# ESTUDO DA INFLUÊNCIA DA GLICOSE E FONTES DE NITROGÊNIO NA REMOÇÃO DE MATÉRIA ORGÂNICA E CORANTE VERMELHO DO CONGO EM REATOR CONTÍNUO COM BIOMASSA IMOBILIZADA DE Aspergillus niger AN 400.

# Ivinne MELO (1); Kamylla Araújo GOMES (2); Bruna Barbosa CASTRO (3); Glória Maria Marinho SAMPAIO (4); Kelly RODRIGUES (2).

- (1) Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Ceará IFCE; e-mail: ivinnemeloifce@hotmail.com
  - (2) Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Ceará IFCE; e-mail: kamylla\_ga@hotmail.com
    - (3) Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Ceará IFCE; e-mail: bruna\_thai@gmail.com (4) Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Ceará IFCE; e-mail: kelly@ifce.edu.br
      - (5) Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Ceará IFCE; e-mail: gloria@ifce.edu.br

#### **RESUMO**

O uso exacerbado de corantes, especialmente os sintéticos, vêm gerando efluentes de grande impacto ambiental e difícil tratamento. Neste intuito, o presente trabalho visou estudar a remoção de vermelho do congo por *Aspergillus niger* AN400 em meio aquoso, utilizando reator contínuo e de fluxo ascendente. Foi avaliada a influência da glicose em duas concentrações – 0,5 g/L e 1,0 g/L – e de fontes de nitrogênio. As maiores remoções de matéria orgânica e corante foram registradas durante a 3ª fase de operação do reator, com máxima de remoção de 90% e 99,9%, respectivamente. Foi constatado também que, na presença de concentrações elevadas de nitrogênio amoniacal no meio, é possível que o metabolismo fúngico seja inibido para o consumo destas variáveis. Desta forma, sugere-se maior controle das fontes de nitrogênio a fim de uma remoção efetiva de corante.

Palavras-chave: Aspergillus niger AN400, reator contínuo, nitrogênio, corante Vermelho do Congo.

# 1 INTRODUÇÃO

A ampla utilização de corantes, sobretudo, os de tipo azo – cerca de 70% dos corantes produzidos mundialmente – tornam os efluentes têxteis recalcitrantes a biodegradação, de composição complexa e, por vezes, incerta (SUPAKA *et al.*, 2004).

Os corantes são compostos orgânicos aromáticos que possuem, em sua configuração, anéis de benzeno (Figura 1). Sua estrutura complexa é resistente a luz, atividade biológica, ozônio ou qualquer tipo de degradação em condições ambientais. Sua existência no meio, ainda que em pequena concentração, torna-o extremamente visível (KAUSHIK & MALIK, 2009), constituindo uma ameaça para os mais diversos ecossistemas aquáticos, por interferir na penetração da luz solar e na solubilidade de gases em corpos d'água, prejudicar a fotossíntese, inibir o desenvolvimento da biota do meio (BANAT *et al.*, 1996), além de ser considerado tóxico e carcinogênico, antes e após ser metabolizado por micro-organismos (NOVOTNY *et al.*, 2006). Sendo assim, torna-se urgente a busca por tratamentos que promovam um efluente ambientalmente aceitável.

Figura 1 - Estrutura molecular do azo corante Vermelho do Congo.

A maioria dos métodos de remoção de cor apresentam desvantagens, sendo onerosos, de baixa versatilidade, suscetíveis a interferência por outros componentes das águas residuais e geram resíduos que necessitam de

um pós-tratamento; desta forma, o tratamento biológico surge como uma alternativa viável para a viabilidade desses efluentes (van der ZEE & VILLAVERDE, 2005).

Os fungos, em geral, são potencialmente mais eficazes que as bactérias em relação a degradação e mineralização dos corantes, por possuírem a capacidade de produzir enzimas extracelulares não-específicas, tais como lignina, peroxidase, manganês peroxidase e lacase (YANG *et al.*, 2009), que oxidam compostos resistentes aos ataques microbianos. Como consequência, gera-se uma maior interação física e enzimática com o ambiente e a tolerância a altas concentrações de substâncias tóxicas. Além disso, seus mecanismos de descoloração – biossorção, biodegradação e bioacumulação – tornam o processo rápido e eficaz (COUTO, 2009).

Neste contexto, o presente trabalho objetiva a remoção do corante Vermelho do Congo e nutrientes pela espécie fúngica Aspergillus niger AN400 sob influência da variação da concentração de cossubstrato e fontes de nitrogênio em reator contínuo e de fluxo ascendente.

## 2 MATERIAL E MÉTODOS

Para a realização da pesquisa foi montado um reator biológico de leito fixo e fluxo ascendente, inoculado inicialmente com a espécie Aspergillus niger AN400, para tratamento de água residuária sintética têxtil. O reator foi operado durante 5 meses com TDH de 8 horas, onde eram realizadas coletas diárias (Figura 2) da alimentação – amostra no momento da alimentação – (PA), da entrada – amostra 24 horas após a alimentação – (PE) e da saída do sistema (PS). A pesquisa continha 3 fases, descritas na Tabela 1, onde se variou concentração de cossubstrato e compostos nitrogenados.

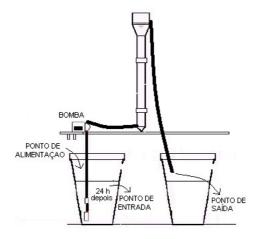


Figura 2 - Esquema de operação do reator biológico.

# 2.1 Produção e contagem de esporos

A espécie fúngica foi cultivada em placas de Petri contendo meio de cultura Agar Sabouraud Dextrose durante 7 dias à uma temperatura de ± 28°C. Após o crescimento, o esporos foram removidos das placas com solução Tween 80. Posteriormente, para realização da contagem em microscópio optico através da câmara de Newbauer, foram utilizados 20 µL de solução de esporos, previamente diluída em solução Tween (1:20).

#### 2.2 Imobilização do inóculo em meio suporte

Inicialmente, o reator foi preenchido com meio suporte, constituído de cubos de espuma de poliuretano de aresta 2 cm x 2 cm, e meio de crescimento descrito em Vassilev (1997). O reator foi submetido a aeração contínua durante 7 dias, sendo operado em batelada, para efetiva formação do biofilme. Porteriormente, o reator foi colocado em recirculação e iniciou-se sua operação.

# 2.3 Água residuária sintética têxtil

A composição da água residuária sintética foi adaptada de Rodrigues (2006) e é descrita na Tabela 2. Seu preparo foi realizado com água de torneira acrescida de macronutrientes e solução de micronutrientes – solução de Vishniac – de composição (mg.L<sup>-1</sup>): H<sub>3</sub>BO<sub>3</sub> (50); FeCl<sub>2</sub>. 4H<sub>2</sub>O (2000); ZnCl<sub>2</sub> (50); MnCl<sub>2</sub>. 4H<sub>2</sub>O (500); CuCl<sub>2</sub>. 2H<sub>2</sub>O (38); AlCl<sub>3</sub>H<sub>2</sub>O (90); CoC<sub>12</sub>6H<sub>2</sub>O (200).

Tabela 1 - Descrição das fases de tratamento do reator biológico de acordo com a composição da água residuária.

Fase	Cossubstrato	Compostos Nitrogenados	Dias de coleta
1	1000 mg.L <sup>-1</sup> de	1000 mg.L <sup>-1</sup> de nitrato de sódio	8
	glicose	2000 mg.L-1 de sulfato de amônio	
2	500 mg.L <sup>-1</sup> de glicose	1000 mg.L <sup>-1</sup> de nitrato de sódio	8
		2000 mg.L-1 de sulfato de amônio	
3	500 mg.L <sup>-1</sup> de glicose	250 mg.L <sup>-1</sup> de nitrato de sódio	24
		500 mg.L <sup>-1</sup> de sulfato de amônio	

Tabela 2 - Descrição dos macronutrientes constituintes da água residuária sintética têxtil

Constituinte	Concentração (mg.L <sup>-1</sup> )	
Corante Vermelho do Congo	30	
$NaNO_3$	1000/250*	
$\mathrm{KH_2PO_4}$	200	
${ m MgSO_4}$	250	
CaCl.2H <sub>2</sub> O	10	
CuSO <sub>4</sub> .7H <sub>2</sub> O	80	
$\mathrm{H}_2\mathrm{MoO}_4$	50	
$Fe_2(SO_3)_4$	50	
$ZnSO_4$	40	
$(NH_4)_2SO_4$	2000/500*	

<sup>\*</sup> Variaram durante o experimento

#### 2.4 Variaveis analisadas

As variáveis analisadas foram corante – executada de acordo com Silva Filho (2007) –, pH, Demanda Química de Oxigênio, amônia, nitrato, nitrito, fósforo total e ortofosfato segundo APHA (2005).

# 3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

#### 3.1 Fase 1

Na Tabela 3 é apresentada valores de pH e a remoção e variação das concentrações de corante, matéria orgânica e amônia no efluente do reator de escoamento contínuo e leito fixo, durante o experimento.

Tabela 3 - Valores de pH, eficiência de remoção (%) e variação das concentrações de corante, DQO bruta e amônia no afluente e efluente do reator, durante a Fase 1 do experimento.

Pontos de	Pontos de		Remoção (%)/Concentração (mg.L¹) no afluente – efluente			
Coleta	рН	Corante	DQO Bruta	Amônia		
1	4,3 – 3,5	92,9/6,8 – 0,5	61,3/201 – 78	*/ 543 – 610		
2	4,6-3,3	98,3/11,8-0,2	93,2/913 – 62	36,9/826 – 521		
3	4,3 – 3,9	90,4/7,4-0,7	73,0/ 1215 – 328	*/ 545 – 917		
4	4,2-3,3	88,2/18,9 – 2,2	62,1/1387 – 526	16,0/ 595 – 499		
5	4,3 – 7,6	64,3/18,7 – 6,7	45,6/ 1153 – 627	*/ 574 – 889		
6	4,0 – 7,1	67,4/14,8 – 4,8	55,2/ 1153 – 517	*/ 923 – 1006		

7	3,7 – 6,8	32,1/15,4 – 10,5	26,3/321 – 237	*/ 901 – 1184
8	3,9 – 7,2	68,2/17,3 – 5,5	58,9/ 724 - 302	*/ 794 – 1066
Média Remoção		75,2	59,4	26,5

<sup>\*</sup> Acúmulo no meio.

O emprego de 1 g.L<sup>-1</sup> de glicose como cossubstrato propiciou o crescimento exagerado de biofilme no interior do reator, provocando por diversas vezes sua colmatação, com consequente perda de biomassa. Na literatura são relatados como frequentes os problemas de operação, associados ao crescimento excessivo de fungos em reatores contínuos, que acaba por causar entupimentos (HAI *et al.*, 2008).

Observou-se, a partir da 5ª coleta, aumento nos valores de pH. Isto provavelmente se deu pela escassez de oxigênio causada pela colmatação do reator nesse ponto – que ocorreu de forma mais severa e impediu a aeração efetiva do meio, ocasionando problema de transferência de oxigênio para as camadas internas do biofilme –, o que resultou no fenômeno denominado *stress* oxidativo, que, segundo Li *et al.*, (2008), compromete o aproveitamento da amônia e da glicose por fungos filamentosos. Na Tabela 3, verificou-se que as concentrações de amônia aumentam gradativamente, por liberação e acúmulo do nutriente no meio, como resposta ainda do próprio metabolismo microbiano, pois quando o meio intracelular apresenta excesso de íon amônio, há liberação de H<sup>+</sup> para o meio externo, o que desloca o sentido da reação de equilíbrio entre amônia e amônio para a formação de NH<sub>4</sub><sup>+</sup>, ocorrendo o consumo de íons H<sup>+</sup>, resultando no aumento dos valores de pH (GRIFFIN, 1994; BEVENSEE & BORON, 2008).

Desta forma, quando o ambiente se torna alcalino, o equilíbrio tende a formação de NH<sub>3</sub> que, apesar de assimilável pelos fungos em pH elevado (ESPOSITO & AZEVEDO, 2004), nesta concentração – 836,7 mg.L<sup>-1</sup> (concentração média da fase 1 no ponto de saída) – tornou-se tóxica. Angelova *et al.* (2005) relatou que os fungos filamentosos, quando em estado de *stress* oxidativo, apresentam inibição de germinação de esporos e produção de biomassa, o que também foi observado no reator em operação.

Sendo assim, possivelmente, houve desequilíbrio biológico no reator, uma vez que, em meio alcalino, a amônia torna-se tóxica aos micro-organismos (MORTON & MACMILLAN, 1954, *apud* HE & SUZUKI, 2003). Remoções de corante, outrora próximas a 90% de eficiência, apresentaram valores entre 67% e 32% (entre os pontos 5 e 8), indicando o comprometimento do consumo do poluente pela inibição metabólica da amônia.

Não houve consumo significativo de nitrato do meio, corroborando com o fato de que os micro-organismos não estariam mais sendo capaz de assimilar os nutrientes.

Em relação à DQO bruta, o excessivo desprendimento de biomassa e os metabólitos resultantes de sua atividade podem ter contribuído para o aumento da concentração de matéria orgânica no sistema.

#### 3.2 Fase 2

Durante a segunda fase do experimento (Tabela 4), foi observada melhora na remoção de corante, com média de 82%, ainda que para matéria orgânica e amônia o mesmo não tenha ocorrido. Entretanto, o aumento da concentração de corante na saída do ponto 3 sugeriu que o corante possa apenas estar sendo adsorvido pelo micélio dos fungos ou que houve dessorção do poluente pelo recipiente plástico que armazenava o afluente.

Tabela 4 - Valores de pH, remoção e variação das concentrações de corante, DQO bruta e amônia durante a Fase 2 do experimento.

Pontos de		Remoção (%)/ Variação da Concentração (mg.L-1)			
Coleta	pН	Corante	DQO Bruta	Amônia	
1	4,0-7,0	92,4/43,0 – 3,3	57,2/608 – 260	17,9/845 – 694	
2	3,9 – 7,3	64,1/13,4 – 4,8	53,2/611 – 286	*/ 1022 – 1233	
3	4,6 – 7,7	*/ 8,0 - 8,8	31,7/ 718 – 491	*/ 1029 – 1364	
4	4,4 – 6,9	76,3/16,1 – 3,8	61,9/ 1202 – 458	*/ 940 – 1159	
5	4,0 - 6,2	79,9/ 15,2 – 3,1	*/ 458 – 575	31,3/1050 – 721	

6	4,6-7,2	82,5/20 – 3,5	53,6/ 988 – 458	*/ 722 – 1127
7	4,3 – 7,4	88,7/25,8 – 2,9	38,2/851 – 526	*/ 814 – 998
8	4,4 – 6,1	89,0/31,9 – 3,5	40,6/ 728 - 432	7,8/ 1079 - 995
Média Remoção		81,8	48,1	12,8

\* Acúmulo no meio.

A utilização de uma menor concentração de glicose, no objetivo de evitar o crescimento exagerado de biomassa – como ocorrido na Fase 1 –, pode ter levado o fungo a recorrer ao corante para suprir suas necessidades metabólicas, uma vez que, na presença de uma maior concentração de cossubstrato, pode ocorrer o consumo preferencial de glicose em detrimento de outras fontes de carbono, como relatado em Rodrigues *et al.*, (2007).

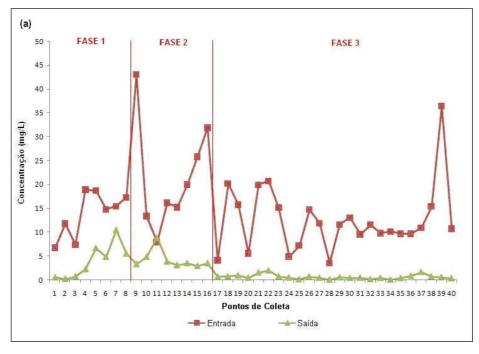
Ainda assim, é possível observar as elevadas concentrações de amônia no meio e o contínuo aumento dos valores de pH. Segundo Santaella *et al.* (2009), é necessário fornecer o pH ideal – entre 5 e 3 – para a melhor biodegradação dos compostos pela espécie fúngica em estudo. A toxicidade proveniente da amônia e o pH inadequado contribuem para que o fungo trabalhe em *stress* máximo, o que não é desejado.

É possível supor, a partir das baixas remoções de matéria orgânica no sistema, que os micro-organismos foram capazes de quebrar as moléculas de corante, porém não de assimilar os resultados desta quebra. Sendo assim, semelhantemente à Fase 1, as baixas remoções de matéria orgânica poderiam ser atribuídas ao desprendimento da biomassa do meio suporte e a formação de subprodutos.

Durante esta fase, também foi constatado o aumento nas concentrações de nitrato. Este fato, em conjunto às altas concentrações de amônia, pode indicar a expulsão dos compostos nitrogenados que estariam armazenados nos vacúolos, possivelmente na tentativa de equilibrar o pH intracelular (BEVENSEE & BORON, 2008), tanto na Fase 1 quanto na 2.

#### 3.3 Fase 3

Na Figura 3, é possível acompanhar o comportamento do reator durante todas as fases da pesquisa.



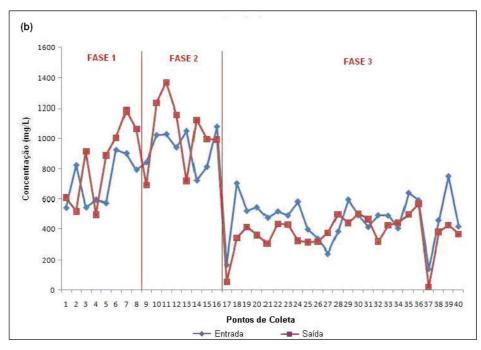


Figura 3 - Comparação das 3 fases de operação do reator contínuo em relação à variação de corante (a) e de nitrogênio amoniacal (b).

Durante a Fase 3, foi observada estabilização no consumo de corante no reator, que pode estar associada a diminuição das fontes de nitrogênio inicialmente disponíveis no meio. Foi constatado, também, que o pH do efluente retornou a valores de meio ácido. O pH manteve-se, durante toda esta fase, entre 5 e 3, diminuindo a toxicidade da amônia no meio e facilitando sua conversão a NH<sub>4</sub><sup>+</sup>, forma esta melhor assimilada pelo microorganismo (ter SCHURE *et al.*, 2000). Ainda de acordo com ter Schure *et al.* (2000), o íon amônio é essencial para a formação do glutamato e glutanamina, que possuem papel essencial no metabolismo fúngico.

Constatou-se, também, maior período de consumo de amônia pelos micro-organismos, onde, dos 27 pontos analisados, apenas em 5 foi constatado acúmulo de nitrogênio amoniacal. Entretanto, para o nitrato, apenas em 4 pontos foram conseguidas remoções, o que é justificado pela boa disponibilidade de amônia, forma de nitrogênio diretamente utilizada pelos fungos em reações metabólicas de síntese (GRIFFIN, 1994). Além disso, tanto o nitrato quanto a amônia, os quais estariam armazenados nos vacúolos das células fúngicas, podem ter sido excretados em resposta às necessidades metabólicas dos micro-organismos (RODRIGUES, 2006) ou, possivelmente, se, ao encontrar-se em um ambiente mais viável, preferir excretar uma fonte para consumir outra mais assimilável.

A mudança da composição da água residuária possibilitou também melhora na remoção de matéria orgânica, que atingiu remoções de 90%. É importante frisar que esta variável foi quantificada utilizando apenas amostra bruta, tendo a biomassa desprendida do reator contribuído para a menor remoção deste parâmetro. O maior consumo de corante na Fase 3 pode estar relacionado aos valores de pH. Segundo Maurya *et al.* (2006), a adsorção de corantes na biomassa fúngica pode ser prejudicada pelo pH dependendo do tipo de composto. Alguns corantes são melhores adsorvidos em pH alcalino, enquanto outros não. Sua pesquisa estudou a influência do pH na adsorção de Azul de Metileno e Rodamina B em biomassa morta de dois fungos – *Fomes fomentarius* e *Phellinus igniarius* – e encontrou que a sorção de AM aumentou enquanto que a de RB diminuiu com o aumento do pH.

Segundo Miranda *et al.* (1996), o maior consumo de corante está associado a baixos valores de pH, e em seu estudo, as maiores remoções de corante pelo fungo *Aspergillus niger*, em reator contínuo de TDH de 5 dias, foram registradas em pH variando entre 3,5 e 4, valores relacionados ao melhor metabolismo fúngico. Maciel (2006) relatou que a melhor produção de enzimas por micro-organismos se dá em faixas de pH de 4 a 7, e que, para fungos, as enzimas mais ativas são sintetizadas em pH baixo. Estes resultados corroboram com o fato de que é necessário um pH adequado para o efetivo consumo do corante Vermelho do Congo pelo fungo em estudo.

# 4 CONCLUSÃO

O presente trabalho apresentou ótimos resultados quando na descoloração de corante, atingindo remoção máxima de 99,9% na Fase 3, com eficiência média de 95%. Para matéria orgânica, o sistema obteve eficiência média de 61,5% com máxima de 90% e mínima de 22%. A alta concentração de compostos nitrogenados causou inibição metabólica nos fungos, prejudicando o consumo do poluente nas Fases 1 e 2, com médias de remoção de 75% e 70%, respectivamente. As remoções de DQO bruta chegaram a 59,4 e 39% para as mesmas fases.

O reator pode ser considerado bastante viável para tratamento de efluentes têxteis, uma vez que mesmo sob *stress*, conseguiu diminuir consideravelmente a concentração de corante no meio. Em relação à matéria orgânica, acredita-se que as altas concentrações de DQO bruta estejam relacionadas ao desprendimento de biomassa ocorrido durante as três fases de operação do sistema, sendo necessário avaliar a parcela de material dissolvido a fim de analisar a formação de subprodutos.

### REFERÊNCIAS

ANGELOVA, M. B., PASHOVA, S. B., SPASOVA, B. K., VASSILEV, S. V. and SLOKOSKA, L. S.. **Oxidative stress response of filamentous fungi induced by hydrogen peroxide and paraquat.** Mycological Research (2005), 109:2:150-158 Cambridge University Press.

APHA – AWWA - WPCF. **Standard methods for the examination of water and wastewater.** 21 ed. Washington. American Public Health Association. 1368 p, 2005.

BANAT, I.M., NIGAM, P., SINGH, D. and MARCHANT, R.. Microbial decolourization of textile dyes containing effluents: a review. Bioresour Technol 58 (1996), pp. 217–227.

BEVENSEE, M. O., BORON, W. F. **Control of intracellular pH: in The kidney.** Seldin and Giebisch's. 4<sup>th</sup> edition, p. 1429 – 1480, 2008.

COUTO, S. R.. Dye removal by immobilised fungi. Biotechnology Advances 27 (2009) 227–235.

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

GRIFFIN, D. H. Fungal physiology. 2<sup>a</sup> ed. New York. Wiley-Liss, 1994. 458p.

HAI, F. I., YAMAMOTO, K., NAKAJIMA, F., FUKUSHI, K.. Removal of structurally different dyes in submerged membrane fungi reactor—Biosorption/PAC-adsorption, membrane retention and biodegradation. Journal of Membrane Science 325 (2008) 395–403.

HE, X. M., SUZUKI, A.. Effect of nitrogen resources and pH on growth and fruit body formation of *Coprnopsis phlyctidospora*. Fungal Diversity, 12:35-44 (2003).

KAUSHIK, P., MAULIK, A.. Fungal dye decolourization: Recent advances and future potential. Environment International 35 (2009) 127–141.

LI, Q., ABRASHEV, A., HARVEY, L. M., McNEIL, B.. Oxidative stress-associated impairment of glucose and ammonia metabolism in the filamentous fungus, *Aspergillus niger* B1-D. Mycological Research; 112 (2008) 1049-1055.

MACIEL, G. M.. Desenvolvimento de bioprocesso para produção de xilanases por fermentação no estado sólido utilizando bagaço de cana-de-açúcar e farelo de soja. Curitiba, 2006. Dissertação de Mestrado - Universidade Federal do Paraná. 2006.

- MAURYA, N. S., MITTAL, A. K., CORNEL, P., ROTHER, E., Biosorption of dyes using dead macro fungi: Effect of dye structure, ionic strength and pH. Bioresource Technology 97 (2006) 512–521.
- MIRANDA, M. P., BENITO, G. G., CRISTOBAL, N. S. & NIETO, C. H.. Color elimination from molasses wastewater by *Aspergillus niger*. Bioresource Technology, 57 (1996) 229-235.
- NOVOTNY, N. D., KAPANEN, A., MALACHOVA, K., VANDROVCOVA, M. AND ITAVAARA, M.. Comparative use of bacterial, algal and protozoan tests to study toxicity of azo- and anthraquinone dyes, Chemosphere 63 (2006), pp. 1436–1442.
- RODRIGUES, K. de A. Uso de reatores biológicos com fungos para remoção de fenol de água residuária sintética. São Carlos, 2006. Tese de doutorado Escola de engenharia de São Carlos Universidade de São Paulo. 2006.
- RODRIGUES, K. de A., SAMPAIO, G. M. M. S., ZAIAT, M., SANTAELLA, S. T.. Influência da glicose sobre o consumo de fenol por *Aspergillus niger* AN 400 em reatores em batelada. Eng. Sanit. Ambient. Vol.12 no.2 Rio de Janeiro Apr./June 2007.
- SANTAELLA, S. T., JÚNIOR, F. C. G. S., COSTA, K. O., AGUIAR, R., ARTHAUD, I. D. B., LEITÃO, R. C.. **Tratamento de efluentes de refinaria de petróleo em reatores com** *Aspergillus niger*. Engenharia Sanitária Ambiental. V.14 n.1, jan/mar (2009) 139-148.
- SILVA FILHO, H. A., DOS SANTOS, E. V. M., SAMPAIO, G. M. M. S., ARTHAUD, I.. Ensaios de Toxicidade e Remoção de Corantes Têxteis por Processo Biológico. II Congresso de Pesquisa e Inovação da Rede Norte Nordeste de Educação Tecnológica João Pessoa PB 2007.
- SUPAKA, N., JUNTONGJIN, K., DAMRONGLERD, S., DELIA, M., STREHAIANO, P., Microbial decolorization of reactive azo dyes in a sequential anaerobic-aerobic system. Chemical Engineering Journal 99 (2004) 169–176.
- TER SCHURE, E. G., VAN RIEL, N. A. W., VERRIPS, C. T.. The role of ammonia metabolism in nitrogen catabolite repression in *Saccharomyces cerevisiae*. FEMS Microbiology Reviews. Volume 24, Issue 1, January 2000, Pages 67-83.
- VASSILEV, et al.. Olive mill waste water treatment by immobilized cell of *Aspergillus niger* and its benrichment with soluble phosphate. Process Biochemistry. V. 32, n 7, p. 617-620. 1997.
- van der ZEE, F. P., VILLAVERDE, S.. Combined anaerobic-aerobic treatment of azo dyes—A short review of bioreactor studies. Water Research, 39 (2005) 1425–1440.
- YANG, Q.; LI, C.; LI, H.; LI, Y.; YU, N. Degradation of synthetic reactive azo dyes and treatment of textile wastewater by a fungi consortium reactor. Biochemical Engineering Journal, v. 43, p. 225–230, 2009.