# VARIAÇÃO DE GLICOSE E SACAROSE NA REMOÇÃO DE CORANTE AZO VERMELHO DO CONGO EM REATOR EM BATELADA POR Aspergillus niger AN400.

# Kamylla ARAÚJO (1); Ivinne MELO (2); Glória MARINHO (3); Carlos Ronald Pessoa WANDERLEY (4) ; Kelly RODRIGUES (5)

(1) Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Ceará – IFCE, Av. Treze de Maio, 2081, Benfica, Caixa Postal 60040-531, Fortaleza – CE, Fone (85) 3307-3666, Fax (85) 3307-3750, email:

kamylla\_ga@hotmail.com

- (2) Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Ceará IFCE, email: favim @hotmail.com
- (3) Depto. de Química e Meio Ambiente, Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Ceará IFCE, Campus Fortaleza, email: gloriamarinho@ifce.edu.br
- (4) Depto. de Química e Meio Ambiente, Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Ceará IFCE, Campus Maracanaú, email: ronald@ifce.edu.br
- (5) Depto. de Química e Meio Ambiente, Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Ceará IFCE, Campus Fortaleza, email: kelly@ifce.edu.br

#### **RESUMO**

O aumento da demanda de produtos químicos utilizados por indústrias têxteis proporcionou o aumento do volume de águas residuárias contendo corantes que são compostos de difícil degradação, tornando-se importante fonte de poluição ambiental, além de ser prejudicial aos seres vivos por serem cancerígenos e tóxicos. Dentro deste contexto, este trabalho visou promover a remoção de corante vermelho do congo e de matéria orgânica carbonácea pela espécie fúngica *Aspergillus niger* AN 400, utilizando como cossubstratos glicose e sacarose em diferentes concentrações 0,5 g/L e 1 g/L. Foram montados 30 reatores, todos operados em duplicata, com diferentes tempos de reação, e embalados com sacos pretos de polietileno, sendo isolados em uma capela com radiação ultravioleta. Em relação aos nutrientes não ocorreram remoções significativas, sendo que os percentuais de remoção de corante foram de 66% para RC, de 90% para RF, 85% para RFSI, de 70% para RFSII, de 94% para RFGI e de 96% para RFGII. Quanto à remoção de matéria orgânica, foram alcançados 58%, 48%, 90%, 80%, 84% e 88% para os reatores RC, RF, RFSI, RFSII, RFGI e RFGII, o que indicou que aparentemente a glicose foi o melhor cossubstrato para a remoção de vermelho do congo pelos fungos.

Palavras-chave: Aspergillus niger; batelada; corante; cossubstrato; reatores biológicos.

## 1. INTRODUÇÃO

As indústrias têxteis são caracterizadas por elevada taxa de produtos químicos, devido ao processo da tintura de tecidos, de modo que a quantidade de corante e de outros produtos depende das características da fibra têxtil, sendo o tingimento fundamental para o sucesso comercial dos produtos têxteis. Além disso, processo de tintura envolve uma etapa final de lavagem para retirada do excesso do corante original ou hidrolisado, não fixado à fibra nas etapas precedentes, o que resulta em grandes quantidades de corantes presentes nestes despejos (GUARATINI, 2000; SAHINKAYA, 2008).

Os corantes são altamente detectáveis a olho nu, sendo visíveis em concentrações tão baixas quanto a 1 ppm. A remoção da cor em sistemas aquáticos, causada pela presença de corantes sintéticos que geralmente contém grupos de azo-aromáticos, é extremamente importante a partir da perspectiva ambiental porque a maioria destes corantes são tóxicos, mutagênicos e cancerígenos (GUARATINI, 2000; VIRARAGHAVAN, 2002).

O vermelho do congo é corante do grupo azo-aromático – podendo conter mais de um grupamento azo (– N =N –), classificado como direto por sua solubilidade. Os corantes azo são considerados compostos complexos de difícil degradação devido à sua resistência à radiação solar, ácidos, bases e oxidação, sendo altamente resistentes aos processos de tratamento de efluentes convencionais (GUARATINI, 2000; AIVASIDIS, 2006; WANDERLEY, 2007).

O vermelho do congo foi o primeiro corante sintético a ser utilizado para tingimento do cotton, sendo que é muito sensível a ácidos, alterando sua cor de vermelho para azul, na presença de ácidos orgânicos (WANDERLEY, 2007).

Assim, em função do perigo que compostos como estes representam para o ambiente, novas tecnologias de tratamento de efluentes têxteis têm sido buscadas, como o uso de reatores biológicos com fungos que vem alcançando resultados promissores, o que é à ação de enzimas extracelulares específicas, como *proteases*, *celulases*, *ligninases*, *lactases*, entre outras, as quais são por eles secretadas e facilitam a biodegradação de poluentes recalcitrantes, permitindo assim um melhor tratamento final de efluentes, como o de indústria têxtil (KUNZ, 2000; WANDERLEY, 2007; BARBOSA, 2009).

Nesta pesquisa, foi utilizada a espécie fúngica *Aspergillus niger*, que possui comprovada eficiência em remoção de compostos recalcitrantes (VASSILEV et *al.*, 1997; GARCÍA et *al.*, 2000; RODRIGUES, 2006; LOPES, 2009), com o objetivo de estudar a influência da adição de sacarose e de glicose em diferentes concentrações, em reatores operados em regime de batelada com biomassa dispersa, na remoção de corante vermelho do congo e de matéria orgânica carbonácea.

#### 2. MATERIAL E MÉTODOS

#### 2.1. Cultivo, produção e contagem dos esporos de Aspergillus niger AN 400

O cultivo dos esporos do fungo *Aspergillus niger* AN400 foi realizado no Laboratório de Tecnologia Ambiental (LATAM) do Instituto Federal do Ceará (IFCE), segundo procedimentos descritos por SILVA (2008), utilizando placas de petri estéreis, contendo 15 mL de meio de cultura Saboraud, o qual foi previamente esterilizado a 122°C, durante 15 minutos. Também foi adicionado ao meio, solução de Vishniac, como fonte de nutrientes, na concentração de 1 mL/L.

Solidificado o meio de cultura, os esporos da espécie foram transferidos para as placas que foram mantidas sob temperatura de  $28^{\circ}$ C durante 7 dias para germinação e crescimento do fungo por toda a superfície das mesmas, quando então os esporos foram removidos com  $25\mu$ L de solução Tween 80, diluída em 500 ml de solução de NaCl (0,08 mg/L). A suspensão de esporos formada foi removida com uso de pipeta automática, previamente esterilizada, e transferida para frasco âmbar com volume de 200 mL, onde ficou armazenado.

O frasco que continha a solução de esporos foi homogeneizado manualmente antes da retirada de alíquota  $(50~\mu L)$  que foi diluída em solução Tween 80, na proporção de 1:20, para uso em procedimento de contagem de esporos.

Com ajuda de pipeta automática de 20 µL, a suspensão de esporos foi transferida para uma lamínula que foi levada para a câmara de Neubauer para contagem dos esporos, efetuada em microscópio óptico, com

aumento de 45 vezes.

A partir da concentração resultante da solução mãe de esporos (1,66 x 10<sup>9</sup> esporos/mL), foram calculados os volumes da suspensão a serem adicionados aos reatores em batelada para a obtenção da concentração empregada neste trabalho, a qual foi de 2 x 10<sup>6</sup> esporos/mL.

#### 2.2. Composição do meio aquoso sintético têxtil

O meio aquoso que alimentou os reatores foi preparado conforme SILVA (2008), com água de torneira acrescida de 30 mg/L do corante azo Vermelho do Congo (Figura 1), de macro nutrientes (mg/L): NH<sub>4</sub>Cl (280), K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> (250), MgSO<sub>4</sub>. 7H<sub>2</sub>O (100) e CaCl.2H<sub>2</sub> (10) e micronutrientes (mg/L): 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), CoCl<sub>2</sub>6H<sub>2</sub>O (2000).

O pH do meio foi previamente acidificado com ácido sulfúrico (H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) a fim de mantê-lo entre 4 e 6, o que propicia melhor desenvolvimento dos fungos, além de diminuir a atividade de bactérias oportunistas (GRIFFIN, 1994).

Antes de ser acrescida de sais, a água utilizada para o Reator Controle, foi esterilizada em autoclave durante 20 minutos sob pressão de 1 atm e à temperatura de 121°C.

Figura 1: Estrutura química do corante Vermelho do Congo Fonte: KUNZ et al. (2002); FU et al. (2002).

#### 2.3. Reatores em batelada

Foram utilizados como reatores, recipientes de vidro com formato cilíndrico e volume total de 1L, os quais foram preenchidos com 500 mL de meio aquoso, tendo-se adicionado o inóculo apenas nos reatores com fungos.

Em seguida, os reatores foram vedados com tampas rosqueáveis com entrada de ar que era difundido através de mini-compressores para o meio por pedras porosas.

O experimento foi realizado durante 10 dias, colocando um reator de operação a cada tempo reacional estudado: 1, 3, 5,7 e 10 dias.

A batelada foi realizada com 60 reatores dos quais 30 eram duplicatas, dos quais 10 reatores foram utilizados para controle (RC) – onde havia apenas a água residuária; 10 reatores tendo somente o inóculo fúngico no meio aquoso (RF); 10 reatores com fungos e 0,5 g/L de sacarose (RFSI), 10 reatores com fungos e 1 g/L de sacarose (RFSII), 10 reatores com fungos e 1 g/L de glicose (RFGII).

Os reatores foram cobertos por sacos pretos de polietileno e colocados em uma capela isolada com radiação UV (140W), a fim de minimizar a contaminação dos reatores por outros micro-organismos.

#### 2.4. Variáveis analisadas

Neste período foram analisadas as variáveis demanda química de oxigênio (DQO), corante, potencial hidrogeniônico (pH) e sólidos suspensos voláteis (SSV), sendo feito apenas nos tempos de reação de 0 dia e 10 dias as análises de nitrato, nitrito, nitrogênio amoniacal, ortofosfato e fósforo total. Todas as análises foram executadas de acordo com APHA (2005), exceto corante que foi analisado de acordo com SILVA FILHO (2007).

#### 3. RESULTADOS E DISCUSSÕES

Na Figura 2 é apresentada a variação dos valores de pH nos reatores RC, RF, RFSI, RFSII, RFGI e RFGII ao longo da batelada.

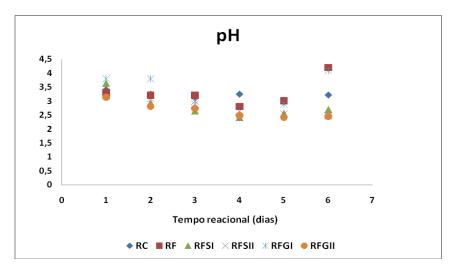


Figura 2: Variação de pH nos reatores RC, RF, RFSI, RFSII, RFGI e RFGII ao longo da batelada.

A diminuição dos valores do pH pode ser observado em todos os reatores, sendo que em RC e em RF houve pouca variação ficando entre 3 e 4, já que os valores iniciais de pH de todos os reatores variavam entre 4 e 5, faixa esta considerada ótima para o crescimento dos fungos (GRIFFIN, 1994).

Nos reatores que continham cossubstrato (RFSI, RFSII e RFGII) a variação ficou entre 2 e 3, cuja diminuição possa ser atribuída a formação de ácidos orgânicos, provavelmente decorrentes da ruptura da molécula do corante e do cossubstrato, indicando assim uma atividade metabólica elevada dos fungos (RODRIGUES, 2006). Já no reator RFGI, os valores de pH do 1° ao 7° dia variaram igualmente aos outros reatores sendo que no 10° dia o pH tendeu a aumentar para os valores iniciais, que possivelmente esse aumento possa ter ocorrido pela exaustão do cossubstrato havendo assim um provável consumo desses ácidos (LOPES, 2009).

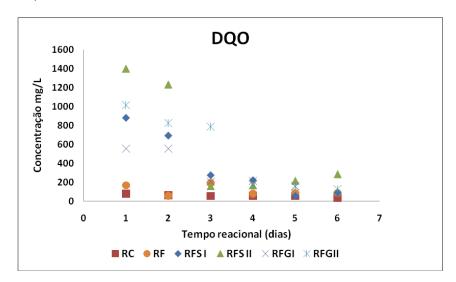


Figura 3: Remoção de matéria orgânica, em termos de DQO, nos reatores RC, RF, RFSI e RFSII, RFGI e RFGII.

A eficiência final de remoção de matéria orgânica medida em termos de DQO bruta, foi de 58%, 48%, 90%, 80%, 84% e 88% para os reatores RC, RF, RFSI, RFSII, RFGI e RFGII como pode ser visto na Figura 3.

Nos reatores RF a remoção baixa de matéria orgânica pode ser explicada possivelmente pelo fato de não possuirem fonte de substrato de fácil assimilação e um inóculo fúngico e do reator com fungos não conter um cossubstrato, o que diferentemente pode ser visto nos reatores que continham o fungo *Aspergillus niger* AN400 e um cossubstrato de fácil assimilação.

Em RFSI e RFGII foram alcançadas as melhores eficiências, no entanto em RFSII e RFGI também atingiuse boas remoções com valores bem próximos uns dos outros, logo tanto a sacarose quanto a glicose acarretaram melhores remoções de matéria orgânica. Paralelamente ao consumo de corante e de matéria orgânica, observou-se o crescimento da biomassa fúngica em forma de "pellets", pequenas esferas aglutinadas, devido, provavelmente, ao estímulo da produção de polissacarídeos pelo uso de glicose e de sacarose, dissacarídeo formado por glicose e frutose, sendo a mesma metabolizada pela enzima invertase (GALVÃO et al , 2008).

A biomassa foi medida pela concentração de sólidos suspensos voláteis (SSV). Uma vez que DQO possui uma relação com SSV, já que tendo uma grande quantidade de biomassa presente no sistema, haverá, portanto, um maior consumo de matéria orgânica pela população microbiana (RODRIGUES, 2006), confirmou-se a necessidade de adição de uma fonte primária de carbono para suprir os requisitos de energia requeridos pelo fungo GRIFFIN(1994).

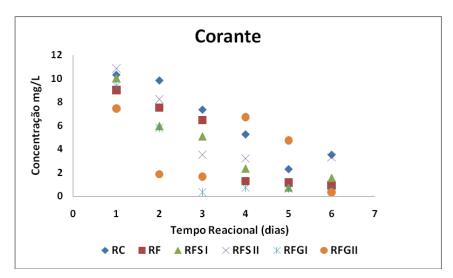


Figura 4: Remoção de corante nos reatores RC, RF, RFSI, RFSII, RFGI e RFGII.

Como pode ser visto na Figura 4, verificou-se que o percentual de remoção de 90%, registrado no final da batelada nos reatores nos quais os fungos não dispunham da presença de qualquer tipo de cossubstrato (sacarose ou glicose). Porém, as maiores remoções de corante se deu nos reatores que receberam adição de glicose RFGI (94%) e RFGII (96%) que segundo (MARZZOCO E TORRES, 1999; RODRIGUES, 2007) a glicose representa uma fonte mais fácil de ser assimilada, sendo um composto universalmente assimilado pelos organismos, suprindo as necessidades energéticas de quase todas as células e também por ser mais facilmente degradado, resultando no aumento mais rápido da biomassa, e, conseqüentemente, da eficiência de remoção de matéria orgânica e do poluente.

RODRIGUES (2007) obtiveram resultados semelhantes na utilização de *Aspergillus niger* no tratamento de efluente com compostos fenólicos utilizando glicose como fonte primária de carbono. Da mesma forma, SILVA (2009) ao empregar água residuária sintética com corante em reatores em batelada com *Aspergillus niger*, observou que as maiores remoções de corante foi com a presença de glicose alcançando um percentual médio máximo de 97% no 3° dia e de 94% ao final do experimento.

De acordo com KHELIFI *et al.* (2008), que utilizou em seu estudo a espécie fúngica *Aspergillus alliaceus*, os fungos consomem as fontes de carbono mais fáceis de serem assimiladas nos estágios iniciais de crescimento e, em seguida, iniciam a produção de metabólitos secundários e de enzimas extracelulares para a

biodegradação de corantes, sendo, portanto, fundamental uma fonte inicial de carbono.

Porém, a remoção de corante não aconteceu de forma tão intensiva em RFSI (85%) e em RFSII (70%) em relação à adição de glicose, o que por estar relacionado ao fato da sacarose ser composta por dois diferentes monossacarídeos, de modo que a sacarose, supostamente, deveria apenas parcela da glicose necessária como fonte primaria de carbono e energia aos microrganismos. Estes resultados foram considerados bons semelhantemente a BARBOSA (2010) que alcançou eficiência de 82% em um reator aeróbio de leito fixo, com inóculo de *Aspergillus niger*, operado sob TDH de 8h, na presença de sacarose com 0,5 g/L, para remoção de 30 ppm de vermelho do congo.

Em relação aos nutrientes, o nitrogênio é um macroelemento essencial para o metabolismo de aminoácidos, ácidos nucléicos, síntese de polissacarídeos e outros co-fatores, sintetizados a partir de formas inorgânicas do nitrogênio (GRIFFIN, 1994). A espécie *Aspergillus niger* é capaz de utilizar simultaneamente amônia e nitrato, embora suas velocidades de consumo sejam diferentes, sendo a velocidade de consumo do nitrogênio amoniacal superior a de nitrato (AINSWORTH E SUSSMAN, 1996). O nitrito é um composto intermediário e bastante instável, implicando, algumas vezes, em uma concentração muito pequena ou abaixo do limite de detecção do método, como observado no presente trabalho (AINSWORTH E SUSSMAN, 1996; ESPOSITO & AZEVEDO, 2004).

Neste trabalho foi observado que nos reatores RFGI e RFGII foram obtidas remoções de amônia de 60% e 70%, respectivamente, confirmando assim a afinidade que os fungos possuem pela amônia e que sua velocidade de consumo foi mais rápida que de nitrato já que houve aumento em suas concentrações não havendo remoções podendo ser atribuído possivelmente ao fato de ter ocorrido liberação de nitrato pelos vacúolos (LEITE, *et al* 2006).

Em RFSI e RFSII não houve eficiências significativas de remoção para nenhuma das formas de nitrogênio e sim aumento em suas concentrações no meio, o que foi atribuído ao metabolismo dos micro-organismos. Em resposta à manutenção do equilíbrio celular, poder haver liberação da H<sup>+</sup> e, conseqüentemente, no meio externo, o equilíbrio da reação entre o íon amônio e a amônia se deslocará para a formação do primeiro (GRIFFIN, 1994; WOOD *et al.*, 2006). Assim, devido à elevada disponibilidade de NH<sub>4</sub><sup>+</sup>, a ação do nitrato e nitrito reductase teria sido reprimida, resultando então no acúmulo de nitrato no meio (GRIFFIN, 1994).

Quando o pH do meio é inferior a 4, em geral, a remoção de amônia é dificultada e há tendência de seu acúmulo no meio na forma de íon amônio. Isto ocorre quando, no interior da célula, há concentração excessiva de NH<sub>4</sub><sup>+</sup>, de forma que para manter o equilíbrio ocorre a liberação de H<sup>+</sup> para o meio (WOOD *et al.*, 2006; BEVENSEE e BORON, 2008).

O fósforo é outro nutriente essencial para os fungos na síntese de ácidos nucléicos e nos processos de transferência de energia, sendo que seu transporte para vacúolos e formação de polifosfatos representa o principal mecanismo pelo quais os fungos controlam a sua concentração no meio, e vários são os fatores que influenciam durante esse processo (WOOD *et al.*, 2006; LI *et al.*, 2008)

Ainda segundo Lima *et al.* (2003), em geral, os fungos acumulam o polifosfato em sua fase estacionária. No entanto, nos reatores, obteve-se pequenas remoções de ortofosfato 1,5% (RFSI), 22% (RFSII), 13% (RFGI) e 14% (RFGII) e nenhuma porcentagem significativa para fósforo total que resultasse em remoção efetiva de fósforo do meio.

#### 4. CONCLUSÕES

Os resultados obtidos foram bons nos reatores nos quais foi adicionado um dos cossubstratos, de modo que para a matéria orgânica chegou-se aos percentuais de remoção de 90% (RFSI), 80% (RFSII), 84% (RFGI) e 88% (RFGII), o que influenciou o pH que diminuiu, provavelmente, pela produção de ácidos orgânicos como subproduto da decomposição do corante e dos cossubstratos empregados. Em relação ao corante vermelho do congo também foram atingidos boas eficiências de remoção, de 85% (RFSI), 70% (RFSII), 94% (RFGI) e 96% (RFGII).

Porém, os resultados obtidos para remoção de nutrientes foram pouco satisfatórios para todos os reatores, exceto em relação à remoção de nitrogênio amoniacal, tendo-se registrado boa remoção deste nos reatores

que receberam adição de glicose, de 60% (RFGI) e 70% (RFGII).

Os reatores RFGI e RFGII tiveram ainda um melhor desempenho tanto na remoção da matéria orgânica quanto na de corante, como já mencionado anteriormente, devido à glicose ser de fácil assimilação pelo fungo *Aspergillus niger*, resultando então que o tratamento de efluentes têxteis por fungos pode ser uma alternativa viável na remoção de corantes e matéria orgânica.

#### 5. AGRADECIMENTOS

A Deus, ao CNPq – Brasil pelo apoio financeiro (Edital Jovens Pesquisadores no. no. 567552-2008) e à FUNCAP pela concessão de bolsas de iniciação científica.

## 6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AINSWORTH, G. C.; SUSSMAN, A. S. The fungi: an advenced treatise. London: Academic Press. v. 1, p-426, 1996.

AIVASIDIS, A. Decoloration of textile wastewater by means of a fluidized-bed loop reactor and immobilized anaerobic bacteria. Journal of Hazardous Materials B135 (2006) 372–377.

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

BARBOSA, B. C. A., Biorremediação de água residuária sintética têxtil por uso de tratamento biológico conjugado anaeróbio/aeróbio. Monografia em Tec. Em Gestão Ambiental. IFCE, 2009.

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.

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

GALVÃO, V. et al.. **Modelagem do complexo enzima-substrato da sacarose.** XXXI Encontro Nacional de Física da Matéria Condensada / ID: 493-3. 2008.

GARCIA, I. G., PENA, P. R. J., VENCESLADA, J. L. B., MARTIN, A. M., MARTIN, M. A. S., GÓMEZ, E. R., (2000). Removal of phenol compounds from olive Mill wasterwater using Phanerochaete chysosporium, Aspergillus niger, Aspergillus terreus and Geotrichum candidum. Process Biochemistry, 35: 751-758.

GUARANTINI, C. C. I., ZANONI, M. V. B., **Corantes Têxteis.** Química Nova, v. 23, n. 1, p. 71 – 78, 2000.

GRIFFIN, D. H. Fungal physiology. 2 nd ed. New York. Wiley-Liss, 1994. 458p.

JENNINGS, D. H. *The physiology of fungal nutrition*. Cambridge: University, 1995. 595p.

KHELIFI, E., AYED, L., BOUALLAGUI, H., TOUHAMI, Y., HAMDI, M. Effect of nitrogen and carbon sources on Indigo and Congo red decolourization by *Aspergillus alliaceus* strain 121C, 2008.

KUNZ 2000 KUNZ, A.; PERALTA-ZAMORA, P. G. Novas tendências no tratamento de efluentes têxteis. Química Nova, v. 25, n. 01, 78-82, 2002.

LEITE, C. L; GROPOSO, C.; SANTOS, E. R. D.; FIGUEIREDO, N. F.; GODINHO, P DA S.; ABRÃO, R. L. **A particularidade de ser um fungo – I. Constituintes celulares. Biotemas**, v. 19, n. 2, p. 17-27, 2006.

- LI, X.; JIA, R. **Decolorization and biosorption for Congo red by system rice hul- Schizophyllum** sp. F17 under solid-state condition in a continuous flow packed-bed bioreactor. Bioresource Technology, v. 99,n. 15, p. 6885-6892, 2008.
- LIMA, M. A. B., NASCIMENTO, A. E., SOUZA, W., FUKUSHINA, K., TAKAKI, G. M. C. Effects of phosphorus on polyphosphate accumulation by Cunninghamella elegans. Brazilian Journal of Microbiology, 2003.
- LOPES, M. S. S., Estudo do Metabolismo do fungo Aspergillus Níger AN400 na remoção de macronutrientes e de fenóis. Monografia em Tec. Em Gestão Ambiental. IFCE, 2009.
- MARZZOCO, A., TORRES, B.B. Bioquímica básica. 2° ed. Rio de Janeiro, Ganabara Koogan, 360p, 1999.
- 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. Engenharia Ambiental, jun/jul/ago, 2007.
- SAHINKAYA, E., Uzal,N., Yetis,U., Dilek,F.B. **Biological treatment and nanofiltration of denim textile wastewater for reuse.** Journal of Hazardous Materials 153 (2008) 1142–1148.
- SILVA, K. M. L. et al. Remoção de Corante Têxtil em Meio Sintético por Aspergillus niger AN 400. 2008.
- SILVA, K. M. L., Remoção de Corante Têxtil por Uso de Reatores em Batelada Inoculados com Fungos. (Trabalho de Conclusão de Curso Curso de Tecnologia em Gestão Ambiental). 85 páginas. 2009.
- SILVA FILHO, H. A. et al.. **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.
- VASSILEV, N., FENICE, N., FEDERICI, F., AZCON, R. (1997). Ollive mill wate water treatment by immobilized cells of Aspergillus niger and its enrichment with soluble phosphate. Process Biochemistry. 32: 7: 617-620.
- VIRARAGHAVAN, Y. Fu. T. **Dye biosorption sites in Aspergillus niger.** Bioresource Technology 82 (2002) 139–145.
- WANDERLEY, C.R.P.Aspergillus niger AN 400como inóculo de reatores em batelada para remoção do corante vermelho congo em meio aquoso sintético. Fortaleza, 2007. Dissertação de Mestrado em Engenharia Civil-Saneamento Ambiental, Universidade Federal do Ceará, 2007.
- WOOD, C. C., PÓREE, F., DREYER, I., KOEHLER, G. J., UDVARDI, M. K. **Mechanism of ammonium transport, accumulation and retention in ooyctes and yeast cells expressing.** Arabidopsis atAMT1;1. FEBS Letters, v. 580, p. 3931 3936, 2006.