



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
"JÚLIO DE MESQUITA FILHO"

FACULDADE DE CIÊNCIAS E TECNOLOGIA
DEPARTAMENTO DE PLANEJAMENTO, URBANISMO E AMBIENTE

Ágata Abrão Mustafá Assem

Laia Matías Rodríguez

**Análise da degradação de diferentes corantes
azoicos a partir do crescimento do fungo *Pleurotus
ostreatus florida***

Presidente Prudente – SP

2017



Ágata Abrão Mustafá Assem
Laia Matías Rodríguez

**Análise da degradação de diferentes corantes
azoicos a partir do crescimento do fungo *Pleurotus
ostreatus florida***

Trabalho de Graduação apresentado ao
curso de graduação em Engenharia
Ambiental da Faculdade de Ciências e
Tecnologia – UNESP – Campus de
Presidente Prudente, como um dos
requisitos para a obtenção do título de
Engenheiro Ambiental.

Orientadora: Profa. Dra. Ana Flora Dalberto Vasconcelos

Presidente Prudente – SP

2017

FICHA CATALOGRÁFICA

Assem, Ágata Abrão Mustafã.
A863a Análise da degradação de diferentes corantes azoicos a partir do crescimento do fungo *Pleurotus ostreatus florida* / Ágata Abrão Mustafã Assem, Laia Matias Rodriguez. - Presidente Prudente : [s.n.], 2017
87 f. : il.

Orientadora: Ana Flora Dalberto Vasconcelos
Trabalho de conclusão (bacharelado - Engenharia Ambiental) -
Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências e Tecnologia
Inclui bibliografia

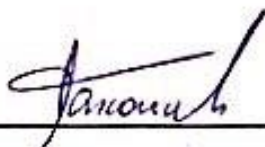
1. Azocorantes. 2. Biodegradação. 3. *Pleurotus ostreatus florida*. I. Rodriguez, Laia Matias. II. Vasconcelos, Ana Flora Dalberto. III. Universidade Estadual Paulista. Faculdade de Ciências e Tecnologia. IV. Título.

TERMO DE APROVAÇÃO

Ágata Abrão Mustafá Assem e Laia Matias Rodriguez

"Análise da degradação de diferentes corantes azoicos a partir do crescimento do fungo *Pleurotus ostreatus florida*"

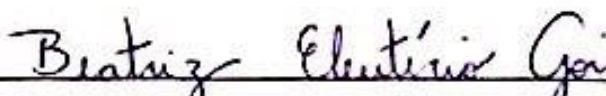
Trabalho de graduação aprovado como um dos requisitos parciais para a obtenção do título de Engenheiro Ambiental da Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho" – Faculdade de Ciências e Tecnologia, campus de Presidente Prudente – SP, pela seguinte banca examinadora:



Profa. Dra. Ana Flora Dalberto Vasconcelos (Orientadora)



Profa. Dra. Rosane Freire Boina



Profa. Dra. Beatriz Eleutério Goi

Presidente Prudente, 14 de março de 2017.

AGRADECIMENTOS

Agradecemos aos nossos pais, que nos prepararam para todos os desafios que a vida nos trouxe e trás até hoje. Obrigada por estarem sempre presentes nos momentos de mais dificuldade, nos apoiando sem pestanejar.

A todos os nossos familiares pelo apoio ilimitado durante todo o processo.

Aos amigos de Presidente Prudente e de fora também, pelo incentivo, amor e diversão na hora certa e medida exata da nossa necessidade. Obrigada por sempre estarem conosco nos momentos de alegria e nos que pensamos em desistir também.

Agradecemos especialmente a Turma XI, a melhor sala que poderíamos fazer parte, que com tamanha união e companheirismo nos proporcionou a melhor experiência que qualquer um poderia ter na universidade.

À nossa professora e orientadora deste trabalho, Ana Flora Dalberto Vasconcelos, pela sua paciência e dedicação em nos auxiliar da melhor forma possível e sempre que necessário. A todo momento transmitindo firmeza e nos passando tranquilidade durante esta etapa tão angustiante da graduação.

Às professoras Rosane Freire Boina e Beatriz Eleutério Góí por aceitarem avaliar o trabalho e contribuir com seu conhecimento.

Aos demais professores da faculdade pela dedicação e esforço em transmitir os melhores ensinamentos possíveis ao seu alcance, tornando esta experiência ainda mais satisfatória.

“Procure deixar o mundo um pouco melhor do que o encontrou. ”

Robert Stephenson Smyth Baden-Powell

RESUMO

Os azocorantes representam a maioria dos corantes sintéticos, sendo utilizados em uma variedade de indústrias, principalmente na têxtil. Apesar de seu grande uso, eles costumam ser tóxicos para animais e seres humanos, sendo necessário o tratamento especial dos efluentes líquidos com a sua presença. Desta forma, o presente estudo teve como objetivo analisar o desenvolvimento do fungo *Pleurotus ostreatus florida* em meio sólido e líquido na presença dos azocorantes alaranjado de metila, vermelho de metila e fast blue RR, visando a degradação desses compostos pelo microrganismo para possível aplicação em processos de recuperação ambiental. Para o cultivo sólido, foram preparados quatro meios de cultivo (M1, M2, M3 e M4), variando-se sua fonte nutricional e a concentração do azocorante (0,001%, 0,01%, 0,1% e 1%, m/v). Os experimentos foram realizados em triplicata para cada corante e mantidos à $28^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ em estufa bacteriológica e avaliados em relação ao crescimento ao longo de 15 dias. Para os cultivos líquidos utilizou-se o meio M4, sem ágar, com 0,001% (m/v) de cada corante. Foram preparadas triplicatas dos meios em erlenmeyers de 250 mL, contendo 50 mL de meio de cultivo e sendo submetidos à agitação (180 rpm) à $28^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ durante 15 dias. Após este período os cultivos foram interrompidos, filtrados e os sobrenadantes coletados para análises de varredura de espectroscopia pelo método UV-VIS a fim de se determinar a degradação do meio de cultivo. A biomassa produzida foi quantificada por gravimetria. O fungo se desenvolveu em todos os meios sólidos, com exceção da concentração 1% do fast blue RR que se tornou tóxico para o microrganismo. Alguns deles apresentaram um halo de descoloração em volta do micélio, podendo significar que o fungo utilizou o corante como fonte de carbono ou nitrogênio. Nos espectros de UV-VIS de todas as soluções, foi possível observar uma pequena banda de absorção na região entre 280 e 300 nm, indicando presença de proteína, devido a liberação de enzimas pelo crescimento do fungo. No caso do vermelho de metila houve a alteração do espectro de absorção do corante, indicando que ocorreu alguma interferência a partir do crescimento fúngico.

Palavras-chave: corantes azoicos, biodegradação, *Pleurotus ostreatus florida*

ABSTRACT

The Azo Dyes represent the majority of synthetic dyes, being used in a variety of industries, mainly in the textile. In spite of their great use, they are usually toxic to animals and humans, being necessary some special treatment of the liquid effluents with its presence. Thus, the present study had as goal the development of fungi *Pleurotus ostreatus florida* in solid and liquid medium in the presence of azo dye Methyl Orange, Methyl Red and Fast Blue RR, aspiring to degradation of these compounds by the microorganism for possible application in environmental recovery processes. For the solid culture, four culture media (M1, M2, M3 and M4) were prepared, varying their nutritional source and the concentration of the dye (0.001%, 0.01%, 0.1% and 1%, m/v). The experiments were carried out in triplicate for each dye and kept at $28^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ in a bacteriological oven and evaluated in relation to growth over 15 days. For liquid cultures the M4 medium, without agar, was used with 0.001% (m/v) of each dye. Triplicates of media were prepared in 250 mL Erlenmeyer flasks, containing 50 mL of culture medium and being subjected to agitation (180 rpm) at $28^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ for 15 days. After this period the cultures were interrupted, filtered and the supernatants collected for spectroscopy scanning analyzes by the UV-VIS method in order to determine the degradation of the culture medium. The biomass produced was quantified by gravimetry. The fungus developed in all solid media, with the exception of the 1% concentration of Fast Blue RR that became toxic to the microorganism. Some of them presented a halo of degradation around the mycelium, which could mean that the fungus used the dye as a source of carbon or nitrogen. In the UV-VIS spectra of all the solutions, a small absorption band in the region between 280 and 300 nm was observed, indicating the presence of protein due to the release of enzymes by the growth of the fungus. In case of methyl red there was a change in the absorption spectrum of the dye, indicating that some interference occurred from the fungal growth

Keywords: azo dyes, biodegradation, *Pleurotus ostreatus florida*

LISTA DE ABREVIATURAS/SÍMBOLOS/SIGLAS

Glu	Glucose
m/v	Massa por volume
M1	Meio de cultivo 1
M2	Meio de cultivo 2
M3	Meio de cultivo 3
M4	Meio de cultivo 4
MMS	Meio Mínimo de sais (VOGEL, 1956)
PO	<i>Pleurotus ostreatus florida</i>
YE	Extrato de levedura
AM	Alaranjado de metila
VM	Vermelho de metila
FBRR	Fast Blue RR
UV-VIS	Espectroscopia no ultravioleta visível
H ₂ O ₂ /UV	Oxidação fotoquímica
DP	Desvio Padrão
P1	Placa 1
P2	Placa 2
P3	Placa 3

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - a) Estrutura química da antocianina; b) Estrutura dos carotenoides; c) Estrutura química da Clorofila <i>a</i> e Clorofila <i>b</i>	21
Figura 2 - Fórmula estrutural do corante natural Índigo.	22
Figura 3 - a) Foto de Willian Henry Perkin; b) Flor de Malva; c) Corante descoberto em 1856; d) Molécula de Malveína.....	23
Figura 4 - Fórmula estrutural básica de um corante azoico.	26
Figura 5 - Processos de diazotação e acomplamento azo.....	27
Figura 6 - Representação da estrutura química do alaranjado de metila.	28
Figura 7 - Espectro de UV-VIS para solução aquosa do alaranjado de metila, com concentração de $1,0 \times 10^{-5}$ M.	29
Figura 8 - Representação da estrutura química do vermelho de metila.	30
Figura 9 - Reação de síntese do vermelho de metila.	30
Figura 10 – Espectro de absorção do vermelho de metila para as formas básica (1) e neutra (2) para a concentração $1,537 \times 10^{-5}$ mol/dm ³	31
Figura 11 - Fórmula molecular do fast blue RR.....	32
Figura 12 - Espectro de UV-VIS do fast blue RR em solução com metanol (linha contínua), butanol basificado com K ₂ CO ₃ (linha tracejada) e metanol basificado com K ₂ CO ₃ (linha pontilhada).....	33
Figura 13 - Ilustração do corpo de frutificação dos fungos.....	43
Figura 14 - <i>Pleurotus ostreatus florida</i> in natura.	44
Figura 15 - Inóculo do <i>P. ostreatus florida</i> em meio de cultivo sólido.	49
Figura 16 - Inóculo do <i>P. ostreatus florida</i> em meio de cultivo líquido.	50
Figura 17 - Demonstração qualitativa do crescimento do fungo <i>Pleurotus ostreatus florida</i> no meio de cultivo 1 na presença de 0,001%, 0,01%, 0,1% e 1% (m/v) dos diferentes corantes após o período de 15 dias.	52
Figura 18 - Demonstração qualitativa do crescimento do fungo <i>Pleurotus ostreatus florida</i> no meio de cultivo 2 na presença de 0,001%, 0,01%, 0,1% e 1% (m/v) dos diferentes corantes após o período de 15 dias.	53
Figura 19 - Demonstração qualitativa do crescimento do fungo <i>Pleurotus ostreatus florida</i> no meio de cultivo 3 na presença de 0,001%, 0,01%, 0,1% e 1% (m/v) dos diferentes corantes após o período de 15 dias.	54

Figura 20 - Demonstração qualitativa do crescimento do fungo <i>Pleurotus ostreatus florida</i> no meio de cultivo 4 na presença de 0,001%, 0,01%, 0,1% e 1% (m/v) dos diferentes corantes após o período de 15 dias.	55
Figura 21 - Crescimento quantitativo do <i>Pleurotus ostreatus florida</i> nos meios de cultivo sólido em diferentes concentrações do azocorante alaranjado de metila, fast blue RR e vermelho de metila após o período de 15 dias. Os valores foram obtidos a partir da média do crescimento de cada triplicata.	56
Figura 22 - Formação halo de descoloração na concentração de 0,01% do corantes alaranjado de metila e vermelho de metila, respectivamente.....	58
Figura 23 - Meios de cultivo líquido com o crescimento do fungo <i>Pleurotus ostreatus florida</i> após o período de 15 dias.	59
Figura 24 - Crescimento do <i>P. ostretatus florida</i> em forma de <i>pellets</i> nos meios de cultivo A e B, respectivamente.	60
Figura 25 - Crescimento quantitativo do <i>Pleurotus ostreatus florida</i> nos meios de cultivo líquido na concentração de 0,001% dos azocorantes e nos controles A e B após o período de 15 dias. Os valores foram obtidos a partir da média do crescimento de cada triplicata.....	61
Figura 26 - Espectro de absorção de UV-VIS do sobrenadante do meio de cultivo 4 (M4) com o <i>P. ostreatus florida</i> na presença de 0,001% do AM, do controle negativo e dos controles positivos A e B, em que o controle negativo contém MMS e corante e o controle B contém solução de glucose.....	62
Figura 27 - Espectro de absorção de UV-VIS do sobrenadante do meio de cultivo 4 (M4) com o <i>P. ostreatus florida</i> na presença de 0,001% do VM, do controle negativo e dos controles positivos A e B, em que o controle negativo contém MMS e corante e o controle B contém solução de glucose.....	63
Figura 28 - Espectro de absorção de UV-VIS do sobrenadante do meio de cultivo 4 (M4) com o <i>P. ostreatus florida</i> na presença de 0,001% do FBRR, do controle negativo e dos controles positivos A e B, em que o controle negativo contém MMS e corante e o controle B contém solução de glucose.....	64
Figura 29 - Grânulos do corante fast blue RR retidos no papel de filtro.	65

LISTA DE QUADROS

Quadro 1 - Tipos de corantes e suas principais características.	25
Quadro 2 - Dados de ecotoxicidade de alguns corantes.	35
Quadro 3 - Aplicação de fungos na remoção de corantes industriais por processos de biossorção e bioacumulação.	40

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Propriedades físicas do alaranjado de metila.....	28
Tabela 2 – Propriedades físicas do vermelho de metila.	30
Tabela 3 – Propriedades físicas do fast blue RR.	32
Tabela 4 - Relação de alguns fungos da podridão branca capazes de descolorir corantes sintéticos.	42
Tabela 5 - Halo de crescimento (cm) do <i>P. ostreatus florida</i> no com o corante alaranjado de metila, no meio de cultivo 1.....	77
Tabela 6 - Halo de crescimento (cm) do <i>P. ostreatus florida</i> no com o corante alaranjado de metila, no meio de cultivo 2.....	77
Tabela 7 - Halo de crescimento (cm) do <i>P. ostreatus florida</i> no com o corante alaranjado de metila, no meio de cultivo 3.....	77
Tabela 8 - Halo de crescimento (cm) do <i>P. ostreatus florida</i> no com o corante alaranjado de metila, no meio de cultivo 4.....	77
Tabela 9 - Halo de crescimento (cm) do <i>P. ostreatus florida</i> no com o corante vermelho de metila, no meio de cultivo 1.	77
Tabela 10 - Halo de crescimento (cm) do <i>P. ostreatus florida</i> no com o corante vermelho de metila, no meio de cultivo 2.	77
Tabela 11 - Halo de crescimento (cm) do <i>P. ostreatus florida</i> no com o corante vermelho de metila, no meio de cultivo 3.	77
Tabela 12 - Halo de crescimento (cm) do <i>P. ostreatus florida</i> no com o corante vermelho de metila, no meio de cultivo 4.	77
Tabela 13 - Halo de crescimento (cm) do <i>P. ostreatus florida</i> no com o corante fast blue RR, no meio de cultivo 1.	77
Tabela 14 - Halo de crescimento (cm) do <i>P. ostreatus florida</i> no com o corante fast blue RR, no meio de cultivo 2.	77
Tabela 15 - Halo de crescimento (cm) do <i>P. ostreatus florida</i> no com o corante fast blue RR, no meio de cultivo 3.	77
Tabela 16 - Halo de crescimento (cm) do <i>P. ostreatus florida</i> no com o corante fast blue RR, no meio de cultivo 4.	77

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	16
2. OBJETIVOS	18
2.1 Geral	18
2.2 Específicos	18
3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	18
3.1 Corantes naturais	20
3.2 Corantes sintéticos	22
3.2.1 Corantes azoicos	26
3.3 Consequências do uso de corantes	33
3.4 Tratamentos mais utilizados para efluentes líquidos com corantes	36
3.4.1 Tratamentos físico-químicos	37
3.4.2 Tratamentos biológicos.....	37
3.5 Utilização de microrganismos na remoção de corantes	38
3.5.1 Biossorção e bioacumulação	39
3.5.2 Biodegradação	40
3.6 Os fungos no tratamento biológico de efluentes com corantes	41
3.6.1 Aspectos gerais dos fungos.....	42
3.6.2 O fungo <i>Pleurotus ostreatus florida</i>	44
4. MATERIAIS E MÉTODOS	45
4.1 Materiais.....	45
4.1.1 Microrganismo	45
4.1.2 Reagentes.....	45
4.1.3 Equipamentos	46
4.1.4 Softwares	46
4.2 Métodos	46

4.2.1 Manutenção do microrganismo	46
4.2.2 Cultivo em meio sólido	47
4.2.2.1 Desenvolvimento do <i>P. ostreatus florida</i> em meio sólido na presença do azocorantes	48
4.2.3 Cultivo em meio líquido	49
4.2.3.1 Desenvolvimento do <i>P. ostreatus florida</i> em meio líquido na presença dos azocorantes	50
4.2.3.2 Interrupção do cultivo líquido	51
4.2.3.3 Análise da remoção da cor do meio de cultivo líquido por espectroscopia no UV-VIS.....	51
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO	52
5.1 Crescimento do fungo <i>Pleurotus ostreatus florida</i> em meio de cultivo sólido....	52
5.2 Crescimento do fungo <i>Pleurotus ostreatus florida</i> em meio de cultivo líquido..	58
6. CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	66
APÊNDICE A	76
Tabelas de crescimento do <i>P. ostreatus florida</i> em todos os meios de cultivo sólido (M1, M2, M3 e M4) na presença dos corantes alaranjado de metila, vermelho de metila e fast blue RR, respectivamente, em que se observa o valor de crescimento de cada triplicata, da média e do desvio padrão.	76

1. INTRODUÇÃO

A globalização da economia e consequentemente o desenvolvimento industrial é diretamente responsável pela poluição ambiental, que a cada ano vai se tornando mais crítica e frequente. Uma grande variedade de indústrias como papel e celulose, plástico, tintas e têxteis utilizam corantes, ou seja, substâncias que tem como objetivo conferir ou intensificar a coloração de um artigo qualquer, para tingir seus produtos e atrair mais a atenção do público. Entretanto, segundo a World Health Organization (2010), os processos envolvendo tingimento geram uma série de rejeitos tóxicos, possivelmente carcinogênicos e mutagênicos.

Devido aos grandes impactos ambientais provocados pelos efluentes coloridos, têm-se buscado alternativas eficientes e acessíveis capazes de realizar a degradação desses corantes.

Os efluentes líquidos, caso não sejam tratados corretamente antes de serem lançados em águas naturais, podem causar sérios riscos ao meio ambiente e toda a cadeia produtiva, o que pode ser observado pela alteração da qualidade da água. A falta de tratamento dos rejeitos industriais pode também trazer riscos para a população localizada próxima às áreas contaminadas, aumentando os gastos públicos com saúde.

A molécula do corante pode ser dividida em duas partes principais, o grupo cromóforo e a estrutura responsável pela fixação à fibra do material a ser tingido. O grupo cromóforo tem a família dos azocorantes como o mais representativo e amplamente utilizado, sendo caracterizados pela presença de uma ou mais ligações - N=N conectados a anéis aromáticos (KUNZ, A., et al, 2002).

Grandes esforços vêm sendo aplicados no desenvolvimento de métodos para remoção de cor de efluentes industriais, utilizando, por exemplo, processos de degradação do corante ou de resíduos gerados. Atualmente, os tratamentos mais utilizados são os físico-químicos, como a coagulação, floculação e oxidação avançada, para citar alguns, entretanto esses processos têm diferentes capacidades de remoção de cor, custos e rapidez de operação (PEIXOTO, MARINHO, RODRIGUES, 2013).

Por apresentarem custos mais baixos e não gerarem uma poluição secundária pelo uso excessivo de químicos, os tratamentos biológicos têm sido intensamente estudados, utilizando-se principalmente espécies fúngicas pela sua versatilidade. Alguns dos fungos avaliados para a degradação de azocorantes são os *Aspergillus niger*,

Aspergillus terreus e *Rhizopus oligosporus*, no caso da bio sorção (ALMEIDA, 2013) e espécies do gênero *Pleurotus*, como *Pleurotus ostreatus*, *Pleurotus sapidus* e *Pleurotus florida*, para a biodegradação (KUNJADIA, 2016).

Sendo assim, avaliar a capacidade de degradação de corantes pelo *Pleurotus ostreatus florida* é importante para manter a busca de tratamentos biológicos alternativos que apresentem boa eficiência na remoção dos corantes nos efluentes líquidos. Contudo, ao buscar informações sobre os azocorantes utilizados neste estudo, notou-se uma defasagem sobre pesquisas nesta área no país, por isso salienta-se a necessidade de mais pesquisas sobre esses corantes.

Neste sentido, o presente trabalho teve como objetivo principal avaliar o crescimento em meio sólido e em meio líquido do fungo *Pleurotus ostreatus florida* na presença dos corantes alaranjado de metila, vermelho de metila e fast blue RR, para possível utilização desse microrganismo na biodegradação de compostos coloridos recalcitrantes.

2. OBJETIVOS

2.1 Geral

Avaliar o crescimento em meio sólido e em meio líquido do fungo *Pleurotus ostreatus florida* na presença dos azocorantes alaranjado de metila, vermelho de metila e fast blue RR, para possível utilização desse microrganismo na degradação de compostos coloridos recalcitrantes.

2.2 Específicos

- Comparar o crescimento quantitativo e qualitativo do fungo *Pleurotus ostreatus florida* nos meios de cultivo sólido com diferentes condições nutricionais e em diferentes concentrações dos azocorantes alaranjado de metila, vermelho de metila e fast blue RR.

- A partir dos resultados obtidos no meio de cultivo sólido, comparar o crescimento do fungo *Pleurotus ostreatus florida* nos meios de cultivo líquido contendo os azocorantes, alaranjado de metila, vermelho de metila e fast blue RR, utilizando a concentração dos corantes que apresentou o melhor resultado.

- Determinar o crescimento da biomassa fúngica no meio de cultivo líquido a partir de análises gravimétricas.

- Verificar a ocorrência da remoção de cor nos cultivos líquidos devido à ação microbiana através da espectroscopia no UV-VIS.

3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

Corantes e pigmentos sempre foram objetos de atividades comerciais. Essas substâncias são responsáveis por dar cor às roupas, papéis, casas ou carros, e outros objetos, em seus mais diferentes tons. O uso de corantes pelo homem tem mais de 4.000 anos. Foram encontrados vestígios de tecidos em múmias egípcias datadas de 2.500 anos atrás com pigmentos coloridos. Até mesmo inscrições rupestres encontradas em cavernas e rochas foram feitas por meio da utilização de pigmentos (IMMICH, 2006; ROYER, 2008).

Existem diferenças fundamentais entre corantes e pigmentos. Segundo a The Ecological and Toxicological Association of Dyes and Organic Pigment Manufacturers (ETAD) (COLOUR INDEX, [201-]), os corantes são:

Substâncias orgânicas intensamente coloridas ou fluorescentes apenas, que conferem cor a um substrato por absorção seletiva de luz. São solúveis e/ou passam por um processo de aplicação que, pelo menos temporariamente, destrói qualquer estrutura cristalina por absorção, solução e retenção mecânica, ou por ligações químicas iônicas ou covalentes.

A Color Pigment Manufacturers Association (CPMA) (COLOUR INDEX, [201-]) define pigmentos como:

Sólidos orgânicos ou inorgânicos particulados coloridos, pretos, brancos ou fluorescentes que são usualmente insolúveis no meio ou substrato em que são incorporados, não sendo afetados fisicamente e quimicamente. Eles alteram a aparência por absorção seletiva e/ou por espalhamento de luz. Os pigmentos são normalmente dispersos em meios ou substratos para aplicação, como por exemplo na produção de tintas, plásticos ou outros materiais poliméricos. Os pigmentos retêm uma estrutura de cristal ou partículas durante todo o processo de coloração.

Segundo Immich (2006), no início, os corantes eram obtidos de fontes naturais e uso de corantes artificiais só iniciou em 1856. Ainda assim, muitos dos corantes naturais utilizados na antiguidade ainda são empregados, e em larga escala, como o colorau, um pigmento vermelho, extraído de planta (*Bixa orellana*) e a hena (extraída da planta *Lawsonia inermis*), utilizada na indústria de cosméticos.

A maior parte dos corantes fabricados vai para a indústria têxtil, no entanto, indústrias de artefatos de couro ou de papel, alimentícias, de cosméticos, tintas e plásticos também são usuários importantes. O uso de corantes sintéticos é preferido por essas indústrias por apresentarem menores custos de produção e maior estabilidade quando comparado aos naturais. Atualmente, mais de oito mil compostos diferentes são comercializados (IMMICH, 2006; SOUZA, 2012).

Nos últimos anos, o uso de inúmeros corantes em alimentos tem sido proibido por legislações de países específicos, iniciando-se uma nova tendência com a substituição dos corantes sintéticos pelos naturais (SOUZA, 2012). No Brasil, a Resolução nº 387, de 5 de agosto de 1999, da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), regulamenta o uso de aditivos alimentares, dentre eles

corantes, estabelecendo suas funções e limites máximos de acordo com as categorias de alimentos, com vistas a minimizar os riscos à saúde humana.

De acordo com Fleck (2011), a indústria têxtil utiliza aproximadamente 10.000 diferentes tipos de corantes e em torno de 50% de todos corantes usados são do tipo azo, sendo muitos desses altamente perigosos. A escolha do corante a ser empregado pela indústria têxtil é influenciada de acordo com a natureza da fibra têxtil (seda, algodão, viscose, entre outras), características estruturais do corante e da fibra, classificação e disponibilidade do corante para aplicação, propriedades de fixação, custo econômico, etc (GUARATINI, ZANONI, 2000).

Não há legislações para o uso de corantes na indústria têxtil no Brasil, no entanto, a Diretriz 2004/21/CE vem sendo cumprida por indústrias que exportam produtos para a União Europeia, proibindo a colocação no mercado europeu de artigos acabados com têxteis e/ou couro, em quaisquer partes tingidas com corantes azoicos que possam liberar determinadas aminas aromáticas, detectadas em concentrações superiores a 30 ppm, conforme métodos de ensaio estabelecidos. Esta Diretriz tem como principal objetivo proteger a saúde da população europeia que, numa exposição prolongada a estas substâncias, se tornaria suscetível a contrair câncer (INMETRO, 2012).

3.1 Corantes naturais

Segundo a Resolução da Comissão Nacional de Normas e Padrões para Alimentos (CNNPA) nº 44 de 1977, um corante orgânico natural é aquele obtido a partir de um vegetal ou, eventualmente, de um animal, cujo princípio ativo tenha sido isolado com o emprego de processos tecnológicos adequados.

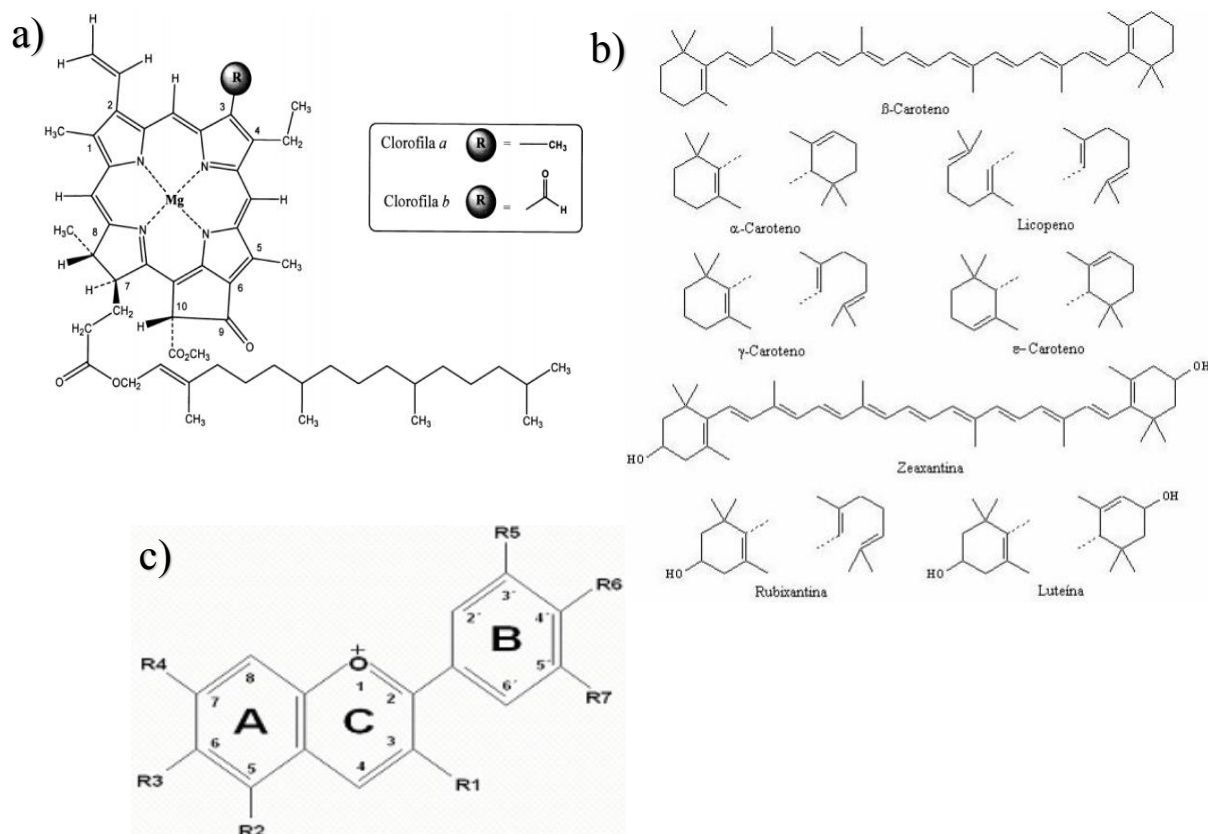
Dessa maneira, as principais fontes para obtenção de corantes naturais são as plantas (folhas, flores e frutos), animais e microrganismos (principalmente, fungos e bactérias) (MENDONÇA, 2011), podendo ser extraídos apenas por processos físico-químicos (dissolução, precipitação, entre outros) ou bioquímicos (fermentação) da matéria-prima de origem (ARAÚJO, 2007).

Em indústrias têxteis, de forma geral, o processo convencional de tingimento utilizando corantes naturais é feito a partir de um banho ácido, neutro ou básico, dependendo da natureza química do corante e da fibra têxtil utilizada. Entretanto, antes

de ser tingido, o tecido precisa ser limpo, branqueado ou tratado quimicamente. Com a experiência, artesãos aplicam diferentes técnicas e processos específicos para cada tecido, alcançando diferentes tons e cores (SAMANTA, AGARWAL, 2009).

Segundo Bobbio e Bobbio (1992 apud CONSTANT, STRINGHETA, SANDI, 2002) os corantes naturais podem ser divididos em três grupos principais: a) Os compostos heterocíclicos, com estrutura tetrapirrólica, que compreendem o heme, as bilinas encontradas em animais e as clorofilas (Figura 1a), que são os pigmentos naturais mais abundantes presentes nas plantas e ocorrem nos cloroplastos das folhas e em outros tecidos vegetais; b) Os compostos de estrutura isoprenóide, representados pelos carotenóides (Figura 1b) são um dos grupos de pigmentos naturais mais extensamente encontrados na natureza, principalmente em animais e vegetais, sendo responsáveis pela coloração do amarelo ao vermelho de flores, folhas, frutas e algumas raízes; e c) Os compostos heterocíclicos contendo oxigênio, como as antocianinas (Figura 1c), encontradas unicamente em vegetais e responsáveis pela coloração laranja, vermelha e roxa, sendo utilizada como corante alimentício desde 1880 (SOUZA, 2012).

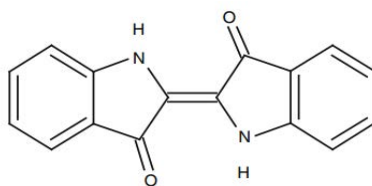
Figura 1 - a) Estrutura química da antocianina; b) Estrutura dos carotenoides; c) Estrutura química da Clorofila *a* e Clorofila *b*.



Fonte: a) LOPES et al. (2007); b) VALDUGA (2005); STREIT et al. (2005).

Um corante extraído de plantas, que é amplamente utilizado até hoje é o índigo (Figura 2). Ele possui uma coloração azulada e é extraído principalmente da planta *Indigofera trictoria*, na qual o composto colorante está presente nas folhas, sob a forma de uma substância amarelada. É produzido pela fermentação das folhas frescas, que gera uma massa azul pronta para ser utilizada. Entretanto, apesar de haver sido tão utilizado no passado, o corante natural índigo entrou em declínio após ser sintetizado pela BASF em 1987, sendo utilizada apenas a sua forma sintética (SAXENA, RAJA, 2014).

Figura 2 - Fórmula estrutural do corante natural Índigo.



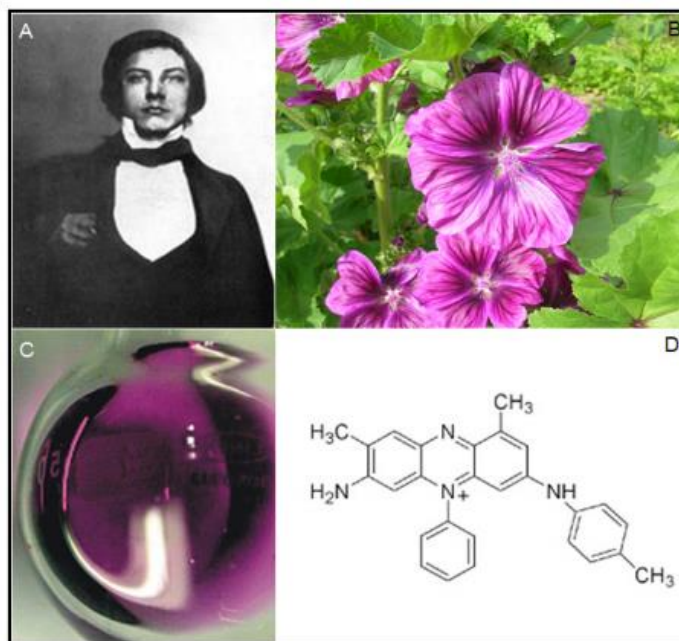
Fonte: SAXENA, RAJA (2014).

No caso dos corantes de origem animal, os insetos são a fonte principal, com coloração geralmente avermelhada. O corante mais antigo, a púrpura tíria, é uma exceção à regra, ele gera uma coloração púrpura intensa nos tecidos, produzido da secreção do molusco marinho Murex. Por ser extremamente caro, era um símbolo de realeza, isso porque centenas de moluscos são necessários para produzir um grama do corante (SAXENA, RAJA, 2014).

3.2 Corantes sintéticos

Em 1856, W. H. Perkin sintetizou a malveína, conhecida como anilina roxa, surgindo assim os corantes sintéticos (MENDONÇA, 2011) (Figura 3). A partir dessa descoberta, vários corantes passaram a ser sintetizados e designados como corantes artificiais ou corantes sintéticos, os quais eram utilizados nos alimentos com a finalidade de conferir cor ou repor a cor natural, perdida durante os processos de industrialização e/ou estocagem (MASCARENHAS, 1998).

Figura 3 - a) Foto de Willian Henry Perkin; b) Flor de Malva; c) Corante descoberto em 1856; d) Molécula de Malveína.



Fonte: BARROS. BARROS (2010).

A Resolução CNNPA nº 44 de 1977 também diz que um corante orgânico sintético é aquele obtido por síntese orgânica e não encontrado em produtos naturais, sendo ele elaborado sinteticamente com estrutura química semelhante à do princípio isolado do corante orgânico natural.

Os corantes sintéticos podem ser utilizados para o tingimento de diversos produtos como por exemplo: artefatos de couro, papel, cosméticos, tintas, plásticos e principalmente alimentos e tecidos.

Na indústria alimentícia, os corantes têm função de conferir ou intensificar a cor de alimentos e bebidas, sendo eles inofensivos à saúde desde que obedecidos limites máximos de Ingestão Diária Aceitável (IDA) recomendada pela Anvisa (FREIRE et al., 2015). Em seu estudo, Freire et al. (2015), apontou alguns corantes orgânicos artificiais encontrados em preparados sólidos para refrescos (PSRs), sendo os mais encontrados: tartrazina e amarelo crepúsculo; e, o inorgânico mais presente foi o dióxido de titânio. Uma elevada e frequente ingestão diária desses compostos, pode resultar em efeitos tóxicos ao organismo humano. Por exemplo, o corante tartrazina que tem sido apontado como o responsável por várias reações adversas, causando desde urticária até asma. Estima-se que uma em cada 10 mil pessoas apresenta reações a esse corante. Contudo, a tartrazina é um dos corantes mais empregados em alimentos e é permitido em muitos

países, como Canadá, Estados Unidos e União Europeia (ZANONI, YAMANAKA, 2016; INSTITUTO BRASILEIRO DE DEFESA DO CONSUMIDOR, 2017).

Os alimentos que recebem a maior quantidade de corantes artificiais são os processados à base de cereais, balas, caramelos e similares, coberturas e xaropes, geleias, gomas de mascar, iogurtes e leites aromatizados, licores, refrigerantes, produtos de frutas, legumes e outros ingredientes para uso em iogurtes, queijo tipo petit-suisse e similares (GOMES, 2012). O uso dessas substâncias não é totalmente inofensivo à saúde, podendo produzir reações adversas. Por isso, das centenas de corantes existentes, atualmente a ANVISA permite o uso de apenas onze deles, sendo: amaranço, vermelho de eritrosina, vermelho 40, ponceau 4R, amarelo crepúsculo, amarelo tartrazina, azul de indigotina, azul brilhante, azorrubina, verde rápido e azul patente V (VELOSO, 2012; VOGLER, 2009).

Na indústria têxtil, existe uma variedade muito grande de corantes que são utilizados. Segundo Guaratini e Zanoni (2000) os corantes têxteis podem ser classificados de acordo com a sua estrutura química ou de acordo com o modo pelo qual ele é fixado à fibra têxtil. Segundo a fixação, eles podem ser classificados como corantes reativos, diretos, azoicos, ácidos, à cuba, de enxofre, dispersivos, pré-metalizados e branqueadores. O Quadro 1 apresenta os tipos dos corantes e suas principais características.

Quadro 1 - Tipos de corantes e suas principais características.

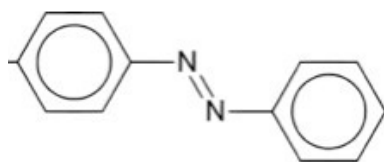
Tipo de corante	Principais características
Reativos	Apresentam alta solubilidade em água e estabelecem uma ligação covalente entre o corante e a fibra, garantindo uma melhor estabilidade na cor do tecido tingido.
Diretos	São compostos solúveis em água capazes de tingir fibras de celulose, como algodão e viscose, por meio das interações de Van der Waals. Uma vantagem dos corantes diretos, como por exemplo, o vermelho congo, é o alto grau de exaustão durante a sua aplicação, resultando na diminuição dos rejeitos.
Azoicos	São compostos coloridos insolúveis em água e diretamente sintetizados sobre a fibra durante o tingimento. O seu método de tingimento permite uma alta fixação e alta resistência contra a luz e umidade. Existe uma alta variedade de corantes nesta categoria, entre eles o vermelho de metila, alaranjado de metila, fast blue RR, crisoidina e marrom bismark.
Ácidos	Quando previamente neutralizado, o corante liga-se à fibra por meio de uma troca iônica envolvendo o par de elétrons livres dos grupos amino e carboxilato das fibras proteicas, na forma não-protonada.
à Cuba	Apresenta uma produção química de hidrossulfito de sódio no processo de tingimento, podendo causar problemas ecológicos. Tem como melhor aplicação a tintura de algodão.
de Enxofre	São muito utilizados na tintura de fibras celulósicas, nas cores preto, verde oliva, azul marinho e marrom. Entretanto, assim como os corantes à cuba, eles geram resíduos altamente tóxicos.
Dispersivos	Geralmente são utilizados para a pintura de fibras sintéticas, como nylon, polyester e poliacrilonitrila.
Pré-metalizados	São adequados para fibras proteicas e poliamida, porém possuem alta carga de cromo (Cr) nas águas de rejeito.
Branqueadores	Proporcionam o branqueamento pela reflexão por fluorescência na região de 430 a 440 nm, quando excitados por luz ultravioleta.

Fonte: Adaptado de GUARATINI, ZANONI (2000).

3.2.1 Corantes azoicos

Os azocorantes ou corantes azoicos são compostos que possuem o grupo azo, (-N=N-) ligado a grupos aromáticos quaisquer, resultando na estrutura básica (Ar-N=N-Ar1) (Figura 4), em que Ar e Ar1 correspondem ao grupo aromático escolhido (GEMACOM, 2009). Dependendo da quantidade de ligações duplas N=N presentes na molécula do corante, muda a nomenclatura adotada. Por exemplo, caso o corante tenha apenas uma ligação N=N, é chamado de monoazo, enquanto que se possuir duas, três ou várias ligações é nomeado diazo, triazo e poliazo, respectivamente (LEAL, 2011).

Figura 4 - Fórmula estrutural básica de um corante azoico.



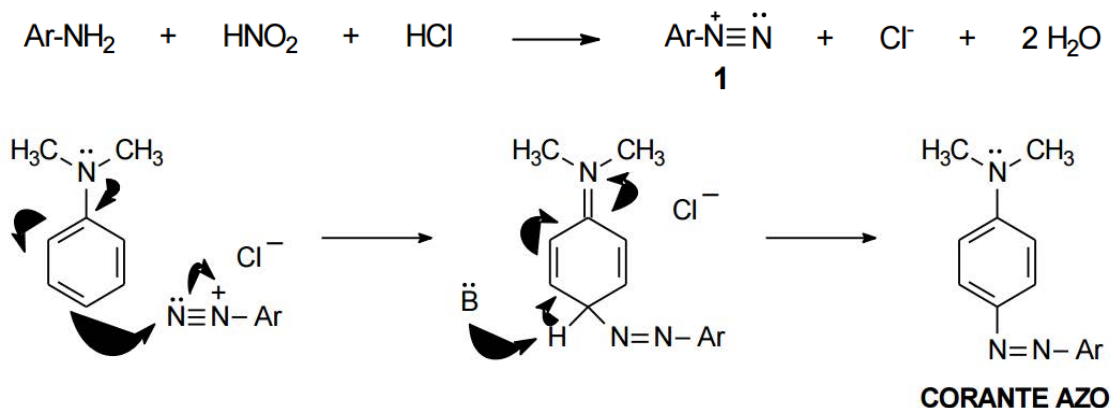
Fonte: http://www.pysanky.info/Chemical_Dyes/History.html

Geralmente, o grupo azo é ligado a um anel naftaleno e um benzeno, mas em alguns casos pode ser ligado a grupos alifáticos ou heterocíclicos aromáticos. Esses grupos laterais, chamados de Ar e Ar1, juntamente com a posição que ocupam no anel aromático, o número de ligações azo e o tipo de anel, são os responsáveis pela solubilidade e pela coloração (LEAL, 2011), alcançando o amarelo, laranja, vermelho, marrom e azul (SALEM, MARCHI, MENEZES, 2005). Como exemplo de azocorantes com as cores citadas, tem-se o amarelo de metila, alaranjado de metila, vermelho de metila, marrom bismark e fast blue RR. Essa variedade de cores e tons torna o uso dos azocorantes por parte das indústrias têxteis, de papel, plásticos, cosméticos, alimentos, ceras e outras, ainda mais aplicado (SALEM, MARCHI, MENEZES, 2005).

A síntese dos corantes azoicos é realizada mediante dois estágios de reação: a diazotização e o acoplamento azo (GEMACOM, 2009), sendo essas reações observadas na Figura 5. Na diazotização, aminas aromáticas (Ar-NH₂) reagem, por exemplo, com o nitrito de sódio (agente de acoplamento), em meio ácido, formando um sal de diazônio (Ar-N=N⁺). Este sal é utilizado na reação de acoplamento com aminas aromáticas e fenóis (Ar1H) dando origem aos compostos azo (Ar-N=N-Ar1), sendo

estes insolúveis em água (GOMES et al., 2010; WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2010).

Figura 5 - Processos de diazotação e acomplamento azo.



Fonte: BRONDANI (2017).

Os azocorantes são especialmente indicados para a tintura de fibras celulósicas, ou seja, algodão, seda, celofane, linho e papel, todos altamente hidrofílicos e, por essa razão, requerem corantes também hidrofílicos para a sua tintura. Além disso, corantes devem ser projetados para manter a afinidade quando o substrato for exposto à água. Isso permite que a cor permaneça intacta quando, por exemplo, uma peça de roupa é lavada ou quando uma xícara de café é derramada sobre uma folha de papel com informação impressa. A facilidade com a qual fibras celulósicas, como tecidos de algodão, desbotam levou ao desenvolvimento de cada vez mais e melhores azocorantes (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2010).

Atualmente, uma enorme quantidade de corantes é utilizada na indústria têxtil devido ao fato das leis ao redor do mundo para os corantes aplicados em roupas não serem nada rígidas, deixando a escolha dos corantes utilizados à margem das preferências industriais, baseando-se em fatores como tons alcançados e fixação da cor. Considerando isso, é muito difícil listar todos os corantes têxteis, porém alguns podem ser simplificados: reactive black 5, procion red MX-5B, disperse blue 373, disperse orange 37, disperse violet, direct blue 15 e ponceau BS (CHEQUER et al., 2013).

Outro uso que não é tão amplo, mas que também pode ser citado é o do uso dos corantes em laboratórios. O alaranjado de metila e o vermelho de metila são muito

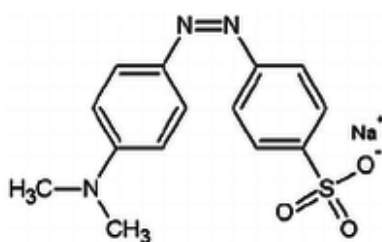
utilizados como indicadores de pH e o fast blue RR está sendo utilizado em estudos para identificação precoce de feridas infeccionadas (SCHIFFER et al., 2015).

Sendo assim, para este estudo, foram utilizados os azocorantes alaranjado de metila, vermelho de metila e fast blue RR devido ao seu amplo uso na indústria têxtil, laboratórios, entre outros.

A) Alaranjado de metila

O alaranjado de metila (Figura 6), além de ser utilizado na indústria têxtil, é um indicador de pH (CADORIN, 2012) frequentemente utilizado em titulações ácidas devido a sua clara mudança de coloração, se tornando vermelho em soluções com pH abaixo de 3,1 e amarelo em soluções acima de 4,4 (NATIONAL CENTER FOR BIOTECHONOLGY INFORMATION, 2017).

Figura 6 - Representação da estrutura química do alaranjado de metila.



Fonte: https://www.researchgate.net/figure/275051154_fig2_Fig-2-Structures-of-Azo-Dyes-and-Compounds-Tested-Direct-Blue-15-represents-a-high

O alaranjado de metila é um corante azoico, com aparência de pó fino laranja em condições normais de temperatura e pressão. Suas propriedades físicas podem ser visualizadas na Tabela 1.

Tabela 1 - Propriedades físicas do alaranjado de metila.

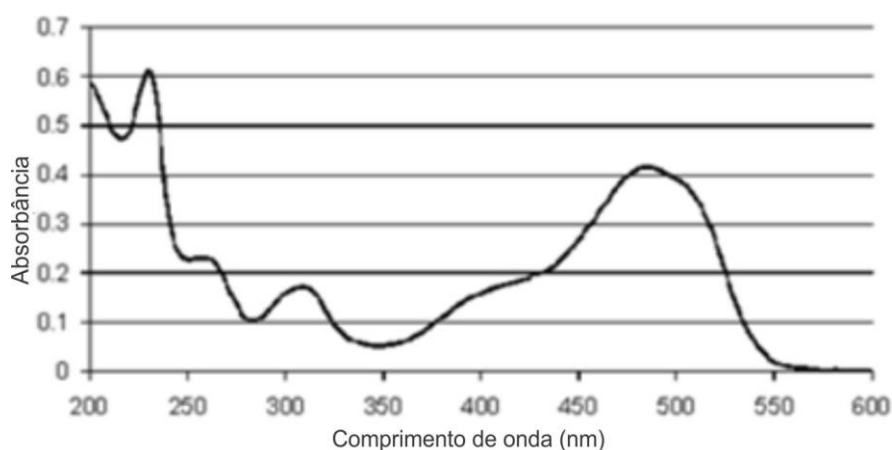
Características	Propriedades
Fórmula molecular	C ₁₄ H ₁₄ N ₃ NaO ₃ S
Massa molecular	32,334 g/mol
Ponto de fusão	300 °C

Fonte: Adaptado de NATIONAL CENTER FOR BIOTECHONOLGY INFORMATION (2017).

O corante é produzido pela reação entre o sal de diazônio do ácido sulfanílico com a dimetilanilina. O produto obtido é então convertido à uma forma de sal de sódio. O primeiro passo é a diazotação, no qual o sulfanilato de sódio formado reage com nitrito de sódio em presença de ácido clorídrico, formando o sal de diazônio. Em seguida, ocorre a reação de acoplamento do diazônio, que reage com a N,N-dimetilanilina para formar o corante azoico ácido (BRONDANI, 2017).

O máximo comprimento de onda do alaranjado de metila no espectro do visível é de 466 nm (LJUBAS, SMOLJANIC, JURETIC, 2015). O espectro de absorção completo pode ser vista na figura 7.

Figura 7 - Espectro de UV-VIS para solução aquosa do alaranjado de metila, com concentração de $1,0 \times 10^{-5}$ M.

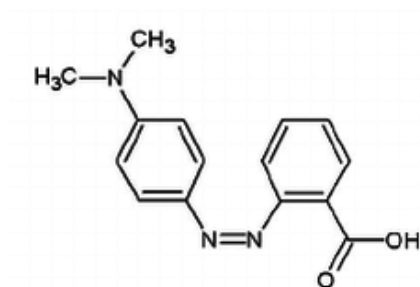


Fonte: MAINYA, TUM, MUTHOKA (2013).

B) Vermelho de metila

O vermelho de metila (Figura 8) é um corante industrial e indicador de pH (CADORIN, 2012) que se torna vermelho em soluções com pH abaixo de 4,4 e amarelo em soluções acima de 6,2 (NATIONAL CENTER FOR BIOTECHONOLOGY INFORMATION, 2017).

Figura 8 - Representação da estrutura química do vermelho de metila.



Fonte: https://www.researchgate.net/figure/275051154_fig2_Fig-2-Structures-of-Azo-Dyes-and-Compounds-Tested-Direct-Blue-15-represents-a-high

Assim como o alaranjado de metila, o vermelho de metila também é um corante azoico e em seu estado sólido normal é um pó cristalino vermelho escuro. Suas propriedades físicas podem ser visualizadas na Tabela 2.

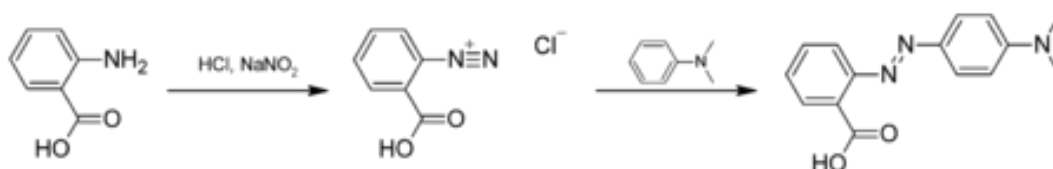
Tabela 2 – Propriedades físicas do vermelho de metila.

Características	Propriedades
Fórmula molecular	$C_{15}H_{15}N_3O_2$
Massa molecular	269,304 g/mol
Ponto de fusão	Entre 179 e 182° C

Fonte: Adaptado de NATIONAL CENTER FOR BIOTECHONOLGY INFORMATION (2017).

O vermelho de metila é obtido pela diazotação do ácido antranílico com N,N-dimetilanilina, como pode ser visto na imagem Figura 9.

Figura 9 - Reação de síntese do vermelho de metila.



Fonte: <http://en.academic.ru/dic.nsf/enwiki/1179251>

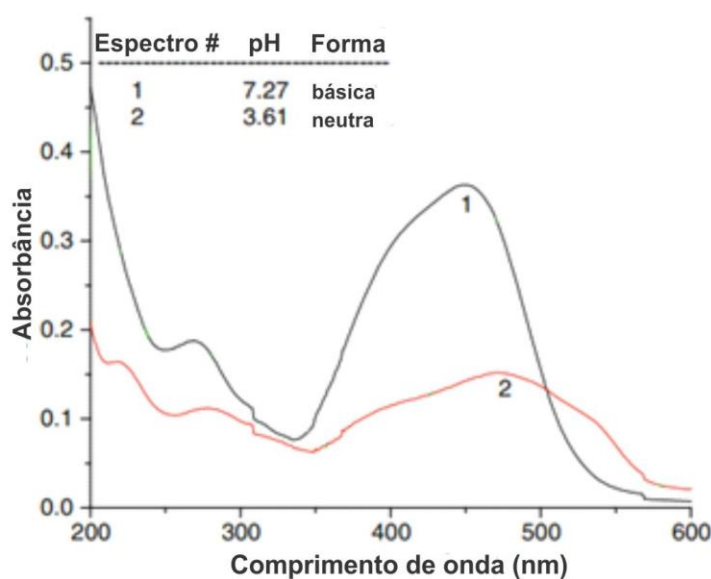
Além do seu uso como indicador de pH em titulações e como corante têxtil, é amplamente utilizado na microbiologia no chamado teste do vermelho de metila, no

qual são identificadas bactérias produtoras de ácidos pela fermentação da glicose, as chamadas enterobactérias (REMEL, 2012).

O teste funciona da seguinte forma: todas as enterobactérias são fermentadoras de glicose, o que resulta na formação de subprodutos ácidos. Após um curto período de incubação (48h), todas apresentarão uma reação positiva para o vermelho de metila caso sejam testadas, porém com a continuação da incubação (entre 2 e 5 dias), apenas algumas bactérias continuarão produzindo ácidos, mantendo o pH baixo e a coloração vermelha (“vermelho de metila positivas”), enquanto outras metabolizam os produtos da fermentação, o que resulta em um pH neutro e coloração amarelada (“vermelho de metila negativas”) (REMEL, 2012).

O máximo de absorção do corante vermelho de metila ocorre próximo ao comprimento de onda de 450 nm considerando um pH médio (KHOURI, et al. (2013). A Figura 10 mostra a curva espectral do corante considerando os pHs 7,27 e 3,61.

Figura 10 – Espectro de absorção do vermelho de metila para as formas básica (1) e neutra (2) para a concentração $1,537 \times 10^{-5} \text{ mol/dm}^3$.



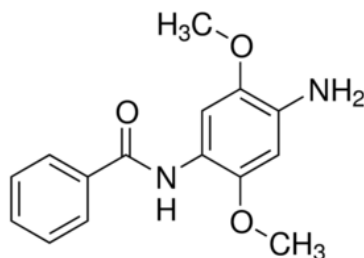
Fonte: Adaptado de KHOURI, et al. (2013).

C) Fast Blue RR

O azocorante fast blue RR (Figura 11) é uma variação do corante fast blue B. Apesar do fast blue RR ser menos sensível, mais lento na dissolução em água e no desenvolvimento da cor, ele apresenta menos riscos na sua utilização já que não contém

aminas livres residuais, que são carcinogênicas (SAMPIETRO, VATTUONE, CATALÁN, 2009).

Figura 11 - Fórmula molecular do fast blue RR.



Fonte:

<http://www.sigmaaldrich.com/catalog/product/aldrich/201545?lang=pt®ion=BR>

Em seu estado sólido natural, o corante fast blue RR, se apresenta na forma de pó cristalino de coloração azul escura. Suas propriedades físicas podem ser visualizadas na Tabela 3.

Tabela 3 – Propriedades físicas do fast blue RR.

Características	Propriedades
Fórmula molecular	$C_{30}H_{28}Cl_4N_6O_6Zn$
Massa molecular	775,77 g/mol
Ponto de fusão	Entre 165 e 168°C

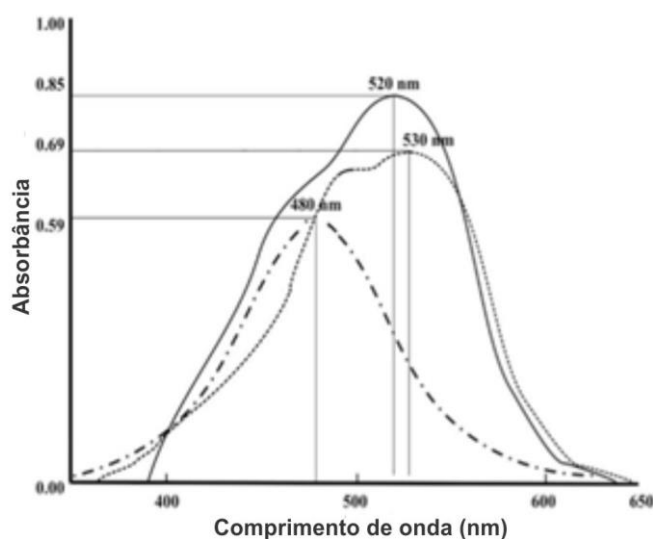
Fonte: Adaptado de NATIONAL CENTER FOR BIOTECHNOLOGY INFORMATION (2017).

O sal fast blue RR é comumente utilizado para a detecção de atividades de esterases e fosfatases alcalina em análises colorimétricas e histoquímicas. Nessas reações, que ocorrem em meio básico e que demoram apenas alguns minutos para a formação dos compostos coloridos, derivados de naftilo são aplicados como substratos e a liberação enzimática de naftol é seguida de uma reação de acoplamento com um sal de diazônio, como o fast blue RR (SCHIFFER et al., 2015).

Sua aplicação pode ser na determinação das esterases como ativadores de pró-fármacos no tratamento do câncer de próstata ou para detectar a presença de alquilresorcinóis (lipídios fenólicos com reconhecida ação antimicrobiana) em cereais integrais (SCHIFFER et al., 2015).

O fast blue RR apresenta um comprimento de onda máximo no espectro visível em 382 nm (GRASSI et al., 2011) e apesar do gráfico (Figura 12) mostrar o comportamento espectral do corante sob influência de diferentes substâncias, havendo o deslocamento da banda de absorção, nota-se que apresenta um único máximo de absorção central.

Figura 12 - Espectro de UV-VIS do fast blue RR em solução com metanol (linha contínua), butanol basificado com K_2CO_3 (linha tracejada) e metanol basificado com K_2CO_3 (linha pontilhada).



Fonte: SAMPIETRO, VATTUONE, CATALÁN (2009).

3.3 Consequências do uso de corantes

Diariamente, grandes quantidades de efluentes contendo corantes têxteis são despejados em corpos d'água (MEEHAN et al., 2000). Há uma estimativa de que 20% a 50% da carga dos corantes seja descartada em efluentes, devido às perdas que ocorrem durante o processo de fixação da tintura às fibras do tecido, representando um grande problema ambiental enfrentado pelas indústrias (GUARATINI, ZANONI, 2000; OLIVEIRA, SOUZA, 2003; FLECK 2011).

Guaratini e Zanoni (2000) e Royer (2008) explicam que, mesmo em pequenas concentrações, como 1 mg L^{-1} , os corantes são facilmente visíveis a olho nu, ou seja, uma pequena quantidade lançada em efluentes aquáticos pode alterar a coloração dos rios e também ser prontamente percebido pela população ou pelas autoridades que controlam os assuntos ambientais.

A cor no efluente líquido dificulta a fotossíntese e modifica o regime de solubilidade dos gases, além da aparência estética, causando efeitos deletérios tanto para a flora quanto para a fauna aquática (SILVA, 2011). Do ponto de vista ambiental, a remoção da cor do efluente gerado na etapa de tingimento do tecido é um dos grandes problemas do setor têxtil. A quantidade exata de corantes produzidos e corantes despejados no meio ambiente é desconhecida, porém calcula-se uma produção mundial de cerca de 10.000 t/ano (FORGACS et al., 2004).

Zanoni e Yamanaka (2016) afirmam que os corantes têm potencial para causar efeitos adversos, como por exemplo a morte e o atraso na regeneração de organismos aquáticos. A contaminação por corantes em sistemas aquáticos também atribui características visuais e organolépticas diferentes das de sistema de água potável, pois provoca uma alteração na coloração da água bem como na sua transparência, impedindo a utilização da população para consumo além de outros usos (ROYER, 2008).

Há também o risco de uma eventual bioacumulação nos organismos que entram em contato com essa substância e, caso o corante seja altamente solúvel, pode haver o seu transporte ao longo do corpo hídrico até uma região de captação de água, onde não há tratamento específico para esse tipo de composto, que pode chegar à população. Além da poluição dos recursos naturais, outra preocupação são os efeitos que estas substâncias liberadas no ambiente podem trazer à saúde humana (BABÁ, ROSADO, ZONETTI, 2009). Os efeitos sobre a ecotoxicidade aquática de corantes para organismos de água estão resumidos no Quadro 2.

Quadro 2 - Dados de ecotoxicidade de alguns corantes.

Corante	Uso	Classe Química	Organismo	Efeito observado
Acid Red 26	Têxtil	Azo	<i>Danio rerio</i>	Mortalidade da larva
Acid Orange 7	Têxtil	Azo	<i>Daphnia similis</i>	Imobilidade
			<i>Ceriodaphnia dubia</i>	Inibição da reprodução
Disperse Blue 3	Têxtil	Antroquinona	<i>Selenastrum capricornutum</i>	Inibição do crescimento
Food Red 17	Alimento	Azo	<i>Daphnia similis</i>	Mortalidade dos Filhotes
			<i>Ceriodaphnia dubia</i>	Mortalidade de Adultos
Remazol Brilhante Blue	Têxtil	Antroquinona	<i>Selenastrum capricornutum</i>	Imobilidade

Fonte: Adaptado de ZANONI, YAMANAKA (2016).

Por apresentarem uma alta solubilidade na água e uma baixa degradabilidade (CUNHA, 2014), os corantes são extremamente problemáticos, apresentando efeitos genotóxicos nos organismos. Os efluentes líquidos das indústrias têxteis e alimentícias, quando não tratados apropriadamente, antes de serem lançados nos corpos d'água, são altamente poluidores, devido a presença de diversos compostos químicos utilizados na confecção do tecido, por exemplo. No entanto, esses efluentes são compostos, principalmente, por corantes, sendo eles os principais contaminantes dos efluentes destas indústrias (OLIVEIRA, SOUZA, 2003).

A exposição e/ou ingestão oral à essas substâncias colocam em risco a saúde de todos os organismos vivos, pois os compostos dos corantes tem potencial para serem catalisados por enzimas específicas dos organismos, podendo gerar substâncias com propriedades carcinogênicas e mutagênicas (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2010).

Um grande problema é que esses efluentes, além dos corantes, também possuem surfactantes, aditivos, álcalis e cloreto de sódio (BALAMURUGAN, THIRUMARIMURUGAN e KANNADASAN, 2011), resultando em efluentes com forte coloração, grande quantidade de sólidos suspensos, pH altamente flutuante,

temperatura elevada, grandes concentrações de altos valores de Demanda Química de Oxigênio (DQO) (NAGEL-HASSEMER et al., 2012).

Usualmente as indústrias utilizam métodos químicos para analisar os efluentes gerados nos seus processos, evitando uma possível contaminação dos corpos hídricos. Porém, a Sociedade Americana de Química, descreve que existem cerca de 10 milhões de substâncias químicas, sendo 70 mil de uso cotidiano, mas apenas 2 mil com seus aspectos ecotoxicológicos conhecidos. Assim, torna-se necessária a verificação da ação destas substâncias no meio ambiente por meio de testes para verificar a sua toxicidade (JERONIMO et al., 2015).

3.4 Tratamentos mais utilizados para efluentes líquidos com corantes

Os processos destinados ao tratamento de efluentes líquidos industriais objetivam a transformação das espécies responsáveis pela poluição, em formas inócuas que não ofereçam riscos de impacto ambiental (PEREIRA et al., 2010).

Há uma busca constante para novas técnicas de tratamento de efluentes que possuem compostos coloridos devido à complexidade e dificuldade para o tratamento eficaz de efluentes de indústrias têxteis, alimentícias, e outras indústrias em geral.

Por não existir um método padrão de tratamento de efluentes com corantes, segundo Guaratini e Zanoni (2000), a melhor escolha depende do tipo de corante a ser removido, sua composição, concentração e fluxo de produção do rejeito.

Dessa forma, uma visão moderna com relação a efluentes industriais deve estar baseada não somente no tratamento deste (tecnologias “*end of pipe*”) e sim na busca constante da minimização de resíduos gerados recorrendo a tecnologias limpas, ou seja, o pensamento deve se voltar para a fonte do efluente dentro da fábrica e não somente como resolver o problema após sua geração (KUNZ et al., 2002).

Os principais métodos de tratamento disponíveis na literatura para descoloração das águas de rejeito envolvem principalmente processos físico-químicos e biológicos (IMMICH, 2006; ROYER, 2008; ZANELLA et al., 2010).

3.4.1 Tratamentos físico-químicos

Para o tratamento desses efluentes, os métodos físico-químicos são os mais utilizados, entre eles podem ser citados os Processos Oxidativos Avançados (POAs) para a degradação de compostos recalcitrantes e os processos fotoquímicos para degradar compostos tóxicos para CO₂ e H₂O (MORAES, FREIRE e DURÁN, 2000).

Os tipos de tratamento físico-químicos incluem coagulação, floculação, oxidação fotoquímica (H₂O₂/UV), ozonização, troca iônica, irradiação e adsorção (VASQUES et al., 2011). Esses métodos têm diferentes capacidades de remoção de cor, custos e rapidez de operação (PEIXOTO, MARINHO e RODRIGUES, 2013). Muitas destas técnicas químicas são geralmente caras e, embora o corante seja removido, a acumulação de lodos concentrados cria um problema de tratamento de resíduos. Existe também a possibilidade de um problema de poluição secundária aparecer devido ao excessivo uso de produtos químicos (IMMICH, 2006).

Todos os métodos têm suas vantagens, como a eficiente remoção de cor e desvantagens, como a geração de lodos concentrados de poluição secundária. Devido ao alto custo, muitos dos métodos convencionais de tratamento de efluente não são aplicados em larga escala pela indústria têxtil (IMMICH, 2006).

3.4.2 Tratamentos biológicos

Apesar de existirem formas físicas e químicas de tratamento de efluentes têxteis, os microrganismos têm sido intensamente estudados com a finalidade de remover compostos tóxicos do meio ambiente (SOUZA, ROSADO, 2009).

Os tratamentos biológicos podem ser aeróbios ou anaeróbios, ou uma combinação de ambos, dependendo do tipo de microrganismo empregado (BALAMURUGAN, THIRUMARIMURUGAN e KANNADASAN, 2011), sendo então uma alternativa mais econômica para a degradação dos efluentes têxteis quando comparados com os métodos físico-químicos.

Os processos biológicos utilizados com maior frequência estão representados pelos sistemas de lodos ativados (KUNZ et al., 2002), sendo necessária a aplicação de tratamentos adicionais para a redução da cor (AMORIM, LEÃO e MOREIRA, 2009). No entanto, esse processo apresenta um grande problema, pois é bastante suscetível à composição do efluente, além de gerar um grande volume de lodo (KUNZ et al., 2002).

Os tratamentos biológicos convencionais costumam ter aplicações mais restritas, devido a vários fatores que influenciam nos microrganismos que são limitados pela sensibilidade a variações de climáticas bem como a toxicidade de alguns produtos químicos, além de requerer uma área extensa (ROYER, 2008).

3.5 Utilização de microrganismos na remoção de corantes

Muitos estudos têm se voltado para o uso de microrganismos capazes de degradar corantes em resíduos industriais. Entre os microrganismos implicados com a descoloração de corantes têxteis estão as bactérias, fungos, algas e mais recentemente os consórcios de culturas de bactérias (BANAT et al., 1996, apud ROSOLEN et al., 2004).

Os corantes têxteis são relativamente resistentes à ação microbiana, desta forma, não é surpresa que apenas uma pequena parte seja degradada nos sistemas de tratamento, já que estes corantes são projetados para resistir ao processo (YESILADA, ASMA, CING, 2003). No entanto, alguns microrganismos anaeróbios são bons na degradação de alguns corantes.

O uso de bactérias é uma alternativa interessante, pois são culturas fáceis e de rápido crescimento, capazes de metabolizar compostos clorados, contaminantes orgânicos e mineralizar algumas substâncias químicas (BALAMURUGAN, THIRUMARIMURUGAN, KANNADASAN, 2011). Contudo, os substratos utilizados para o seu desenvolvimento em laboratório não são adequados para a aplicação *in situ* (ÇETIN, DONMEZ, 2006).

Existem três principais mecanismos que ocorrem no processo de remoção de corantes de efluentes têxteis por microrganismos: bioissorção, bioacumulação e biodegradação (PEIXOTO, MARINHO, RODRIGUES, 2013).

Conforme Peixoto, Marinho e Rodrigues (2013), as espécies fúngicas tem ganhado destaque no tratamento biológico de efluentes com microrganismos por serem bastante versáteis, sendo utilizados no tratamento de uma grande variedade de tipos de corantes e apresentarem diferentes mecanismos de remoção de cor. Como exemplo disso, tem-se os fungos do gênero *Aspergillus*, que possuem grande potencial para tratamento de águas residuárias com corantes, sendo utilizados como inóculo de reatores e funcionando pelo mecanismo de bioissorção (RODRIGUES, 2006).

3.5.1 Biossorção e bioacumulação

A biossorção pode ser definida como uma ligação do soluto à biomassa por meio de uma alternativa que não envolve transporte de energia metabólica (KAUSHIK e MALIK, 2009). É uma alternativa que tem ganhado importante destaque no cenário de remoção de poluentes emergentes (ALMEIDA, 2008).

Em um estudo, Almeida (2013) avaliou a biossorção dos azocorantes têxteis Acid Blue 161 e Procion Red MX-5B em solução simples e solução binária pelos fungos filamentosos *Aspergillus niger*, *Aspergillus terreus* e *Rhizopus oligosporus*, em que o fungo que apresentou maior capacidade de descoloração das soluções foi o *A. niger*, sendo mais eficaz do ponto de vista toxicológico, pois a remoção de cor ocorreu sem ocasionar grandes alterações moleculares no meio, ou seja, não houve formação de metabólitos com potencialidade tóxica.

Segundo Kiran, Akar e Tunali (2005), o uso de microrganismos inativos na biossorção pode ser vantajoso em relação ao uso de microrganismos vivos. Isso porque os microrganismos inativos não sofrem limitações devido à toxicidade do meio e não necessitam de a renovação do meio de cultura.

Um mecanismo variante da biossorção é a bioacumulação. Nesse processo ocorre a acumulação do corante na célula do microrganismo em crescimento ativo, sendo mediado pela biossorção inicial, independente do metabolismo, seguido da posterior acumulação do corante no citoplasma da célula, dependente do metabolismo (BURATINI, BRANDELLI, 2008).

O Quadro 3 apresenta alguns exemplos de espécies fúngicas e os mecanismos utilizados para a degradação de determinados corantes.

Quadro 3 - Aplicação de fungos na remoção de corantes industriais por processos de bioissorção e bioacumulação.

Espécie	Corante	Mecanismo
<i>Trichoderma sp.</i>	Acid Brilliant Red B	Bioacumulação
<i>P. oxalicum</i>	Reactive Blue 21	Bioacumulação
<i>A. niger</i>	Direct Blue 199	Bioissorção
	Reactive Black 5	Bioacumulação
<i>A. filiculoides</i>	Basic Orange	Bioissorção
<i>A. lentulus</i>	Acid Navy Blue	Bioissorção
<i>R. arrhizus</i>	Yellow RL	Bioissorção
<i>A. bisporus</i>	Reactive Red 2	Bioissorção
<i>T. versicolor</i>	Gryfalan Black RL	Bioissorção
	Direct Blue 1 e Direct Red 128	Bioissorção
<i>R. stolonifer</i>	Bromophenol Blue	Bioissorção

Fonte: Adaptado de ORTIZ-MONSALVE (2015).

3.5.2 Biodegradação

Dentre os tipos de tratamento biológico na remoção de corantes, uma área de estudo que tem se desenvolvido bastante nos últimos anos é a biodegradação. Este método acontece devido a produção de enzimas pelo microrganismo que desfazem as ligações químicas dos corantes, sendo o corante utilizado como uma fonte de carbono alternativa a fim de se obter energia necessária ao seu crescimento e manutenção do metabolismo (BURATINI, 2008).

Buratini (2008) também destaca que a biodegradação pode levar a pequenas mudanças na molécula original, como a substituição ou a modificação de um grupo funcional, ou a completa destruição da molécula, tendo como resultado a sua conversão final em CO₂, H₂O e sais inorgânicos, processo conhecido como mineralização.

A biodegradação quando associada às formas convencionais de tratamento biológico de efluentes, mostram-se eficientes na remoção de diferentes tipos de poluentes (KUNZ et al., 2002).

Em um trabalho de Kunjadia et al. (2016) foi estudado a biodegradação de azocorantes utilizando enzimas ligninolíticas produzidas por três espécies de fungos: *Pleurotus ostreatus*, *Pleurotus sapidus* e *Pleurotus florida*. Os autores atribuíram a remoção de corante à produção da enzima lacase, sendo observada uma remoção de 88, 92 e 98% de corante, respectivamente, para os fungos *P. ostreatus*, *P. sapidus* e *P. florida*.

3.6 Os fungos no tratamento biológico de efluentes com corantes

Pesquisas atuais de tratamento de efluentes giram em torno de tecnologias que empreguem materiais mais baratos e visam uma remoção mais eficiente sem gerar outros resíduos pós tratamento. O número de pesquisas em relação aos fungos tem crescido a cada ano devido a estes organismos serem pouco seletivos e facilmente adaptáveis ao meio (GUARATINI, ZANONI, 2000; KUNZ et al., 2002).

O emprego de fungos degradadores de lignina tem sido cada vez mais utilizado devido a produção de enzimas lignolíticas de baixa especificidade, que podem ser aplicadas na degradação de compostos fenólicos (PEREIRA et al., 2010). Dentre estes microrganismos estão os fungos intitulados “fungos da podridão branca”, que causam perda de resistência em processo avançado que apresentam capacidade em mineralizar uma grande variedade de compostos altamente tóxicos encontrados no meio ambiente, como hidrocarbonetos aromáticos policíclicos (HAPs), corantes azoicos, herbicidas, entre outros. Os fungos de podridão branca recebem esse nome, pois a madeira assume uma aparência “fibrosa” e tende para uma cor ligeiramente mais clara (COLEMAN, 2003).

Estudos de descoloração têm sido feitos usando-se os fungos da podridão branca, tais como *Phanerochaete chrysosporium*, *Bjerkandera adusta*, *Trametes versicolor* ou *Phlebia radiata*, que se mostraram hábeis em degradar um amplo espectro de corantes (PEIXOTO, MARINHO, RODRIGUES, 2013). A podridão branca é observada, principalmente, entre os fungos do filo Basidiomycota (basidiomicetos), porém alguns ascomicetos também são classificados como fungos de degradação branca (MENEZES, 2013; MADIGAN et al., 2016). Na Tabela 4, pode-se observar a capacidade de alguns fungos de descolorir corantes sintéticos.

Tabela 4 - Relação de alguns fungos da podridão branca capazes de descolorir corantes sintéticos.

Fungo	Corantes	Taxa de Descoloração (%)	Tempo (dias)
<i>Phellinus gilvus</i>	Cl Vat Blue I	100	4
<i>Pleurotus sajor-caju</i>		94	
<i>Phanerochaete</i>	Sp-g (diazo)	89	28
<i>crysosporum</i>	Cm-s (diazo)	88	
<i>Phlebia floridensis</i>	Brilhant green	100	5
	Cristal violeta	95,2	
	Vermelho cresol	81,4	
	Vermelho congo	98	
	Orange II	100	9
	Poly-B	93	
	Poly-R	80	
	RBBR	93	

Fonte: Adaptado de CARVALHO (2005).

A utilização de fungos da podridão branca como alternativa de descoloração de efluentes e degradação de compostos xenobióticos teve seu início a partir da década de 1980 (SOUZA, ROSADO, 2009). O meio de degradação de compostos recalcitrantes por fungos da podridão branca, segundo Souza e Rosado (2009), envolve as enzimas do grupo fenoloxidasas, como a lignina peroxidases (LiPss), manganês peroxidase (MnPs) e lacases, sendo assim, os fungos diferem entre si de acordo com a capacidade de degradação qualitativa e quantitativa de suas enzimas.

A seguir alguns aspectos dos fungos que permitem sua aplicação na área de tratamento biológico.

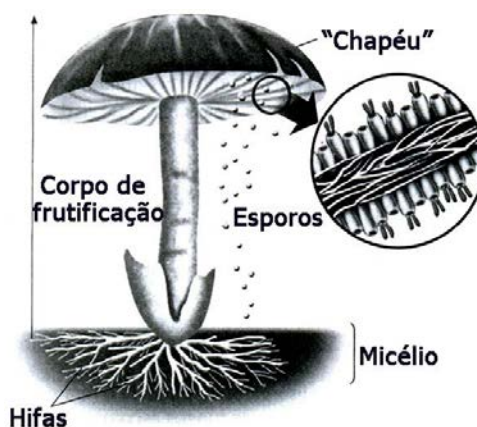
3.6.1 Aspectos gerais dos fungos

O Reino Fungi compreende um grupo grande, diverso e amplamente disseminado de organismos, consistindo de bolores, cogumelos e leveduras. Cerca de 100.000 espécies de fungos foram relacionadas, estimando-se a possibilidade de existirem até 1,5 milhão de espécies (ESPOSITO, AZEVEDO, 2004).

A maioria dos fungos é microscópica e terrestre. Eles habitam o solo ou matéria vegetal morta e desempenham um papel crucial na mineralização do carbono orgânico. Muitos desempenham papel de parasitas de plantas, enquanto outros podem causar diversas doenças em animais, inclusive no ser humano. Por outro lado, determinados fungos também podem estabelecer associações simbióticas com diversas plantas, contribuindo na aquisição de minerais oriundos do solo. Muitos fungos também podem trazer benefícios para a vida humana por meio da fermentação e da síntese de antibióticos (TORTORA, FUNKE, CASE, 2012).

Os fungos são quimiorganotróficos, comumente apresentando exigências nutricionais simples, sendo a maioria aeróbia. Eles alimentam-se por meio da secreção de enzimas extracelulares que digerem materiais poliméricos, como polissacarídeos ou proteínas, em monômeros que são assimilados como recurso de carbono e energia. A maioria dos fungos é multicelular, formando uma rede de filamentos denominados hifas, onde os esporos assexuados são produzidos. As hifas crescem em conjunto ao longo de uma superfície, formando grupos compactos macroscopicamente visíveis chamados de micélio (MADIGAN et al., 2016).

Figura 13 - Ilustração do corpo de frutificação dos fungos.



Fonte: <https://djalmasantos.wordpress.com/2012/08/31/testes-sobre-fungos/>

Alguns fungos formam estruturas reprodutivas macroscópicas denominadas corpos de frutificação (Figura 13), como os cogumelos, em que milhões de esporos podem ser dispersos pelo vento, água ou animais (MADIGAN et al., 2016).

Diversas espécies de fungos são essenciais em muitos processos industriais que envolvem fermentação, como a produção de pães, vinhos e bebidas; possuem papel importante na fabricação de queijos; na produção comercial de muitos ácidos orgânicos

(cítrico); certas drogas (ergometrina, cortisona); e na fabricação de muitos antibióticos (penicilina, griseofulvina). Os fungos são importantes ferramentas de pesquisa no estudo de processos biológicos (PINTO, 2006).

3.6.2 O fungo *Pleurotus ostreatus florida*

O cogumelo *Pleurotus ostreatus* var. *florida* conhecido como “Hiratake” (Figura 14) é um dos diversos cogumelos consumidos no Brasil, apresentando alto valor nutricional, além de propriedades nutraceuticas (KOMURA, 2009). Os cogumelos comestíveis, apreciados em muitas dietas europeias e orientais, vêm crescendo de importância nos últimos anos, já que o seu cultivo possibilita reciclar economicamente certos resíduos agrícolas e agroindustriais (BORGES, GRIGOLLI, GRACIOLLI, 2007). As suas principais características físicas são: micélio esbranquiçado, longitudinalmente radial e felpudo durante o período de formação. Quando o micélio começa a ficar envelhecido, segrega gotículas amareladas ou alaranjadas de um metabólito que atua como uma toxina contra nemátodos.

Figura 14 - *Pleurotus ostreatus florida* in natura.



Fonte: <http://www.mycelia.be/en/strain-list/m-2125-pleurotus-ostreatus-var-florida>.

O fungo ganhou grande popularidade devido principalmente à disponibilidade e a facilidade de se encontrar substratos utilizados no seu cultivo e também por apresentarem ciclo relativamente curto em comparação com outros gêneros de cogumelos comestíveis (MODA et al., 2005).

Os fungos do gênero *Pleurotus* são conhecidos por serem eficientes na degradação de lignina, sendo capazes de crescer em troncos de árvores vivas e mortas, principalmente em florestas de clima temperado (GUNDE-CIMERMAN, 1999). Estes organismos produzem enzimas extracelulares como lignina peroxidase, manganês peroxidase e lacases (fenol oxidases) que podem modificar e degradar a lignina, caracterizando-os como fungos de podridão branca.

Em um estudo de Marques (2013), o *Pleurotus ostreatus florida* foi situado em meio líquido na presença do corante azo vermelho congo. O estudo apresenta resultado positivo para a remoção de cor do corante, concluindo-se que na ausência de fontes nutricionais, o microrganismo de alguma forma utilizou o corante para desenvolver suas estruturas celulares, seja por processos degradativos, bioacumulativos ou adsortivos.

Sendo assim, no vigente trabalho, o *Pleurotus ostreatus florida* foi crescido em condições semelhantes ao estudo de Marques (2013), porém na presença de diferentes corantes.

4. MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 Materiais

4.1.1 Microrganismo

O microrganismo empregado neste estudo foi o fungo basidiomiceto *Pleurotus ostreatus florida*, cedido pela profa. Dra. Maria Inês Rezende do Departamento de Bioquímica e Biotecnologia da UEL/Londrina - PR.

4.1.2 Reagentes

Os reagentes químicos usados no preparo dos meios de cultivo ao longo do projeto foram:

- Glucose Monohidratada P.A., Cinética;
- Extrato de Levedura Puríssima, Vetec;
- Ágar Bacteriológico, Himedia;
- Alaranjado de metila, Merck

- Vermelho de metila, Grupo Química;
- Fast Blue RR, Becto Química.

4.1.3 Equipamentos

Os equipamentos utilizados para a realização do experimento como um todo foram:

- Autoclave AV analógica, Phoenix;
- Capela de fluxo laminar Variflux 120, Marconi;
- Incubadora orbital (tipo shaker) Luca-223, Lucadema;
- Balança BL3200H, Shimadzu;
- Balança analítica AY220, Shimadzu;
- Estufa de cultura bacteriológica, Olidef CZ;
- Estufa de esterilização e secagem, Olidef CZ;
- Espectrofotômetro UV - 1601, Shimadzu;
- Bomba de vácuo e compressor - 132, Primatec;
- Sistema filtração polisulfona 47 mm 300-4000, Nalgene Nunc;
- Suporte filtro funil DS0310-4050, marca Nalgene Nunc;
- Microscópio óptico Primo Star, ZEISS.

4.1.4 Softwares

Os softwares utilizados para auxiliar na execução do experimento e análise dos resultados foram:

- UV - Probe, Shimadzu;
- Origin 6.0, Originlab.

4.2 Métodos

4.2.1 Manutenção do microrganismo

O fungo foi mantido em placas de Petri contendo meio batata-água-dextrose (BDA) a 4°C e repicado mensalmente, ou seja, foi inoculado em novas placas de Petri para reativar o microrganismo.

4.2.2 Cultivo em meio sólido

Primeiramente, os cultivos em meio sólido foram realizados para verificar a toxicidade do azocorante para o microrganismo e estudar as diferenças no crescimento do fungo entre os diferentes meios de cultivo preparados.

Para o cultivo em meio de Vogel sólido (VOGEL, 1956), os microrganismos foram inoculados em quatro meios de cultivo com diferentes concentrações dos corantes alaranjado de metila, vermelho de metila e fast blue RR, separadamente. Foram incubados a 28°C por 15 dias, sendo realizadas análises qualitativas e quantitativas do crescimento diariamente.

O cultivo sólido foi realizado em placas de Petri e os meios utilizados estão descritos abaixo:

Meio 1 – MMS + Glu (1% m/v) + YE (0,5% m/v) + ágar (2% m/v) + concentração do corante (m/v);

Meio 2 – MMS + YE (0,5% m/v) + ágar (2% m/v) + concentração do corante (m/v);

Meio 3 – MMS + Glu (1% m/v) + ágar (2% m/v) + concentração do corante (m/v);

Meio 4 – MMS + ágar (2% m/v) + concentração do corante (m/v);

Em que:

MMS é o meio mínimo de sais, YE representa o extrato de levedura e Glu a glucose.

A glucose tem o objetivo de servir como fonte de carbono inicial e o extrato de levedura como fonte de nitrogênio. Além desses meios de cultivo, foram preparados 4 meios controles, com as mesmas características dos meios citados acima, porém sem a adição do corante.

É importante evidenciar o fato de que os corantes vermelho de metila e fast blue RR apresentaram uma dificuldade de solubilização. Para contornar a situação, os meios de cultivo com esses corantes foram levemente aquecidos a fim de auxiliar na dissolução dos corantes no meio antes de serem adicionados às placas de Petri para solidificação. O pH do meio foi medido antes e depois do aquecimento para controle, não apresentando alterações.

Para analisar a toxicidade dos azocorantes, o micélio do fungo foi inoculado nos meios nas concentrações 0,001%, 0,01%, 0,1% e 1% (m/v) do alaranjado de metila, vermelho de metila e fast blue RR, individualmente. Em um estudo realizado por Marques (2013) testes foram realizados com várias concentrações de um mesmo corante e as utilizadas neste trabalho foram as que apresentaram um resultado mais significativo. Outro critério utilizado para a escolha dos corantes e concentrações foi a solubilização dos mesmos. Para chegar nesses valores, as massas das respectivas concentrações foram pesadas em uma balança analítica de precisão e posteriormente diluídas em ambiente estéril.

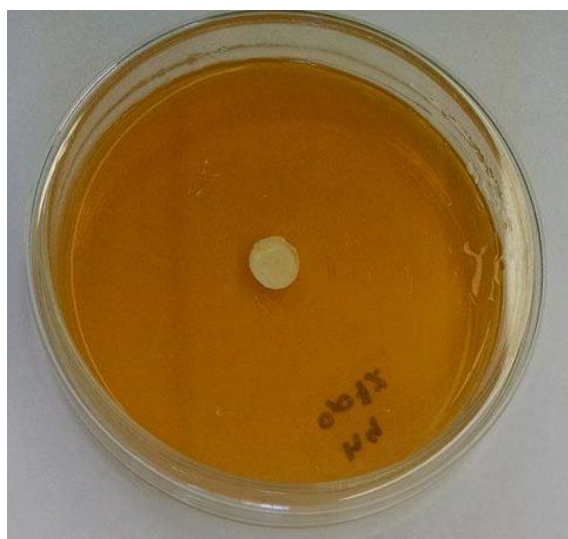
As placas de Petri com os meios foram preparadas em ambiente estéril, e deixadas em repouso até a solidificação do meio para posterior inoculação do microrganismo.

4.2.2.1 Desenvolvimento do *P. ostreatus florida* em meio sólido na presença do azocorantes

Inicialmente, para obtenção de células jovens para serem utilizadas como inóculo para o meio sólido, o microrganismo foi crescido em placas de Petri com meio mínimo de saís (VOGEL, 1956) acrescido de 2% de ágar (m/v), 1% de glucose (m/v) e 0,5% de extrato de levedura (m/v). As placas foram incubadas por 15 dias, a temperatura de $28^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ em estufa bacteriológica.

Em seguida, esferas com cerca de 1 cm de diâmetro contendo hifas do microrganismo foram transferidas para o centro das placas com os meios de cultivos sólidos na presença dos corantes (Figura 15). As placas foram novamente incubadas em estufa bacteriológica a $28^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ por um período de 15 dias.

Figura 15 - Inóculo do *P. ostreatus florida* em meio de cultivo sólido.



Fonte: Autores (2017).

Como controle, além das placas com os corantes, o fungo também foi inoculado em placas com meio sólido sem a presença das concentrações dos azocorantes.

Todos os experimentos foram realizados em triplicata para cada corante e o crescimento fúngico foi avaliado diariamente, analisando o comportamento do microrganismo na presença dos diferentes corantes azo, ou seja, como foi seu desenvolvimento (coloração do micélio, espaçamento das hifas, entre outros). A quantificação do crescimento (Apêndice A) foi feita pela medida do diâmetro de crescimento da colônia (cm) em 4 pontos equidistantes a partir do centro de crescimento da colônia, determinando-se os resultados pelo cálculo da média e desvio-padrão de acordo com Rezende et al. (2005).

4.2.3 Cultivo em meio líquido

Para o cultivo em meio líquido, o *Pleurotus ostreatus florida* (PO) foi inoculado com o corante a 0,001% (m/v) e incubado a 28°C por 15 dias, sendo realizada a análise qualitativa ao final do período de incubação para posterior interrupção por filtração. A biomassa produzida nos cultivos foi quantificada por gravimetria e o sobrenadante da filtração foi utilizado para as análises de espectroscopia no UV-VIS.

Para os cultivos líquidos os corantes foram utilizados na concentração de 0,001% (m/v) utilizando-se o meio 4 (item 4.2.2) do experimento anterior, sem a presença do ágar, como descrito abaixo:

Meio 4 – MMS + concentração do corante (m/v) + PO

Controle A – MMS + PO

Controle B – MMS + Glu (solução 10%) + PO

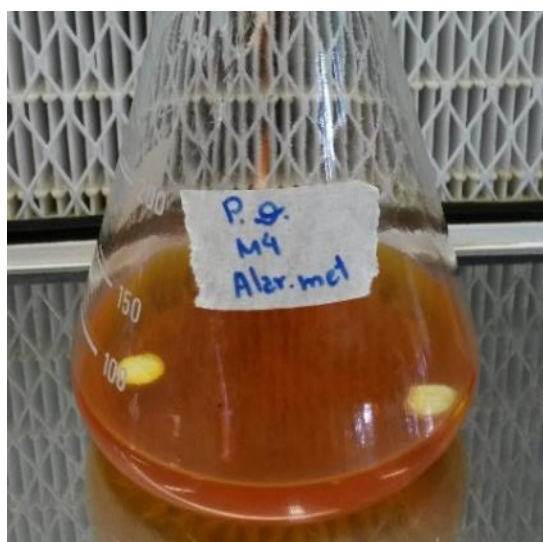
Controle Negativo – M4 + concentração do corante (m/v).

Os meios foram preparados em erlenmeyers de 250 mL, contendo 50 mL de meio mínimo de sais de Vogel (VOGEL, 1956), para manter a proporção 5:1 de ar:meio. Como ocorrido no experimento anterior, o corante vermelho de metila e fast blue RR apresentaram uma difícil diluição no meio de cultivo, portanto foram adotadas as mesmas medidas tomadas na preparação do meio de cultivo sólido para acelerar a diluição do corante no meio.

4.2.3.1 Desenvolvimento do *P. ostreatus florida* em meio líquido na presença dos azocorantes

As placas foram incubadas por cerca de 10 dias, em torno de $28^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ em estufa bacteriológica. Em seguida, 5 esferas de 1 cm de diâmetro contendo hifas do *Pleurotus ostreatus florida* foram transferidas para cada erlenmeyer com o meio de cultivo líquido na presença da concentração do corante (Figura 16).

Figura 16 - Inóculo do *P. ostreatus florida* em meio de cultivo líquido.



Fonte: Autores (2017).

O procedimento foi feito em triplicata. Os erlenmeyers foram incubados em torno de $28^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ em incubadora orbital (shaker) a 180 rpm por um período de 15 dias.

4.2.3.2 Interrupção do cultivo líquido

Os cultivos de cada um dos corantes e seus respectivos controles foram interrompidos com 15 dias de crescimento, sendo filtrados a fim de separar a biomassa dos sobrenadantes líquidos, os quais foram armazenados em geladeira para posteriores análises de espectroscopia no UV-VIS, para determinação de possível remoção da cor.

A biomassa foi submetida à análise gravimétrica para quantificação. Como controle da biomassa inicial, cinco esferas do meio de cultivo com o *Pleurotus ostreatus florida* foram dispostas em papel de filtro, pesadas e, em seguida, colocadas para secagem em estufa a 80°C até atingirem peso constante. Isso foi feito para posterior comparação com quantidade de biomassa obtida dos meios de cultivo líquidos.

4.2.3.3 Análise da remoção da cor do meio de cultivo líquido por espectroscopia no UV-VIS

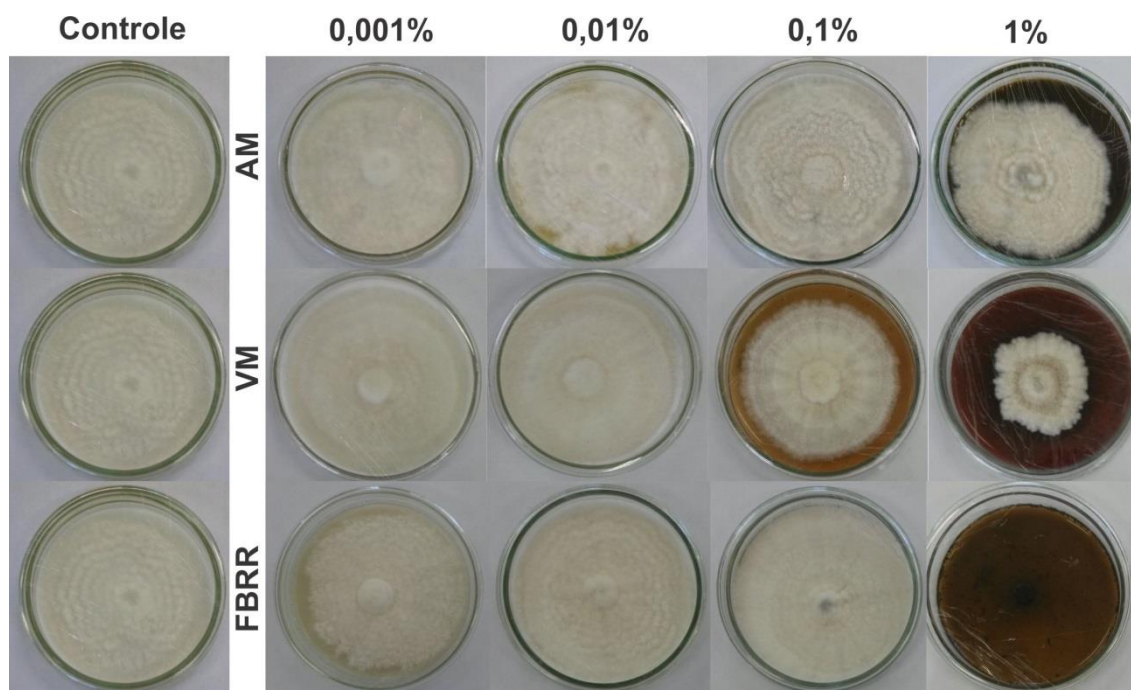
Para as análises da remoção da cor, foi utilizado o espectrofotômetro de UV-VIS, no qual a descoloração do corante é determinada pela diminuição da banda de absorção. Para isso, foi feita uma varredura inicial dos corantes utilizados para avaliar a banda de maior absorbância (λ_{max}). Posteriormente, 1 mL de cada um dos filtrados, obtidos dos cultivos submersos líquidos dos fungos e dos controles, foram utilizados para a análise na mesma faixa espectral de cada corante

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Crescimento do fungo *Pleurotus ostreatus florida* em meio de cultivo sólido

O crescimento qualitativo do PO pode ser observado nas Figuras 17 a 20 a seguir, que mostram o crescimento fúngico nos diferentes meios e concentrações dos respectivos corantes.

Figura 17 - Demonstração qualitativa do crescimento do fungo *Pleurotus ostreatus florida* no meio de cultivo 1 na presença de 0,001%, 0,01%, 0,1% e 1% (m/v) dos diferentes corantes após o período de 15 dias.

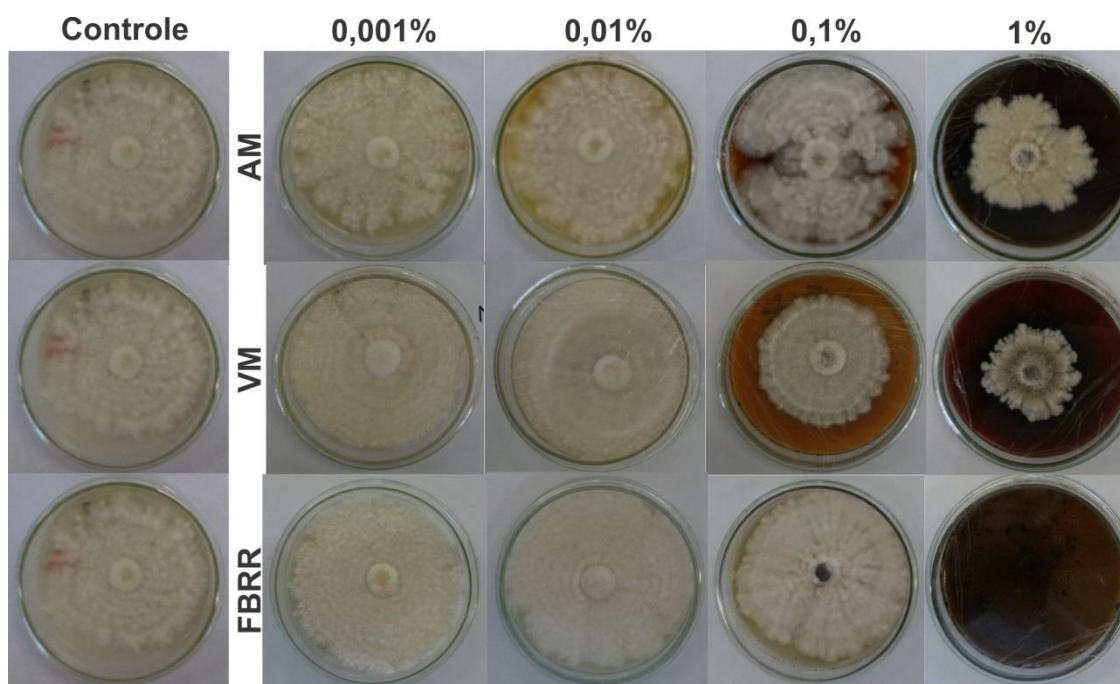


Fonte: Autores (2017).

De acordo com a Figura 17, foi possível observar que o microrganismo conseguiu se desenvolver bem e rapidamente no Meio de Cultivo 1 (M1), independente do corante utilizado, apresentando micélio abundante e regular, crescendo diariamente de maneira homogênea e tomando a placa toda ao final de 15 dias na concentração 0,001%. Esse crescimento rápido e coeso provavelmente se deve ao fato do M1 ser completo, apresentando fontes de carbono e nitrogênio, importantes fornecedores de

energia para a atividade metabólica e consistem a base para a síntese de proteínas e substâncias de reserva (ZANETTI, RANAL, 1997).

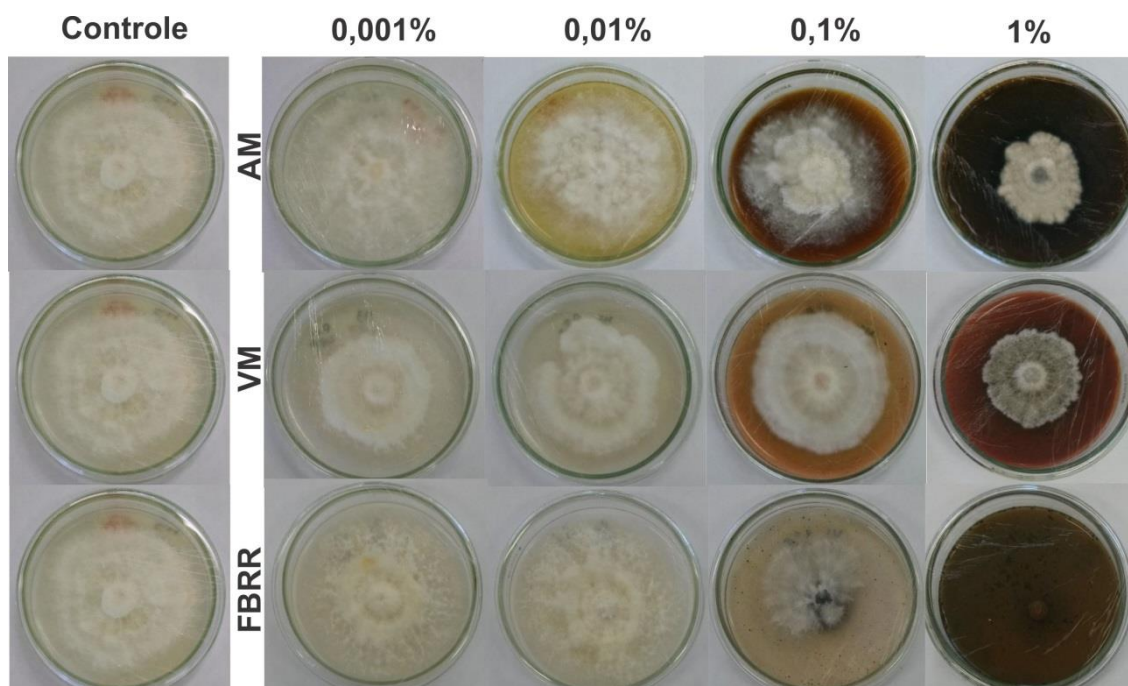
Figura 18 - Demonstração qualitativa do crescimento do fungo *Pleurotus ostreatus florida* no meio de cultivo 2 na presença de 0,001%, 0,01%, 0,1% e 1% (m/v) dos diferentes corantes após o período de 15 dias.



Fonte: Autores (2017).

No caso do Meio de Cultivo 2 (M2) (Figura 18), em todos os corantes o crescimento na placa foi satisfatório, porém não tão regular como no meio anterior. Além disso, considerando um crescimento de 100% no M1, o fungo cultivado no M2 cresceu o correspondente a 86,9% do M1 para os corantes alaranjado de metila e vermelho de metila e 92,9% para o fast blue RR. Os fungos heterotróficos, como é o caso do *P. ostreatus florida*, são capazes de utilizar diferentes compostos como fonte de carbono e energia, como alternativa à ausência de glucose (ESPOSITO, AZEVEDO, 2004). Portanto, o fungo pode estar utilizando o extrato de levedura para este fim, que também apresenta pequena quantidade de açúcares (polissacarídeos da parede celular do YE).

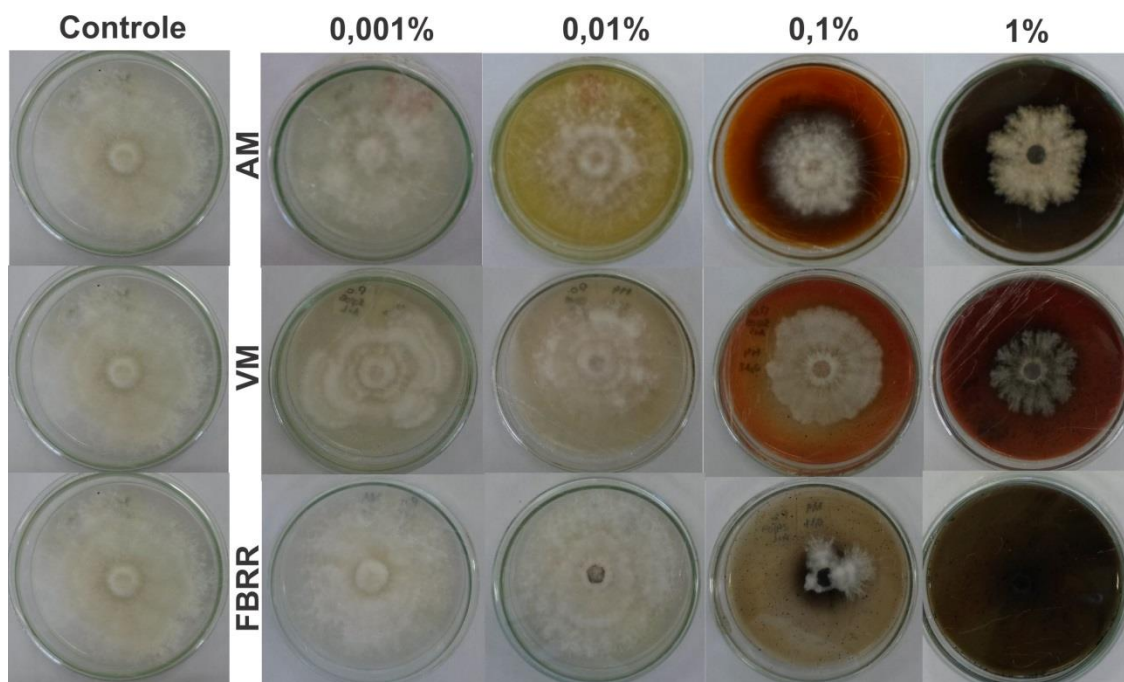
Figura 19 - Demonstração qualitativa do crescimento do fungo *Pleurotus ostreatus* florida no meio de cultivo 3 na presença de 0,001%, 0,01%, 0,1% e 1% (m/v) dos diferentes corantes após o período de 15 dias.



Fonte: Autores (2017).

No Meio de Cultivo 3 (M3) o fungo apresentou um crescimento heterogêneo e com hifas esparsas (Figura 19). A alteração da coloração do micélio começa a ser perceptível nas maiores concentrações (1% e 0,1%). Essa mudança na cor possivelmente ocorre como mecanismo de defesa do fungo para que mantenha seu crescimento mesmo em um meio de cultivo mais pobre (ausência de YE) e com concentrações maiores dos corantes.

Figura 20 - Demonstração qualitativa do crescimento do fungo *Pleurotus ostreatus florida* no meio de cultivo 4 na presença de 0,001%, 0,01%, 0,1% e 1% (m/v) dos diferentes corantes após o período de 15 dias.



Fonte: Autores (2017).

O *P. ostreatus florida* inoculado no Meio de Cultivo 4 (M4) apresentou um crescimento de cerca de 4% menor do que o crescimento no M3, independente do corante e da sua concentração, o que era esperado, dado que o M3 possuía fonte de carbono, e o M4 não. Isso ocorreu, pois o seu crescimento foi de maneira mais concentrada nas proximidades do inóculo.

Considerando que o M4 era o meio de cultivo mais pobre nutricionalmente, o fungo teve que utilizar sua reserva interna de nutrientes, a fim de suprir suas necessidades e manter seu desenvolvimento.

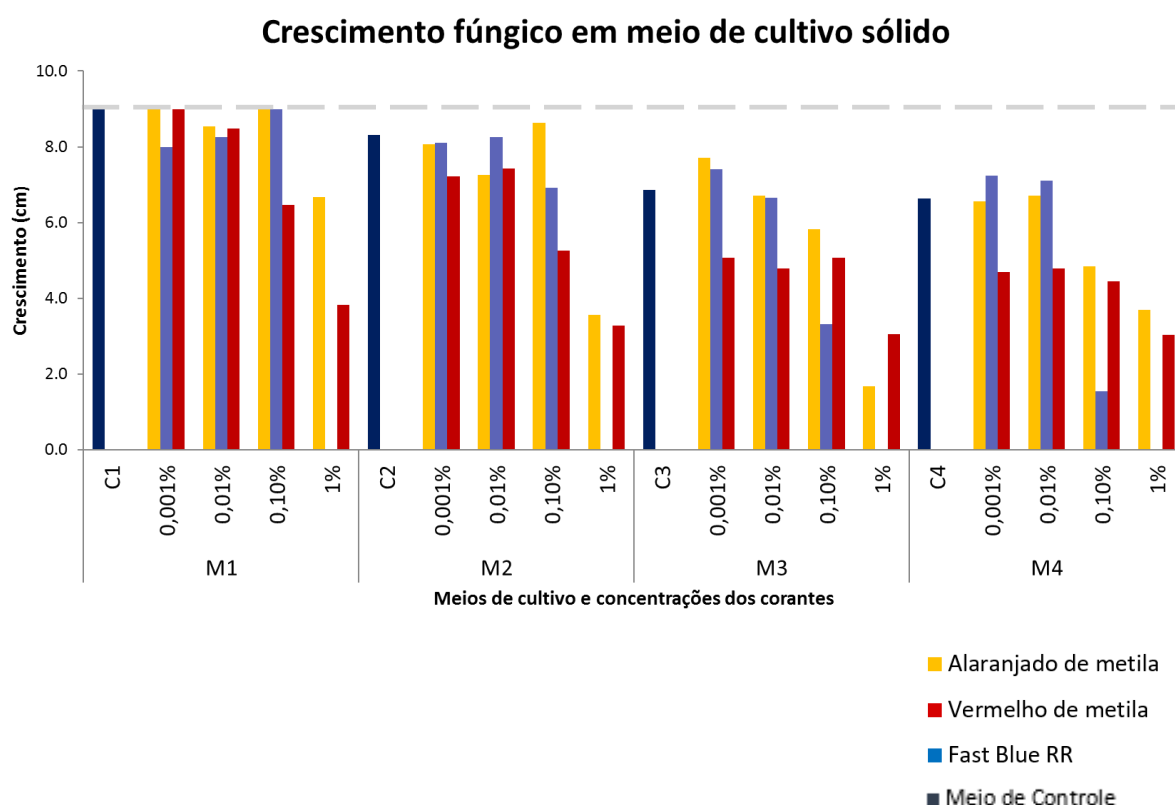
O microrganismo presente nos meios de cultivo sólido com o fast blue RR apresentou um crescimento melhor nas menores concentrações do corante, enquanto que na concentração de 1%, não houve crescimento do *P. ostreatus florida*, concluindo-se que provavelmente essa concentração foi tóxica para o fungo, impossibilitando o seu desenvolvimento, como mostram as Figuras 17 a 20. Isso não foi observado para o crescimento do microrganismo nas outras concentrações.

Os resultados qualitativos e quantitativos observados (Figuras 17 a 20) demonstram, portanto, que é possível observar que as condições nutricionais do meio afetam diretamente o desenvolvimento do fungo. A exemplo disso, mediante as

observações laboratoriais, percebe-se que a presença de fonte nitrogênio exerce menor influência do que a fonte de carbono no crescimento do fungo. Podendo, ainda, associar a presença da fonte de carbono à uniformidade do crescimento fúngico.

A Figura 21 foi feita utilizando os resultados das quantificações realizadas do crescimento do *P. ostreatus florida* nas diferentes concentrações dos azocorantes.

Figura 21 - Crescimento quantitativo do *Pleurotus ostreatus florida* nos meios de cultivo sólido em diferentes concentrações do azocorante alaranjado de metila, fast blue RR e vermelho de metila após o período de 15 dias. Os valores foram obtidos a partir da média do crescimento de cada triplicata.



Fonte: Autores (2017).

Pela Figura 21, pode-se observar que o fungo apresentou um bom crescimento na presença dos três corantes até concentração de 0,1%, em qualquer um dos meios. Entretanto, nos cultivos sólidos com concentração de 1%, a presença dos corantes alaranjado de metila e vermelho de metila obtiveram crescimento fúngico, porém em uma cota bem menor quando comparada com as demais concentrações, independente do meio utilizado. Nos cultivos com 1% do fast blue RR não foi verificado desenvolvimento do fungo nessa concentração. Esses resultados demonstram, portanto, que o microrganismo é capaz de suportar concentrações maiores dos corantes alaranjado

de metila e vermelho de metila, enquanto que a presença de altas quantidades do fast blue RR podem ser nocivas para o desenvolvimento desse fungo em particular. Pode-se dizer então que, em relação à toxicidade desses corantes para o *Pleurotus ostreatus florida*, o fast blue RR seria mais tóxico do que o alaranjado de metila e o vermelho de metila a partir de 100 mg/mL.

Ademais, os resultados mostram que mesmo o crescimento do *P. ostreatus florida* sendo maior nos meios com fonte de carbono e/ou nitrogênio disponíveis (M1, M2 e M3), é possível o fungo utilizar esses corantes também como fonte nutricional devido ao seu crescimento no meio de cultivo 4. Porém, analisando o crescimento fúngico dos meios de controle (Figura 21), vemos que o fungo no M4 conseguiu se desenvolver mesmo na ausência de corante. Esse fato deve-se ao fungo utilizar sua reserva interna, permitindo o seu crescimento mesmo que com hifas mais finas e esparsas.

Considerando a capacidade observada do microrganismo em se desenvolver em um ambiente pobre nutricionalmente, e afim de pressionar o *P. ostreatus florida* a utilizar outros compostos disponíveis no meio para obtenção de energia, decidiu-se usar o M4 para o cultivo em meio líquido. Além disso, como o *Pleurotus ostreatus florida* apresentou um melhor desenvolvimento na concentração de 0,001% dos três corantes no meio de cultivo sólido, sendo assim, optou-se por utilizar essa concentração para o experimento no meio de cultivo líquido.

Nos M2, M3 e M4, notou-se a formação de um halo de descoloração (Figura 22), principalmente na concentração 0,01% dos corantes alaranjado de metila e vermelho de metila, indicando que, possivelmente, o fungo utilizou o azocorante disponível nos meios como uma fonte nutricional.

Figura 22 - Formação halo de descoloração na concentração de 0,01% do corantes alaranjado de metila e vermelho de metila, respectivamente.



Fonte: Autores (2017).

5.2 Crescimento do fungo *Pleurotus ostreatus florida* em meio de cultivo líquido

No meio de cultura líquido as substâncias presentes tornam-se disponíveis com maior facilidade, diferentemente do meio de cultura sólido. Entretanto, o crescimento do fungo pode ser afetado de acordo com a concentração do corante disponível no meio.

A taxa de degradação dos corantes está diretamente relacionada à concentração inicial do corante na solução. De acordo um estudo feito por Diniz (2015), a taxa de remoção dos corantes por fungos foi reduzida com o aumento da quantidade de corante adicionado, ou seja, a diminuição na capacidade de remoção dos corantes com o aumento da concentração inicial do corante está relacionada à saturação dos locais de adsorção na superfície do adsorvente.

No presente trabalho, para o cultivo em meio líquido, foi escolhida a concentração de 0,001% para os três corantes, baseando-se nos resultados obtidos no experimento em meio de cultivo sólido, onde o microrganismo apresentou um bom crescimento na presença dos corantes, concluindo-se que essa concentração não foi tóxica para o mesmo.

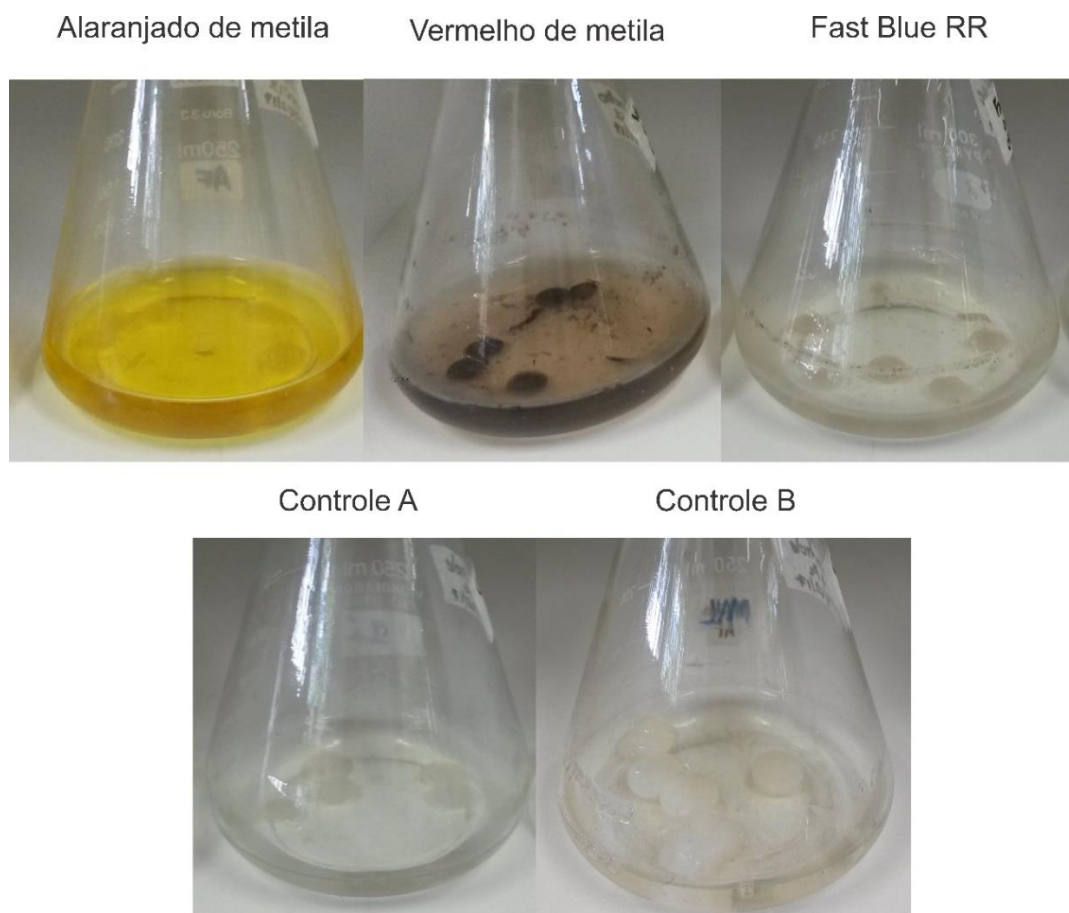
O experimento em meio de cultivo líquido é importante, pois a partir dele é possível obter dados para determinar a degradação microbiana do meio, pelo deslocamento da banda de absorção de UV-VIS dos corantes. A degradação do corante

pode ocorrer com maior facilidade no meio líquido, pois o fungo tem um contato maior e direto com o corante, facilitando assim a excreção de enzimas, as quais podem degradá-lo, servindo assim como fonte nutricional ou colaborar para a adsorção pelo micélio.

O *Pleurotus ostreatus florida* é um fungo aeróbio, portanto é necessário prover uma intensa aeração. O O₂ consumido pelo microrganismo durante o crescimento não é substituído com rapidez suficiente pela simples difusão a partir do ar, dessa maneira, é necessário que tenha uma aeração forçada das culturas, podendo ser realizada pela agitação dos frascos (MADIGAN et al., 2016). Essa agitação, somada com a manutenção da temperatura a 28°C, favorece o crescimento do microrganismo, logo também pode facilitar a degradação do corante.

Após 15 dias do inóculo, as observações demonstraram que o fungo foi capaz de se desenvolver em todos os meios, havendo diferenças no seu crescimento dependendo do corante (Figura 22).

Figura 23 - Meios de cultivo líquido com o crescimento do fungo *Pleurotus ostreatus florida* após o período de 15 dias.



Fonte: Autores (2017).

O fungo crescido no meio de cultivo na presença dos corantes alaranjado de metila e vermelho de metila teve um desenvolvimento micelial pouco expressivo, sem uma interação aparente com os corantes.

No meio de cultivo com fast blue RR pôde-se visualizar o crescimento micelial do fungo onde os grânulos do corante foram incorporados ao micélio na tentativa de obter os nutrientes necessários mais facilmente, dado que a solubilidade no corante foi baixa. Para tanto, foi feita uma análise microscópica do material celular, constatando-se que não houve adsorção do corante por parte do *P. ostreatus florida*.

O crescimento do fungo em formato de pequenas esferas é chamado de *pellets*. De acordo com Xu et al. (2000), os principais parâmetros que influenciam na formação dos *pellets* são: a quantidade do inóculo, o pH do meio de cultura, a agitação e a composição do meio. Neste trabalho, o parâmetro que diferenciava os experimentos era a composição do meio, sendo este responsável por influenciar o fungo na formação de *pellets*. Os *pellets* necessitam de uma fonte nutricional abundante para se desenvolver, portanto nos meios de cultivo com os azocorantes o fungo teve um crescimento micelial com a finalidade de alcançar melhor os nutrientes necessários para o seu desenvolvimento. No controle B, por sua vez, havia uma abundância de nutrientes, o que permitiu uma formação maior de *pellets* do que no controle A, que não possuía fonte de glucose, apenas meio de saís de Vogel. Essa diferença do crescimento de *pellets* entre os meios de controle A e B é apontada pela seta da Figura 24.

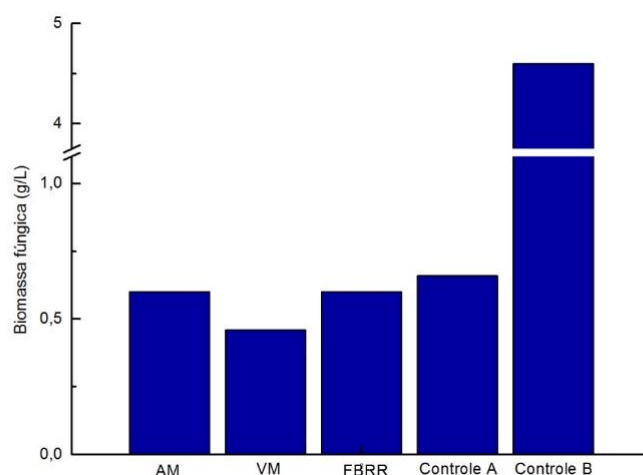
Figura 24 - Crescimento do *P. ostreatus florida* em forma de *pellets* nos meios de cultivo A e B, respectivamente.



Fonte: Autores (2017).

O crescimento do microrganismo pôde ser quantificado pelo método gravimétrico. Na Figura 25, observa-se que o microrganismo na presença do vermelho de metila teve o menor crescimento do grupo (0,46 g/L) e o meio de controle A, que só possuía MMS em sua composição, apresentou um crescimento similar aos meios com corante (0,60 g/L para os meios com o alaranjado de metila e fast blue RR e 0,66 g/L para o Controle A). Entretanto, destaca-se o meio de controle B teve um crescimento muito mais significativo (4,60 g/L), sendo 10 vezes maior do que o do meio com a presença do vermelho de metila, resultado que já era esperado, uma vez que ele possuía glucose como fonte de carbono. Ainda que apresentando um crescimento pequeno na presença dos corantes (quando comparado ao meio de controle B), o *Pleurotus ostreatus florida* demonstrou que tem capacidade de se desenvolver mesmo sob condições adversas.

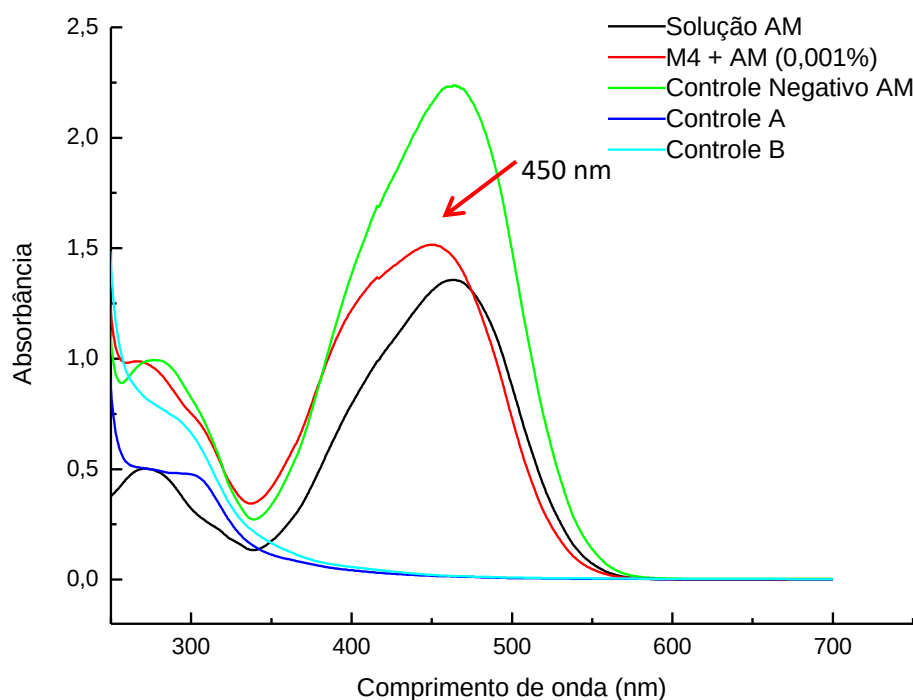
Figura 25 - Crescimento quantitativo do *Pleurotus ostreatus florida* nos meios de cultivo líquido na concentração de 0,001% dos azocorantes e nos controles A e B após o período de 15 dias. Os valores foram obtidos a partir da média do crescimento de cada triplicata.



Fonte: Autores (2017).

Diferentemente do ocorrido no meio de cultivo sólido, a mudança na descoloração não foi perceptível na cultura líquida. Entretanto, mediante análise dos espectros no UV-VIS foi possível obter dados mais concretos sobre as alterações nas bandas de absorção dos corantes alaranjado de metila, vermelho de metila e fast blue RR (Figuras 26, 27 e 28).

Figura 26 - Espectro de absorção de UV-VIS do sobrenadante do meio de cultivo 4 (M4) com o *P. ostreatus florida* na presença de 0,001% do AM, do controle negativo e dos controles positivos A e B, em que o controle negativo contém MMS e corante e o controle B contém solução de glucose.

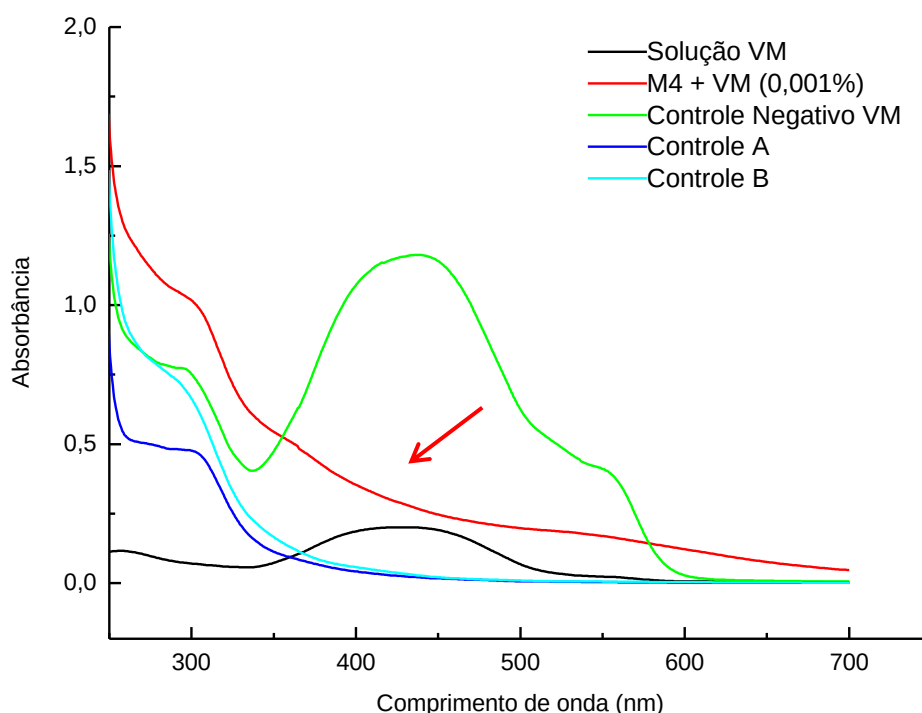


Fonte: Autores (2017).

Pode-se ver que a banda de absorção do corante no controle negativo do alaranjado de metila é maior do que a da própria solução aquosa, indicando que provavelmente a solubilização do corante foi maior no meio de controle negativo (Figura 26). Isso pode ter acontecido pelo fato de que a solução aquosa foi preparada e analisada logo em seguida, enquanto que o controle negativo permaneceu no shaker a 28°C durante 15 dias, intensificando a solubilização do corante.

Ainda na Figura 26, observa-se que a banda de absorção do alaranjado de metila foi deslocada de 466 nm para 450 nm (indicado pela seta), mostrando que houve uma interação do *P. ostreatus florida* com o corante.

Figura 27 - Espectro de absorção de UV-VIS do sobrenadante do meio de cultivo 4 (M4) com o *P. ostreatus florida* na presença de 0,001% do VM, do controle negativo e dos controles positivos A e B, em que o controle negativo contém MMS e corante e o controle B contém solução de glucose.

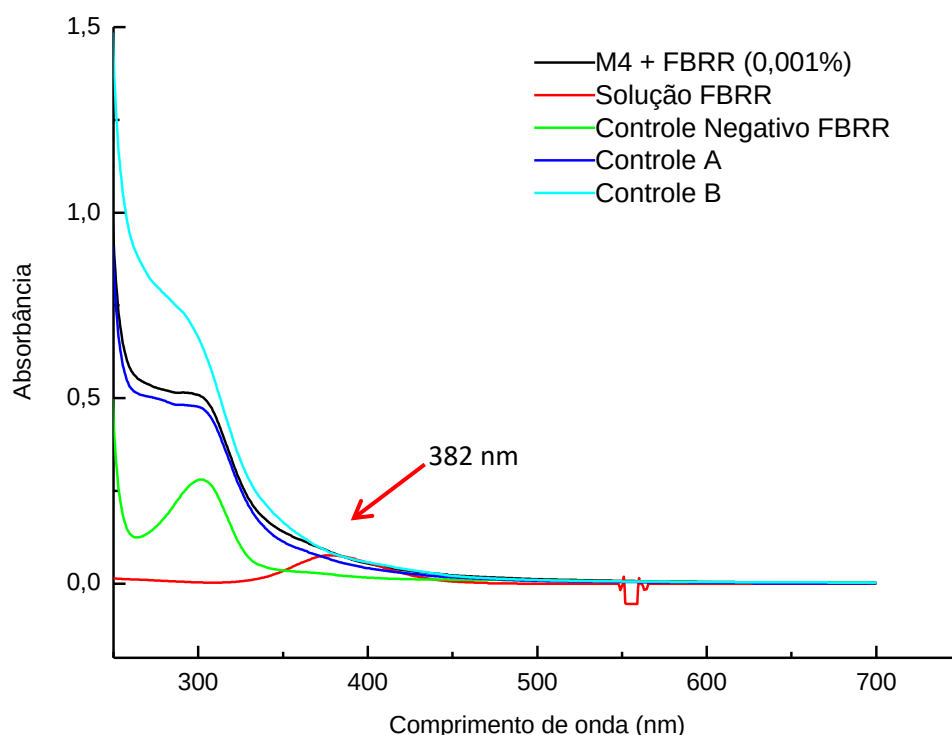


Fonte: Autores (2017).

De forma semelhante ao alaranjado de metila, a banda de absorção do controle negativo do vermelho de metila é superior à banda da solução do corante, podendo ser causada pelas mesmas condições descritas anteriormente (Figura 27).

De acordo com a Figura 27, fica evidente a provável modificação da banda de absorção no UV-VIS do sobrenadante do vermelho de metila em comparação com a solução do corante e seu controle negativo. Fato que pode ser explicado pela interação do *P. ostreatus florida* com o composto.

Figura 28 - Espectro de absorção de UV-VIS do sobrenadante do meio de cultivo 4 (M4) com o *P. ostreatus florida* na presença de 0,001% do FBRR, do controle negativo e dos controles positivos A e B, em que o controle negativo contém MMS e corante e o controle B contém solução de glucose.

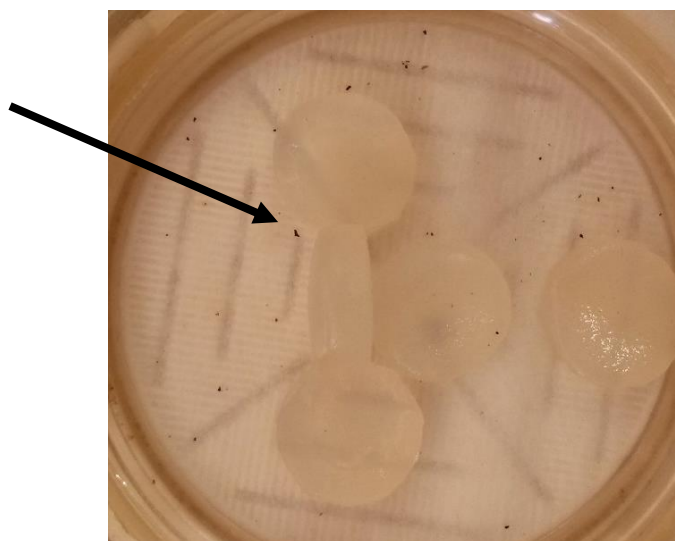


Fonte: Autores (2017).

No caso do corante fast blue RR (Figura 28), houve uma dificuldade na solubilização do mesmo nos cultivos líquidos. A solução aquosa permitiu uma leve dissolução, sendo a única que apresentou um leve aumento na banda de absorção, como observado na Figura 28.

Apesar do fungo se desenvolver na presença do fast blue RR durante o seu desenvolvimento em meio de cultivo líquido, não foi possível observar uma variação da banda de absorção em relação à presença do corante. Além disso, durante a filtração, o corante insolúvel ficou retido no papel filtro (Figura 29), por isso a concentração do corante no sobrenadante foi baixa, dificultando a visualização do espectro de absorção do UV-VIS.

Figura 29 - Grânulos do corante fast blue RR retidos no papel de filtro.



Fonte: Autores (2017).

Na espectroscopia no UV-VIS, cada tipo de biomolécula interage com a luz de maneira diferenciada, pois apresenta grupos funcionais diferentes, e isso é refletido no seu espectro. As proteínas apresentam uma intensa banda de absorção centrada próxima a 220 nm, correspondente à absorção da ligação peptídica entre os resíduos. Já o espectro dos aminoácidos aromáticos, absorve mais intensamente na região de 280 nm (LOPES, GARCIA, DAMALIO, 2012). Sabendo disso, e a partir das Figuras 26, 27 e 28, podemos observar uma banda de absorção na região entre 250 e 300 nm, chegando a conclusão de que houve uma produção de enzimas no meio de cultivo líquido a partir do crescimento do *P. ostreatus florida*.

Com base nas Figuras 26, 27 e 28, também observa-se a presença da glucose no meio de cultivo B a partir da análise do espectro, estando representada pela banda na faixa entre 250 e 300 nm, sendo a banda de absorção da glucose entre 260 e 270 nm (KAIJANEN et al., 2015).

6. CONSIDERAÇÕES FINAIS

O *Pleurotus ostreatus florida* conseguiu se desenvolver adequadamente em todos os meios de cultivo sólidos e nas diferentes concentrações dos corantes alaranjado de metila, vermelho de metila e fast blue RR.

Entretanto, apesar do bom desenvolvimento geral do *P. ostreatus florida*, na concentração de 1% dos corantes o crescimento fúngico foi reduzido, chegando a ser tóxica para o fungo no caso do corante fast blue RR, impedindo o seu desenvolvimento.

Nos meios de cultivo com os azocorantes alaranjado de metila e vermelho de metila, principalmente na concentração 0,01%, houve a formação de um halo de descoloração, indicando que possivelmente o microrganismo utilizou o azocorante disponível no meio como uma fonte de nitrogênio substituta ao extrato de levedura.

Para o meio de cultivo líquido, notou-se uma maior dificuldade no crescimento do *P. ostreatus florida*, resultado da maior disponibilidade dos azocorantes no meio e ausência de outras fontes nutricionais mais acessíveis ao microrganismo.

Além do alaranjado de metila apresentar um halo de descoloração nítido no meio de cultivo sólido, durante as observações do meio de cultivo líquido, houve um deslocamento banda de absorção do corante, indicando que ocorreu alguma interação entre o fungo e o corante.

Para as análises de espectrofotometria no UV-VIS, a dificuldade de solubilização do fast blue RR impediu a leitura da banda de absorção do meio, reduzindo o acesso do microrganismo ao corante, impedindo a sua adsorção.

Apesar de também haver uma dificuldade na dissolução do vermelho de metila nos meios de cultivo líquido, pelo espectro de absorção gerado, percebe-se que houve uma alteração da banda de absorção do corante. Essa alteração do espectro indica que o *Pleurotus ostreatus florida* interagiu com o vermelho de metila demonstrando capacidade para ser utilizado na degradação do corante.

Sabendo-se que se o fungo é capaz de interagir em experimentos laboratoriais com os corantes puros, possivelmente o *Pleurotus ostreatus florida* consegue atuar em efluentes líquidos reais. Sendo assim, vê-se a importância de realizar estudos prévios em laboratório para posteriormente fazer análises em bancada com efluentes provindos de indústrias que utilizam corantes em seu processo produtivo.

Portanto, mais estudos sobre as interações de outros corantes com o *P. ostreatus florida* devem ser realizados visando entender seus mecanismos mais profundamente com o objetivo de obter resultados positivos para o tratamento biológico de efluentes líquidos.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALMEIDA, A. C. M. de. **Estudo da biodegradação de corantes azóicos por inóculo proveniente de biodigestor anaerobio de alimentos**. 2008. 100 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Biológicas). Instituto de Biociências de Rio Claro, Universidade Estadual Paulista, Rio Claro.

ALMEIDA, E. J. R. **Estudo da biorremediação dos azo corantes têxteis Acid Blue 161 e Procion Red MX-5B por fungos filamentosos em solução simples e solução binária associado a testes de toxicidade com *Lactuca sativa* e *Artemia salina***. 2013. 167 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Biológicas). Instituto de Biociências de Rio Claro, Universidade Estadual Paulista, Rio Claro.

AMORIM, C. C.; LEÃO, M. M. D.; MOREIRA, R. F. P. M. Comparação entre diferentes processos oxidativos avançados para degradação de corante azo. **Engenharia Sanitária e Ambiental**, Belo Horizonte, v. 14, n. 4, p. 543-550, out/dez. 2009.

ARAÚJO, M. E. M. Corantes naturais para têxteis - da antiguidade aos tempos modernos. **Conservar Patrimônio**, Lisboa, n. 3 e 4, p. 37-49. 2007.

BABÁ, A. Y.; ROSADO, F. R.; ZONETTI, P. C. Biorremediação de efluentes líquidos por meio da ação do *Pleurotus spp.* In: ENCONTRO INTERNACIONAL DE PRODUÇÃO CIENTÍFICA CESUMAR, 6, 2009, Maringá. **Anais eletrônicos do 6º Encontro Internacional de Produção Científica Cesumar**. Maringá: Unicesumar, 2009. Disponível em: <https://www.unicesumar.edu.br/epcc-2009/wp-content/uploads/sites/77/2016/07/adriane_yumi_baba.pdf>. Acesso em: 15 fev. 2017.

BALAMURUGAN, B., THIRUMARIMURUGAN, M.; KANNADASAN, T. Anaerobic degradation of textile dye bath effluent using *Halomonas sp.* **Bioresource Technology**, Krishnankoil, v. 102, n. 10, p. 6365- 6369, maio. 2011.

BARROS, A. A.; BARROS, E. B. P. **A química dos alimentos: produtos fermentados e corantes**. São Paulo: Sociedade Brasileira de Química, 2010. v. 4.

BORGES, T. C.; GRIGOLLI, P. J.; GRACIOLLI, L. A. Produção do cogumelo comestível *Pleurotus florida* em resíduos de macadâmia. In: ENCONTRO DE CIÊNCIAS DA VIDA, 1, 2007, Ilha Solteira. **Anais eletrônicos do 1º Encontro de Ciências da Vida**. Ilha Solteira: UNESP, 2007. Disponível em: <<http://www.feis.unesp.br/Home/Eventos/encivi/iencivi-2007/64-talita-c.b..pdf>>. Acesso em: 18 fev. 2017.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução ANVISA nº 387, de 1999. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, n. 151, p. 69-77, ago. 1999.

BRASIL. Ministério da Saúde. Comissão Nacional de Normas e Padrões para Alimentos. Resolução CNNPA nº 44, de 1977. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, seção 1, fev/abr. 1978.

BRONDANI, P. B. **Preparação de um corante: alaranjado de metila**. Universidade Federal de Santa Catarina. 2017. (Experiência 5). Disponível em: <http://nuquiocat.quimica.blumenau.ufsc.br/files/2017/02/EXPERIMENTO-05_Si%CC%81ntese-de-um-corante.pdf>. Acesso em: 30 jan. 2017.

BURATINI, S. V. Biodegradação. In: ZAGATTO, P. A.; BERTOLETTI, E. (Eds.). **Ecotoxicologia aquática: princípios e aplicações**. 2 ed. São Carlos: RiMa, 2008. p. 89-116.

BURATINI, S. V.; BRANDELLI, A. Bioacumulação. . In: ZAGATTO, P. A. (Eds.); BERTOLETTI, E. (Ed.). **Ecotoxicologia aquática: princípios e aplicações**. 2 ed. São Carlos: RiMa, 2008. P. 55-88.

CADORIN, B. M. **Degradação do corante alaranjado de metila por plasma frio de descarga corona**. 2012. 115 f. Dissertação (Mestrado em Química) - Centro de Ciências Físicas e Matemáticas, Universidade Federal De Santa Catarina, Florianópolis.

CARVALHO, C. C. **Produção de ligninases por basidiomicetos através de Fermentação em estado sólido, caracterização e aplicação das enzimas**. 2005, 112f. Dissertação (Mestrado em Microbiologia Aplicada) – Universidade Estadual Paulista, São Paulo, 2005.

ÇETIN, D., DONMEZ, G., Decolorization of reactive dyes by mixed cultures isolated from textile effluent under anaerobic conditions. **Enzyme and Microbial Technology**. Ankara, v. 38, p. 926-930. 2006.

CHEQUER, F. M. D. et al. Textile Dyes: Dyeing Process and Environmental Impact. In: CHEQUER, F. M. D. et al. **Eco-Friendly Textile Dyeing and Finishing**. InTech, 2013. p. 151-176.

COLEMAN, G. R. Conheça os fungos da podridão da madeira. **Concise Guide to the identification of Insect attack and fungal decay of Timbers**. Tradução António de Borja Araújo, 2003. Disponível em: <<https://5cidade.files.wordpress.com/2008/04/conheca-os-fungos-da-podridao-da-madeira.pdf>>. Acesso em: 15 fev. 2017.

COLOUR INDEX. **Definitions of a dye and a pigment**. [201-]. Disponível em: <<https://colour-index.com/definitions-of-a-dye-and-a-pigment>>. Acesso em: 14 fev. 2017.

CONSTANT, P. B. L., STRINGHETA, P. C., SANDI, D. Corantes Alimentícios. **B. CEPPA**, Curitiba, v. 20, n. 2, p. 203-220, jul/dez. 2002.

CUNHA, B. S. **Utilização de bioissorventes alternativos na remoção de corantes têxteis**. 2014. 63 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Engenharia Ambiental) - Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Medianeira, 2014.

DINIZ, G. F. D. **Emprego de fungos na descoloração e redução da toxicidade de corantes têxteis**. 2015. 39 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em

Engenharia Agrônômica) - Universidade Federal de São João Del Rei, Sete Lagoas, 2015.

ESPOSITO, E; AZEVEDO, J. L. **Fungos: uma introdução à biologia, bioquímica e biotecnologia**. Caxias do Sul: EDUCS, 2004. 510 p.

FLECK, L. **Aplicação do controle estatístico de processos ao tratamento de um efluente têxtil por eletrofloculação**. 2011. 43 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Tecnologia de Gestão Ambiental) - Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Medianeira, 2011.

FORGACS, E.; CSERHÁTI, T.; OROS, G. Removal of synthetic dyes from wastewaters: a review. **Environmental Internacional**, Budapeste, v. 30, p. 953-971, maio. 2004.

FREIRE, L. S.; FREITAS, A. K. N.; PAZ, H. C.; OLIVEIRA, M. C. V.; NUNES, R. G. F. L. Identificação e toxicologia dos corantes utilizados em preparados sólidos para refresco por meio da análise de rótulos. In: SIMPÓSIO DE SEGURANÇA ALIMENTAR, 5, 2015, Bento Gonçalves. **Anais eletrônicos do 5º Simpósio de Segurança Alimentar**. Bento Gonçalves: Sociedade Brasileira de Ciência e Tecnologia de Alimentos, 2015. Disponível em: <<http://www.ufrgs.br/sbctars-eventos/gerenciador/painel/trabalhosversaofinal/SAL184.pdf>>. Acesso em: 15 fev. 2017.

GEMACOM. Azo corantes: estrutura e implicações tecnológicas em alimentos. **Food Ingredients Brasil (Dossiê)**, n. 9, p. 54-55, 2009.

GRASSI, E.; SCODELLER, P.; FILIEL, N.; CARBALLO, R.; LEVIN, L. **Potential of *Trametes trogii* culture fluids and its purified laccase for the decolorization of different types of recalcitrant dyes without the addition of redox mediators**. International Biodeterioration & Biodegradation, Buenos Aires, v. 65, p. 635 - 643, abr. 2011.

GOMES, E.; FERREIRA, D. A.; MONTE, F. J. Q.; ASSUNÇÃO, J. C. C. Síntese e aplicação de corantes têxteis. In: Congresso de Pesquisa e Inovação da Rede Norte Nordeste de Educação Tecnológica, 5, 2010, Maceió. **Anais eletrônicos do 5º Congresso de Pesquisa e Inovação da Rede Norte Nordeste de Educação Tecnológica**. Maceió: Secretaria de Educação Profissional e Tecnológica, 2010. Disponível em: <<http://congressos.ifal.edu.br/index.php/connepi/CONNEPI2010/paper/viewFile/781/487>>. Acesso em: 03 mar. 2017.

GOMES, L. M. M. **Inclusão de carotenoides de pimentão vermelho em ciclodextrinas e avaliação da sua estabilidade, visando aplicação em alimentos**. 2012. 108 p. Dissertação (Mestre em Ciências Aplicadas) - Faculdade de Farmácia, Universidade Federal Fluminense, Niterói, 2012.

GUARATINI, C. C. I., ZANONI, M. V. B. Corantes têxteis. **Química Nova**, Araraquara, v. 23, n. 1, p. 71-78. 2000.

GUNDE-CIMERMAN, N. Medicinal Value of the genus *Pleurotus* (Fr.) P. Karst. (*Agaricales* s.l., Basidiomycetes). **International Journal of Medicinal Mushrooms**, Ljubljana, v. 1, p. 69-80. 1999.

IMMICH, A. P. S. **Remoção de corantes de efluentes têxteis utilizando folhas de *Azadirachta indica* como adsorvente**. 2006. 119 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química) - Centro Tecnológico, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2006.

INSTITUTO BRASILEIRO DE DEFESA DO CONSUMIDOR. **Cuidado com os corantes em alimentos**. 2017. Disponível em: <<http://www.idec.org.br/consultas/dicas-e-direitos/cuidados-com-os-corantes-dos-alimentos>>. Acesso em: 14 fev. 2017.

INMETRO. **Corantes azoicos**. 2012. Disponível em: <<http://www.inmetro.gov.br/barreirastecnicas/Exigencias/corante/corante.asp>>. Acesso em 15 fev. 2017.

JERONIMO, R. A. S.; MORAIS, M. M.; PAZ, Y. M.; HOLANDA, R. M. Avaliação e identificação da toxicidade na indústria têxtil: proposta metodológica para produção mais limpa. In: INTERNATIONAL WORKSHOP ADVANCES IN CLEANER PRODUCTION, 5, 2015, São Paulo. **Anais eletrônicos do 5º International Workshop Advances in Cleaner Production**. São Paulo: UNIP, 2015. Disponível em: <http://www.advancesincleanerproduction.net/fifth/files/sessoes/6B/1/jeronimo_et_al_a_cademic.pdf>. Acesso em: 26 fev. 2017.

KAIJANEN, L.; PAAKKUNAINEN, M.; PIETARINEN, S.; JERNSTRÖM, E.; REINIKAINEN, P. Ultraviolet detection of monosaccharides: multiple wavelength strategy to evaluate results after capillary zone electrophoretic separation. **International Journal of Electrochemical Science**, Lappeenranta, v. 10, p. 2950-2961, fev. 2015.

KAUSHIK, P.; MALIK, A. Fungal dye decolourization: recent advances and future potential. **Environment International**, Nova Delhi, v. 35, n. 1, p. 127-141, jan. 2009.

KIRAN, I.; AKAR, T.; TUNALI, S. Biosorption of PB (II) and Cu (II) from aqueous solutions by preteated biomass of *Neurospora crassa*. **Process Biochemistry**, Eskisehir, v. 40, p. 3550-3558, mar. 2005.

KHOURI, S. J.; ABDEL-RAHIM, I. A.; ALSHAMAILEH, E. M.; ATWAIQ, A. M. Equilibrium and structural study of m-Methyl Red in aqueous solutions: Distribution Diagram Construction. **Journal of Solution Chemistry**, Nova Iorque, v. 42, out. 2013.

KOMURA, D. L. ***Pleurotus ostreatus* variedade *florida***: Caracterização estrutural de polissacarídeos do micélio e exopolissacarídeos. 2009. 79 f. Dissertação (Mestrado em Ciências) - Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2009.

KUNJADIA, P. D.; SANGHVI, G. V.; KUNJADIA, A. P.; MUKHOPADHYAY, P. N.; DAVE, G. S. Role of ligninolytic enzymes of white rot fungi (*Pleurotus spp.*) grown with azo dyes. **SpringPlus**, v. 5, n. 1, set. 2016.

KUNZ, A.; PERALTA-ZAMORA, P.; MORAES, S. G.; DURÁN, N. Novas tendências no tratamento de efluentes têxteis. **Química Nova**, São Paulo, v. 25, n. 1, p. 78-82, jul. 2002.

LEAL, C. S. M. **Solubilidade de corantes azo**. 2011. 94 f. Dissertação (Mestrado em Química Industrial) - Faculdade de Ciências, Universidade da Beira Interior, Covilhã, 2011.

LJUBAS, D.; SMOLJANIC, G.; JURETIC, H. Degradation of Methyl Orange and Congo Red dyes by using TiO₂ nanoparticles activated by the solar and the solar-like radiation. **Journal of Environmental Management**, v. 161, p. 83-91, set. 2015.

LOPES, J. L. S.; GARCIA, A. F.; DAMALIO, J. C. P. **Estudos estruturais e funcionais de proteínas**. Brasília: W Educacional Editora e Cursos Ltda, 2012. v. 2.

LOPES, T. J.; XAVIER, M. F.; QUADRI, M. G. N.; QUADRI, M. B. Antocianinas: uma breve revisão das características estruturais e da estabilidade. **Revista Brasileira de Agrociência**, Pelotas, v. 13, n. 3, p. 291-297, jul-set. 2007.

MADIGAN, M.T.; MARTINKO, J. M.; BENDER, K. S.; BUCKLEY, D. H.; STAHL, D.A. **Microbiologia de Brock**. 14 ed. Porto Alegre: Artmed, 2016. 960 p.

MAINYA, N. O; TUM, P.; MUTHOKA, T. M. Photodegradation and adsorption of Methyl Orange and Methylene Blue dyes on TiO₂. **International Journal of Science and Research**, Kisii, v. 4, n. 4, p. 3185-3189, abr. 2015.

MARQUES, L. A. **Análise do crescimento dos fungos *Pleurotus ostreatus florida*, *Verticillium lecanii* e *Lasiodiplodia theobromae* na presença do azo corante vermelho congo**. 2013. 84 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Engenharia Ambiental) - Faculdade de Ciências e Tecnologia, Universidade Estadual Paulista, Presidente Prudente, 2013.

MASCARENHAS, J. M. O. **Corantes em alimentos: perspectivas, usos e restrições**. 1998. 158 f. Dissertação (Mestrado em Ciências). Faculdade de Ciência e Tecnologia de Alimentos, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 1998.

MEEHAN, C.; BANAT, I. M.; McMULLAN, G.; NIGAM, P.; SMYTH, F.; MARCHANT, R. Decolorization of Remazol Black B using a thermotolerant yeast, *Kluyveromyces marxianus* IMB3. **Environment International**, Irlanda do Norte, v. 26, n. 1-2, p. 75-79, ago. 2000.

MENDONÇA, J. N. **Identificação e isolamento de corantes naturais produzidos por actinobactérias**. 2011. 121 f. Dissertação (Mestrado em Ciências) – Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2011.

MENEZES, F. P. **Degradação de biossólido por fungos lignocelulolíticos**. 2013. 102 f. Tese (Doutorado em Ciência do Solo) - Centro de Ciências Rurais, Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria.

MODA, E. M.; SPOTO, M. H. F.; HORII, J.; ZOCCHI, S. S. Uso de peróxido de hidrogênio e ácido cítrico na conservação de cogumelos *Pleurotus sajor-caju* in natura. **Revista Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 25, n. 2, p. 291-296, abr-jun. 2005.

MORAES, S. G.; FREIRE, R. S.; DURÁN, N., Degradation and toxicity reduction of textile effluent by combined photocatalytic and ozonation processes. **Chemosphere**, Campinas, v. 40, n. 4, p. 396-373, fev. 2000.

NAGEL-HASSEMER, M. E.; CORAL, L. A.; LAPOLLI, F. R.; AMORIN, M. T. S. P. Processo UV/H₂O₂ como pós-tratamento para remoção de cor e polimento final em efluentes têxteis. **Química Nova**, Florianópolis, v. 35, n. 5, p. 900-904, jun. 2012.

NATIONAL CENTER FOR BIOTECHONOLGY INFORMATION. **Methyl Red**. 2017. Disponível em: <<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/10303>>. Acesso em 30 jan. 2017.

OLIVEIRA, J. R.; SOUZA, R. R. **Biodegradação de efluentes contendo corantes utilizados na indústria têxtil**. In: SEMINÁRIO DE PESQUISA FAP-SE, 2003, Aracajú. Anais eletrônicos Seminário de Pesquisa FAP-SE. Aracajú: UFS, 2003. Disponível em: <<http://www.fapitec.se.gov.br/sites/default/files/documentos/joao%20daltro/biodegradacao.pdf>>. Acesso em 30 jan. 2017.

ORTIZ-MONSALVE, S. **Estudos de descoloração de corantes para couro pelo isolado nativo *Trametes villosa* SC10**. 2015. 171 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química) – Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2015.

PEIXOTO, F., MARINHO, G., RODRIGUES, K. Corantes têxteis: uma revisão. **Holos**, Ceará, v. 5, p. 98-106, out. 2013.

PEREIRA, A. R. B.; BUENO, F. L.; SANTOS, S. C.; LIMA, C. A. A.; DIAS, A. L. T. Biodegradation of dyes and textiles effluents by fungi. **HOLOS Environment**, v. 10, n. 2, 2010, p. 165-179.

PINTO, F. F. **Degradação de madeira por fungos: aspectos biotecnológicos e de biorremediação**. Belo Horizonte, MG: Universidade Federal de Minas Gerais, 2006. Disponível em: <http://www.bibliotecadigital.ufmg.br/dspace/bitstream/handle/1843/BUOS-9RPGD5/monografia___fagner.pdf?sequence=1>. Acesso em: 30 jan. 2017.

REMEL. **Methyl Red**. Lenexa. 2012. Disponível em: <<https://tools.thermofisher.com/content/sfs/manuals/IFU21236.pdf>> Acesso em: 30 jan. 2017.

REZENDE, M. I.; BARBOSA, A. M.; VASCONCELOS, A. F. D.; HADDAD, R.; DEKKER, R. F. Growth and production of laccases by the ligninolytic fungi, *Pleurotus ostreatus* and *Botryosphaeria rhodina*, cultured on basal medium containing the

herbicide, Scepter® (imazaquin). **Journal of Basic Microbiology**, Londrina, v. 45, n. 6, p. 460-469, dez. 2005.

RODRIGUES, K. A. **Uso de reatores biológicos com fungos para remoção de fenol de água residuária sintética**. 2006. 145 p. Tese (Doutorado em Hidráulica e Saneamento) – Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2006.

ROSOLEN, L. A.; MONTEIRO, R. T. R.; DELLAMATRICE, P. M.; KAMIDA, H. M. Biodegradação de efluente têxtil e nove corantes técnicos utilizando fungos basidiomicetos. **Revista Química Têxtil**, n. 76, p. 44-52, set. 2004.

ROYER, B. **Remoção de corantes têxteis utilizando casca de semente de *Araucaria angustifolia* como biossorvente**. 2008. 68f. Dissertação (Mestrado em Química) - Instituto de Química, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2008.

SAMANTA, A. K.; AGARWAL, P. Application of natural dyes on textiles. **Indian Journal of Fibre & Textile Research**, Kolkata, v. 34, p. 384-399, dez. 2009.

SAMPIETRO, D. A.; VATTUONE, M. A.; CATALÁN, C. A. N. A new colorimetric method for determination of alkylresorcinols in ground and whole-cereal grains using the diazonium salt Fast Blue RR. **Food Chemistry**, Argentina, v. 115, n. 3, p. 1170 - 1174, dez. 2009.

SALEM, V.; MARCHI, A.; MENEZES, F. G., **O beneficiamento têxtil na prática**. 1 ed. São Paulo: Golden Química do Brasil, 2005. 164 p.

SAXENA, S; RAJA, A. S. M. Natural dyes: sources, chemistry, application and sustainability. In: MUTHU, S. S. **Roadmap to sustainable textiles and clothing: Textile Science and Clothing Technology**. Singapore: Springer Singapore, 2014, v. 1, p.37-80.

SCHIFFER, D.; TEGEL, G.; VIELNASCHER, R.; HANSJOERG, W.; SCHOEFTNER, R.; WIESBAUER, H.; SIGL, E.; HEINZLE, A.; GUEBITZ, G. M. Fast Blue RR - Siloxane derivatized materials indicate wound infection due to a deep blue color development. **Materials**, v. 8, p. 6633-6639, jun/set. 2015.

SILVA, M. C. **Degradação de corantes e remediação de efluentes têxteis por extrato bruto de peroxidase de nabo**. 2011. 136 f. Tese (Doutorado em Agroquímica) – Universidade Federal de Lavras, Lavras.

SOUZA, A. F.; ROSADO, F. R. Utilização de fungos basidiomicetos em biodegradação de efluentes têxteis. **Revista em Agronegócios e Meio Ambiente**, Maringá, v. 2, n.1, p. 121-139, jan/abr. 2009.

SOUZA, R. M. **Corantes naturais alimentícios e seus benefícios à saúde**. 2012. 65 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Farmácia) - Colegiado de Ciências Biológicas e da Saúde, Centro Universitário Estadual da Zona Oeste, Rio de Janeiro, 2012.

STREIT, N. M.; CANTERLE, L. P.; CANTO, M. W.; HECKTHEUER, L. H. H. As Clorofilas. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 35, n. 3, p. 748-755, 2005.

TORTORA, G. J.; FUNKE, B. R.; CASE, C. L. Microbiologia. 10 ed. Porto Alegre: Artmed, 2012. 934 p.

VALDUGA, E. **Bioprodução de compostos voláteis e carotenóides por *Sporidiobolus salmonicolor* CBS 2636**. 2005. 200 f. Tese (Doutor em Engenharia Química) - Departamento de Engenharia Química e Engenharia de Alimentos, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis.

VASQUES, A. R.; SOUZA, S. M. A. G. U.; WEISSENBERG, L.; SOUZA, A. A. U.; VALLE, J. A. B. Adsorção dos corantes RO16, RR2 e RR141 utilizando lodo residual da indústria têxtil. **Engenharia Sanitária e Ambiental**, Florianópolis, v. 16, n. 3, p. 245-253, jul. 2011.

VELOSO, L. A. **Corantes e pigmentos - Dossiê Técnico**. Serviço Brasileiro de Respostas Técnicas - SBRT. Instituto de Tecnologia do Paraná, 2012. 40 p.

VOGEL, H. J. A convenient growth medium for Neurospora (Medium N). **Microbial Genetic Bulletin**, v. 13, p. 42-43, 1956.

VOGLER INGREDIENTS. A história do corante. **Ingredients Brasil (Dossiê)**, n. 9, p. 58-59, 2009.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Some aromatic amines, organic dyes, and related exposures**, Lyon. 2010. (IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans, v. 99, 706 f.).

YESILADA, O.; ASMA, D.; CING, S.; Decolorization of textile dyes by fungal pellets, *Process Biochemistry*, Malatya, v. 38, n. 6, p. 933-938, jan. 2003.

XU, J; WANG, L.; RIDGWAY, D.; MOO-YOUNG, M. Increased heterologous protein production in *Aspergillus niger* fermentation through extracellular proteases inhibition by pelleted growth. **Biotechnology Progress**, v. 16, p. 222 - 227. 2000.

ZANELLA, G.; SCHARF, M; VIERIA, G. A.; PERALTA-ZAMORA, P. Tratamento de banhos de tingimento têxtil por processos foto-fenton e avaliação da potencialidade de reuso. **Química Nova**, Blumenau, v. 33, n. 5, p. 1039-1043, dez. 2010.

ZANETTI, A. L.; RANAL, M. A. Suplementação da cana-de-açúcar com guandú no cultivo de *Pleurotus* sp. "Flórida". **Pesquisa Agropecária Brasileira**, v. 32, n. 9, p. 959-964, 1997.

ZANONI, M. V. B.; YAMANAKA, H. (Orgs.). **Corantes: caracterização química, toxicológica, métodos de detecção e tratamento**. São Paulo: Cultura Acadêmica, 2016. 344 p.

APÊNDICE A

Tabelas de crescimento do *P. ostreatus florida* em todos os meios de cultivo sólido (M1, M2, M3 e M4) na presença dos corantes alaranjado de metila, vermelho de metila e fast blue RR, respectivamente, em que se observa o valor de crescimento de cada triplicata, da média e do desvio padrão.

Tabela 5 - Halo de crescimento (cm) do *P. ostreatus florida* no com o corante alaranjado de metila, no meio de cultivo 1.

Halo de Crescimento do <i>P. ostreatus florida</i> no Meio de Cultivo 1 (cm) - Alaranjado de metila																									
	Controle					0,001%					0,01%					0,1%					1%				
Dia	P1	P2	P3	Média	DP	P1	P2	P3	Média	DP	P1	P2	P3	Média	DP	P1	P2	P3	Média	DP	P1	P2	P3	Média	DP
1	1,08	1,07	1,15	1,10	0,04	1,08	1,00	1,00	1,03	0,04	1,00	1,08	1,05	1,04	0,04	1,10	1,05	1,03	1,06	0,04	1,13	1,05	1,05	1,08	0,04
2	1,50	1,60	1,40	1,50	0,10	1,25	1,18	1,25	1,23	0,04	1,30	1,23	1,48	1,33	0,13	1,68	1,33	1,30	1,43	0,21	1,13	1,23	1,35	1,23	0,11
3	1,93	2,58	2,03	2,18	0,35	1,68	2,43	1,95	2,02	0,38	2,58	2,03	2,33	2,31	0,28	2,05	2,10	2,80	2,32	0,42	1,45	1,30	1,68	1,48	0,19
4	3,80	3,47	3,08	3,45	0,36	1,90	2,50	2,85	2,86	0,48	3,20	2,78	3,30	3,09	0,28	3,65	2,73	2,83	3,07	0,51	1,60	1,38	1,80	1,59	0,21
5	4,95	3,93	3,33	4,07	0,82	2,58	3,23	3,70	3,17	0,56	4,03	3,30	4,10	3,81	0,44	3,68	3,65	4,65	3,99	0,57	2,15	1,45	2,20	1,93	0,42
6	6,03	4,33	3,80	4,72	1,16	3,53	3,55	4,25	3,78	0,41	5,00	3,83	5,00	4,61	0,68	4,40	4,30	5,48	4,73	0,65	2,70	1,65	2,50	2,28	0,56
7	7,20	5,70	4,58	5,83	1,32	4,55	5,38	4,85	4,93	0,42	6,00	4,83	6,00	5,61	0,68	5,10	4,88	6,63	5,53	0,95	3,23	1,88	3,33	2,81	0,81
8	8,10	6,98	5,40	6,83	1,36	5,53	6,18	5,73	5,81	0,33	7,18	5,60	7,18	6,65	0,91	6,13	6,00	7,48	6,53	0,82	3,93	2,30	3,95	3,39	0,95
9	8,88	7,95	6,45	7,76	1,22	7,33	6,83	6,93	7,03	0,26	8,23	6,20	8,05	7,49	1,12	6,90	7,20	8,03	7,38	0,58	4,30	2,60	4,40	3,77	1,01
10	9,28	8,43	6,95	8,22	1,18	7,58	6,90	7,70	7,39	0,43	8,75	6,68	8,90	8,11	1,24	7,75	8,00	8,80	8,18	0,55	4,70	2,73	4,73	4,05	1,15
11	9,30	8,65	7,55	8,50	0,88	8,48	8,35	7,70	8,18	0,42	9,40	7,60	9,00	8,67	0,95	8,30	8,50	9,00	8,60	0,36	5,18	3,43	5,43	4,68	1,09
12	9,30	8,80	8,50	8,87	0,40	8,90	8,73	8,33	8,65	0,29	9,50	7,85	9,50	8,95	0,95	8,80	8,95	10,00	9,25	0,65	6,10	3,75	5,65	5,17	1,25
13	10,00	10,00	8,85	9,62	0,66	10,00	10,00	10,00	10,00	0,00	10,00	8,48	10,00	9,49	0,88	10,00	10,00	10,00	10,00	0,00	6,80	4,45	6,25	5,83	1,23
14	10,00	10,00	10,00	10,00	0,00	10,00	10,00	10,00	10,00	0,00	10,00	8,63	10,00	9,54	0,79	10,00	10,00	10,00	10,00	0,00	7,43	5,03	6,85	6,43	1,25
15	10,00	10,00	10,00	10,00	0,00	10,00	10,00	10,00	10,00	0,00	10,00	8,63	10,00	9,54	0,79	10,00	10,00	10,00	10,00	0,00	7,98	5,43	7,38	6,93	1,33

Fonte: Autores (2017).

Tabela 6 - Halo de crescimento (cm) do *P. ostreatus florida* no com o corante alaranjado de metila, no meio de cultivo 2.

Halo de Crescimento do <i>P. ostreatus florida</i> no Meio de Cultivo 2 (cm) - Alaranjado de metila																									
	Controle					0,001%					0,01%					0,1%					1%				
Dia	P1	P2	P3	Média	DP	P1	P2	P3	Média	DP	P1	P2	P3	Média	DP	P1	P2	P3	Média	DP	P1	P2	P3	Média	DP
1	1,00	1,20	1,10	1,10	0,10	1,05	1,08	1,08	1,07	0,01	1,10	1,00	1,05	1,05	0,05	1,03	1,18	1,13	1,11	0,08	1,05	1	1,1	1,1	0,05
2	1,48	1,73	1,45	1,55	0,15	1,33	1,45	1,53	1,43	0,10	1,30	1,43	1,28	1,33	0,08	1,65	1,30	1,65	1,53	0,20	1,35	1	1,25	1,2	0,18
3	2,55	1,80	2,48	2,28	0,41	2,33	2,15	2,00	2,16	0,16	2,33	2,20	2,23	2,25	0,07	2,00	2,60	2,78	2,46	0,41	1,65	1	1,675	1,4	0,38
4	3,23	2,25	3,35	2,94	0,60	2,95	2,75	2,55	2,75	0,20	2,53	2,65	2,90	2,69	0,19	2,33	3,48	3,13	2,98	0,59	1,70	1,00	1,91	1,54	0,48
5	3,975	2,63	4,08	3,56	0,81	3,63	3,73	3,45	3,60	0,14	3,18	3,70	3,23	3,37	0,29	2,93	4,23	4,15	3,77	0,73	1,83	1,18	2,15	1,72	0,50
6	4,375	3,00	4,53	3,97	0,84	4,33	4,03	3,45	3,93	0,44	3,55	4,20	3,50	3,75	0,39	2,95	4,48	4,73	4,05	0,96	2,00	1,18	2,20	1,79	0,54
7	5,45	3,43	5,10	4,66	1,08	4,60	5,33	4,23	4,72	0,56	5,00	4,48	4,30	4,59	0,36	3,38	5,35	5,68	4,80	1,24	2,40	1,48	2,85	2,24	0,70
8	4,10	6,15	6,375	5,54	1,25	5,58	6,28	5,05	5,63	0,61	5,80	4,75	4,75	5,10	0,61	4,23	6,43	6,05	5,57	1,18	2,45	1,53	3,20	2,39	0,84
9	4,63	7,08	7,15	6,28	1,44	6,08	7,08	5,63	6,26	0,74	6,23	5,30	5,03	5,52	0,63	5,45	6,83	7,00	6,43	0,85	2,93	1,66	3,25	2,61	0,84
10	5,3	8,03	7,98	7,10	1,56	6,20	7,88	7,03	7,03	0,84	6,93	5,80	6,10	6,28	0,58	7,75	6,97	7,88	7,53	0,49	2,93	1,80	3,88	2,87	1,04
11	5,88	8,48	8,58	7,64	1,53	6,95	8,45	7,70	7,70	0,75	7,55	6,75	6,68	6,99	0,48	8,50	7,67	8,20	8,12	0,42	3,35	2,00	4,40	3,25	1,20
12	6,65	8,68	8,90	8,08	1,24	7,48	8,68	8,13	8,09	0,60	8,03	7,05	7,30	7,46	0,51	8,63	8,60	8,27	8,50	0,20	3,53	2,30	4,63	3,48	1,16
13	7,00	10,00	10,00	9,00	1,73	7,90	8,80	8,78	8,49	0,51	8,20	7,28	7,55	7,68	0,48	8,85	8,87	8,83	8,85	0,02	3,93	2,60	5,15	3,89	1,27
14	7,48	10,00	10,00	9,16	1,46	8,03	10,00	8,73	8,92	1,00	8,73	7,93	8,08	8,24	0,43	8,93	8,88	8,83	8,88	0,05	4,15	3,08	5,68	4,30	1,31
15	7,95	10,00	10,00	9,32	1,18	8,38	10,00	8,83	9,07	0,84	8,95	7,95	8,08	8,33	0,54	10,00	10,00	8,93	9,64	0,62	4,43	3,33	5,95	4,57	1,32

Fonte: Autores (2017).

Tabela 7 - Halo de crescimento (cm) do *P. ostreatus florida* no com o corante alaranjado de metila, no meio de cultivo 3.

Halo de Crescimento do <i>P. ostreatus florida</i> no Meio de Cultivo 3 (cm) - Alaranjado de metila																									
	Controle					0,001%					0,01%					0,1%					1%				
Dia	P1	P2	P3	Média	DP	P1	P2	P3	Média	DP	P1	P2	P3	Média	DP	P1	P2	P3	Média	DP	P1	P2	P3	Média	DP
1	1,00	1,08	1,15	1,08	0,08	1,03	1,00	1,00	1,01	0,01	1,05	1,00	1,10	1,05	0,05	1,05	1,00	1,10	1,05	0,05	1,08	1,025	1,08	1,06	0,03
2	1,53	1,20	1,45	1,39	0,17	1,35	1,08	1,23	1,22	0,14	1,33	1,10	1,43	1,28	0,17	1,38	1,43	1,15	1,32	0,15	1,10	1,375	1,25	1,24	0,14
3	1,88	2,13	2,03	2,01	0,13	1,55	1,65	2,13	1,78	0,31	2,35	2,08	1,53	1,98	0,42	1,78	1,65	2,08	1,83	0,22	1,83	1,58	1,28	1,56	0,28
4	2,55	2,28	2,43	2,42	0,14	1,85	1,80	2,15	1,93	0,19	2,60	2,575	1,88	2,35	0,41	2,50	2,10	2,15	2,25	0,22	2,03	1,65	1,23	1,63	0,40
5	3,10	2,73	3,08	2,97	0,21	2,83	2,475	2,45	2,58	0,21	3,3	3,05	2,23	2,86	0,56	3,025	2,18	2,30	2,50	0,46	2,19	1,73	1,39	1,77	0,40
6	3,25	3,00	3,28	3,18	0,15	2,33	2,65	2,68	2,55	0,20	3,65	3,25	2,375	3,09	0,65	3,43	2,48	0,00	2,95	1,77	2,35	1,18	1,55	1,69	0,60
7	3,38	4,03	3,48	3,63	0,35	3,00	3,05	3,00	3,02	0,03	4,075	3,775	2,85	3,57	0,64	3,33	2,95	0,00	3,14	1,82	1,33	2,93	1,63	1,96	0,85
8	4,03	4,43	3,80	4,08	0,32	4,05	3,28	3,75	3,69	0,39	4,5	4	3,25	3,92	0,63	3,525	4,00	0,00	3,76	2,19	1,38	1,65	3,00	2,01	0,87
9	5,90	4,78	5,83	5,50	0,63	4,20	3,80	5,20	4,40	0,72	4,525	4,775	3,675	4,33	0,58	3,60	4,21	0,00	3,91	2,28	1,50	1,23	3,00	1,91	0,96
10	5	5,45	6,25	5,57	0,63	5,825	3,95	5,85	5,21	1,09	5,725	5,25	4,03	5,00	0,88	4,90	4,425	0,00	4,66	2,70	1,65	1,33	3,10	2,03	0,95
11	5,48	5,675	6,43	5,86	0,50	6,55	6,23	6,58	6,45	0,20	6,425	5,73	4,85	5,67	0,79	5,425	4,85	0,00	5,14	2,98	1,80	1,38	3,40	2,19	1,07
12	7,05	6,38	6,50	6,64	0,36	7,55	7,03	7,18	7,25	0,27	7,05	6,275	5,18	6,17	0,94	5,98	5,18	0,00	5,58	3,24	1,81	1,55	3,53	2,30	1,07
13	7,08	6,4	7,33	6,93	0,48	8,20	7,68	7,38	7,75	0,42	7,50	6,725	5,70	6,64	0,90	6,58	5,80	0,00	6,19	3,59	1,83	1,58	3,78	2,39	1,20
14	7,68	7,13	7,60	7,47	0,30	8,4	8,10	7,73	8,08	0,34	8,08	7,4	6,63	7,37	0,73	7,13	6,30	0,00	6,71	3,90	2,03	1,65	3,95	2,54	1,23
15	8,33	7,43	7,83	7,86	0,45	8,78	8,90	8,43	8,70	0,25	8,20	7,65	7,28	7,71	0,47	7,28	6,63	0,00	6,95	4,03	2,03	1,9	4,25	2,73	1,32

Fonte: Autores (2017).

Tabela 8 - Halo de crescimento (cm) do *P. ostreatus florida* no com o corante alaranjado de metila, no meio de cultivo 4.

Halo de Crescimento do <i>P. ostreatus florida</i> no Meio de Cultivo 4 (cm) - Alaranjado de metila																									
	Controle					0,001%					0,01%					0,1%					1%				
Dia	P1	P2	P3	Média	DP	P1	P2	P3	Média	DP	P1	P2	P3	Média	DP	P1	P2	P3	Média	DP	P1	P2	P3	Média	DP
1	1,00	1,03	1,15	1,06	0,08	1,08	1,05	1,05	1,06	0,01	1,10	1,05	1,03	1,06	0,04	1,03	1,00	1,10	1,04	0,05	1,00	1,175	1,025	1,07	0,09
2	1,18	1,68	1,33	1,39	0,26	1,58	1,28	1,60	1,48	0,18	1,30	1,33	1,40	1,34	0,05	1,45	1,18	1,43	1,35	0,15	1	1,475	1,25	1,24	0,24
3	2,13	1,68	1,43	1,74	0,35	2,13	2,08	2,23	2,14	0,08	2,13	2,20	2,05	2,13	0,08	1,68	2,28	1,83	1,93	0,31	1,00	1,9	1,625	1,51	0,46
4	2,31	2,13	1,83	2,09	0,25	2,30	2,13	2,30	2,24	0,10	2,30	2,35	2,33	2,33	0,02	1,75	2,60	1,89	2,08	0,46	1,00	2,125	1,875	1,67	0,59
5	2,50	2,875	1,98	2,45	0,45	2,78	2,75	2,63	2,72	0,08	2,38	2,65	2,95	2,66	0,29	2,00	2,7	2,225	2,31	0,36	1,00	2,5	2,25	1,92	0,80
6	2,58	3,05	2,05	2,56	0,50	3,08	2,78	2,65	2,83	0,22	2,93	2,925	2,975	2,94	0,03	2,05	3,10	2,30	2,48	0,55	1,00	2,725	2,4	2,04	0,92
7	2,65	4,40	3,05	3,37	0,92	3,375	3,45	3,05	3,29	0,21	3,15	3,45	3,25	3,28	0,15	2,35	3,43	3,00	2,93	0,54	1,00	3,1	2,7	2,27	1,12
8	3,45	4,50	3,73	3,89	0,54	3,90	3,85	3,55	3,77	0,19	3,75	3,525	3,55	3,61	0,12	2,75	3,85	2,84	3,15	0,61	1,00	3,425	3	2,48	1,29
9	4,20	4,93	5,63	4,92	0,71	4,63	4,25	4,80	4,56	0,28	4,425	4,8	4,95	4,73	0,27	2,98	4,00	2,68	3,22	0,69	1,00	3,575	3,075	2,55	1,37
10	5,43	6,73	6,25	6,13	0,66	5,78	5,10	6,03	5,63	0,48	5,40	5,20	4,40	5,00	0,53	3,28	4,25	3,38	3,63	0,54	1,00	3,8	3,275	2,69	1,49
11	6,3	7,00	7,15	6,82	0,45	6,15	5,18	6,13	5,82	0,56	5,675	6,37	5,03	5,69	0,67	3,675	4,78	3,78	4,08	0,61	1,00	4,075	3,425	2,83	1,62
12	7,73	7,18	7,38	7,43	0,28	6,975	5,40	6,65	6,34	0,83	6,83	7	5,83	6,55	0,63	4,33	4,85	4,325	4,50	0,30	1,00	4,4	3,6	3,00	1,78
13	8,18	7,63	8,18	7,99	0,32	7,50	5,68	7,23	6,80	0,98	7,225	7,58	6,40	7,07	0,60	5,60	5,38	4,63	5,20	0,51	1,00	4,575	3,8	3,13	1,88
14	8,50	8,00	8,60	8,37	0,32	7,68	6,08	7,63	7,13	0,91	7,65	7,98	6,78	7,47	0,62	5,68	5,88	5,13	5,56	0,39	1,00	4,825	4,05	3,29	2,02
15	8,58	8,43	8,60	8,53	0,09	8,08	6,33	8,25	7,55	1,06	8,025	8,025	7,1	7,55	0,53	5,98	6,05	5,53	5,85	0,28	1,00	4,85	4,05	3,30	2,03

Fonte: Autores (2017).

Tabela 9 - Halo de crescimento (cm) do *P. ostreatus florida* no com o corante vermelho de metila, no meio de cultivo 1.

Halo de Crescimento do <i>P. ostreatus florida</i> no Meio de Cultivo 1 (cm) - Vermelho de metila																									
	Controle					0,001%					0,01%					0,1%					1%				
Dia	P1	P2	P3	Média	DP	P1	P2	P3	Média	DP	P1	P2	P3	Média	DP	P1	P2	P3	Média	DP	P1	P2	P3	Média	DP
1	1,08	1,07	1,15	1,10	0,04	1,00	1,08	1,08	1,05	0,04	1,03	1,08	1,00	1,03	0,04	1,00	1,05	1,05	1,03	0,03	1,10	1,05	1	1,05	0,05
2	1,50	1,60	1,40	1,50	0,10	1,38	1,50	1,40	1,43	0,07	1,30	1,50	1,58	1,46	0,14	1,53	1,58	1,45	1,52	0,06	1,45	1,45	1,5	1,47	0,03
3	1,93	2,58	2,03	2,18	0,35	1,93	2,18	2,13	2,08	0,13	1,98	2,23	1,90	2,03	0,17	1,90	2,00	1,98	1,96	0,05	1,90	1,9	1,85	1,88	0,03
4	3,80	3,47	3,08	3,45	0,36	3,05	2,80	3,13	2,99	0,17	3,15	2,70	2,73	2,86	0,25	2,15	2,18	2,20	2,18	0,02	2,03	2,075	2	2,03	0,04
5	4,95	3,93	3,33	4,07	0,82	3,88	3,73	3,90	3,83	0,09	3,50	3,38	3,80	3,56	0,22	2,65	2,90	2,83	2,79	0,13	2,33	2,375	2,2	2,30	0,09
6	6,03	4,33	3,80	4,72	1,16	4,45	4,25	4,58	4,43	0,16	4,15	3,83	4,13	4,03	0,18	3,28	3,43	3,08	3,26	0,18	2,78	2,48	2,55	2,60	0,16
7	7,20	5,70	4,58	5,83	1,32	5,15	5,13	5,53	5,27	0,22	4,7	5	4,95	4,88	0,16	3,43	3,75	3,88	3,68	0,23	3,15	2,9	2,8	2,95	0,18
8	8,10	6,98	5,40	6,83	1,36	5,50	6,00	5,48	5,66	0,30	4,675	5,4	5,3	5,13	0,39	4,33	3,83	4,03	4,06	0,25	3,40	2,925	2,875	3,07	0,29
9	8,88	7,95	6,45	7,76	1,22	6,83	6,45	6,43	6,57	0,22	5,95	6,075	5,325	5,78	0,40	4,33	4,50	4,70	4,51	0,19	3,59	3,15	3,35	3,25	0,14
10	9,28	8,43	6,95	8,22	1,18	7,70	7,38	7,95	7,68	0,29	6,08	6,85	7,13	6,68	0,54	4,90	5,30	5,05	5,08	0,20	3,78	3,78	3,35	3,63	0,25
11	9,30	8,65	7,55	8,50	0,88	8,15	8,75	8,13	8,34	0,35	7,70	7,75	6,83	7,43	0,52	5,78	5,43	5,25	5,48	0,27	3,875	3,99	3,475	3,99	0,27
12	9,30	8,80	8,50	8,87	0,40	8,40	9,00	8,43	8,61	0,34	8,13	8,2	7,28	7,87	0,51	5,95	5,75	6,10	5,93	0,18	4,20	4,2	3,675	4,03	0,30
13	10,00	10,00	8,85	9,62	0,66	8,85	10,00	8,95	9,27	0,64	9,00	9,23	8,25	8,83	0,51	6,48	6,78	6,40	6,55	0,20	4,43	4,475	4	4,30	0,26
14	10,00	10,00	10,00	10,00	0,00	10,00	10,00	10,00	10,00	0,00	10,00	10,00	8,30	9,43	0,98	7,00	7,25	6,70	6,98	0,28	4,83	4,525	4,2	4,52	0,31
15	10,00	10,00	10,00	10,00	0,00	10,00	10,00	10,00	10,00	0,00	10,00	10,00	8,48	9,49	0,88	7,05	7,75	7,63	7,48	0,37	5,10	4,9	4,5	4,83	0,31

Fonte: Autores (2017).

Tabela 10 - Halo de crescimento (cm) do *P. ostreatus florida* no com o corante vermelho de metila, no meio de cultivo 2.

Halo de Crescimento do <i>P. ostreatus florida</i> no Meio de Cultivo 2 (cm) - Vermelho de metila																									
	Controle					0,001%					0,01%					0,1%					1%				
Dia	P1	P2	P3	Média	DP	P1	P2	P3	Média	DP	P1	P2	P3	Média	DP	P1	P2	P3	Média	DP	P1	P2	P3	Média	DP
1	1,00	1,20	1,10	1,10	0,10	1,00	1,00	1,00	1,00	0,00	1,03	1,05	1,00	1,03	0,03	1,03	1,00	1,00	1,01	0,01	1,03	1	1,05	1,03	0,03
2	1,48	1,73	1,45	1,55	0,15	1,25	1,25	1,35	1,28	0,06	1,58	1,58	1,50	1,55	0,04	1,48	1,40	1,48	1,45	0,04	1,40	1,45	1,475	1,44	0,04
3	2,55	1,80	2,48	2,28	0,41	1,85	1,83	1,88	1,85	0,03	1,90	2,40	2,35	2,22	0,28	1,83	1,85	1,85	1,84	0,01	1,83	1,825	1,925	1,86	0,06
4	3,23	2,25	3,35	2,94	0,60	2,38	1,93	2,08	2,13	0,23	3,08	2,60	3,28	2,98	0,35	2,08	2,33	2,00	2,13	0,17	1,93	2	1,93	1,95	0,04
5	3,975	2,63	4,08	3,56	0,81	2,78	2,85	3,05	2,89	0,14	3,95	3,95	3,38	3,76	0,33	2,90	2,53	2,73	2,72	0,19	2,25	2,4	2,425	2,36	0,09
6	4,375	3,00	4,53	3,97	0,84	3,23	3,28	3,85	3,45	0,35	4,45	4,23	4,23	4,30	0,29	3,40	3,08	3,03	3,17	0,20	2,55	2,68	2,65	2,63	0,07
7	5,45	3,43	5,10	4,66	1,08	4,00	3,73	3,93	3,88	0,14	4,575	4,925	5,08	4,86	0,26	3,38	3,50	3,65	3,51	0,14	2,83	3,075	2,975	2,96	0,13
8	4,10	6,15	6,375	5,54	1,25	4,15	4,30	4,10	4,18	0,10	5,25	4,975	5,15	5,13	0,14	3,78	4,10	3,75	3,88	0,20	2,95	3,375	3,25	3,19	0,22
9	4,63	7,08	7,15	6,28	1,44	4,55	4,98	4,88	4,80	0,22	5,325	5,75	5,75	5,61	0,25	4,18	4,48	4,00	4,22	0,24	3,2	3,50	3,45	3,38	0,16
10	5,3	8,03	7,98	7,10	1,56	5,73	6,20	5,33	5,75	0,44	6,45	6,33	6,55	6,44	0,11	4,38	4,60	4,85	4,61	0,24	3,35	3,575	3,88	3,60	0,26
11	5,88	8,48	8,58	7,64	1,53	6,50	6,5	5,70	6,23	0,46	7,18	7,08	7,03	7,09	0,08	5,33	4,83	5,18	5,11	0,26	3,525	3,70	3,9	3,71	0,19
12	6,65	8,68	8,90	8,08	1,24	7,03	6,73	6,60	6,78	0,22	7,58	7,40	7,20	7,39	0,19	5,40	5,125	5,30	5,28	0,14	3,65	3,80	3,95	3,80	0,15
13	7,00	10,00	10,00	9,00	1,73	7,90	7,05	8,03	7,66	0,53	8,35	8,25	8,23	8,28	0,07	5,90	5,56	5,74	5,73	0,17	3,71	3,90	4,175	3,93	0,23
14	7,48	10,00	10,00	9,16	1,46	8	7,23	8,23	7,73	0,71	8,41	8,28	8,28	8,28	0,00	6,04	6,00	6,18	6,07	0,09	3,78	3,95	4,275	4,00	0,25
15	7,95	10,00	10,00	9,32	1,18	8,35	7,80	8,50	8,08	0,39	8,48	8,40	8,43	8,43	0,04	6,18	6,4	6,20	6,26	0,12	4,2	4,00	4,625	4,31	0,44

Fonte: Autores (2017).

Tabela 11 - Halo de crescimento (cm) do *P. ostreatus florida* no com o corante vermelho de metila, no meio de cultivo 3.

Halo de Crescimento do <i>P. ostreatus florida</i> no Meio de Cultivo 3 (cm) - Vermelho de metila																									
	Controle					0,001%					0,01%					0,1%					1%				
Dia	P1	P2	P3	Média	DP	P1	P2	P3	Média	DP	P1	P2	P3	Média	DP	P1	P2	P3	Média	DP	P1	P2	P3	Média	DP
1	1,00	1,08	1,15	1,08	0,08	1,00	1,00	1,00	1,00	0,00	1,00	1,00	1,00	1,00	0,00	1,03	1,13	1,05	1,07	0,05	1,00	1	1,03	1,01	0,01
2	1,53	1,20	1,45	1,39	0,17	1,40	1,43	1,40	1,41	0,01	1,58	1,38	1,35	1,43	0,12	1,40	1,68	1,58	1,55	0,14	1,33	1,38	1,43	1,38	0,05
3	1,88	2,13	2,03	2,01	0,13	2,05	2,05	2,08	2,06	0,01	1,93	2,00	1,98	1,97	0,04	1,80	2,10	1,95	1,95	0,15	1,88	1,78	1,83	1,83	0,05
4	2,55	2,28	2,43	2,42	0,14	2,25	2,18	2,15	2,19	0,05	2,53	2,15	2,25	2,31	0,19	2,60	2,10	2,28	2,33	0,25	1,90	2,05	1,93	1,96	0,08
5	3,10	2,73	3,08	2,97	0,21	2,30	2,58	2,45	2,44	0,14	2,68	3,08	2,53	2,76	0,28	2,84	2,18	2,41	2,48	0,34	2,08	2,05	2,03	2,06	0,02
6	3,25	3,00	3,28	3,18	0,15	2,73	2,93	2,73	2,79	0,12	2,83	3,33	2,93	3,03	0,26	3,08	2,95	2,55	2,86	0,27	2,5	2,05	2,21	2,13	0,11
7	3,38	4,03	3,48	3,63	0,35	2,53	2,80	2,90	2,74	0,19	3,175	3,15	3,8	3,38	0,37	2,83	2,80	3,28	2,97	0,27	2,38	2,85	2,4	2,54	0,27
8	4,03	4,43	3,80	4,08	0,32	3,15	3,23	3,20	3,19	0,04	3,325	3,3	4,15	3,59	0,02	2,95	3,00	3,48	3,14	0,29	2,625	3,025	2,35	2,67	0,34
9	5,90	4,78	5,83	5,50	0,63	3,58	3,65	3,55	3,59	0,05	3,55	3,575	4,625	3,92	0,61	3,525	3,35	4,00	3,68	0,46	2,98	3,525	2,63	3,04	0,45
10	5	5,45	6,25	5,57	0,63	4,28	4,58	4,43	4,43	0,15	4,13	4,08	5,10	4,10	0,04	3,75	3,83	4,48	4,02	0,40	3,14	3,85	2,83	3,27	0,53
11	5,48	5,675	6,43	5,86	0,50	4,41	4,68	4,80	4,63	0,20	4,53	4,70	5,90	5,04	0,75	4,3	3,875	4,80	4,34	0,65	3,3	4,2	2,95	3,58	0,88
12	7,05	6,38	6,50	6,64	0,36	4,55	5,08	4,93	4,85	0,27	4,81	4,94	6,09	5,28	0,70	4,475	4,475	5,33	4,76	0,49	3,4	4,33	3,00	3,66	0,94
13	7,08	6,4	7,33	6,93	0,48	4,98	5,48	5,25	5,23	0,35	5,10	5,18	6,28	5,52	0,66	5,05	5,83	5,63	5,50	0,40	3,525	4,68	3,15	3,91	1,08
14	7,68	7,13	7,60	7,47	0,30	5,1	5,78	5,25	5,51	0,37	5,13	5,23	6,38	5,58	0,69	5,25	6,20	5,65	5,70	0,48	3,80	4,76	3,35	3,97	0,72
15	8,33	7,43	7,83	7,86	0,45	6,075	6,08	6,08	6,08	0,00	5,15	5,725	6,48	6,10	0,53	5,60	6,23	6,40	6,08	0,42	3,95	4,85	3,38	4,11	1,04

Fonte: Autores (2017).

Tabela 12 - Halo de crescimento (cm) do *P. ostreatus florida* no com o corante vermelho de metila, no meio de cultivo 4.

Halo de Crescimento do <i>P. ostreatus florida</i> no Meio de Cultivo 4 (cm) - Vermelho de metila																									
	Controle					0,001%					0,01%					0,1%					1%				
Dia	P1	P2	P3	Média	DP	P1	P2	P3	Média	DP	P1	P2	P3	Média	DP	P1	P2	P3	Média	DP	P1	P2	P3	Média	DP
1	1,03	1,00	1,00	1,01	0,01	1,03	1,00	1,08	1,03	0,04	1,00	1,00	1,00	1,00	0,00	1,03	1,00	1,05	1,03	0,03	1,10	1,025	1	1,04	0,05
2	1,20	1,20	1,30	1,23	0,06	1,23	1,28	1,50	1,33	0,15	1,33	1,35	1,33	1,33	0,01	1,55	1,45	1,45	1,48	0,06	1,65	1,35	1,4	1,47	0,16
3	1,90	1,98	1,85	1,91	0,06	1,75	1,93	1,80	1,83	0,09	1,93	1,90	1,85	1,89	0,04	1,85	1,88	1,85	1,86	0,01	1,80	1,725	1,975	1,83	0,13
4	2,18	2,00	1,83	2,00	0,18	2,18	2,03	2,00	2,07	0,09	2,00	2,13	2,08	2,07	0,06	2,00	1,95	1,93	1,96	0,04	1,90	1,875	2,05	1,94	0,09
5	2,33	2,08	1,85	2,08	0,24	2,40	2,40	2,45	2,42	0,03	2,45	2,48	2,30	2,41	0,09	2,25	2,25	2,23	2,24	0,01	2,05	1,95	2,05	2,02	0,06
6	2,40	2,45	2,45	2,43	0,03	2,55	2,78	2,63	2,65	0,11	2,70	2,85	2,55	2,70	0,15	2,50	2,55	2,53	2,53	0,02	2,18	2,00	2,20	2,13	0,11
7	3,40	3,18	2,68	3,08	0,37	2,83	3,10	2,85	2,93	0,15	3,15	3,15	3,2	3,17	0,03	3,03	2,90	2,80	2,91	0,11	2,68	2,58	2,6	2,62	0,05
8	4,23	4,08	3,80	4,03	0,22	3,28	3,15	3,58	3,33	0,22	3,25	3,15	3,35	3,25	0,10	3,15	3,33	3,00	3,16	0,16	2,925	2,99	2,675	2,83	0,22
9	4,45	4,88	4,70	4,68	0,21	3,525	3,25	3,93	3,59	0,48	3,6	3,425	3,625	3,55	0,11	3,40	3,73	3,63	3,58	0,17	3	3,4	2,83	3,11	0,41
10	5,30	5,48	5,23	5,33	0,13	4,15	4,48	4,28	4,30	0,16	3,73	3,95	3,85	3,84	0,11	3,90	4,05	4,00	3,98	0,08	3,55	3,5	3,125	3,39	0,23
11	5,95	6,40	6,30	6,22	0,24	4,68	5,15	4,70	4,84	0,27	4,40	4,28	4,45	4,38	0,09	4,40	4,30	4,25	4,32	0,08	3,60	3,6	3,3	3,60	0,00
12	6,2	6,50	6,38	6,44	0,09	4,78	4,55	5,20	4,84	0,33	4,63	4,53	4,50	4,55	0,07	4,55	4,35	4,4	4,38	0,04	3,83	3,675	3,36	3,62	0,24
13	6,40	7,3	7,15	6,95	0,48	5,23	5,35	5,53	5,37	0,15	5,38	5,35	5,13	5,28	0,14	4,95	5,05	5,10	5,03	0,08	3,95	4,075	3,43	3,82	0,34
14	6,75	7,36	7,15	7,09	0,31	5,23	5,35	5,85	5,48	0,33	5,4	5,7	5,39	5,54	0,22	5,19	5,38	5,15	5,26	0,16	4,05	4,1	3,44	3,86	0,37
15	7,95	7,43	7,55	7,64	0,27	5,95	6,275	5,85	6,03	0,22	5,68	6,05	5,65	5,79	0,22	5,425	5,65	5,25	5,45	0,28	4,48	4,175	3,45	4,03	0,53

Fonte: Autores (2017).

Tabela 13 - Halo de crescimento (cm) do *P. ostreatus florida* no com o corante fast blue RR, no meio de cultivo 1.

Halo de Crescimento do <i>P. ostreatus florida</i> no Meio de Cultivo 1 (cm) - Fast Blue RR																									
	Controle					0.001%					0.01%					0.1%					1%				
Dia	P1	P2	P3	Média	DP	P1	P2	P3	Média	DP	P1	P2	P3	Média	DP	P1	P2	P3	Média	DP	P1	P2	P3	Média	DP
1	1.08	1.07	1.15	1.10	0.04	1.00	1.00	1.00	1.00	0.00	1.00	1.10	1.08	1.06	0.05	1.00	1.00	1.00	1.00	0.00	1.00	1.00	1.00	1.00	0
2	1.50	1.60	1.40	1.50	0.10	1.50	1.13	1.03	1.22	0.25	1.50	1.48	1.50	1.49	0.01	1.50	1.40	1.08	1.33	0.22	1.00	1.00	1.00	1.00	0
3	1.93	2.58	2.03	2.18	0.35	1.34	1.71	1.24	1.43	0.25	1.98	2.00	2.10	2.03	0.07	1.98	1.80	1.45	1.74	0.27	1.00	1.00	1.00	1.00	0
4	3.80	3.47	3.08	3.45	0.36	1.18	2.30	1.45	1.64	0.59	2.25	2.20	2.63	2.36	0.23	2.53	1.93	2.20	2.22	0.30	1.00	1.00	1.00	1.00	0
5	4.95	3.93	3.33	4.07	0.82	1.4	3.15	2.28	2.71	0.62	2.85	2.40	3.15	2.80	0.38	2.65	2.70	2.83	2.73	0.09	1.00	1.00	1.00	1.00	0
6	6.03	4.33	3.80	4.72	1.16	0.00	3.68	3.05	3.36	1.97	3.53	3.03	3.73	3.43	0.36	2.65	3.23	2.90	2.93	0.29	1.00	1.00	1.00	1.00	0
7	7.20	5.70	4.58	5.83	1.32	0.00	3.88	3.53	3.70	2.14	4.4	3.55	4.63	4.19	0.57	3.55	4.00	3.83	3.91	0.12	1.00	1.00	1.00	1.00	0
8	8.10	6.98	5.40	6.83	1.36	0.00	4.24	4.08	4.16	2.40	4.96	3.98	5.29	4.74	0.68	4.36	4.55	4.35	4.42	0.11	1.00	1.00	1.00	1.00	0
9	8.88	7.95	6.45	7.76	1.22	0.00	4.60	4.63	4.61	2.66	5.53	4.4	5.95	5.29	0.80	5.18	5.10	4.88	5.05	0.16	1.00	1.00	1.00	1.00	0
10	9.28	8.43	6.95	8.22	1.18	0.00	5.78	5.70	5.74	3.31	6.95	5.30	7.15	6.47	1.02	6.38	6.15	5.95	6.16	0.21	1.00	1.00	1.00	1.00	0
11	9.30	8.65	7.55	8.50	0.88	0.00	6.83	6.50	6.66	3.85	7.85	5.85	8.00	6.85	1.41	7.23	7.15	6.83	7.07	0.21	1.00	1.00	1.00	1.00	0
12	9.30	8.80	8.50	8.87	0.40	0.00	7.33	8.00	7.66	4.44	8.08	6.08	8.13	7.43	1.17	7.45	7.75	7.70	7.63	0.16	1.00	1.00	1.00	1.00	0
13	10.00	10.00	8.85	9.62	0.66	0.00	7.73	9.03	8.38	4.88	8.88	6.90	10.00	8.45	2.19	8.85	8.80	8.53	8.73	0.18	1.00	1.00	1.00	1.00	0
14	10.00	10.00	10.00	10.00	0.00	0.00	8.38	9.23	8.80	5.10	10.00	7.15	10.00	9.05	1.65	10.00	10.00	8.88	9.63	0.65	1.00	1.00	1.00	1.00	0
15	10.00	10.00	10.00	10.00	0.00	0.00	8.63	10.00	9.31	5.42	10.00	7.75	10.00	9.25	1.30	10.00	10.00	10.00	10.00	0.00	1.00	1.00	1.00	1.00	0

Fonte: Autores (2017).

Tabela 14 - Halo de crescimento (cm) do *P. ostreatus florida* no com o corante fast blue RR, no meio de cultivo 2.

Halo de Crescimento do <i>P. ostreatus florida</i> no Meio de Cultivo 2 (cm) - Fast Blue RR																									
	Controle					0,001%					0,01%					0,1%					1%				
Dia	P1	P2	P3	Média	DP	P1	P2	P3	Média	DP	P1	P2	P3	Média	DP	P1	P2	P3	Média	DP	P1	P2	P3	Média	DP
1	1,00	1,20	1,10	1,10	0,10	1,10	1,20	1,00	1,10	0,10	1,08	1,08	1,00	1,05	0,04	1,00	1,00	1,00	1,00	0,00	1,00	1,00	1,00	1,00	0
2	1,48	1,73	1,45	1,55	0,15	1,55	1,53	1,75	1,61	0,12	1,68	1,53	1,70	1,63	0,09	1,05	1,00	1,38	1,14	0,20	1,00	1,00	1,00	1,00	0
3	2,55	1,80	2,48	2,28	0,41	1,85	2,33	2,43	2,20	0,31	2,075	2,30	2,38	2,34	0,05	1,45	1,25	1,68	1,35	0,14	1,00	1,00	1,00	1,00	0
4	3,23	2,25	3,35	2,94	0,60	2,68	2,50	3,18	2,78	0,35	2,63	2,98	2,83	2,81	0,18	1,775	1,33	2,03	1,68	0,49	1,00	1,00	1,00	1,00	0
5	3,975	2,63	4,08	3,56	0,81	3,00	3,15	3,53	3,08	0,11	3,13	3,53	3,33	3,33	0,20	2,05	1,50	2,35	1,78	0,39	1,00	1,00	1,00	1,00	0
6	4,375	3,00	4,53	3,97	0,84	3,5	3,63	4,13	3,56	0,09	3,60	4,03	3,95	3,86	0,23	2,80	1,70	2,53	2,11	0,58	1,00	1,00	1,00	1,00	0
7	5,45	3,43	5,10	4,66	1,08	4,40	4,70	4,98	4,69	0,29	5,03	4,93	4,63	4,86	0,21	3,63	2,40	3,43	3,15	0,66	1,00	1,00	1,00	1,00	0
8	4,10	6,15	6,375	5,54	1,25	5,05	4,85	5,46	5,12	0,31	5,20	5,41	5,31	5,31	0,11	4,13	2,81	3,76	3,57	0,68	1,00	1,00	1,00	1,00	0
9	4,63	7,08	7,15	6,28	1,44	5,70	5,00	5,95	5,55	0,49	5,38	5,90	6,00	5,76	0,34	4,63	3,23	4,10	3,98	0,71	1,00	1,00	1,00	1,00	0
10	5,3	8,03	7,98	7,10	1,56	7,20	7,05	6,23	6,83	0,52	6,63	7,30	7,35	7,09	0,40	4,78	4,03	5,65	4,82	0,81	1,00	1,00	1,00	1,00	0
11	5,88	8,48	8,58	7,64	1,53	7,83	7,53	6,63	7,08	0,64	7,80	7,35	7,85	7,67	0,28	5,53	4,75	6,28	5,52	0,76	1,00	1,00	1,00	1,00	0
12	6,65	8,68	8,90	8,08	1,24	8,21	7,7	6,80	7,25	0,64	8,00	7,48	7,93	7,80	0,28	5,98	4,83	6,80	5,81	1,40	1,00	1,00	1,00	1,00	0
13	7,00	10,00	10,00	9,00	1,73	8,60	8,70	7,75	8,23	0,67	8,73	8,48	8,75	8,65	0,15	6,925	5,83	7,90	6,86	1,47	1,00	1,00	1,00	1,00	0
14	7,48	10,00	10,00	9,16	1,46	8,76	8,78	8,30	8,61	0,27	8,85	8,48	8,80	8,71	0,20	7,55	6,50	8,18	7,34	1,18	1,00	1,00	1,00	1,00	0
15	7,95	10,00	10,00	9,32	1,18	8,93	10	8,38	9,10	0,83	10	8,83	8,93	8,88	0,07	8,10	7,10	8,58	7,60	0,71	1,00	1,00	1,00	1,00	0

Fonte: Autores (2017).

Tabela 15 - Halo de crescimento (cm) do *P. ostreatus florida* no com o corante fast blue RR, no meio de cultivo 3.

Halo de Crescimento do <i>P. ostreatus florida</i> no Meio de Cultivo 3 (cm) - Fast Blue RR																									
	Controle					0,001%					0,01%					0,1%					1%				
Dia	P1	P2	P3	Média	DP	P1	P2	P3	Média	DP	P1	P2	P3	Média	DP	P1	P2	P3	Média	DP	P1	P2	P3	Média	DP
1	1,00	1,08	1,15	1,08	0,08	1,08	1,03	1,18	1,09	0,08	1,00	1,00	1,00	1,00	0,00	1,00	1,00	1,00	1,00	0,00	1,00	1,00	1,00	1,00	0
2	1,53	1,20	1,45	1,39	0,17	1,68	1,60	1,60	1,63	0,04	1,30	1,35	1,45	1,37	0,08	1,00	1,05	1,00	1,02	0,03	1,00	1,00	1,00	1,00	0
3	1,88	2,13	2,03	2,01	0,13	2,08	2,15	2,13	2,12	0,04	1,58	1,58	1,90	1,68	0,19	1,30	1,05	1,08	1,14	0,14	1,00	1,00	1,00	1,00	0
4	2,55	2,28	2,43	2,42	0,14	2,55	2,48	2,53	2,52	0,04	1,83	1,80	2,60	2,08	0,45	1,30	1,06	1,13	1,16	0,12	1,00	1,00	1,00	1,00	0
5	3,10	2,73	3,08	2,97	0,21	2,80	2,80	2,68	2,76	0,07	2,38	2,20	2,88	2,48	0,35	1,45	1,08	1,18	1,23	0,19	1,00	1,00	1,00	1,00	0
6	3,25	3,00	3,28	3,18	0,15	2,85	2,83	2,93	2,87	0,05	2,63	2,23	3,10	2,43	0,28	1,65	1,08	1,23	1,36	0,41	1,00	1,00	1,00	1,00	0
7	3,38	4,03	3,48	3,63	0,35	3,38	3,38	3,80	3,52	0,25	2,88	3,40	3,38	3,22	0,30	2,03	1,40	1,55	1,48	0,11	1,00	1,00	1,00	1,00	0
8	4,03	4,43	3,80	4,08	0,32	3,68	3,95	4,01	3,88	0,18	3,31	3,05	3,75	3,37	0,35	1,96	1,88	1,86	1,90	0,05	1,00	1,00	1,00	1,00	0
9	5,90	4,78	5,83	5,50	0,63	3,98	4,53	4,23	4,24	0,28	3,75	2,70	4,13	3,53	0,74	1,90	2,35	2,18	2,14	0,23	1,00	1,00	1,00	1,00	0
10	5,00	5,45	6,25	5,57	0,63	5,85	5,83	0,00	5,84	0,02	4,35	2,74	6,10	4,42	2,38	2,83	2,6	2,23	2,55	0,30	1,00	1,00	1,00	1,00	0
11	5,48	5,68	6,43	5,86	0,50	6,78	6,38	0,00	6,58	0,28	6,10	2,78	6,68	5,18	2,11	3,58	3,4	2,28	3,08	0,71	1,00	1,00	1,00	1,00	0
12	7,05	6,38	6,50	6,64	0,36	7,43	6,93	0,00	6,93	0,35	6,15	2,78	6,78	5,23	2,15	3,68	3,40	2,36	3,15	0,69	1,00	1,00	1,00	1,00	0
13	7,08	6,40	7,33	6,93	0,48	8,08	7,48	0,00	7,78	0,42	7,48	2,85	8,00	6,11	2,83	4,00	4,75	2,45	3,73	1,17	1,00	1,00	1,00	1,00	0
14	7,68	7,13	7,60	7,47	0,30	8,25	7,93	0,00	7,93	0,23	8	6,70	8,13	7,41	1,01	4,78	4,88	2,60	4,08	1,29	1,00	1,00	1,00	1,00	0
15	8,33	7,43	7,83	7,86	0,45	8,53	8,30	0,00	8,41	0,16	8,025	6,70	8,28	7,49	1,11	5,13	5,00	2,85	4,33	1,28	1,00	1,00	1,00	1,00	0

Fonte: Autores (2017).

Tabela 16 - Halo de crescimento (cm) do *P. ostreatus florida* no com o corante fast blue RR, no meio de cultivo 4.

Halo de Crescimento do <i>P. ostreatus florida</i> no Meio de Cultivo 4 (cm) - Fast Blue RR																									
Dia	Controle					0,001%					0,01%					0,1%					1%				
	P1	P2	P3	Média	DP	P1	P2	P3	Média	DP	P1	P2	P3	Média	DP	P1	P2	P3	Média	DP	P1	P2	P3	Média	DP
1	1,03	1,00	1,00	1,01	0,01	1,00	1,00	1,00	1,00	0,00	1,00	1,00	1,00	1,00	0,00	1,00	1,00	1,00	1,00	0,00	1,00	1,00	1,00	1,00	0
2	1,20	1,20	1,30	1,23	0,06	1,55	1,50	1,48	1,51	0,04	1,20	1,33	1,28	1,27	0,06	1,00	1,00	1,00	1,00	0,00	1,00	1,00	1,00	1,00	0
3	1,90	1,98	1,85	1,91	0,06	1,68	1,95	2,05	1,89	0,19	1,68	1,58	1,60	1,62	0,05	1,00	1,00	1,00	1,00	0,00	1,00	1,00	1,00	1,00	0
4	2,18	2,00	1,83	2,00	0,18	1,83	1,98	2,30	2,14	0,23	1,78	2,20	2,08	2,02	0,22	1,00	1,00	1,00	1,00	0,00	1,00	1,00	1,00	1,00	0
5	2,33	2,08	1,85	2,08	0,24	2,55	2,48	2,43	2,48	0,06	2,23	2,35	2,40	2,33	0,09	1,00	1,00	1,00	1,00	0,00	1,00	1,00	1,00	1,00	0
6	2,40	2,45	2,45	2,43	0,03	2,58	2,83	2,85	2,75	0,15	2,63	2,93	2,58	2,71	0,19	1,00	1,00	1,00	1,00	0,00	1,00	1,00	1,00	1,00	0
7	3,40	3,18	2,68	3,08	0,37	3,63	3,28	3,63	3,51	0,20	3,45	3,4	3,53	3,46	0,06	1,00	1,00	1,00	1,00	0,00	1,00	1,00	1,00	1,00	0
8	4,23	4,08	3,80	4,03	0,22	3,85	3,70	3,81	3,79	0,08	3,675	3,35	3,85	3,63	0,25	1,01	1,01	1,13	1,05	0,06	1,00	1,00	1,00	1,00	0
9	4,45	4,88	4,70	4,68	0,21	4,08	4,13	4,00	4,07	0,06	3,9	3,3	4,175	3,79	0,45	1,03	1,03	1,25	1,10	0,13	1,00	1,00	1,00	1,00	0
10	5,30	5,48	5,23	5,33	0,13	5,28	5,05	5,10	5,14	0,12	4,50	4,93	4,60	4,68	0,22	1,13	1,25	1,68	1,35	0,29	1,00	1,00	1,00	1,00	0
11	5,95	6,40	6,30	6,22	0,24	5,35	5,95	6,23	5,84	0,45	4,85	5,25	5,35	5,15	0,26	1,25	1,35	1,95	1,52	0,38	1,00	1,00	1,00	1,00	0
12	6,20	6,50	6,38	6,44	0,09	5,58	6,03	6,23	5,80	0,32	5,375	5,48	5,60	5,54	0,09	1,63	1,48	2,08	1,55	0,11	1,00	1,00	1,00	1,00	0
13	6,40	7,30	7,15	6,95	0,48	7,35	7,63	6,43	7,13	0,63	7,20	6,93	7,20	7,11	0,16	2	1,98	2,65	2,31	0,48	1,00	1,00	1,00	1,00	0
14	6,75	7,36	7,15	7,09	0,31	7,88	8,525	6,975	7,79	0,78	7,70	7,45	7,60	7,58	0,13	2,30	2,13	3,15	2,53	0,55	1,00	1,00	1,00	1,00	0
15	7,95	7,43	7,55	7,64	0,27	8,2	8,65	7,88	8,24	0,39	8,25	7,93	8,15	8,11	0,17	2,30	2,28	3,15	2,71	0,62	1,00	1,00	1,00	1,00	0

Fonte: Autores (2017).