micro-organismo *Pleurotus ostreatus* a toxicidade do efluente não interfere em seu desenvolvimento, o que não ocorreu para a espécie *Ganoderma* sp., que demonstrou um retardamento em seu desenvolvimento. Esta condição pode ser constatada através dos resultados de biomassa (FIGURA 16).

Observou-se ainda que os experimentos realizados com as espécies separadamente (1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 e 8), tiveram melhores resultados para a produção de biomassa. Estes resultados podem caracterizar a existência de algum tipo de competição entre os fungos. Cardoso e Andreote (2016), relatam que quando há interação de micro-organismos, estes tendem a competir pelos mesmos nutrientes, neste caso a mesma fonte de Carbono e Nitrogênio. Esta observação pode justificar os resultados das amostras 9, 10 e 11, onde os dois fungos foram empregados, que apresentaram resultados inferiores aos demais experimentos.

5.7 Planejamento fatorial

Através do planejamento fatorial foi possível estudar os efeitos de três variáveis: pH, tempo de tratamento e tipo de fungo, em todas as combinações possíveis dos níveis através de 11 experimentos.

A eficiência do tratamento do efluente foi avaliada através das medidas de DQO, DBO₅, e da redução da quantidade de Cromo (III) e Cromo (VI). A Tabela 7, apresenta a matriz do planejamento fatorial empregado para a realização dos experimentos, 2³ com ponto central, com os resultados obtidos nas análises de DQO, DBO₅, Cr (III) e Cr (VI).

Tabela 7 – Valores das análises de DQO, DBO₅, Cr (III) e Cr (VI), obtidos através da análise fatorial.

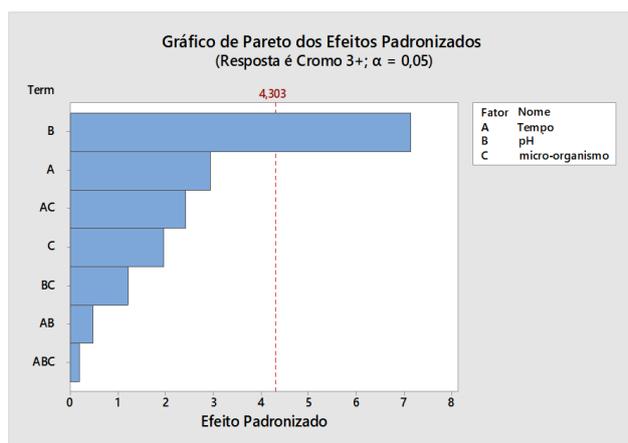
Ensaio	Tempo	pH	Micro-organismos	Média da média			
				DBO	DQO	Cr ³⁺	Cr ⁶⁺
1	-	-	-	241,20	583,33	0,0329	0,0040
2	+	-	-	905,40	1450,00	0,0427	0,0133
3	-	+	-	281,40	583,33	0,0876	0,0082
4	+	+	-	804,80	1233,35	0,0865	0,0154
5	-	-	+	361,80	799,98	0,0205	0,0314
6	+	-	+	1207,20	1666,67	0,0675	0,0307
7	-	+	+	201,00	550,00	0,0924	0,0042
8	+	+	+	1006,00	1450,83	0,1344	0,0157
9	0	0	0	603,60	933,34	0,0305	0,0279
10	0	0	0	241,20	583,34	0,0457	0,0089
11	0	0	0	955,70	1566,67	0,0226	0,0291
Controle	-----	-----	-----	3484,00	7733,3	0,4407	0,0278

Fonte: A Autora.

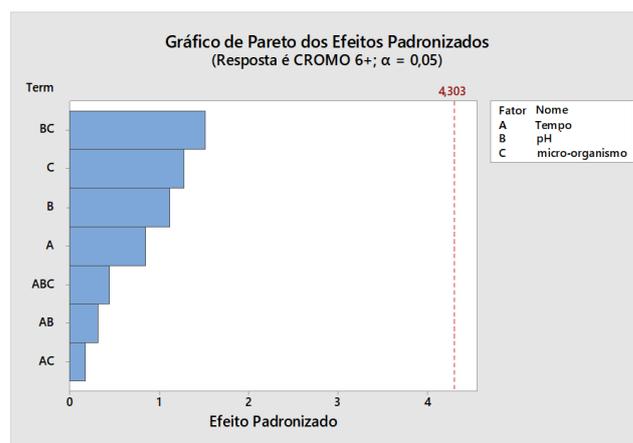
Legenda: Para a variável tempo: (-) equivale a 5 dias de tratamento, (0) equivale a 6 dias de tratamento e (+) equivale a 7 dias de tratamento. Para a variável pH: (-) equivale ao valor de pH 4,0, (0) equivale ao valor de pH 4,5 e (+) equivale ao valor de pH 5,0. Para a variável micro-organismo: (-) equivale ao *Pleurotus ostreatus*, (0) equivale ao *Pleurotus ostreatus* mais o *Ganoderma* sp., (+) equivale ao *Ganoderma* sp.

Através dos gráficos de Pareto, Figura 17, obtidos com os resultados do planejamento fatorial, foi possível verificar a influência de cada uma das três variáveis e a interação que ocorre entre cada uma delas no processo. Nestes gráficos, as barras (fatores) que ultrapassam a linha de significância ($p = 0,05$) exercem uma influência estatisticamente significativa sobre o resultado.

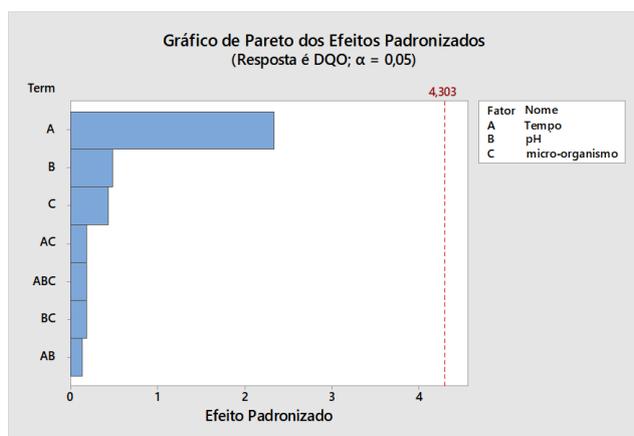
Figura 17 - Gráficos de Pareto dos efeitos padronizados para a) Cromo (III), b) Cromo (VI), c) DQO e d) DBO₅.



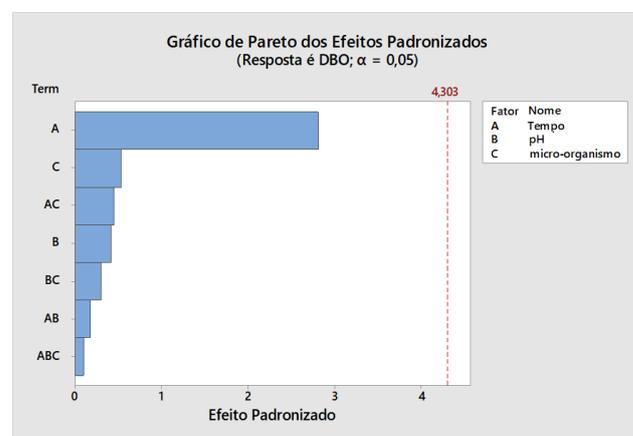
(a)



(b)



(c)



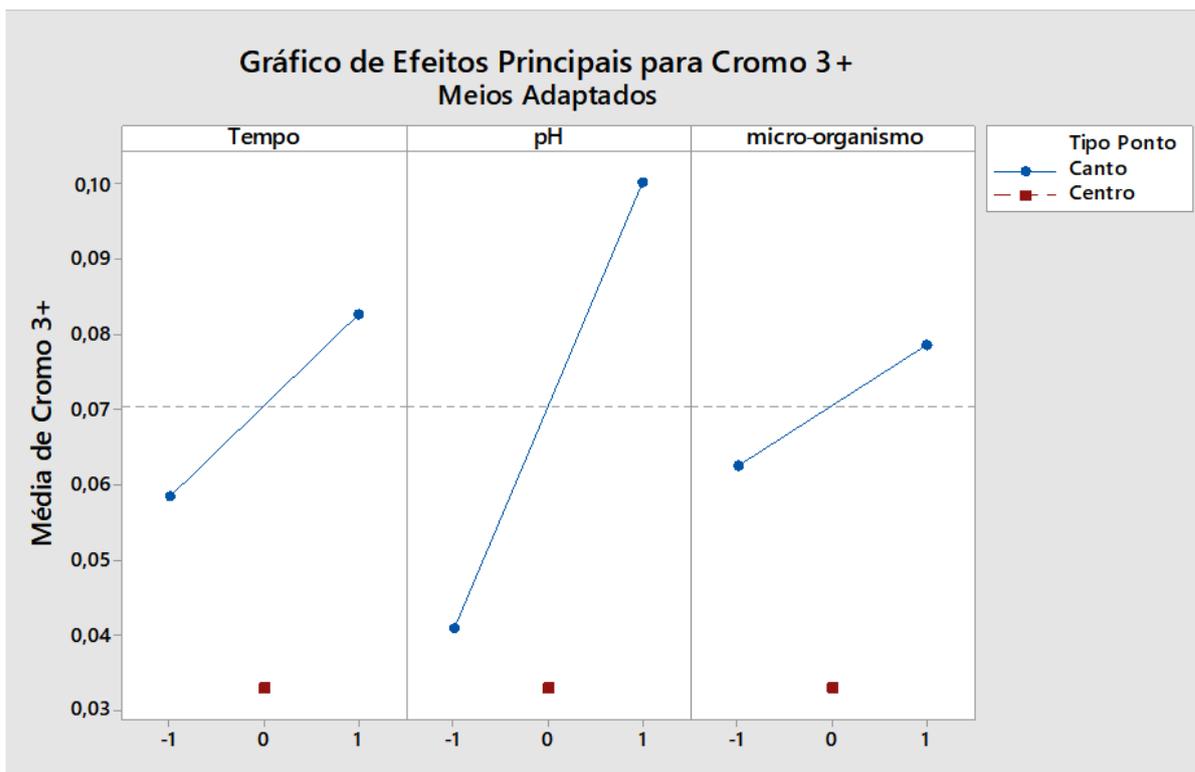
(d)

Fonte: A Autora.

A análise dos gráficos de Pareto demonstra que apenas os experimentos para o Cromo (III) foram estatisticamente significativos. A variável de maior significância para este processo de tratamento do efluente foi o pH. Observa-se o efeito predominante do pH de forma independente, ou seja, apenas a variação dos valores de pH consegue fazer com que o tratamento ocorra de forma satisfatória.

Na Figura 18, são apresentados graficamente os níveis de cada fator e as reduções médias obtidas em cada um destes níveis para os experimentos de remoção de Cromo (III), o único estatisticamente significativo.

Figura 18 - Gráficos dos efeitos principais para o Cromo (III).



Fonte: A Autora.

A análise do gráfico apresentado na Figura 17 demonstra como cada um dos três fatores contribui, de forma individual, para uma melhor remoção dos poluentes no efluente tratado. Pode-se observar que o fator pH possui uma grande influência na remoção do Cromo (III). Estes resultados também foram verificados através da análise da Figura 18.

Desta forma, o tratamento de efluentes da indústria curtumeira pode ser realizada de modo satisfatório apenas com o ajuste do pH. O tempo e o tipo de micro-organismo também irão afetar o resultado, mas não tanto quanto a variação de pH.

6 CONCLUSÃO

Os dois micro-organismos estudados se desenvolveram nos experimentos, sendo que o *Ganoderma* sp., apresentou uma maior sensibilidade à resposta de crescimento. Após a adaptação ao meio ele se desenvolveu como o *Pleurotus ostreatus* indicando que ambos podem ser utilizados para o tratamento deste tipo de efluente.

Foi possível constatar que os experimentos com menor tempo de incubação para ambos os fungos apresentaram melhores resultados o que condiz com uma maior eficiência em um tempo menor de exposição na estação de tratamento de efluentes.

Com relação a DQO e DBO₅, a remoção foi acima dos 90% tanto para o experimento 1 (*Pleurotus ostreatus*, pH 4,00, 5 dias) quanto para o experimento 7 (*Ganoderma* sp., pH 5,00, 5 dias), porém ao comparar ambos os experimentos, o 1 sobressaiu nos resultados das demais análises, nos demais experimentos os valores foram significativos mas menos expressivos, permeando entre 60 a 95% para DQO, DBO₅, turbidez e cromo (III).

Os resultados da análise fatorial indicaram que o fator mais relevante neste trabalho é o ajuste do pH, que proporcionou uma melhor remoção de Cromo (III) e foi validado estatisticamente. Adicionalmente, foi verificado que a turbidez, pH final, valores de DQO, DBO₅, quantidades de Cromo (III), (VI) e total também melhoraram após o tratamento com os fungos, tornando o efluente adequado para o descarte segunda e legislação vigente.

Assim, com estes resultados é possível visualizar que há um grande potencial biotecnológico para aplicação dessa classe de fungos em tratamento de efluentes de curtumes, onde a otimização do referido processo poderia resultar em maior eficiência, acarretando menor custo e menor impacto ao meio ambiente, percebendo desta forma que é um seguimento que deve ser olhado com mais atenção e sensibilidade.

7 PERSPECTIVAS

Diante do contexto deste estudo, ressalto algumas sugestões para pesquisas futuras:

- Estudar a produção enzimática dos fungos basidiomicetos em questão, quando estes atuam em efluentes de curtume, qualificando e quantificando as enzimas: lignina peroxidase, manganês peroxidase, lacase e redutase. Este estudo permitirá analisar a atuação das mesmas e identificar qual apresenta maior afinidade pelo substrato, podendo correlacioná-las com a porcentagem de descoloração, o que aumenta a eficiência do processo;

- Investigar a eficiência de cepas fúngicas adaptadas ao efluente, com realização de análise histoquímica com marcadores próprios para espécie de Cr (III) e Cr (VI) na biomassa fúngica, para verificar a bioabsorção desses metais, além de averiguar em quais partes da unidade estrutural celular é ocasionada e se ocorre diferenciação entre as espécies fúngicas estudadas, possibilitando uma melhor escolha ao processo;

- Pesquisar na biomassa fúngica exposta ao efluente, a existência de traços de Cr (III) e Cr (VI), verificando o estado do Cromo.

REFERÊNCIAS

- AGUIAR, Mônica Regina Marques Palermo de; NOVAES, Amanda Cardoso; GUARINO, Alcides Wagner Serpa. Remoção de metais pesados de efluentes industriais por aluminossilicatos. **Quím. Nova**, São Paulo, v. 25, n. 6b, p. 1145-1154, dez. 2002. Disponível em: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100-40422002000700015&lng=pt&nrm=iso. Acesso em: 26 jun. 2019.
- AICSUL. **Exportações de couro renderam US\$ 1,4 bilhão em 2018**. Novo Hamburgo, 11 jan. 2019. Disponível em: <http://www.aicsul.com.br/exportacoes-de-couro-renderam-us-14-bilhao-em-2018>. Acesso em: 22 jun. 2019.
- ALMEIDA, Edna; ASSALIN, Márcia Regina; ROSA, Maria Aparecida; DURAN, Nelson. Tratamento de efluentes industriais por processos oxidativos na presença de ozônio. **Quím. Nova**, v. 27, n° 5, p. 818-824, 2004. Disponível em: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100-40422004000500023&lng=en&nrm=iso. Acesso em: 15 out. 2019.
- AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION; AMERICAN WATER WORKS ASSOCIATION WATER; ENVIRONMENT FEDERATION. **Standard methods for the examination of water & wastewater**. 21. ed. Washington, DC: American Public Health Association, 2005. p. 85-86;
- ARAÚJO, Karla Santos de; ANTONELLI, Raissa; GAYDECZKA, Beatriz; GRANATO, Ana Claudia; MALPASS, Roger Pointer. Processos oxidativos avançados: uma revisão de fundamentos e aplicações no tratamento de águas residuais urbanas e efluentes industriais. **Rev. Ambient. Água**. v. 11, n.2 Taubaté. Abr./jun. 2016. Disponível em: <http://doi:10.4136/1980-993X>. Acesso em: 10 abr. 2019.
- ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. **NBR 13740: Água – determinação de cromo total – método colorimétrico da s-difenilcarbazida**. Rio de Janeiro, 1996. p. 1–4.
- AZEVEDO, João Lúcio de *et al.* Micro-organismos Endofíticos e seu Papel em Plantas Tropicais. In: AZEVEDO, João Lúcio de; SERAFINI, Luciana Atti; BARROS, Neiva Monteiro **Biociência: Avanços na Agricultura e na Agroindústria**. Caxias do Sul: Educs, 2002. p. 269 - 294.
- BARBIERI, José Carlos. **Gestão ambiental empresarial: conceitos, modelos e instrumentos**. 4. ed. São Paulo: Saraiva, 2016.
- BALDRIAN, Petr. Fungal laccases: occurrence and properties. **FEMS Microbiology Reviews**. v.30, p.215-242, 2006. Disponível em: <https://academic.oup.com/femsre/article/30/2/215/2367606>. Acesso em: 25 fev. 2020.
- BELLETTINI, Marcelo Barba *et al.* Factors affecting mushroom *Pleurotus spp.* **Saudi Journal of Biological Sciences**, v. 26, 4 ed. p. 633-646, 2019. Disponível em:

<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1319562X16301814?via%3Dihub>. Acesso em: 25 fev. 2020.

BERTOLDI, Crislaine Fabiana *et al.* Métodos analíticos para determinação de compostos em efluentes de curtume. *In: SIMPÓSIO INTERNACIONAL DE QUALIDADE AMBIENTAL*. 10. 2016, Porto Alegre. **Anais...** Porto Alegre: ABES, 2019. Disponível em: http://www.abes-rs.uni5.net/centraldeeventos/_arqTrabalhos/trab_20160921124057000000695.pdf. Acesso em: 12 abr. 2020.

BRASIL. Ministério do Meio Ambiente. Conselho Nacional do Meio Ambiente – CONAMA. **Resolução nº 357 de 11 de março de 2005**. Dispõe sobre a classificação dos corpos de água e diretrizes ambientais para o seu enquadramento, bem como estabelece as condições e padrões de lançamento de efluentes, e dá outras providências. Brasília, 2005. Disponível em: <http://www2.mma.gov.br/port/conama/legiabre.cfm?codlegi=459>. Acesso em: 29 nov. 2019.

BRASIL. Ministério do Meio Ambiente. Conselho Nacional do Meio Ambiente – CONAMA. **Resolução nº 430 de 13 de maio de 2011**. Seção II. Das condições e padrões de lançamento de efluentes. Art. 16. Brasília, 2011. Disponível em: http://www.mma.gov.br/port/conama/res/res11/propresol_lanceflue_30e31mar11.pdf. Acesso em: 29 nov. 2019.

BRAILE, Pedro Marcio; CAVALCANTI, José Eduardo W. A. **Manual de tratamento de águas residuárias industriais**. São Paulo: CETESB, 1993. p. 233 – 278.

BRIÃO, Vandrê Barbosa; TAVARES, Célia Regina Granhen. Ultrafiltração como processo de tratamento para o reuso de efluentes de laticínios. **Eng. Sanit. Ambient.**, Rio de Janeiro, v. 12, n. 2, p. 134-138, jun. 2007. Disponível em: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1413-41522007000200004&lng=en&nrm=iso. Acesso em: 10 abr. 2019.

BURATTO, Ana Paula; COSTA, Raquel Dalla; FERREIRA, Edilson da Silva. Aplicação de biomassa fúngica de *Pleurotus ostreatus* em processo de biossorção de íons cobre (II). **Engenharia Sanitária e Ambiental**. v. 17, n. 4, p. 413-420, 2012. Disponível em: <https://www.scielo.br/pdf/esa/v17n4/v17n4a08>. Acesso em: 05 ago. 2020.

CAMMAROTA, Magali Christe. **Notas de aula: tratamento de efluentes líquidos**. EQB-485 Engenharia do Meio Ambiente - 3ª versão. Rio de Janeiro: UFRJ, 2011. Disponível em: <http://www.eq.ufrj.br/docentes/magalicammarota/2013/eqb485.pdf>. Acesso em: 22 jun. 2019.

CARDOSO, Elke Jurandy Bran Nogueira; ANDREOTE, Fernando Dini. **Microbiologia do solo**. 2 ed. Piracicaba: ESALQ, 2016.

CASTRO, Rui de Paula Vieira de *et al.* Pré-tratamento físico-químico e enzimático para efluente de abatedouro. **Eng. Sanit. Ambient.**, Rio de Janeiro, v. 24, n. 5, p. 975-981, out. 2019. Disponível em:

http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1413-41522019000500975&lng=en&nrm=iso. Acesso em: 20 abr. 2020.

CETESB. **Avaliação do uso de produtos biotecnológicos para tratamento de efluentes líquidos, resíduos sólidos e remediação de solos e águas**: Norma Técnica. L1.022. São Paulo: CETESB, 2007. Disponível em: <https://cetesb.sp.gov.br/normas-tecnicas-cetesb/normas-tecnicas-vigentes/>. Acesso em: 26 maio 2018.

CHIPASA, Kangala. B. Accumulation and fate of selected heavy metals in a biological wastewater treatment system, **Waste Management**, v. 23, p. 135-143, 2003. Disponível em: [https://doi:10.1016/S0956-053X\(02\)00065-X](https://doi:10.1016/S0956-053X(02)00065-X). Acesso em: 05 ago. 2020.

CICB. **Veja o resultado final das exportações de couro em 2016**. Centro das Indústrias de Curtume do Brasil – CICB. 09 jan. 2017a. Disponível em: <http://www.cicb.org.br/cicb/noticias/veja-o-resultado-final-das-exportacoes-de-couro-em-2016>. Acesso em: 22 ago. 2019.

CICB. **A indústria**. Centro das Indústrias de Curtume do Brasil – CICB. 2017b. Disponível em: <http://www.cicb.org.br/cicb/sobre-couro>. Acesso em: 20 jun. 2019.

CICB. **O couro na economia do país e no comércio internacional**: e o papel determinante da apex-brasil neste cenário. Centro das Indústrias de Curtume do Brasil – CICB. 11 abr. 2019. Disponível em: <http://www.cicb.org.br/cicb/noticias/o-couro-na-economia-do-pais-e-no-comercio-internacional-e-o-papel-determinante-da-apex-brasil-neste-cenario>. Acesso em: 22 jun. 2019.

CICB. **Dados do setor**. Centro das Indústrias de Curtume do Brasil – CICB. 2020. Disponível em: <https://cicb.org.br/cicb/dados-do-setor>. Acesso em: 30 jun. 2020.

CLAAS, Isabel Cristina. **Lodos Ativados**: Princípios Teóricos Fundamentais, Operação e Controle. Porto Alegre: Evangraf, 2007.

COSTA, Flávia Cavaleiro *et al.* Tratamento do efluente de uma indústria química pelo processo de lodos ativados convencional e combinado com carvão ativado. **Engenharia Sanitária e Ambiental**. v.8, n. 4, p. 274-284, out/dez 2003. Disponível em: <http://www.abes-dn.org.br/publicacoes/engenharia/resaonline/v8n4/v8n4a07.pdf>. Acesso em: 10 abr. 2019.

DIAS, Diarone Paschoarelli. **Fungos**. Biologia Viva. São Paulo: Editora Moderna, 1996.

FELTRE, Ricardo. **Fundamentos da química**. 2. ed. São Paulo: Moderna, 1996.

FERREIRA, Glalber Luiz da Rocha *et al.* Biosorption of hexavalent chromium by *Pleurotus ostreatus*. **Heliyon**, v.5, n.3, mar. 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2019.e01450>. Acesso em: 06 ago. 2020.

FORNARI, Marilda Menchon Tavares. **Aplicação da técnica de eletro-floculação no tratamento de efluentes de curtume**. 2007. 94 p. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química) - Universidade Estadual do Oeste do Paraná, Toledo, 2007.

FREITAS, Edson Antônio de. **Estudo comparativo das características do couro e efluente bruto de processo de curtimento convencional versus processo com reciclagem direta de banho de curtimento**. 2007. 48 p. Dissertação (Mestrado em Tecnologias Ambientais) - Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, Campo Grande, 2007.

GANEM, Roseli Senna. **Curtumes: Aspectos Ambientais**. 2007. Disponível em: http://bd.camara.gov.br/bd/bitstream/handle/bdcamara/1281/curtumes_aspectos_senna.pdf?sequence=1. Acesso em: 28 nov. 2019.

GIBSON, Angela M.; HOCKING, Ailsa D. Advances in the predictive modeling of fungal growth in food. **Trends in Food Science e Technology**, v.8, p. 353-358, 1997. Disponível em: [https://doi.org/10.1016/S0924-2244\(97\)01065-0](https://doi.org/10.1016/S0924-2244(97)01065-0). Acesso em: 20 jan. 2019.

GINESTET, C. ggplot2: Elegant Graphics for Data Analysis. **Journal of the Royal Statistical Society: Series A (Statistics in Society)**, 2011.

GUEMIZA, Karima *et al.* Treatment technologies used for the removal of As, Cr, Cu, PCP and/or PCDD/F from contaminated soil: A review. **Journal of Hazardous Materials**, v.333, p.194–214. 2017. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0304389417301851?via%3Dihub>. Acesso em: 30 abr. 2018.

GUIA BRASILEIRO DO COURO. **Curtumes**. 2020. Disponível em: <http://www.guiabrasileirodocouro.com.br/>. Acesso em: 21 jan. 2020.

HERMES, Luiz Carmos *et al.* In: FAY, Elisabeth Francisconi; SILVA, Célia Maria Maganhotto de Souza. **Índice de uso sustentável da água (ISA – Água) na região do sub - médio São Francisco**. Jaguariúna: Embrapa Meio Ambiente, 2006. p. 17–38.

HESPANHOL, Rosângela Aparecida de Medeiros. **Produção Familiar: Perspectivas de análise e inserção na Microrregião Geográfica de Presidente Prudente – SP**. Rio Claro, 2000. Tese (Doutorado em Geografia) – Instituto de Geociências e Ciências Exatas, UNESP, Rio Claro.

HOINACKI, Eugênio. **Peles e Couros**. 2. ed. Porto Alegre: SENAI/RS, 1989.

HOINACKI, Eugênio; MOREIRA, Marina Vergílio; KIEFER, Carlos Guilherme. **Manual básico de processamento de couro**. Porto Alegre: SENAI/RS, 1994.

HU, Jing *et al.* Ecological utilization of leather tannery waste with circular economy model **Journal of Cleaner Production**, v. 19m n.2-3, p.111-228, jan/fev 2011. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2010.09.018> Acesso em: 12 dez. 2018.

HU, Shuangqing *et al.* Toxicity of combined chromium (VI) and phenanthrene pollution on the seed germination, stem lengths, and fresh weights of higher plants. **Environmental Science and Pollution Research**, v.23, n.15, p15227-15235, ago. 2016. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1007%2Fs11356-016-6701-6>. Acesso em: 02 maio 2018.

IBGE - INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. **Pesquisa Trimestral do Couro: 1º trimestre 2019**. SIDRA – Sistema IBGE de Recuperação Automática. Rio de Janeiro, 2019a. Disponível em: <https://sidra.ibge.gov.br/home/couro/brasil>. Acesso em: 18 jul. 2019.

IBGE – INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. **Séries históricas**. Rio de Janeiro, 2019b. Disponível em: <https://www.ibge.gov.br/estatisticas/economicas/agricultura-e-pecuaria/9214-pesquisa-trimestral-do-couro.html?edicao=20752&t=series-historicas>. Acesso em: 18 jul. 2019.

IBGE – INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. **Pesquisa Trimestral do Couro: 1º trimestre 2020**. SIDRA – Sistema IBGE de Recuperação Automática. Rio de Janeiro, 2020. Disponível em: <https://sidra.ibge.gov.br/home/couro/brasil>. Acesso em: 12 jul. 2020.

IEDI. O encolhimento do Brasil na indústria mundial. **Análise IEDI**, 21 set. 2018. Disponível em: https://www.iedi.org.br/artigos/top/analise/analise_iedi_20180921_industria_mundial.html. Acesso em: 22 jun. 2019.

INFORMA ECOLOGIA DEL BENESSERE. Autunno in tavola... i funghi Pleurotus perfetti alleati contro i tumori. **Nutrizione/Rivista Informa**. 03 nov. 2012. Disponível em: <http://www.rivistainforma.it/autunno-in-tavolai-funghi-pleurotus-perfetti-alleati-contro-i-tumori/>. Acesso em: 12 nov. 2019.

JUNIOR, Valter. Com mais de 300 curtumes o Brasil é um dos maiores produtores de couro do mundo, mercado que movimenta mais de 6 milhões por ano. **Revista Risa Brasil.**, v. 42, 02 jul. 2015. Disponível em: <https://issuu.com/revistarisa/docs/componentes42>. Acesso em: 22 ago 2019.

KIRK, T. Kent.; CULLEN, Dan. Enzimology and molecular genetics of wood degradation by White-rot fungi. *In*: YOUNG, Raymond Allen; AKHTAR, Massod. **Environmentally friendly Technologies for pulp and paper industry**. New York: John Wiley & Sons, 1998, p. 273-308.

LACAZ, Carlos da Silva. **Micologia médica: fungos, actinomicetos e algas de interesse médico**. 8. ed. São Paulo: Savier, 1991.

LEONARD, Alain; GERBER, George B; JACQUET, Paul. Mutagenicity, carcinogenicity, and teratogenicity of industrially used metals, *In*: CARCINOGENICITY, MUTAGENICITY, AND TERATOGENICITY OF INDUSTRIAL POLLUTANTS. New York: Plenum Press, 1984. p. 59-126.

MACASKIE, Lynne E. *et al.* Cadmium accumulation by a *Citrobacter* sp.: the chemical nature of the accumulated metal precipitate and its location on the bacterial cells. **Journal of General Microbiology**. v. 133, p. 539-544, 1987. Disponível em: <https://doi.org/10.1099/00221287-133-3-539>. Acesso em: 10 jun. 2020.

MALAVIYA Piysh; SINGH Asha. Bioremediation of chromium solutions and chromium containing wastewaters. **Journal Critical Reviews in Microbiology**, v.42, n.4, p.607-633, 2016. Disponível em: <https://www.tandfonline.com/doi/full/10.3109/1040841X.2014.974501>. Acesso em: 30 abr. 2018.

MARSAL, Agustín Monge *et al.* Dyestuffs and formaldehyde content in split leather treated with formaldehyde resins. **Dyes and Pigments**, v.158, p.50-59, 2018. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S014372081830473X?via%3Dihub>. Acesso em: 06 abr. 2019.

MAHMOUD, A. El-Sheikh *et al.* Biological tannery wastewater treatment using two stage UASB reactors. **Desalination**, v. 276, n.1-3, p.253-259, abr. 2011. Disponível em: <http://www.elsevier.com/locate/desal>. Acesso em: 26 ago. 2019.

MANENTI, Diego Ricieri *et al.* Avaliação do desempenho de um sistema de tratamento utilizando os processos eletrocoagulação e foto-feton integrados no tratamento de um efluente têxtil. **Engvista** v. 16, n.3, p. 420-431, set. 2014. Disponível em: <https://doi.org/10.22409/engvista.v16i3.519>. Acesso em: 19 abr. 2019.

MORELLO, Thiago. Região de Prudente é a 5ª maior produtora de couro. **O Imparcial**: Região. Presidente Prudente, 06 abr. 2019. Disponível em: <http://www.imparcial.com.br/noticias/regiao-de-prudente-e-a-5-maior-produtora-de-couro,26559>. Acesso em: 09 jan. 2020.

NUNES, Estela de Oliveira. **Influência do pH e concentração inicial de glicose na produção de biomassa do fungo *Ganoderma australe* (Fr.) Pat.** 2001. 72 p. Tese (Mestrado em Desenvolvimento de Processos Químicos e biotecnológicos) - Universidade Federal de Santa Catarina. Florianópolis/SC, 2001. Disponível em: <https://repositorio.ufsc.br/bitstream/handle/123456789/79672/185638.pdf?sequence=1&isAllowed=y>. Acesso em: 22 abr. 2020.

NUVOLARI, Ariovaldo. **Esgoto sanitário**: coleta transporte tratamento e reuso agrícola. São Paulo: Ed. Edgard Blücher Ltda, 2003.

OLIVEIRA, Alexandra Rocha de. **A qualidade do couro bovino no Brasil**. Brasília: EMBRAPA, 2014. Disponível em: <https://www.embrapa.br/busca-de-noticias/-/noticia/1914396/artigo-a-qualidade-do-couro-bovino-no-brasil>. Acesso em: 20 jun. 2020.

OLIVEIRA, Gisele Santos Silva de; ARAUJO, Cristiano Venícius de Matos; FERNANDES, José Gilson Santos. Microbiologia de sistema de lodos ativados e sua relação com o tratamento de efluentes industriais: a experiência da Cetrel. **Eng.**

Sanit. Ambient., Rio de Janeiro, v. 14, n. 2, p. 183-191, jun. 2009. Disponível: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1413-41522009000200006&lng=en&nrm=iso. Acesso em: 10 abr. 2019.

PACHECO, José Wagner Faria. **Curtumes**: séries P+L. São Paulo: CETESB, 2005.

PACHECO, José Wagner Faria. **Abate de Bovinos e Suínos**: Guia Técnico Ambiental (Bovino e Suíno). São Paulo: CETESB, 2006. Disponível em: <https://cetesb.sp.gov.br/consumosustentavel/wp-content/uploads/sites/20/2013/11/abate.pdf>. Acesso em: 23 maio 2019.

PACHECO, José Wagner Faria. **Guia técnico ambiental de curtumes**. 2 ed. rev. São Paulo: CETESB, 2015.

PECHOVA Alena; PAVLATA, Leos. Chromium as an essential nutrient: a review. **Veterinarni Medicina**, v.52, n.1, p.1-18, 2007. Disponível em: <https://www.agriculturejournals.cz/publicFiles/00554.pdf>. Acesso em: 30 abr. 2018.

R DEVELOPMENT CORE TEAM. **R Software**: A Language and environment for statistical computing. Vienna, 2019. Disponível em: <http://www.r-project.org>

SALSA, José. Fungos: classificação dos fungos. **Cientic**. 2004. Disponível em: https://www.cientic.com/tema_fungo_img3.html. Acesso em: 22 dez. 2019.

SAUER, Ticiane Pokrywiecki *et al.* Advanced oxidation process applied to tannery wastewater containing Direct Black 38 - Elimination and degradation kinetics. **Journal of Hazardous Materials**. v. 135, n.1-3, p. 274-279, 2006. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2005.11.063>. Acesso em: 10 abr. 2019.

SCHRANK, Silvia Gabriela *et al.* Elucidation of the behavior of tannery wastewater under advanced oxidation conditions. **Chemosphere**. v. 56, n.05, p. 411-423, 2004. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2004.04.012>. Acesso em: 10 jun. 2019.

SCHRANK, Silvia Gabriela *et al.* Discoloration effects of Vat Green 01 textile dye and textile wastewater using H₂O₂/UV process. **Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry**. v. 186, p. 125-129, 2007. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.jphotochem.2006.08.001>. Acesso em: 16 abr. 2019.

SCHROEDER MD, Henry A. The role of chromium in mammalian nutrition. **The American Journal of Clinical Nutrition**, New York, v. 21, n. 3. p. 230-244, 1968. Disponível em: <https://doi.org/10.1093/ajcn/21.3.230>. Acesso em: 18 abr. 2018.

SEAAC. Base territorial. **SEAAC Presidente Prudente e Região**. Presidente Prudente, 2020. Disponível em: <http://www.seaac.com.br/home/base>. Acesso em: 10 jan. 2020.

SEADE. Mapa da indústria paulista 2003 – 2016. Abril 2019. **SEADE 40 anos**. 2020. Disponível em: https://www.seade.gov.br/wp-content/uploads/2019/04/MapaIndustria_abril2019.pdf. Acesso em: 08 jan. 2020.

SILVA, Ricardo Ribeiro da; COELHO, Glauciane Danuza. **Fungos: principais grupos e aplicações biotecnológicas**. Curso de capacitação de monitores e educadores. São Paulo: IBT, 2006.

SILVA, Carlos Sérgio da; PEDROZO, Maria de Fátima M. **Ecotoxicologia do cromo e seus compostos**. Salvador: CRA, 2001. (Caderno de referência ambiental, v. 5. p. 13 – 69)

SHANKER, Arun; VENKATESWARLU, Bandi. Chromium: environmental pollution, health effects and mode of action. Jerome ON (ed) Encyclopedia of environmental health. **Elsevier**, Burlington. v. 65. p. 650-659, 2011. Disponível em: https://www.researchgate.net/publication/262968071_Chromium_Environmental_Pollution_Health_Effects_and_Mode_of_Action/link/5d4d5da4a6fdcc370a879004/download. Acesso em: 19 dez. 2019.

SOFTWARE.INFORMER. BELView 6.2 Livre. **Informer Technologies**, Inc./ Windows. 2019. Disponível em: <https://belview.software.informer.com/6.2/>. Acesso em: 24 nov. 2019.

SOARES, Carlos Henrique Lemos. **Estudos mecanísticos da degradação de efluentes de indústrias de papel e celulose por fungos basidiomicetos degradadores de madeira**. 1998. 132 p. Tese. (Doutorado em Química Orgânica) - Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 1998.

SOUSA, Joana D’Arc Félix de. “Curteendedorismo”: Uma forma de empreendedorismo aliada a uma nova estratégia de ensino e aprendizagem para o curso técnico em curtimento da ETEC Prof. Carmelino Corrêa Júnio. *In: ENCONTRO DE PESQUISADORES: DESENVOLVIMENTO EM TEMPO DE OPORTUNIDADES 17.*, 2017, Franca. **E-book**... Franca: UANIFACEF, 2017. p. 500 – 511. Disponível em: http://pos.unifacef.com.br/wp-content/uploads/2018/01/ENCPESQ_E-BOOK_desafios.pdf. Acesso em: 18 fev. 2020.

TELLES, Evelise Oliveira. **VPS 2201 2 – Higiene e segurança alimentar: e-Disciplinas – Microbiologia alimentar**. USP: São Paulo, 2019. Disponível em: https://edisciplinas.usp.br/pluginfile.php/4407507/mod_resource/content/1/TEMA%202_EVELISE_RESUMO_VPS2201_2.pdf Acesso em: 20 jan. 2020.

THAPA, Bijay; KC Ajay Kumar; GHIMIRE, Anish. A review on bioremediation of petroleum hydrocarbon contaminants in soil. Kathmandu University **Journal of Science, Engineering and Technology**, v. 8, n. 1, p.164-170, 2012. Disponível em: <https://www.nepjol.info/index.php/KUSET/article/view/6056>. Acesso em: 20 jan. 2019.

TORTORA, Gerard J.; FUNKE, Berdell R.; CASE, Christine L. **Microbiologia**. 12. ed. Porto Alegre: Artmed, 2017. 320 a 330 e 787.

TRABULSI, Luiz Rachid; ALTERTHUM, Flávio. **Microbiologia**. 6 ed. São Paulo: Atheneu, 2015. 543 a 566.

VADE-MÉCUM DO CURTIDOR. 5. ed. Ludwigshafen: BASF Aktiengesellschaft, 2005.

VARGAS, Kátia Pontes; JESUS, Eleonora Henriques Amorim de; AMORIM, Lara Letícia Galdino Amorim. Avaliação do funcionamento de uma estação de tratamento de efluentes de um curtume na cidade de Uberlândia – MG. In: ANDRADE, Darly Fernando. **Gestão Ambiental**, Belo Horizonte: Editora Poisson. 2018. . v. 1, Capítulo 1, p. 6-20. Disponível em: <https://www.poisson.com.br/livros/ambiental/volume2/Gest%C3%A3o%20Ambiental%20-%20volume%202.pdf>. Acesso em: 21 jan. 2020.

VITAPELLI. **Conheça o Vitapelli, maior curtume do Oeste Paulista**. Vitapelli/Home, 2020. Disponível em: <http://www.vitapelli.com.br/conteudo.php?idpage=1>. Acesso em: 21 jan. 2020.

VON SPERLING, Marcos. **Princípios do tratamento biológico de águas residuárias**: princípios básicos do tratamento de esgotos. 5. ed. Belo Horizonte: Departamento de Engenharia Sanitária e Ambiental – UFMG, 2003. V.2.

WISE, Sandra S. *et al.* Hexavalent chromium induces chromosome instability in human urothelial cells. **Toxicol Appl Pharmacol**, v. 295, p.54-60, abr. 2016. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0041008X16300370?via%3Dihub>. Acesso em: 01 maio 2018.

WISE, Sandra S. *et al.* Hexavalent chromium is cytotoxic and genotoxic to American alligator cells. **Aquat Toxicol**, v.171, p.30-36, fev. 2016. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0166445X15301181?via%3Dihub>. Acesso em: 02 maio 2018.

YANG, Linqing *et al.* Mitochondrial DNA hypomethylation in chrome plating workers. **Toxicol Lett**. v.243, p.1-6, jan. 2016. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0378427415301260?via%3Dihub>. Acesso em: 01 maio 2018.

YU, Guoqiang *et al.* Carbon nanotubes, graphene, and their derivatives for heavy metal removal. **Advanced Composites and Hybrid Materials**. 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s42114-017-0004-3>. Acesso em: 20 abr. 2018.