

USO DE *ASPERGILLUS NIGER* AN400 EM REATORES EM BATELADA PARA REMOÇÃO DO CORANTE VERMELHO DO CONGO DE MEIO AQUOSO SINTÉTICO

Ronald PESSOA (1); Kelly RODRIGUES (2), Rinaldo ARAÚJO (3), Suetônio MOTA (4), Glória MARINHO (5)

(1), (4) Universidade Federal do Ceará – UFC

(2), (3), (5) Centro Federal de Educação Tecnológica do Ceará (CEFET-CE), e-mail:
gloriamarinho@cefetce.br

RESUMO

A espécie *Aspergillus niger* AN 400 foi inoculada em reatores em batelada para remover corante vermelho do congo de meio sintético, na presença e ausência de glicose. Foram utilizados 84 reatores, em vidro, vedados com tampa rosqueável e com volume útil de 1,5 L. O ar foi introduzido por mini-compressores. O experimento abrangeu período de 25 dias e os reatores foram agrupados de acordo com sua respectiva função em: 14 reatores de controle sem meio suporte; 14 reatores de controle com meio suporte; 14 reatores com biomassa fúngica dispersa; 14 reatores com biomassa fúngica dispersa e adição de 1 g/L de glicose; 14 reatores com biomassa imobilizada e 14 reatores com biomassa imobilizada e adição de 1 g/L de glicose. Os resultados obtidos mostraram que a maior eficiência de remoção do corante ocorreu nos reatores contendo biomassa imobilizada, com meio com glicose (87%) e meio sem glicose (85%). A glicose, na concentração utilizada, não influenciou na eficiência do processo. A remoção de matéria orgânica, em termos de DQO, não acompanhou a remoção do corante, o que foi atribuído à provável presença de subprodutos da degradação do corante e compostos excretados no meio pelos microrganismos. A imobilização da biomassa nas espumas de poliuretano foi determinante para a eficiência do processo, uma vez que os fungos estavam estabelecidos na forma de biofilme, representando um mecanismo contra o efeito tóxico do poluente.

Palavras-chave: *Aspergillus niger*, glicose, biomassa dispersa, biomassa imobilizada, vermelho do congo.

1. INTRODUÇÃO

A grande demanda por produtos têxteis tem como consequência o aumento do volume de águas residuárias geradas, as quais constituem fontes significativas de poluição ambiental e causam problemas ao ambiente, não apenas pela sua cor, mas principalmente, pela presença dos corantes usados no tingimento dos tecidos. Estima-se que 50% dos corantes utilizados na indústria têxtil são perdidos, chegando ao ambiente juntamente com suas águas residuárias (PATEL & SURESH, 2007), exercendo impacto negativo à saúde humana devido à formação de produtos carcinogênicos quando da sua degradação.

As características das águas residuárias têxteis variam em virtude dos diferentes processos de tingimento, matérias-primas empregadas e das quantidades de substâncias utilizadas. Em geral, tais efluentes possuem pH na faixa entre 6 a 11, turbidez elevada, coloração dependente do corante predominante, teor elevado de sólidos totais (1000 a 1600 mg/L) e DBO de 200 a 600 mg/L (BRAILE & CAVALCANTE, 1993; CAMPOS & DE MIO, 1996).

Dentre os processos empregados para remoção dos corantes têxteis das águas residuárias, os biológicos têm se mostrado economicamente mais viáveis, porém o tratamento em reatores anaeróbios gera como subprodutos aminas carcinogênicas. Por outro lado, o tratamento aeróbio tem se mostrado eficaz na eliminação de aminas aromáticas formadas quando da degradação do corante (VAN DER ZEE *et al.*, 2001).

Os fungos são capazes de reciclar compostos como lignina, celulose, quitina, melanina e queratina, além de serem altamente versáteis no metabolismo de xenobióticos (PRENAFETA BOLDÚ, 2002), e por este motivo vêm sendo utilizados em reatores biológicos para o tratamento de diferentes águas residuárias como as de laticínios (SÁ, 1997; RODRIGUES, 1999), da indústria de beneficiamento da castanha de caju (SAMPAIO, 2001; FACÓ, 2002), de pesticidas (SAMPAIO, 2005) e efluentes industriais contendo fenóis (FADIL *et al.*, 2003; RODRIGUES *et al.*, 2007).

A imobilização de células fúngicas em material suporte para uso em leito de reatores é uma técnica simples e que pode resultar em maior eficiência de tratamento, haja vista que se estabelece maior tempo de contato entre o microrganismo e o substrato, no caso a água residuária. Assim, considerando a habilidade dos fungos em degradar compostos recalcitrantes, este trabalho tem por objetivo investigar a utilização de *Aspergillus niger* AN 400 para remoção do corante vermelho do congo de meio aquoso sintético em reatores em batelada com células imobilizadas e células dispersas.

2. METODOLOGIA

2.1 Cultivo, produção e contagem de esporos de *Aspergillus niger* AN 400

A espécie *Aspergillus niger* AN 400 foi cultivada em placas de Petri com meio de cultura Agar Sabouraud Dextrose acrescido de 1 mL da solução de Vishniac por litro de meio de cultura e 50 mg de cloranfenicol/L (antibiótico) para evitar a proliferação das bactérias, sendo mantidas, durante três dias, à temperatura média de 28°C. A solução de Vishniac é um meio inorgânico nutritivo contendo os seguintes componentes: EDTA – etileno diamino tetracético (10,00 g/L), ZnSO₄ · 7H₂O (4,40 g/L), MnCl₂ · 4H₂O (1,00 g/L), CoCl₂ · 6H₂O (0,32 g/L), CuSO₄ · 5H₂O (0,32 g/L), (NH₄)₆Mo₇O₂₄ · 4H₂O (0,22 g/L), CaCl₂ · 2H₂O (1,47 g/L) e FeSO₄ · 7H₂O (1,00 g/L).

Após o período de crescimento, os esporos de *Aspergillus niger* AN 400 foram removidos das placas com auxílio de 4 mL de solução Tween 80 e transferidos para tubos de ensaio. A contagem dos esporos foi realizada a partir de suspensão de esporos, previamente agitada em agitador tipo Vórtex, e diluída com solução Tween, na proporção de 1:20. Em seguida, 20 µL da solução preparada foi transferida para câmara de Neubauer e a contagem realizada em microscópio óptico.

2.2 Água residuária sintética têxtil

A água residuária foi preparada com água destilada acrescida de 30 mg/L de corante vermelho do congo, 1 mL/L de solução Vishniac e 50 mg/L de cloranfenicol, para inibição de bactérias oportunistas.

2.3 Imobilização da biomassa fúngica

Esporos de *Aspergillus niger* AN 400 ($2,0 \times 10^6$ esporos/mL) foram adicionados em reservatório de 20 L, contendo água destilada autoclavada, glicose (10 g/L), solução de Vishniac (1 mL/L), cloranfenicol (50

mg/L) e cubos de espumas de poliuretano, com aresta de 1,5 cm e previamente esterilizadas em autoclave a 121°C. O meio foi mantido sob aeração, promovida por mini-compressores de ar. Após 10 dias, em regime de imobilização, foi observado crescimento de biofilme microbiano sobre a superfície dos cubos de poliuretano. Os sistemas microbianos suportados foram posteriormente separados e cuidadosamente transferidos aos reatores em batelada para os estudos de remoção/degradação.

2.4 Estudos de remoção em batelada

Foram montados reatores em batelada com volume total de 3,5 L e volume útil de 1,5 L. Os reatores possuíam parte superior vedada por tampa rosqueável e aeração fornecida por mini-compressores difundidos no meio líquido por pedra porosa, conforme mostrado na Figura 1.

Os experimentos foram realizados em duplicata, de modo que, de um total de 84 reatores, 28 reatores operaram como controle, 28 reatores operaram com biomassa dispersa e 28 reatores operaram com biomassa imobilizada em material suporte de espuma de poliuretano.

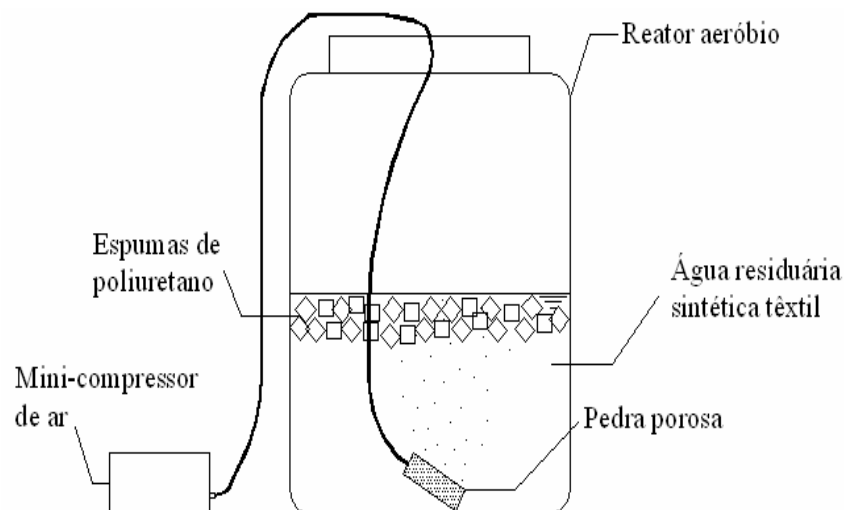


Figura 1: Detalhamento do reator em batelada utilizado no experimento.

Na Tabela 1 é apresentada a composição da água residual sintética têxtil em cada reator aeróbio. Os reatores com biomassa dispersa apresentavam-se agrupados da seguinte forma: 14 reatores tipo controle, sem material suporte (RCD); 14 reatores contendo biomassa fúngica dispersa (RFD) e 14 reatores contendo biomassa fúngica dispersa e glicose (RFDG). Nos reatores RFDG, a glicose foi adicionada como co-substrato na concentração de 1 g/L. De forma semelhante, os reatores que apresentavam biomassa imobilizada, foram organizados em grupos de controle, sem glicose e com glicose disponível no meio, sendo: 14 reatores de controle com material suporte e sem biomassa imobilizada (RCI); 14 reatores com biomassa fúngica imobilizada (RFI) e 14 reatores com biomassa fúngica imobilizada e glicose (RFIG), adicionada ao meio na concentração de 1 g/L.

Tabela 1: Composição da água residuária sintética têxtil em cada reator aeróbio estudado.

Reatores	Cloranfenicol	Glicose	Vermelho do congo	Solução V ishniac	Fungo (esporos/ml)	Suporte em poliuretano	Água destilada
RCD	50 mg/L	–	30 mg/L	1mL/L	–	–	
RCI	50 mg/L	–	30 mg/L	1mL/L	–	7 g/reator	
RFD	50 mg/L	–	30 mg/L	1mL/L	2×10^6	–	
RFI	50 mg/L	–	30 mg/L	1mL/L	2×10^6	7 g/reator	1,5 L
RFDG	50 mg/L	1 g/L	30 mg/L	1mL/L	2×10^6	–	
RFIG	50 mg/L	1 g/L	30 mg/L	1mL/L	2×10^6	7 g/reator	

2.5 Microscopia

No final da operação dos reatores, amostras da biomassa foram preparadas e submetidas à análise microbiológica. A biomassa aderida ao meio suporte foi cuidadosamente removida e diluída (10, 100 e 1000 vezes) em água destilada esterilizada (120°C a 1 atm), e em seguida 1 mL de cada dispersão foi colocado em placas de Petri contendo meio de cultura Sabouraud. As placas foram mantidas à temperatura ambiente ($27 \pm 1^\circ\text{C}$), durante o período de uma semana, para verificação do crescimento. Alíquotas da biomassa crescida foram fixadas em lâminulas com ágar para a realização da microscopia de contraste de fases, utilizando microscópio LEICA de contraste de fases e fluorescência, acoplado à câmara com captura de imagem e software Pro-plus®.

2.6 Determinação das variáveis

O acompanhamento dos processos de remoção do corante vermelho do congo foi realizado segundo as análises de DQO (demanda química de oxigênio), pH e sólidos suspensos voláteis (SSV), conforme descrito em APHA (1995). A concentração de corante, por sua vez, foi determinada por uso da cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC) em um sistema Gilson modelo 3210, equipado com detector no ultravioleta-vísivel. A separação dos compostos foi realizada em coluna C18 Hichrom 5 em modo isocrático com fase móvel metanol/água (70/30 v/v) a 270 nm e fluxo de 1 mL/min. O tempo de corrida utilizado foi de 20 minutos.

3. ANÁLISE E INTERPRETAÇÃO DE DADOS.

A adição de glicose ao meio sintético contendo vermelho do congo resultou em valores de 1530 mg DQO/L, o que representa um aumento da concentração de matéria orgânica medida no meio em 23 vezes, quando comparado ao meio sem esta fonte de açúcar.

A Figura mostra a variação da concentração de corante vermelho do congo ao longo do experimento para os reatores RCD, RCI, RFD, RFI, RFDG e RFIG.

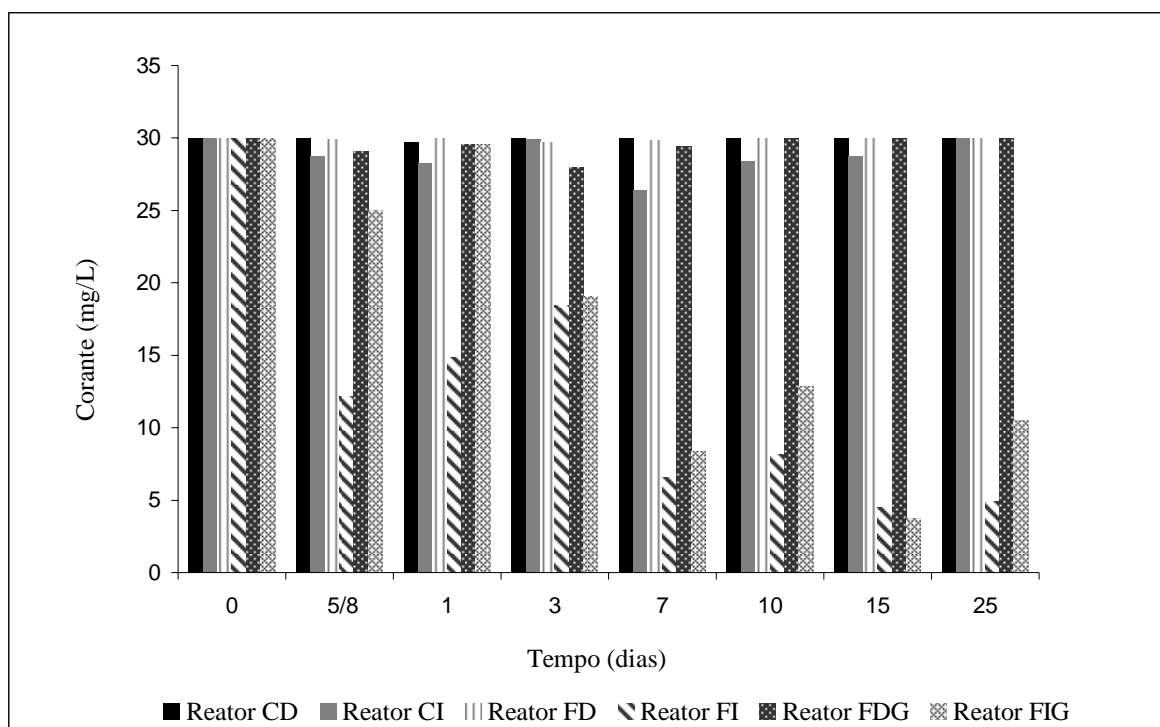


Figura 2: Variação da concentração do corante vermelho do congo ao longo do experimento em batelada para os reatores RCD, RCI, RFD, RFI, RFDG e RFIG.

Em relação aos reatores com biomassa imobilizada, as maiores reduções da concentração dos corantes foram obtidas no 15º dia, registrando-se percentuais de remoção de 87% nos reatores com biomassa imobilizada e glicose (RFIG) e de 85% nos reatores com fungos e não adicionados de glicose (RFI). Em geral, foi observada uma pequena diminuição da concentração de corante nos reatores classificados como controle (RCI), correspondente a uma remoção máxima de 12%, detectada no 7º dia. Esta percentagem provavelmente pode ser atribuída à adsorção física do corante na espuma de poliuretano (suporte).

Estes resultados mostram que a presença da glicose não foi preponderante para a diminuição da concentração de corante no meio líquido. Sumathi e Manju (2000) demonstraram a importância do uso de co-substrato no aumento da degradação por via biológica de efluentes têxteis. Por outro lado, Knapp *et al.* (1995) relataram que a presença de co-substrato pode influenciar tanto de forma positiva como negativa na degradação do poluente, pois, dependendo da sua concentração no meio, poderá ser exercido um efeito estimulante ou inibitório sobre o microrganismo.

Em particular, a inibição dos microrganismos pelo excesso de glicose foi observada por Sampaio (2005), que ao utilizar *Aspergillus niger* para remoção de metil paration em meio aquoso contendo glicose verificou a diminuição na remoção de pesticida quando do aumento da concentração de açúcar adicionada ao meio. Foram observadas remoções de metil paration de 40% quando da adição de 0,5 g/L de glicose ao meio, e posteriores reduções de eficiência até 35%, quando a glicose foi adicionada na concentração de 1 g/L.

Adicionalmente, a obtenção de uma elevada eficiência de tratamento pelo uso da glicose está relacionada, dentre outros fatores, ao microrganismo utilizado e à composição do efluente, como observado por Leitão *et al.* (2006). Estes autores ao utilizarem culturas de *Penicillium chrysogenum* enriquecidas com glicose na concentração de 3% verificaram a inibição do consumo de fenol, presente em meio sintético, para concentrações iniciais de 250 mg/L deste substrato orgânico.

Neste trabalho ao analisar os dados dos reatores que possuíam biomassa dispersa (RFD e RFDG) verificou-se que a glicose também não proporcionou melhoria na eficiência de remoção de corante. Por outro lado, os percentuais máximos de remoção da concentração de corante nestes reatores, 7% e 1%, respectivamente, foram muito inferiores àqueles alcançados nos reatores com biomassa imobilizada, demonstrando a importância do processo de imobilização na remoção/degradação do azo corante em estudo. Nos reatores controle (RCD) não houve redução apreciável da concentração de vermelho do congo.

Em tempo, os melhores percentuais de eficiência obtidos nos reatores RFI (contendo fungos imobilizados) e RFIG (contendo fungos imobilizados e glicose como co-substrato) podem ser atribuídos ao tipo de crescimento microbiano observado que neste caso foi do tipo aderido, ou seja, com formação de biofilme. O biofilme formado leva a criação de micro-ambientes que garantem a maior estabilidade dos fungos no interior dos reatores, além de facilitar o contato entre os microrganismos e o substrato (ALVES, 1999).

De acordo com Xavier *et al.* (2004), células que crescem em biofilme possuem maior atividade metabólica que células em crescimento disperso possuem resistência elevada a agentes agressivos devido à presença da matriz de substâncias poliméricas que envolvem o biofilme.

Em relação à variação de matéria orgânica, em termos de DQO bruta, verificou-se aumento da concentração inicial em todos os reatores estudados (Figura 3), provavelmente devido à formação de subprodutos decorrentes da utilização do corante pelos fungos. Em adição, as diferenças entre os valores de DQO filtrada e bruta obtidos no último dia da batelada não podem ser consideradas significativas (Tabela 2), fato este que ratifica a hipótese de que a pouca eficiência na redução de matéria orgânica estaria relacionada à presença dos subprodutos formados no meio ou às substâncias excretadas pelos fungos durante seu metabolismo (WITTEVEEN, 1993; SOUZA *et al.*, 2005; RODRIGUES, 2006).

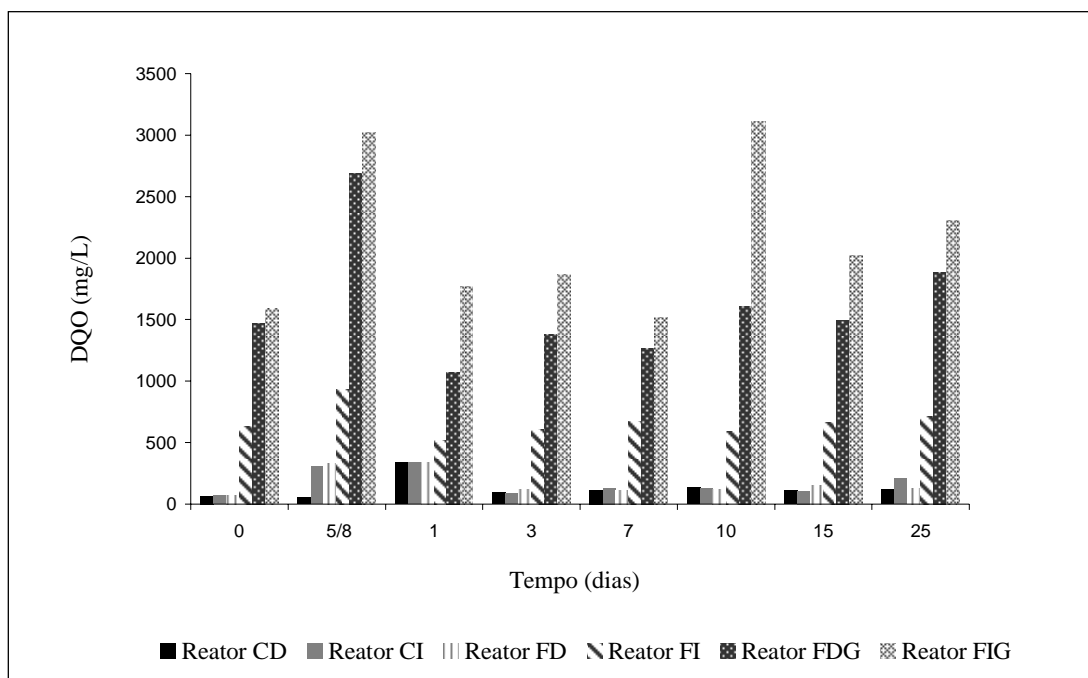


Figura 3: Variação da concentração de matéria orgânica em termos de DQO bruta nos reatores em batelada CI, CD, FI, FD, FDG e FIG.

A Figura 4 é apresenta a variação do pH nos reatores aeróbios RCI, RCD, RFD, RFDG, RFI e RFIG. Na prática, verificou-se acentuada diminuição de concentração de H^+ nos reatores que receberam biomassa imobilizada (RFI e RFIG), os quais assumiram valores de pH entre 3 e 5 durante a maior parte dos tempos de reação.

Assadi e Jahangiri (2001) observaram maiores remoções de fenóis ao utilizar o *Aspergillus niger* em meio com pH = 3, de forma que os valores alcançados (> 60%), confirmam a evidência experimental que a baixa acidez contribui para uma atividade mais degradativa para os fungos da espécie *Aspergillus*.

Tabela 2: Comparação entre os valores de DQO das amostras bruta e filtrada no 25º dia de batelada.

Reator	DQO (mg/L)	
	Amostra Bruta	Amostra Filtrada
RCI	121	129
RCD	208	197
RFD	154	131
RFDG	1887	1803
RFI	716	693
RFIG	2307	2013

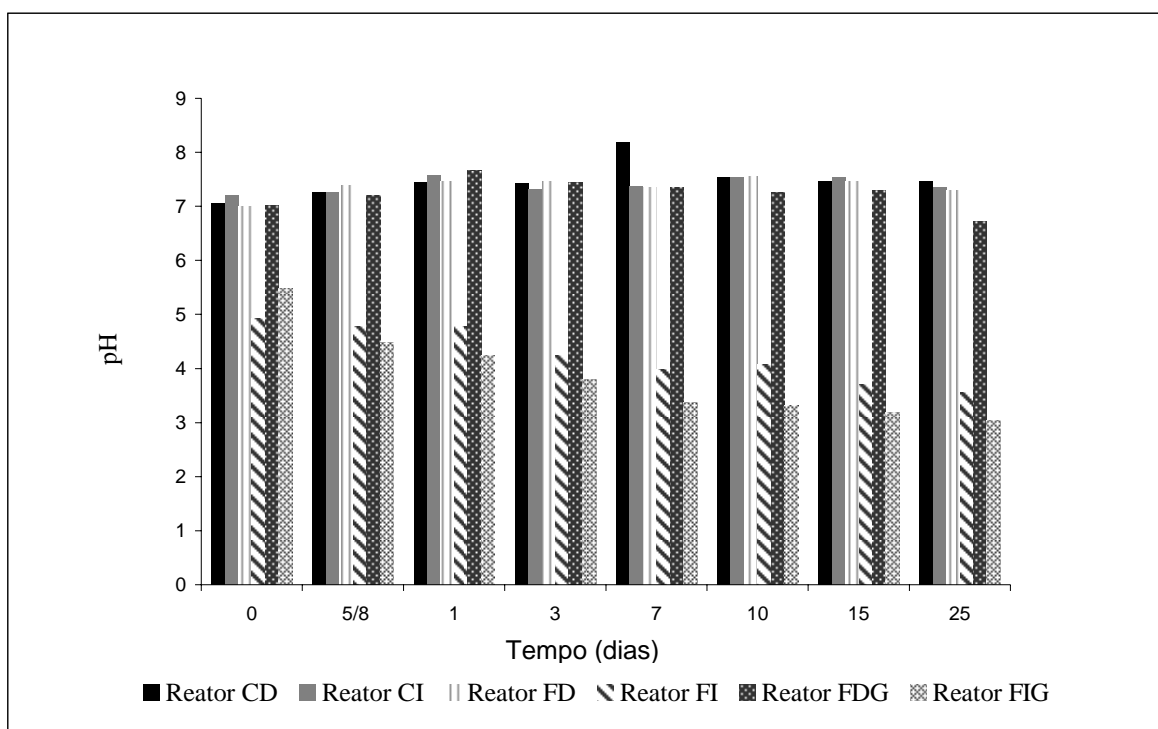


Figura 4: Variação de pH nos reatores RCI, RCD, RFD, RFDG.

Assim, os valores mais baixos de pH registrados no estudo estariam relacionados à produção de ácidos orgânicos decorrentes da utilização do corante pelos fungos, este fato também foi relatado por Assas *et al.* (2002) quando da utilização de *Geotrichum candidum* para o tratamento do efluente da indústria de azeite de oliva e por Rodrigues *et al.* (2007) quando da degradação de fenol por fungos em reatores biológicos operando sob condições de aerobiose.

Em contrapartida, nos reatores com biomassa dispersa, os valores de pH foram mais elevados (6,7 a 7,7) e a eficiência de remoção de corante foi pequena, com percentuais máximos de 7% em reatores FDG e 1% para os reatores FD. É interessante ressaltar que nos reatores com biomassa imobilizada, RFI e RFIG, a coloração foi alterada, ao longo do experimento, de vermelho para azul, ficando o meio transparente, no último dia. De acordo com Purkait *et al.* (2007), a presença de ácidos orgânicos, gerados a partir da utilização do corante, influi na coloração do meio, uma vez que em meios com pH abaixo de 5, o corante vermelho do congo comporta-se como um típico indicador ácido-base e sofre transição de cor (de vermelho para azul).

No 15º dia, quando ocorreram as maiores remoções de corante nos reatores com biomassa imobilizada (superiores a 85%), o meio apresentava pH com valores entre 3,2 e 3,7, e coloração azul. Nos reatores ditos controle (RCD e RCI), não ocorreu alteração substancial da coloração vermelha e o pH atingiu valores próximos a neutralidade, provavelmente, reflexo da menor produção de ácidos orgânicos oriundos da degradação do corante pelos microrganismos. Os percentuais máximos de remoção do corante nestes reatores foram inferiores a 12%.

A Figura 5 mostra os resultados de descoloração das amostras da água residuária ao longo da batelada. Nos reatores RFI e RFIG, a cor inicial do meio foi alterada (Figura 5a) em virtude da biomassa imobilizada em espuma de poliuretano encontrar-se inicialmente umedecida com o meio de crescimento utilizado na etapa de imobilização, que possuía pH abaixo de 5.

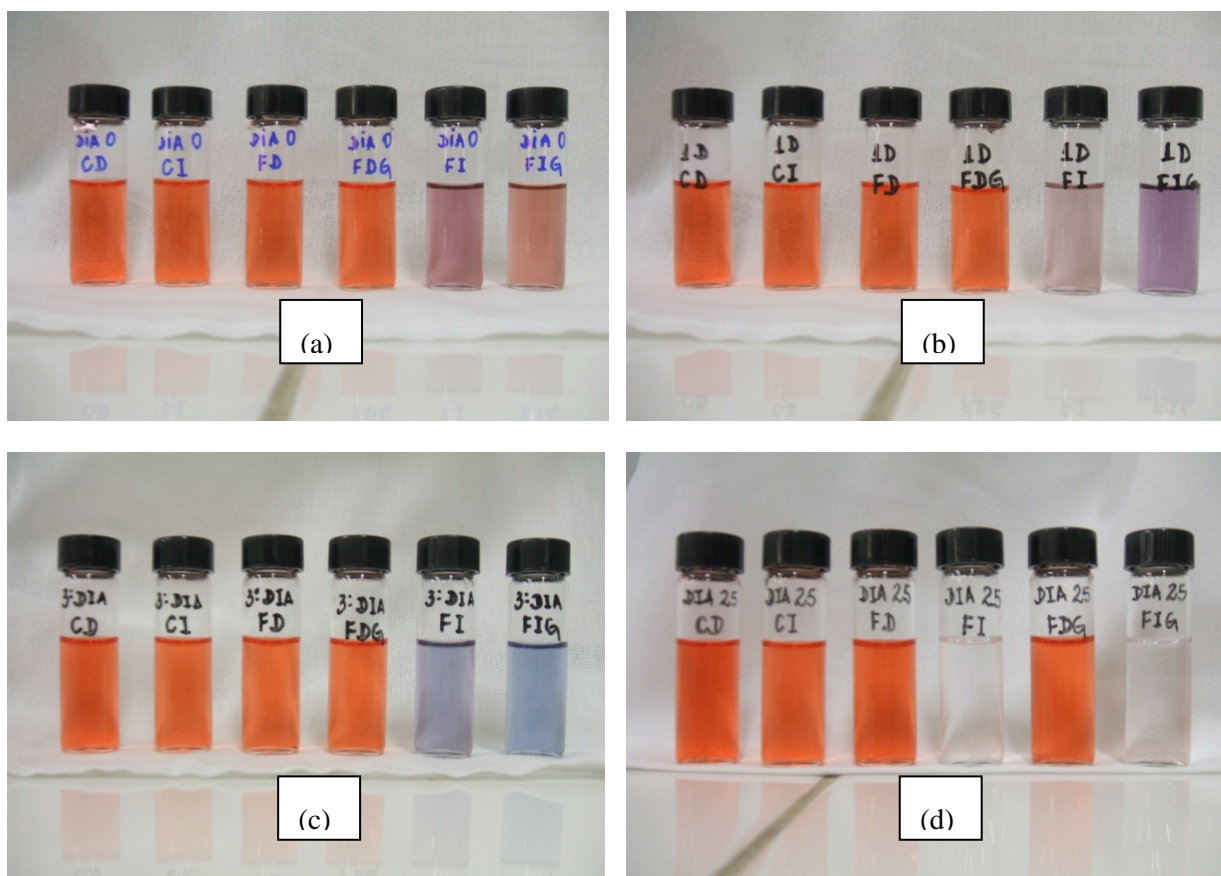


Figura 5: Variação da cor nos reatores ao longo da batelada: (a) amostras retiradas na partida; (b) amostras retiradas após o 1º dia; (c) amostras retiradas após o 3º dia; (d) amostras retiradas no 25º dia.

Em particular, nos reatores imobilizados a biomassa encontrava-se estruturalmente mais protegida do efeito tóxico do poluente, uma vez que a imobilização se constitui em uma técnica eficiente de proteção à célula microbiana das condições ambientais desfavoráveis (Nascimento e Taveira, 2001; Steffan *et al.*, 2005).

Por outro lado, as diminuições da eficiência no último dia de operação podem estar relacionadas à liberação de corante adsorvido ou armazenado nos vacúolos dos fungos como material de reserva (Rodrigues, 2006). Segundo Cole *et al.* (1998), os vacúolos fúngicos funcionam como compartimento para armazenar moléculas, freqüentemente compostos contendo fósforo e nitrogênio, que, posteriormente, são excretados pelas células, alterando a composição do meio.

Na Figura 6 está apresentada a inspeção por microscopia realizada em amostras da biomassa dos reatores em batelada.

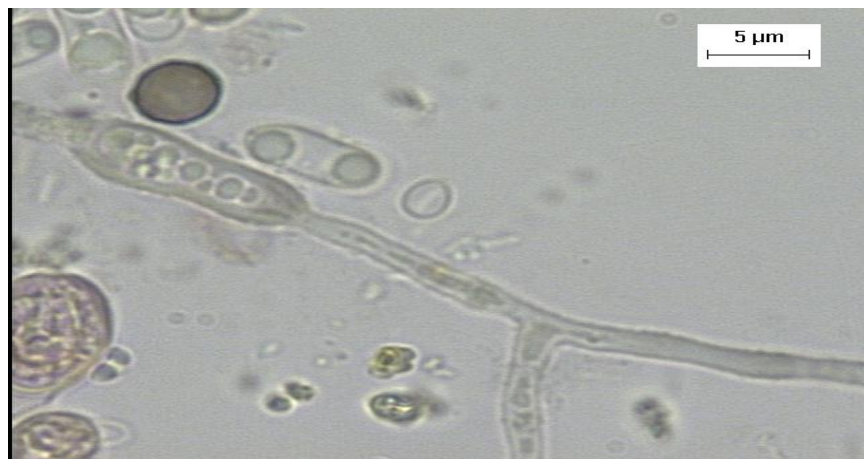


Figura 6: Microscopia realizada em amostra da biomassa presente no reator RFI no 25º dia de operação.

A análise microscópica revelou alargamento na hifa contendo os vacúolos, bem como deformações nos conidióforo, que não apresentaram mais as filíades contendo os esporos. Rodrigues (2006) também observou deformações morfológicas em *Aspergillus niger* ao utilizá-lo para remover fenol de meio líquido, e as atribuiu ao efeito tóxico do poluente sobre o fungo. Verificou-se ainda que esporos, estruturas de reprodução, disseminação e preservação dos fungos, estavam dispersos no meio, provavelmente, em estado de latência, conforme observado em trabalhos anteriores (CARLILE E WATKINSON, 1994). Foram encontradas também leveduras e bactérias, particularmente nos reatores de controle, porém, aparentemente, em menor proporção que os fungos, indicando a participação efetiva destes últimos na remoção do corante vermelho do congo do meio sintético utilizado neste estudo.

4. CONCLUSÕES

Os resultados obtidos na presente pesquisa mostraram que *Aspergillus niger* AN400 foi capaz de utilizar o corante vermelho do congo em suas necessidades metabólicas. O maior potencial dos fungos na remoção do vermelho do congo foi nos verificado nos reatores com biomassa imobilizada (> 85%), como reflexo do crescimento dos microrganismos em biofilme, o qual permite melhor adaptação dos mesmos às condições adversas do meio contendo corante. A maior produção de ácidos, evidenciada pela alteração da coloração do meio, indicou que o corante foi utilizado pelos fungos como fonte de carbono e energia pelo *Aspergillus niger* AN400, confirmado, pelos exames de microscopia, como o microrganismo dominante no processo.

5. BIBLIOGRAFIA

- ALVES, M. M. A new device to select microcarriers for biomass immobilization to an anaerobic consortium. *Water Environment Research*, v. 71, n. 2, p. 209 – 217, 1999.
- ASSADI, M. M., JAHANGIRI, M. R. Textile wastewater treatment by *Aspergillus niger*. *Desalination*, v. 14, p. 1– 6, 2001.
- ASSAS, N., AYED, L., MAROUANI, L., HAMDY, M. Decolorization of fresh and stored-black olive Mill wastewaters by *Geotrichum candidum*. *Process Biochemistry*, v. 38, p. 361 – 365, 2002.
- BRAILE, P. M., CAVALCANTI, J. E. W. A. Manual de tratamento de águas residuárias industriais. São Paulo: CETESB, 1993
- CAMPOS, R., DE MIO, P. A. Indigo degradation with purified laccases *Trametes hirsute* and *Sclerotium rolfsii*. *Journal of Biotechnology*, v. 89, p. 131 – 139, 1996.

- CARLILE, M. J., WATKINSON, S. C. *The Fungi*. San Diego: Academic Press – Harcourt Brace & Company, 1994.
- COLE, L., ORLOVICH, D. A., ASHFORD, A. E. Structure, function and motility of vacuoles in filamentous fungi. *Fungal Genetics and Biology*, v. 24, p. 84 – 100, 1998.
- FACÓ, A. M.; SANTAELLA, S. T.; SAMPAIO, G. M. M. S.; SANTOS, E. M. A. Tratamento biológico de percolado de aterro sanitário através de processo biológico com fungos. III Encontro de pesquisa e pós-graduação do CEFET, Fortaleza-CE- Brasil, 2003.
- FADIL, K., CHAHLAOU, A., OUAHBI, A., ZAID, A., BORJA, R. Aerobic biodegradation and detoxification of wastewaters from the olive oil industry. *International Biodeterioration and Biodegradation*, v. 51, p. 37 – 41, 2003.
- LEITÃO, A. L., DUARTE, M. P., OLIVEIRA, J. S. Degradation of phenol by a halotolerant strain of *Penicillium chrysogenum*. *Enzyme and Microbial Technology*, v. 29, p. 340 – 345, 2006.
- KNAPP, J. S., NEWBY, P. S., REECE, L. P. Decolorization of dyes by wood-rotting basidiomycete fungi. *Enzyme Microbiology Technology*, v. 17, p. 664 – 669, 1995.
- NASCIMENTO, T., TAVEIRA, N. Os biofilmes microbianos como agentes causais de doenças humanas. *Biologias*, v. 4, p. 1– 6, 2001.
- PRENAFETA BOLDÚ, F. X. Growth of fungi on volatile aromatic hydrocarbons: environmental technology perspectives. 115p. Thesis. Wageningen University, Wageningen, The Netherlands, 2002.
- PATEL, R., SURESH, S. Kinetic and equilibrium studies on the biosorption of reactive black 5 dye by *Aspergillus feotidus*. *Bioresource Technology*, 2007, doi: 10.1016/j.biortech.2006.12.003.
- PURKAIT, M. K., MAITI, A., DASGUPTA, S. DE S. Removal of congo red using activated carbon and its regeneration. *Journal of Hazardous Materials*, v. 145, p. 287 – 295, 2007.
- RODRIGUES, K. A. Tratamento biológico de água residuária sintética de laticínios por decomposição fúngica. 113 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Civil, área de concentração em Saneamento Ambiental) – Departamento de Engenharia Hidráulica e Ambiental, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 1999.
- RODRIGUES, K. A., SAMPAIO, G. M. M. S., ZAIAT, M., SANTAELLA, S. T. Influência da glicose no consumo de fenol por *Aspergillus niger* AN 400 de meio sintético em reatores em batelada. *Engenharia Ambiental*, jun/jul/ago, 2007.
- SÁ, I. M. B. Biotratamento de efluente de uma indústria de laticínios por ação de fungos decompositores. 83 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Civil, área de concentração em Saneamento Ambiental) – Departamento de Engenharia Hidráulica e Ambiental, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 1997.
- SAMPAIO, G. M. M. S. Biotratamento de água residuária industrial através de reator UASB seguido por um filtro biológico com fungos. 130 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Civil, área de concentração em Saneamento Ambiental) – Departamento de Engenharia Hidráulica e Ambiental, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2001.
- SAMPAIO, G. M. M. S. Remoção de metil paration e atrazina em reatores com fungos. 115 f. Tese (Doutorado em Engenharia Civil, área de concentração em Hidráulica e Saneamento) - Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2005.
- STEFFAN, S., BARDI, L., MARZONA, M. Azo dye biodegradation by microbial cultures immobilized in alginate beads. *Environmental International*, v. 31, p. 201 – 205, 2005.
- VAN DER ZEE, F. P., LETTINGA, G., FIELD, J. A. Azo dye decolourization by anaerobic granular sludge. *Chemosphere*, v. 44, p. 1169 – 1176, 2001.
- WITTEVEEN, C. F. B. Gluconate formation and polyol metabolism in *Aspergillus niger*. 1993. 128 p. Thesis. Wageningen University, Wageningen, The Netherlands, 1993.
- XAVIER, J. B., PICIOREANU, C., ALMEIDA, J. S., VAN LOOSDRESCHT, M. C. M. Monitorização e modelação da estrutura de biofilmes. *Boletim de Biotecnologia*, v. 73, p. 4 – 13, 2004.