

DEGRADAÇÃO DE BENZENO EM REATORES EM BATELADA COM E SEM AGITAÇÃO INOCULADOS COM *Aspergillus niger* AN400

Sarah LACERDA FARIAS (1); Jorge Filipe PINHEIRO (2); Rinaldo ARAÚJO (3); Kelly RODRIGUES (4); Glória MARINHO (5)

(1) Centro Federal de Educação Tecnológica do Ceará, Rua Cel. Nunes de Melo, 1545 Ap: 402B CEP 60430-270

Fortaleza-CE, Tel: (85) 30914654, e-mail: sarahfarias1@hotmail.com

(2) Centro Federal de Educação Tecnológica do Ceará, e-mail: jorgefilipe10@yahoo.com.br

(3) Centro Federal de Educação Tecnológica do Ceará, e-mail: rinaldo@cefetce.br

(4) Centro Federal de Educação Tecnológica do Ceará, e-mail: kelly@cefetce.br

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

RESUMO

As indústrias de petróleo são grandes causadoras de impactos ambientais, e dentre os compostos presentes no petróleo, o benzeno é considerado o mais perigoso por ser potencialmente carcinogênico. Neste trabalho analisou-se o tratamento de água residuária sintética contendo benzeno em reatores em batelada inoculados com o fungo *Aspergillus niger* AN400. Na batelada aerada e sem agitação, a concentração de benzeno estudada foi de 1800 mg/L e os tempos de reação foram 0, 0,5, 1, 5, 10 e 25 dias. Na batelada com agitação foram testadas duas concentrações de benzeno, 1800mg/L e 100mg/L, e os tempos de reação foram: 1, 2, 3, 4, 5 e 14 dias. As variáveis investigadas para as duas operações foram: sólidos suspensos voláteis, demanda química de oxigênio, pH e concentração de benzeno. Os resultados para a batelada aerada sem agitação mostraram remoções de matéria orgânica de até 93,8%. Para a batelada com agitação as remoções foram de até 87,8% (concentração de 1800 mg/L) e 82,3% (concentração de 100 mg/L). As análises de benzeno na batelada sem e com agitação mostraram remoção aproximadamente de 100% e de 70%, respectivamente. Portanto, este tipo de tratamento com *A. niger* AN400 sinaliza como opção viável para a degradação de benzeno.

Palavras-chave: Água residuária sintética, *Aspergillus niger*, benzeno, tratamento biológico.

1. INTRODUÇÃO

A poluição ambiental por derivados de petróleo, óleos e graxas é um problema de escala mundial e a cada ano, a quantidade de resíduos oleosos emitidos por indústrias de diversos ramos aumenta bruscamente (JACOBUCCI, 2000).

Dentre os compostos presentes no petróleo, os hidrocarbonetos monoaromáticos benzeno, tolueno, etilbenzeno e xilenos, chamados coletivamente como compostos BTEX, são os constituintes que têm maior solubilidade em água e, portanto, são os contaminantes com maior potencial de poluir o lençol freático. Dentre os BTEX, o benzeno é considerado o mais tóxico (MARIANO, 2006).

O benzeno é uma substância reconhecidamente carcinogênica e tem sido objeto de controle no âmbito mundial dada sua característica de contaminante universal e seus potenciais efeitos à saúde humana. É considerada a quinta substância de maior risco, segundo os critérios do programa das Nações Unidas de segurança química (MACHADO *et al.*, 2003).

De acordo com Mariano (2001) o benzeno é líquido, inflamável, incolor e tem um aroma doce e agradável. Sendo muito lipossolúvel, ele é rapidamente absorvido pela via respiratória quando inalado, e devido à sua grande afinidade por gordura é distribuído e armazenado em tecidos ricos em gorduras, tais como o sistema nervoso central e a medula óssea.

Se inalado, causa tontura, dores de cabeça e até mesmo inconsciência. A intoxicação aguda produz irritação de brônquios e laringe, tosse, rouquidão e edema pulmonar. Concentrações maiores, na intoxicação aguda, podem provocar arritmias ventriculares, paralisia e inconsciência. É depressor do SNC, causando fadiga, dores de cabeça, tontura, convulsão, coma e morte, dependendo da concentração (FISPQ/BRASKEN, 2005).

Segundo o Ministério da saúde (2003) as principais fontes de contaminação são: siderurgias; indústrias do petróleo; indústrias petroquímicas; indústrias químicas que utilizam o benzeno em processo de síntese química; laboratórios de análise química; postos de gasolina e mecânicos de automóveis; atividades que usam gasolina como solvente.

O processo de biorremediação é uma metodologia atrativa e confiável para o tratamento de solos e cursos d'água contaminados, considerando-se muito eficiente, além de econômica, versátil e principalmente por causar uma menor perturbação ao ambiente, já que é um sistema de estimulação de processos naturais de remediação (FASANELLA, 2005).

Os fungos exercem papel importante dentro do saneamento, pois atuam nos processos de transformação dos resíduos orgânicos, onde funcionam como recicladores de matéria nos diversos ecossistemas. O potencial fúngico para degradar polímeros tem sido amplamente estudado e em muitos casos aplicado para remoção de compostos de difícil degradação (SAMPAIO *et al.*, 2004).

A espécie estudada nesta pesquisa foi *Aspergillus niger*, que possui eficiência comprovada no tratamento de efluentes contendo metais, nutrientes inorgânicos, compostos orgânicos, etc. (VASSILEV *et al.* 1997; ASSADI e JAHANGIRI, 2001; SAMPAIO, 2005; RODRIGUES, 2006).

O presente trabalho objetivou desenvolver o tratamento biológico para remoção de benzeno em reatores em batelada com e sem agitação, utilizando como inóculo fúngico *Aspergillus niger* AN 400.

2. MATERIAIS E MÉTODOS

2.1. Cultivo e produção dos esporos de *Aspergillus niger* AN400

Os esporos de *Aspergillus niger* AN 400 foram cultivados em placas de Petri, em meio de cultura Agar Sabouraud, de acordo com os procedimentos descritos em Sampaio (2005). Foi adicionada como fonte de nutrientes às placas, a Solução de Vishniac, na concentração de 1mL/L de meio de cultura. Após a solidificação do meio, estas foram mantidas sob temperatura de 28°C por 7 dias. Para a remoção dos esporos de *Aspergillus niger* AN 400, foi utilizada solução extratante de Tween 80 e removido a suspensão de esporos com pipeta automática para frascos esterilizados, mantidos sob refrigeração.

2.2. Contagem dos esporos

Na contagem dos esporos foi utilizado 950 µL da solução Tween 80 e 50 µL da suspensão de esporos com pipeta automática e transferida para tubos estéreis. A suspensão foi agitada em Vortex para melhor

homogeneização. Uma pequena quantidade foi transferida para a Câmara de Neubauer onde foi realizada a contagem em microscópio óptico de 400 vezes. Para efeito de cálculo do número de esporos foi empregada a equação: esporos/mL = esporos contados x diluição x $2,5 \times 10^5$. A concentração obtida da contagem de esporos foi de $1,66 \times 10^9$ esp/mL.

2.3. Meio Sintético

O meio sintético utilizado foi preparado com água de torneira adicionada de 1 mL/L de Solução Vishniac, 0,05 g/L de cloranfenicol a fim de evitar contaminação por bactérias e no caso do RFG, 1 g/L de glicose como fonte primária de carbono. A concentração de benzeno escolhida para ser estudada no experimento da batelada sem agitação foi de 0,18g/100mL, que é a máxima solubilidade do composto na água. Após a homogeneização e total solubilização dos compostos adicionados, foram distribuídas as alíquotas para cada reator.

2.4. Montagem dos reatores em batelada sem agitação

Os reatores foram montados em duplicata sendo divididos em lotes, contendo 1,5L do meio sintético. Foram montados 30 reatores (Figura 1), que foram divididos em cinco lotes de seis reatores cada, de acordo com o tempo de reação, ficando a seguinte distribuição: Lote 01 – TR= 12 horas, Lote 02-TR = 01 dia, Lote 03-TR =05 dias, Lote 04 – TR= 10 dias e Lote 05 – TR =25 dias. Cada lote era formado de dois reatores de Controle (RC), contendo apenas 1,5 L de meio sintético, dois reatores com fungo (RF) e dois reatores com fungo e glicose (RFG). A aeração do meio foi mantida com uso de mini-compressores de ar.

Foram inoculados em cada reator RF e RFG 1,80mL de suspensão de esporos cujo valor partiu da seguinte equação:

$$C_1 \times V_1 = C_2 \times V_2 \quad [\text{Eq. 01}]$$

Sendo:

C_1 : Concentração de esporos na solução mãe;

C_2 : Concentração de esporos desejada para inóculo;

V_1 : Volume da solução mãe;

V_2 : Volume reacional ou volume útil do reator em batelada



Figura 1 - Reatores em batelada aerada sem agitação.

Os reatores eram postos fora de operação em função dos diferentes tempos de reação, sendo desmontados 01 Lote por dia de operação. As variáveis analisadas foram: DQO, pH, SSV (início e final) e concentração de benzeno, executadas de acordo com APHA (1998).

2.5. Montagem dos reatores em batelada com agitação

Para o experimento da batelada com agitação foram testadas duas concentrações de benzeno, de 1800mg/L e 100mg/L. Foram utilizados 10 erlenmeyers de capacidade de 250 mL. Para cada uma das 2 concentrações de benzeno estudadas formou-se um grupo de reatores composto por: 1 reator de controle contendo apenas o meio sintético, 2 Reatores de Fungo contendo o meio sintético e fungo e 2 reatores com Fungo e Glicose

contendo o meio sintético, fungo e glicose na concentração de 1g/L. Cada reator foi preenchido com 150 mL do meio sintético. A todos os reatores foram adicionados 0,05g/L de Cloranfenicol.

Os reatores foram mantidos em mesa agitadora horizontal (Figura 2), sob agitação de 150 rpm. O período inicial para a realização do experimento foi de 5 dias, porém optou-se por dividir o experimento em duas fases: a primeira seria a observação da atividade fúngica sob as mesmas condições em todos os reatores e a segunda fase a divisão dos mesmos em dois grupos onde o primeiro se manteve nas condições iniciais e o segundo grupo teve o meio acidificado para dar melhores condições de crescimento ao fungo. Essa divisão ocorreu para efeito de comparação das eficiências encontradas.

Neste período foi verificada a variação das mesmas variáveis analisadas nos reatores em batelada sem agitação: benzeno, DQO, pH e SSV. As análises de SSV e Benzeno foram realizados somente no início e final do experimento, já pH e DQO eram medidos diariamente.



Figura 2 - Reatores em batelada com agitação

2.6. Teste de Toxicidade

Para o teste de toxicidade foram preparadas 08 placas de Petri, em duplicata, com substrato composto de meio de cultura Agar Sabouraud Dextrose Cloranfenicol juntamente com Ágar bacteriológico para o endurecimento do meio e acrescentado o benzeno em concentrações variadas. As concentrações utilizadas foram de 100%, 75%, 50% e 25%. A fim de evitar contaminação bacteriana foi adicionado cloranfenicol (0,05g/L) ao meio. O crescimento dos fungos foi medido apenas visualmente.

2.7. Determinação do Benzeno

Para a determinação do benzeno foi utilizado um cromatógrafo líquido de alta eficiência (HPLC Varian mod. 335, equipado com detector UV-VIS). A separação dos compostos foi realizada em coluna C8 Microsorb-MV 100-5 de comprimento 250 x 4,6mm nas seguintes condições cromatográficas: sistema isocrático com fase móvel metanol/água (70:30 v/v), $\lambda = 260$ nm, $Q = 1$ mL/min, tempo de corrida de sete minutos e volume de injeção de 20 μ L.

3. RESULTADOS

3.1. Teste de Toxicidade

O teste de toxicidade apontou o desenvolvimento de *Aspergillus niger* AN 400 em todas as concentrações estudadas (Figura 3). Não houve, contudo, um crescimento significativo nas placas de 100% mas sim de alguns pontos isolados, o que indica que, embora não seja uma concentração ideal para o crescimento do fungo, o mesmo foi tolerante ao efeito tóxico do benzeno.

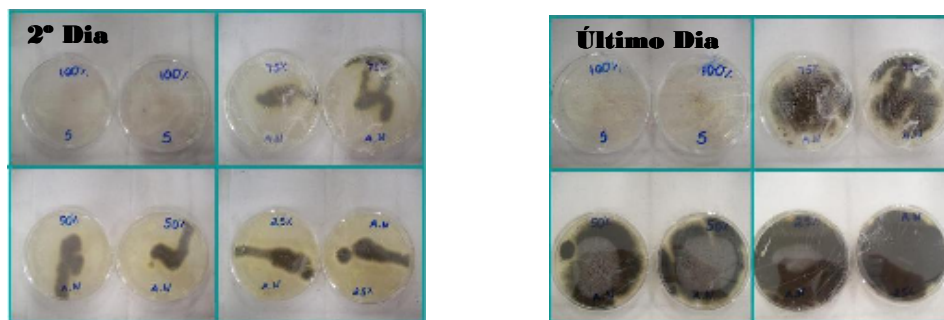


Figura 3 - Crescimento do fungo no 2º e último dia do teste de toxicidade

3.2. Variação de pH

Conforme apresentado nas figuras 4, 5 e 6, o pH apresentou um comportamento uniforme nos dois experimentos estudados. Nos reatores em batelada aerada sem agitação, com exceção do RFG (25º dia), cujo valor foi de 3,41, todos se mantiveram com uma faixa de pH de 6,08 a 7,65 (Figura 9).

Segundo Griffin (1994), o ideal para o crescimento dos fungos é que o meio tenha pH entre 4 a 6. Contudo, os valores na faixa de neutralidade encontrados no experimento da batelada sem agitação, se justificam pelo fato de não ter sido realizado o ajuste de pH no meio, a fim de avaliar a eficiência do fungo sob condições naturais. Sampaio (2004) reforça ainda que, isto é decorrência do metabolismo dos fungos que possuem capacidade de produzir substâncias que adequam o pH ao valor mais conveniente a eles.

O pH atingiu valores menores nos reatores RFG, indicando maior atividade metabólica nos reatores onde os fungos dispunham inicialmente de glicose devido à maior produção de ácidos orgânicos, a partir do consumo do referido substrato primário (RODRIGUES, 2007).

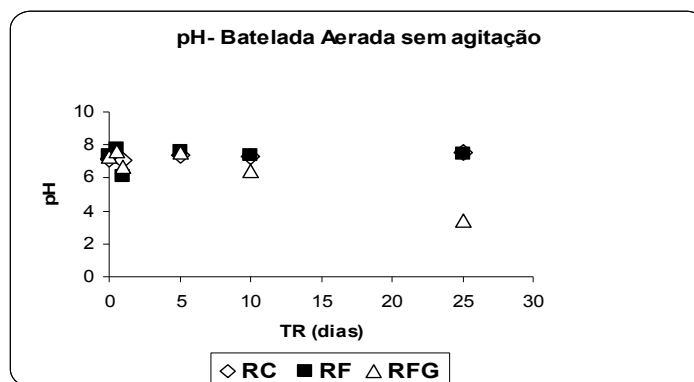


Figura 4 - Variação de pH nos reatores em Batelada Aerada sem Agitação

No experimento de batelada sob agitação, optou-se por prolongar os tempos de reação, em que parte dos reatores foram acidificados para dar melhores condições de crescimento ao fungo. Por essa alteração os valores de pH do último dia deste experimento, ficaram na faixa de 2,00 na concentração de 100 mg de benzeno/L e 2,38 na concentração de 1800 mg de benzeno/L.

Os valores de pH na batelada com agitação com 100 mg/L de benzeno variou de 7,87 no 1º dia a 2,00 no 14º dia (Figura 5). Já os resultados de pH para os reatores da batelada com agitação para a concentração de benzeno de 1800mg/L variaram de 7,69 a 2,38 (Figura 6).

O decréscimo de pH dos reatores acidificados, provavelmente ocorreu devido à produção de ácidos orgânicos, próprios do metabolismo do fungo (GRIFFIN, 1994). Contudo, o decaimento do pH em alguns reatores com fungo e glicose deste experimento pode ser explicado devido à presença de glicose ao meio, e sendo esta uma fonte primária de carbono, o fungo a consome facilmente e excreta rapidamente os ácidos orgânicos para o meio ocasionando a diminuição do pH (BRITO, 2006).

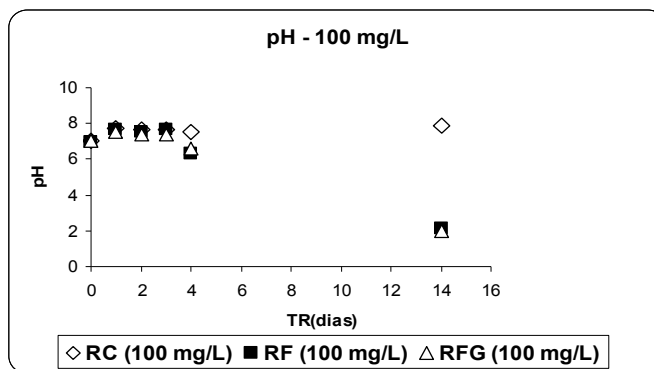


Figura 5 - Variação de pH nos reatores em batelada Sob agitação de concentração de 100 mg/L

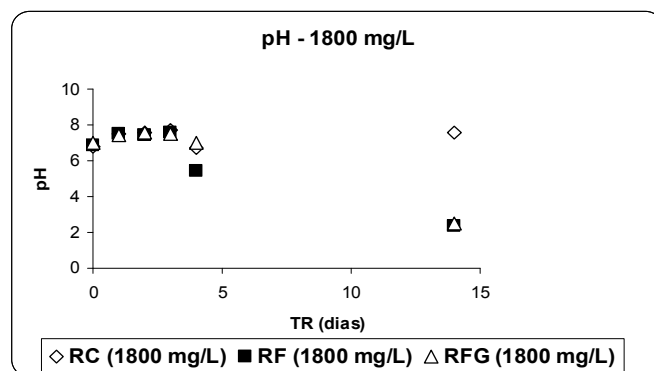


Figura 6 - Variação de pH nos reatores em batelada sob agitação de concentração de 1800mg/L

3.3. Variação de DQO

Como mostrado nas Figuras 7, 8 e 9, os valores de DQO apresentaram uma remoção instável nos dois experimentos estudados. Na operação em batelada aerada sem agitação, observou-se remoção de DQO em todos os tempos de reação analisados, tanto nos reatores de controle como nos reatores contendo a espécie fúngica. Os resultados mostraram remoções de matéria orgânica de até 89,30%. Curiosamente, apesar de nos reatores RFG -25º dia o pH ter decaído para 3,41, a remoção de DQO não foi tão eficiente quanto aos outros reatores cujo os valores de pH não saíram da faixa de neutralidade.

Segundo Wanderley (2007) a instabilidade na remoção de matéria orgânica pode estar relacionada com a presença de subprodutos formados no meio, ou mesmo substâncias excretadas pelos fungos oriundas do seu metabolismo.

Rodrigues (2007) verificou que a glicose por ser um composto mais facilmente degradado, resulta em um aumento mais rápido da biomassa, e, consequentemente, da eficiência de remoção de matéria orgânica, devido seu maior consumo pela população microbiana.

Em contraposto ao que descreve a autora, neste trabalho a glicose utilizada como fonte primária de carbono nos reatores RFG, não influenciou na obtenção de melhores eficiências de remoção de matéria orgânica nos dois experimentos estudados. Provavelmente a ocorrência deste fato pode estar relacionada, ao tipo de microrganismo utilizado e ao composto estudado (WANDERLEY, 2007).

Os resultados evidenciaram a ocorrência de remoção de DQO por parte dos reatores de controle, fato que pode ser justificado por uma possível contaminação por outros microrganismos, apesar de não ter sido constatado o crescimento visível da espécie nestes reatores.

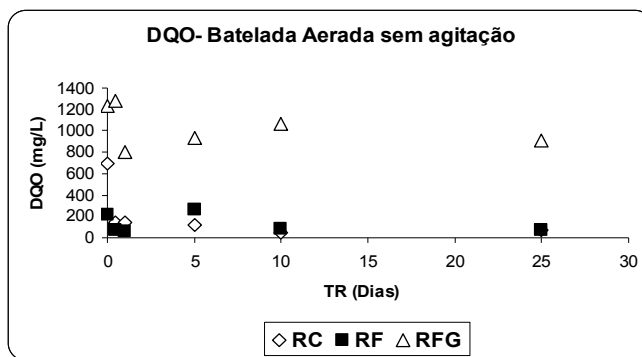


Figura 7 - Variação de DQO nos reatores em batelada aerada sem agitação

Nos reatores da batelada sob agitação também foram observadas remoção de DQO em todas as etapas estudadas. Os percentuais de remoção na concentração de 100 mg/L foram de 87,8% (RC), 80,3% (RF) e 82,5% (RFG). Para a concentração de benzeno de 1800 mg/L os valores de remoção encontrados foram de: 82,3% nos reatores de controle, 71,2% nos reatores de fungo e 49,9% nos reatores de fungo e glicose.

A maior remoção de matéria orgânica pelos reatores de controle também foram observadas por Sampaio *et al.* (2002) ao estudar um sistema contínuo constituído por um reator de fluxo ascendente com manta de lodo (UASB), seguido por um filtro biológico inoculados com fungos, dentre eles *Aspergillus niger* para o tratamento da água residuária de uma indústria de beneficiamento de castanha de caju.

Ao ser realizada a acidificação de parte dos reatores da batelada com agitação para favorecer a atividade fúngica, verificou-se uma similaridade ou até mesmo diminuição da eficiência de remoção em comparação aos reatores mantidos nas condições iniciais. Isto ressalta a possibilidade de que apesar da adição de cloranfenicol para inibir o crescimento bacteriano, a população bacteriana ainda teve participação na eficiência dos reatores antes da acidificação.

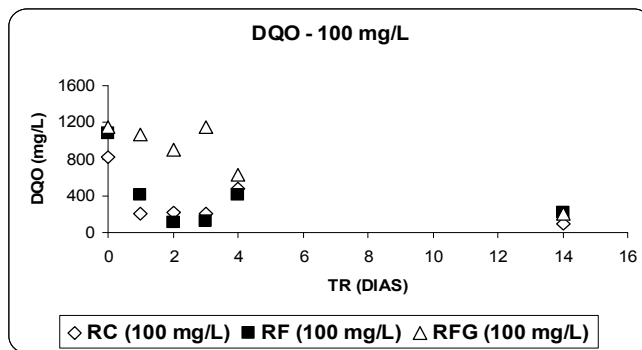


Figura 8 - Variação de DQO nos reatores em batelada sob agitação de concentração de 100mg/L

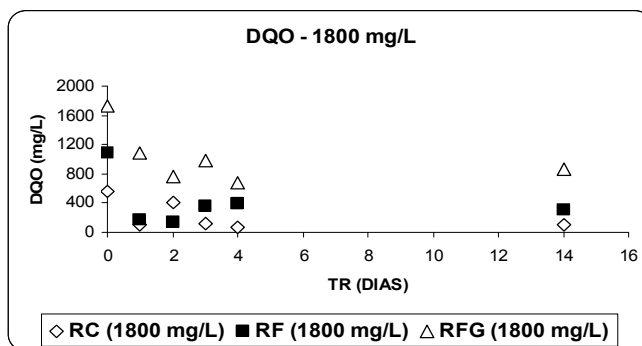


Figura 9 - Variação de DQO nos reatores em batelada sob agitação de concentração de 1800mg/L

3.4. Variação de SSV

Os resultados de SSV mostraram que houve desenvolvimento da biomassa fúngica nos dois experimentos estudados. A concentração de SSV inicial e final para os reatores em batelada aerada sem agitação RC, RF e RFG foram, respectivamente, 1 mg/L e 17 mg/L; 4,3 mg/L e 22 mg/L; 11 mg/L e 26 mg/L. Os resultados indicaram que houve crescimento da biomassa nos reatores controle, o que levanta a hipótese de contaminação de por algum consórcio de microrganismos, podendo ser por bactérias, fungos de outras espécies ou até mesmo por *Aspergillus niger*.

Os valores encontrados nos reatores com fungo e glicose foram semelhantes aos outros dois tipos de reatores do experimento, ou seja, apesar da adição de glicose nestas soluções, a mesma não foi suficiente para influenciar em um maior crescimento da biomassa.

Tanto nos reatores da batelada aerada sem agitação como nos reatores da batelada com agitação com concentração de 1800 mg/L, a alta concentração de benzeno utilizada pode não ter favorecido a um maior crescimento da espécie fúngica. Possivelmente concentrações menores que esta, acarretaria em melhores resultados para o desenvolvimento da espécie, anulando a possibilidade de inibição do crescimento do fungo.

A concentração de SSV inicial e final no experimento da batelada sob agitação na concentração de 100 mg/L para os reatores RC, RF e RFG foram, respectivamente, 19 mg/L e 14 mg/L; 30 mg/L e 36 mg/L; 23 mg/L e 29,8 mg/L. Para o mesmo ensaio na concentração de 1800 mg/L os resultados foram respectivamente 20 mg/L e 9 mg/L; 20 mg/L e 35 mg/L; 19 mg/L e 22 mg/L.

Diferentemente da batelada sem agitação, onde foi observado o crescimento da biomassa nos reatores de controle, na batelada com agitação não ocorreu tal fato, o que indica que os reatores de controle das duas concentrações de benzeno analisadas neste experimento, estavam livres de contaminação.

De acordo com Kyriacou et al. (2005) citado por Rodrigues (2007) a atividade microbiana é diretamente influenciada pela quantidade de biomassa, observando-se melhor remoção de DQO. Para os dois experimentos estudados, os resultados indicam que apesar do crescimento da biomassa fúngica ter sido contínuo, as mesmas não evitaram a instabilidade de remoção da matéria orgânica observada em todo o experimento.

É importante ressaltar que o desenvolvimento fúngico poderia ter atingido valores maiores se os valores de pH estivessem na faixa ideal para o seu crescimento. O'Donnell et al. (2001) ao investigar o efeito do controle do pH sobre a atividade de enzimas proteases produzidas por *A. niger* observou maior produção de biomassa em pH 3 (5,1 g de biomassa/L), registrando-se valores menores em pH 7 (1,9 g de biomassa/L).

3.5. Variação de benzeno

Os resultados da análise cromatográfica para a batelada sem agitação mostraram remoção de benzeno de 99,8% nos reatores com fungo, mantendo-se estável a partir do 10º dia e permanecendo até o final do experimento. Para os reatores com fungo e glicose observou-se que no tempo de reação de 5 dias já havia sido removido quase 100% do composto em estudo (Figura 10).

As altas porcentagens de remoção de benzeno nos reatores com fungo e glicose da batelada sem agitação ocorreram em conjunto com o decaimento do pH nos referidos reatores, refletindo uma maior atividade metabólica nestes reatores a partir do consumo da fonte primária de carbono - glicose.

Para a batelada com agitação de 100 mgBenzeno /L nos reatores com fungo, a remoção foi baixa, com percentuais máximos de 9%. Nos RFG a remoção máxima foi de 33,40%. Embora nessa concentração tenha ocorrido um bom crescimento da biomassa, neste estudo, não se obteve a melhor remoção de benzeno, devendo-se levar em consideração, portanto, que a alta toxicidade do composto pode ter estressado o fungo e inibido o seu metabolismo (BRITO, 2006).

Na batelada com agitação na concentração de 1800 mgBenzeno/L, o melhor desempenho ocorreu nos reatores com fungo com percentuais de remoção de 60,90% no tempo de reação de 14 dias. Em contrapartida, nos reatores com fungo e glicose o percentual de remoção de benzeno foi de 28,90%.

A baixa porcentagem de remoção de benzeno nos reatores com fungo e glicose indica a possibilidade de que a glicose no meio tenha sido rapidamente consumida, não possibilitando a uma maior assimilação do poluente pelo fungo e consequentemente, não favorecendo uma maior eficiência de remoção do composto.

A eficiência de degradação do benzeno foi, portanto, superior nos reatores em batelada sem agitação, onde foram alcançados percentuais de quase 100% de remoção. Em contraposto, os reatores em batelada com agitação de 100 mgBenzeno/L e 1800 mgBenzeno/L alcançaram valores máximos de remoção de benzeno de 33,40% e 60,90%, respectivamente.

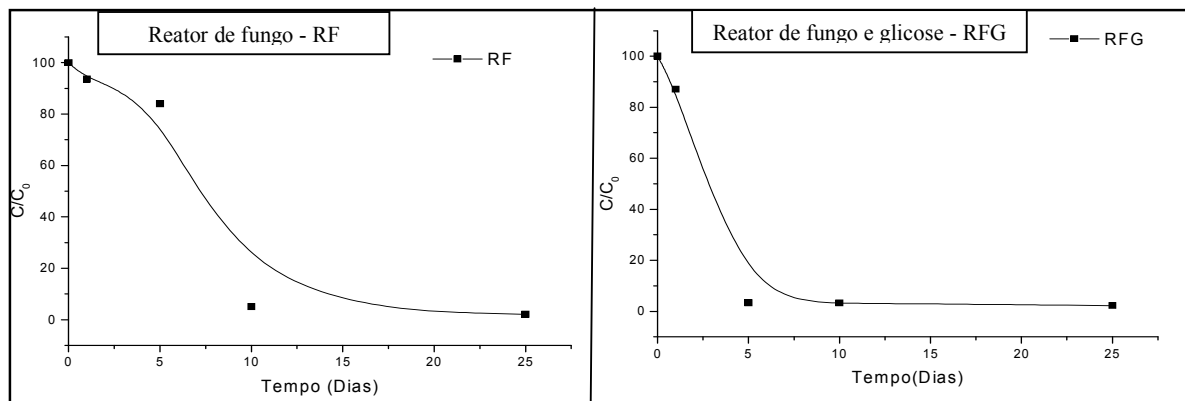


Figura 10 - Degradação de benzeno nos reatores de fungo e reatores de fungo e glicose da batelada sem agitação

4. CONCLUSÃO

O ensaio de toxicidade do *Aspergillus niger* AN400, mostrou que o fungo foi capaz de crescer em todas as concentrações testadas. Embora o fungo tenha se desenvolvido na concentração de 100%, não houve um crescimento significativo do mesmo na respectiva placa. Os melhores resultados foram obtidos nas concentrações de 50% e 25% com o total recobrimento das placas.

Os resultados para a batelada sem agitação mostraram remoção de benzeno de 99,8% no RF e 97,9% no RFG. Na batelada com agitação de concentração de 100 mgBenzeno/L as remoções foram de 9% e 33,40% para RF e RFG, respectivamente. Na batelada com agitação de concentração de 1800 mgBenzeno/L os percentuais de remoção foram de 60,90% para os reatores com fungo e 28,90% para os reatores com fungo e glicose.

Dos dois tipos de batelada estudada a eficiência de degradação do benzeno foi superior nos reatores em batelada sem agitação, onde foram alcançados percentuais de quase 100% de remoção. Em contraposto, os reatores em batelada com agitação de 100 mgBenzeno/L e 1800 mgBenzeno/L alcançaram valores máximos de remoção de benzeno de 33,40% e 60,90%.

REFERÊNCIAS

AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION, AMERICAN WATER WORKS ASSOCIATION, WATER ENVIRONMENTAL FEDERATION. **Standard methods for the examination of water and wastewater**. 20a. Ed. Washington, APHA/AWWA/WEF, 1998.

BRITO, P. E. A. **Tratamento biológico de água residuária industrial têxtil em reatores em Batelada com *Aspergillus niger* AN400**. Monografia (Graduação em Tecnologia em Gestão Ambiental) - Centro Federal de Educação Tecnológica do Ceará, 2006.

FASANELLA C. C. **Produção de Biosurfactantes em quatro linhagens fúngicas com potencial para futuro processo de Biorremediação em derramamentos de Petróleo provenientes de Refinarias**. Monografia (Graduação em Ciências Biológicas) - Centro Universitário da Fundação de Ensino Octávio Bastos - São João da Boa Vista, SP, 2005.

FISPQ/BRASKEN. **Ficha de Informação de Segurança de Produto Químico, 2005**. Disponível em: <http://www2.braskem.com.br/upload/FISPQ_GasPirolise_rev01.pdf> Acesso em: 13 mai 08.

GRIFFIN, D. H. **Fungal Physiology**. Willey-Liss, New York, 1994.

JACOBUECCI, D. F. C. **Estudo da influência de biosurfactantes na biorremediação de efluentes oleosos.** Dissertação (Mestrado em Ciência dos Alimentos) - Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2000.

KYRIACOU, A. *et al.* **Combined bioremediation and advanced oxidation of green table olive processing wastewater.** Process Biochemistry, n. 40, p. 1404 – 1408, 2005.

MACHADO, J. M. H.; COSTA, D. F.; CARDOSO L. M.; ARCURI, A. **Alternativas e processos de vigilância em saúde do trabalhador relacionados à exposição ao benzeno no Brasil.** Ciência e saúde coletiva vol.8 nº.4 São Paulo, 2003.

MARIANO, A. P. **Avaliação do potencial de biorremediação de solos e de águas subterrâneas contaminados com óleo diesel.** Tese (Doutorado em Geociências e Meio Ambiente), Universidade Estadual Paulista, Instituto de Geociências e Ciências Exatas, 2006.

MARIANO, J. B. **Impactos Ambientais do Refino de Petróleo.** Dissertação (Mestrado em Ciências em Planejamento Energético) - Universidade Federal do Rio de Janeiro, 2001.

MINISTÉRIO DA SAÚDE. **Norma de Vigilância da Saúde dos Trabalhadores expostos ao Benzeno, 2003.** Disponível em: < <http://www.opas.org.br/saudedotrabalhador/arquivos/Sala181.pdf>> Acesso em: 5 jun 08.

O'DONNELL, D.; WANG, L.; XU, J.; RIDGWAY, D.; GU, T.; MOO-YOUNG, M. **Enhanced heterologous protein in *Aspergillus niger* through pH control of extracellular protease activity.** Biochemical Engineering Journal, 2001.

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

RODRIGUES, K. A.; SAMPAIO; G. M. M. S.; ZAIAT, M. SANTAELLA, S. **Influência da glicose sobre o consumo de fenol por *Aspergillus niger* AN400 em reatores em batelada.** Engenharia Sanitária e Ambiental. Vol.12 - Nº 2 - abr/jun 2007, 222-228, 2007.

SAMPAIO, G. M. M. S.; SANTAELLA S. T. **Remoção de DQO em água residuária industrial através de um sistema em escala laboratorial composto por um reator UASB seguido por um filtro biológico com fungos.** VI Simpósio Ítalo Brasileiro de Engenharia Sanitária e Ambiental, Vitória, Espírito Santo, 2002.

SAMPAIO, G. M. M. S.; SANTOS E. M. A.; LEITÃO R. C.; FACÓ A. M.; MENEZES E. A.; SANTAELLA S. T. **Pós-Tratamento de efluente de um Reator UASB através de um Reator Biológico com Fungos.** Engenharia Sanitária e Ambiental, Vol. 9 - Nº 1 - 73-81, 2004.

SAMPAIO, G. M. M. S. **Remoção de metil paration e antrazina em reatores com fungos.** Tese (Doutorado em Engenharia Civil) - área de concentração em Hidráulica e saneamento, Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, 2005.

VASSILEV, N.; FENICE, M.; FEDERICE, F.; AZCON, R. **Olive mill waste water treatment by immobilized cell of *Aspergillus niger* and its enrichment with soluble phosphate.** Process Biochemistry. V. 32, n 7, p. 617-620. 1997.

WANDERLEY, C. R. P. ***Aspergillus niger* AN400 como inóculo de reatores em Batelada para remoção do corante vermelho do congo em meio aquoso sintético.** Dissertação (Mestrado em Engenharia Civil – Saneamento Ambiental) - Departamento de Engenharia Hidráulica e Ambiental, Universidade Federal do Ceará, 2007.