



II-085 - A INFLUÊNCIA DA DILUIÇÃO DE EFLUENTE TÊXTIL *IN NATURA* NA BIORREMEDIAÇÃO POR *ASPERGILLUS NÍGER* AN 400

Andreza Dnarla Oliveira Santos⁽¹⁾

Graduanda em Tecnologia em Gestão Ambiental pelo Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Ceará (IFCE)

Alana Mayara Ximenes de Souza⁽²⁾

Graduanda em Tecnologia em Gestão Ambiental pelo Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Ceará (IFCE)

Igor do Nascimento Barreto⁽³⁾

Graduando em Tecnologia em Gestão Ambiental pelo Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Ceará (IFCE)

Fábria Pinho⁽⁴⁾

Mestranda no Programa de Pós-graduação em Tecnologia e Gestão Ambiental do Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Ceará.

Kelly Rodrigues de Araújo Pessoa⁽⁴⁾

Engenheira Civil pela Universidade Estadual do Maranhão. Mestre em Engenharia Sanitária pela Universidade Federal do Ceará. Doutora em Hidráulica e Saneamento pela Escola de Engenharia de São Carlos. Professora do curso do Programa de Pós-graduação em Tecnologia e Gestão Ambiental do Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Ceará.

Endereço⁽¹⁾: Avenida I, 901 – José Walter - Fortaleza - CE - CEP: 60750080 - Brasil - Tel: (85) 30213669 - e-mail: andrezadnarla@gmail.com

RESUMO

A remoção eficiente de corantes dos efluentes da indústria têxtil ainda é um grande desafio ambiental. Quando não tratado de modo correto esse tipo de efluente representa uma grave ameaça à vida no corpo hídrico receptor e ao homem, podendo levar à morte da flor e fauna aquática. Diante desta realidade a busca por novas tecnologias que auxiliem no tratamento de efluente têxtil tem sido buscada em várias pesquisas. A biorremediação com fungos tem se mostrado eficiente, além de ser economicamente viável. Dentro deste cenário, a presente pesquisa tem por objetivo avaliar o efeito da diluição de efluente têxtil *in natura* no tratamento com *Aspergillus niger* AN 400 em reator em bateladas sequenciais. Observou-se a remoção de corante durante as duas fases operacionais. Na primeira fase (10% v/v) a remoção média de corante foi de 84% com máxima de 97,5% no ciclo 13 e mínima de 69% no ciclo 14. A média de remoção de corante na segunda fase foi de 96,7% com remoção mínima de 93,6% no ciclo 9, e remoção máxima de 98%, no ciclo 10. Com relação às bases nitrogenadas na primeira fase, operando com 10% de efluente a remoção média de amônia foi de 87% enquanto na segunda fase a remoção média de amônia foi de 78%. Para o nitrato, a remoção média na primeira fase foi de 99,9% e na segunda fase foi de 81,4%. No que diz respeito ao nitrito, por ser um produto intermediário das reações oxidação da amônia e redução de nitrato, apresentou-se em concentrações muito pequenas, abaixo de 0,15 mg/L nas duas fases operacionais. A remoção de matéria orgânica carbonácea durante as duas fases operacionais do reator. Para a primeira fase a remoção média de DQO filtrada foi de 72% enquanto na segunda fase, operando com 20% (v/v) de efluente, a remoção média de DQO filtrada foi de 53%. Desta forma, pode-se concluir que houve influência do fator diluição nos ciclos operacionais do reator.

PALAVRAS-CHAVE: *Aspergillus niger* AN400, Bateladas, diluição, Índigo Carmine.

INTRODUÇÃO

O despejo de efluentes industriais se não tratados convenientemente antes de ser disposto no meio ambiente são potenciais poluidores de corpos hídricos. Os efluentes que contêm corantes são despejos de difícil tratamento devido as suas altas cargas de produtos químicos, sólidos em suspensão e compostos tóxicos, além das questões estéticas levantadas por seus corantes que são facilmente reconhecidos (DAS, 2010)



Há alguns anos, acreditava-se que a presença de compostos coloridos nas águas causavam apenas problemas estéticos. Hoje é sabido que estes compostos podem influenciar diretamente no metabolismo do corpo hídrico. Como consequência tem-se a diminuição a penetração da luz, que consequentemente interfere na taxa fotossintética alterando a oferta de oxigênio no meio (PIRES, 2011).

Os corantes são substâncias de origem natural ou sintética que se fixam a diferentes substratos transmitindo a eles uma coloração específica. O corante Índigo Carmim é classificado como a cuba, de acordo com Chaari *et al* (2009), corantes a cuba são responsáveis por cerca de 15% do consumo total de corantes têxteis e exibem boa resistência a luz.

Os corantes contidos em efluentes têxteis podem ser fisicamente ou quimicamente removidos por floculação, adsorção, filtração e oxidação. Contudo boa parte dos métodos físicos apenas acumula e concentra os corantes, além de criar resíduos sólidos (ZHAO *et al.*, 2006). O tratamento utilizando processos físico-químicos costumam ter altos custos além de sofrer interferência de muitos constituintes presentes nos efluentes. (BRAÚNA, 2007).

Diante desta realidade, a busca por novas tecnologias que propiciem a remoção de poluentes presentes em efluentes têxteis visando sua eficiência e viabilidade econômica torna-se necessária. Nos últimos anos estudos com fungos filamentosos tem se mostrado como uma alternativa viável para a tratamento destes efluentes. A capacidade biotecnológica dos fungos filamentosos tem despertado o interesse para diversas pesquisas que visam à remoção de poluentes presentes em águas residuárias industriais. Dentro deste cenário, a presente pesquisa tem por objetivo avaliar o efeito da diluição de efluente têxtil *in natura* no tratamento com *Aspergillus Níger* AN 400 em reator em bateladas sequenciais.

MATERIAIS E MÉTODOS

CARACTERIZAÇÕES DO EFLUENTE

A água residuária *in natura* foi coletada semanalmente uma indústria têxtil localizada no município de Maracanaú- CE. O ponto de coleta escolhido foi o tanque de equalização à montante do tratamento biológico realizado pela indústria, sendo o efluente caracterizado pela intensa coloração azul, devido à presença de grande concentração do corante Índigo Carmim.

As coletas foram realizadas utilizando-se frasco de polietileno de 5 L previamente descontaminado com ácido clorídrico 10%. As análises físico-químicas foram realizadas de acordo com APHA (2005).

INÓCULO

A espécie usada no trabalho foi o *Aspergillus níger* AN 400, na forma de suspensão de esporos, preparada a partir da sementeira da linhagem em placas de Petri esterilizadas, contendo meio de cultura Agar-Saboraud que foi previamente esterilizado em autoclave a 121°C, durante 15 minutos.

As placas inoculadas com fungos permaneceram por cinco dias em incubadora microbiológica à temperatura de 28°C, tendo-se ao final deste período observado o crescimento dos esporos por toda a placa. Em seguida, os esporos foram removidos das placas com solução de Tween 80 e transferidos para tubos de ensaio.

Para contagem dos esporos foi preparada uma solução utilizando 50 µL da suspensão, previamente agitado com o Vórtex, acrescido de 950 µL de solução Tween 80, resultando em diluição de 1:20. Em seguida, foram transferidos para uma câmara de Neubauer, 20 µL da solução preparada, onde se procedeu à contagem dos esporos em microscópio óptico, com aumento de 400 vezes no qual foi obtida a concentração de $4,9 \times 10^9$ esporos/mL.

IMOBILIZAÇÕES DA BIOMASSA EM MEIO SUPORTE

A espécie foi imobilizada em espuma de poliuretano cortada em cubos de 1 cm de arestas, fazendo uso de frascos (erlenmeyer) de 250 mL, contendo 5 g/L de glicose e meio de crescimento, constituído Sulfato de magnésio (1mg/L); Fosfato de potássio dibásico anidro (0,8 mg/L); Cloreto de cálcio (0,04 mg/L); Sulfato de cobre (0,32 mg/L); Ácido molibídico (0,2 mg/L); Sulfato de manganês (0,2 mg/L); Sulfato férrico(0,2mg/L); Sulfato de zinco (0,16 mg/L) e solução de Vishniac (4 mL/L), a fim de promover o seu crescimento pelo material suporte antes de sua adição no reator.

Foram esterelizados quinze gramas de espumas em autoclave por 20 minutos a 121°C e estas colocadas em saquinhos de polietileno, os quais foram distribuídos equitativamente em três erlenmeyers com volume de 250 mL cada, tendo-se adicionado ainda 150 mL do meio de crescimento.

Em seguida, inoculou-se a solução de esporos, na concentração de 2×10^6 esporos/ mL, sendo o procedimento realizado próximo ao bico de Bunsen, para evitar contaminação. Os erlenmeyers foram mantidos em uma mesa agitadora horizontal, sob agitação de 150 rpm e $\pm 28^\circ\text{C}$, durante 2 semanas, de modo que ao completar 48 h, o meio antigo foi substituído por um novo. Após a etapa de imobilização, as espumas foram transferidas para o reator em batelada para a partida do mesmo.

ALIMENTAÇÃO, MONTAGEM E OPERAÇÃO DO REATOR EM BATELADAS SEQUENCIAIS

Para a realização do tratamento na primeira fase foi feita a diluição do efluente, visto que quando da alimentação do efluente sem diluição foi relatada a falência do reator, com perda acentuada de biomassa (PIRES, 2011). Procedeu-se, então, a diluição da água residuária para alimentação do reator, sendo que gradativamente vem se aumentando a proporção de água residuária em relação à água de diluição, no que no presente trabalho são apresentados os dados relativos às diluições de 10% e 20% (v/v), constituindo, respectivamente, as Fases I e II.

Portanto, o efluente utilizado no tratamento teve como base a água residuária *in natura* diluída, acrescida de nutrientes, 0,10 g/L de antibiótico Megacilin Super plus e cossustrato. O reator, confeccionado em vidro, possui volume total de 5 L e foi operado em ciclos de 48 h, recebendo a cada ciclo 4 L de efluente sintético diluído e adicionado dos compostos apresentados na Tabela 1.

Tabela 1: Composição de efluente sintético

NUTRIENTES	CONCENTRAÇÃO	UNIDADE
MgSO ₄	0,25	g/L
K ₂ HPO ₄	0,20	g/L
CuSO ₄ .7H ₂ O	0,08	g/L
H ₂ MoO ₄	0,05	g/L
MnSO ₄ .5H ₂ O	0,05	g/L
Fe ₂ (SO ₄) ₃	0,05	g/L
ZnSO ₄ .7(H ₂ O)	0,04	g/L
CaCl ₂ .H ₂ O	0,01	g/L

Também foi utilizada 1 mL/L de solução de *Vishniac* de composição em mg/L como pode ser visto na Tabela 2, além de 0,10 g/L de antibiótico e glicose (3g/L), atuando como cossustrato. O valor de pH do meio aquoso foi previamente ajustado para 5, com ácido sulfúrico P.A, para fornecer aos fungos pH dentro da faixa ideal para seu metabolismo, que segundo Griffin (2004) em torno de 5.

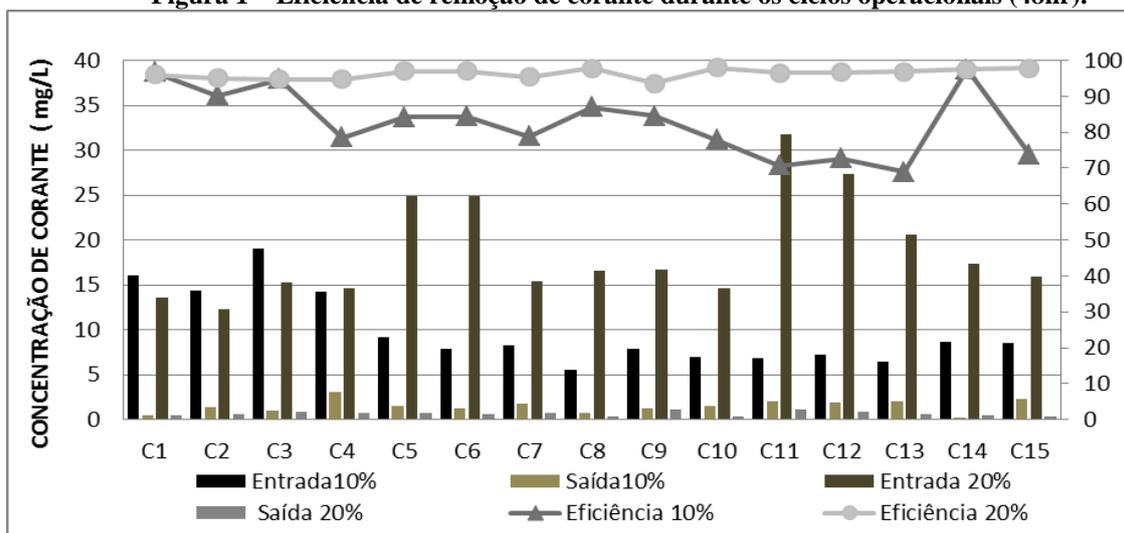
Tabela 1: Composição da solução de *Vishniac*

NUTRIENTES	CONCENTRAÇÃO	UNIDADE
H ₃ BO ₃	50	mg/L
FeCl ₂ . 4H ₂ O	0,20	mg/L
ZnCl ₂	50	mg/L
MnCl ₂ . 4H ₂ O	0,50	mg/L
CuCl ₂ . 2H ₂ O	0,38	mg/L
AlCl ₃ .H ₂ O	0,90	mg/L
CoC ₁₂ 6H ₂ O	0,20	mg/L

RESULTADOS

Na Figura 1, observou-se a remoção de corante durante as duas fases operacionais. Na primeira fase (10% v/v) a remoção média de corante foi de 84% com máxima de 97,5% no ciclo 13 e mínima de 69% no ciclo 14. A média de remoção de corante na segunda fase foi de 96,7% com remoção mínima de 93,6% no ciclo 9, e remoção máxima de 98%, no ciclo 10.

Figura 1 – Eficiência de remoção de corante durante os ciclos operacionais (48hr).



Segundo Sumathi e Manju(2000) os fungos necessitam de alguma fonte de cossustrato que o auxiliem na remoção de compostos recalcitrantes, como os corantes, o que coincide com os resultados encontrados nesta pesquisa, que como pode ser vista na Figura 1, a remoção de corante ocorreu em todos os ciclos, durante as duas fases operacionais.

As boas remoções de corante que ocorreram nos primeiros ciclos operacionais podem estar relacionadas com a boa interação do fungo com o corante presente na água residuária ou ainda, ao processo de adsorção do corante nas paredes do micélio da célula fúngica, sendo este um processo reversível. Segundo Deo Rio (2004) o processo de adsorção é a primeira etapa do processo de biossorção. O que também pode justificar as remoções menos eficientes ocorridas nos ciclos 11 e 13, da primeira fase de operação, com 70,73% e 69%, respectivamente.

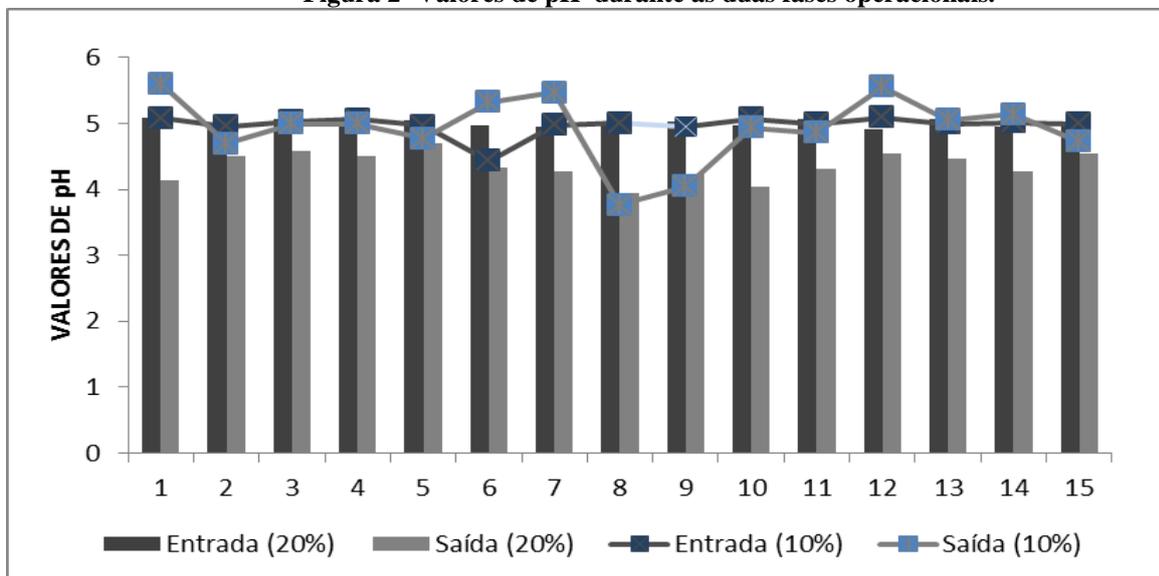
Conforme relatado por Rodrigues (2010) as células vivas conseguem realizar dois mecanismos de remoção de corante de águas residuárias: a biodegradação e a biossorção. Sendo a primeira realizada por meio do emprego de enzimas que acometem e rompem as ligações químicas mais importantes do corante, utilizando-o com uma fonte alternativa de carbono, e a segunda ocorrendo por meio da retenção das moléculas do corante na parede celular do micro-organismo.

A adição de glicose como cossustrato também pode ter colaborado para a remoção do corante durante as duas fases operacionais, pois de acordo com Esposito e Azevedo (2004), os carboidratos são as fontes de carbono mais facilmente assimilável pelos fungos para a produção de biomassa o que colabora para uma maior produção enzimática para a remoção de Índigo carmim no meio.

Fez-se necessário o monitoramento dos valores de pH afluente e efluente no reator durante os ciclos operacionais de 48 horas. O valor médio de pH afluente na primeira fase, com 10% da água residuária, foi de 4,99 e valor fluente de 4,89. Para a segunda fase operacional com 20% da água residuária, o valor médio de pH afluente foi de 5,02 e efluente de 4,32.

A conservação dos valores na faixa ácida pode estar relacionada com a produção de ácidos orgânicos a partir da utilização da glicose e do próprio corante como fonte de carbono (SILVA *et al*,2012), uma vez que a diminuição do pH acompanhou a remoção de corante nos ciclos das duas fases operacionais, sendo importante mencionar que a diminuição do valor inicial do pH ao longo dos ciclos pode indicar a atividade metabólica elevada dos fungos.

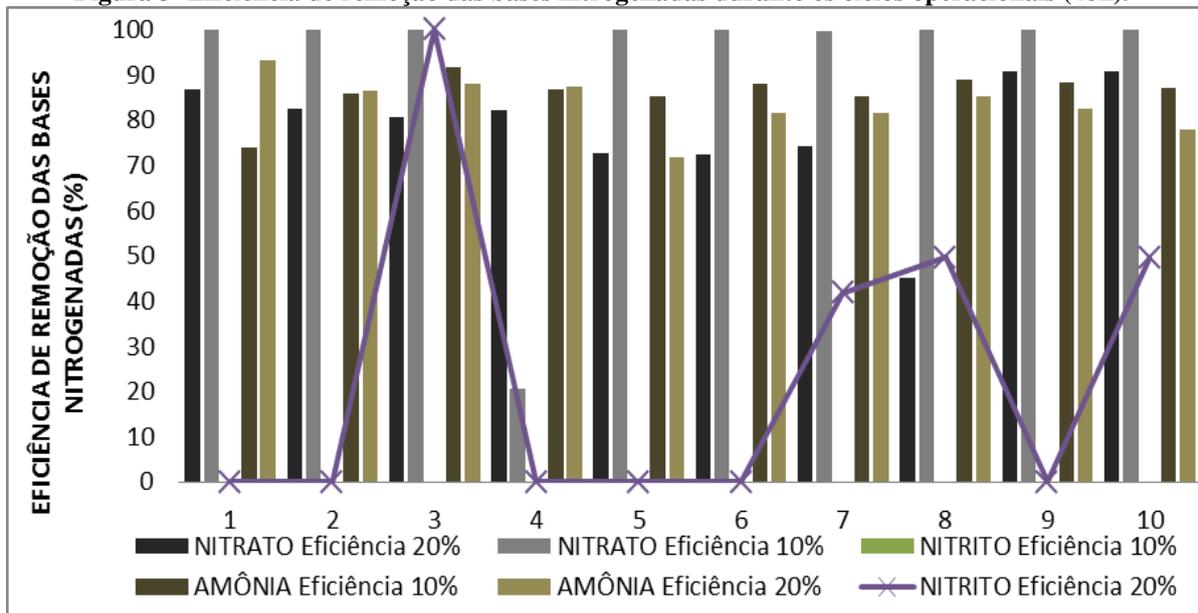
Figura 2- Valores de pH durante as duas fases operacionais.



Contudo, em alguns ciclos da primeira fase como no ciclo 6, 7 e 12, por exemplo, foi observado o aumento no valor de pH.. Segundo Sampaio *et al*, 2004 os fungos conseguem equilibrar o meio de acordo com suas necessidades metabólicas a partir de excreção de substâncias tamponantes.

Na Figura 3 é representada a remoção das bases nitrogenadas no reator. Na primeira fase, operando com 10% de efluente a remoção média de amônia foi de 87% enquanto na segunda fase a remoção média de amônia foi de 78%. Em relação a nitrato, a remoção média na primeira fase foi de 99,9% e na segunda fase foi de 81,4%.

Figura 3- Eficiência de remoção das bases nitrogenadas durante os ciclos operacionais (48h).



Os fungos filamentosos são capazes de metabolizar uma série de compostos nitrogenados para suprir o requerimento nutricional necessário pra o seu desenvolvimento ((SIQUEIRA *et al*, 2012). Em relação à utilização de bases nitrogenadas, a amônia é o regulador principal da assimilação de nitrogênio pelos fungos. Na presença de amônia, consumo de outras fontes de nitrogênio é diminuída, uma que vez o consumo desta representa um menor gasto energético (PUTZKE e PUTZKE, 2002).

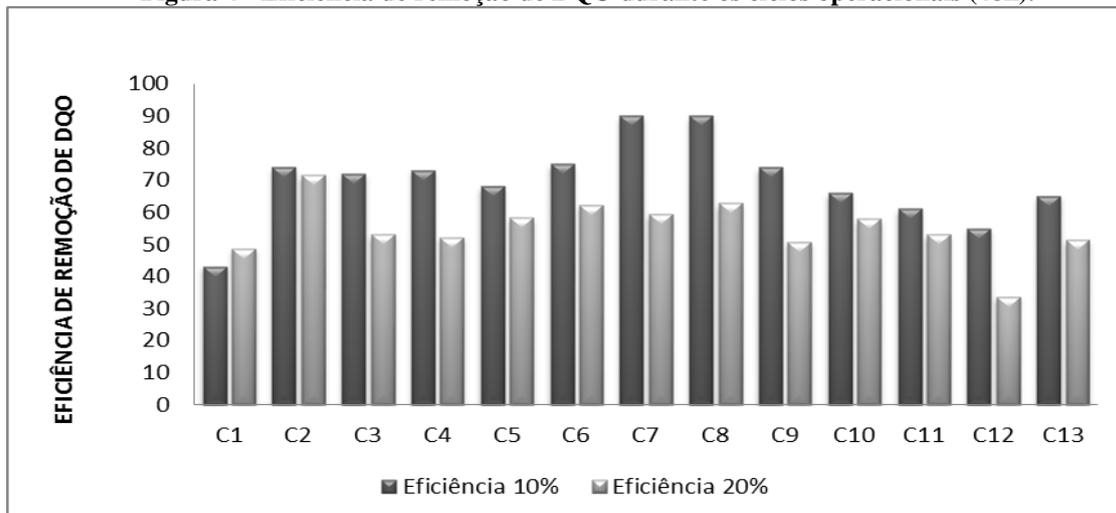
O consumo preferencial da amônia implica na redução do pH do meio, o que ocorreu em todos os ciclos da primeira fase que foi a etapa mais eficiente em termos de remoção deste composto, como por exemplo, no ciclo 8 onde a eficiência de remoção de amônia chegou aos 89% enquanto o pH decaiu de 5,02 para 3,94. Contudo, a repressão da assimilação da amônia pode não significar o não consumo de outras fontes de nitrogênio, o que provavelmente ocorreu em menor intensidade nesta pesquisa, como pode ser visto na Figura 4, onde na segunda fase a remoção de nitrato acompanhou e, na maioria dos ciclos, foi superior a amônia. No presente trabalho, houve boas remoções tanto de amônia como de nitrato, o que possivelmente indica a remoção conjugada entre os compostos supracitados, o que também ocorreu nos estudos de Lopes (2008) e Zhou *et al* (2002).

No que diz respeito ao nitrito, por ser um produto intermediário das reações oxidação da amônia e redução de nitrato, apresentou-se em concentrações muito pequenas, abaixo de 0,15 mg/L nas duas fases operacionais.

É possível observar na Figura 4 a remoção de matéria orgânica carbonácea durante as duas fases operacionais do reator. Para a primeira fase a remoção média de DQO filtrada foi de 72% enquanto na segunda fase, operando com 20% (v/v) de efluente, a remoção média de DQO filtrada foi de 53%.

A remoção de matéria carbonácea acompanhou a remoção de corante no ciclo 8 da primeira fase, isto pode ser associado ao consumo fúngico de subprodutos indesejáveis que são formados durante a degradação do corante (RODRIGUES, 2010). A boa eficiência de remoção na primeira fase pode estar relacionada com a presença da glicose no meio pois, segundo Santaella *et al*. (2009) a adição do co-substrato como fonte primária de carbono, favorece o metabolismo fúngico aumentando a eficiência de remoção de matéria orgânica.

Figura 4 - Eficiência de remoção de DQO durante os ciclos operacionais (48h).



Na segunda fase não houve bons resultados de remoção de matéria orgânica carbonácea, como também a mesma não acompanhou a remoção de corante. Possivelmente, pode ter ocorrido aumento de concentração de subprodutos gerados durante a biodegradação do corante que não são facilmente removidos do meio, o que diminui a eficiência de remoção de DQO.

Para a segunda etapa houve remoção de corante em todos os ciclos com eficiência média de 96,7% , de modo que a maior contribuição de matéria orgânica possivelmente seria originada na formação dos subprodutos durante a remoção do Índigo Carmim.

De acordo com More *et al* (2010), os fungos filamentosos naturalmente produzem metabólitos secundários em grandes quantidades e ao utilizar as fontes de carbono para produzir biomassa, o *Aspergillus níger* produz metabólitos que podem ser acumulados no interior das células ou ser excretados (IKEDA et al, 2006).

A diminuição da eficiência de remoção de DQO também foi relatada com Somasiri *et al.* (2008), onde a DQO não acompanhou a remoção de eficiência do corante. O autor citado estudou o efluente têxtil tratado em reator anaeróbio com manta de lodo, e ao longo do estudo também se observou o acúmulo de subprodutos oriundo da degradação das moléculas do corante, resultando no aumento de DQO, semelhante aos resultados obtidos aqui.

CONCLUSÕES

Desta forma, pode-se concluir que houve influência do fator diluição relação à remoção de corante uma vez que a segunda fase operacional operando com 20%(v/v) de efluente apresentou melhor eficiência em relação a primeira fase, operando com 10%(v/v).

Já em relação à remoção de nitrato, amônia e matéria orgânica filtrada, a primeira fase mostrou-se mais eficiente uma vez que ocorreu decaimento da eficiência de destes parâmetros na segunda fase operacional.

Os valores de pH mantiveram-se na faixa ideal para o metabolismo fúngico durante as duas fases operacionais. Proporcionando o funcionamento pleno do arsenal enzimático.

Conclui-se também que o reator operado em bateladas com o fungo *Aspergillus níger* AN400 para o tratamento de efluente têxtil mostrou-se capaz de se adaptar a nova condição empregada.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. APHA. Standard Methods for Examination of Water and Wastewater. 20ª edição. American Water Work Association, Water Environment federation. Washington: 2005. 953p.
2. BRAÚNA, C. H. C. Efeitos do nitrato na descoloração reductiva do corante azo por lodo anaeróbio mesófilo. Dissertação(Mestrado). Departamento de Engenharia Hidráulica e Ambiental. Universidade Federal do Ceará. 98f. 2007.
3. CHAARI,I.,FEKIB.M.,MEDHIOUB.,BOUZID,J.,FAKHFAKHA,E.,JAMOUISSIA,F. Adsorption of a textile dye “Indanthrene Blue RS (C.I. Vat Blue 4)” from aqueous solutions onto smectite-rich clayey rock. *Journal of Hazardous Materials* 172 (2009).
4. DEO RIO, D.T. Biossorção de cádmio por leveduras *Sacchomyces cerevisiae*. Dissertação (Mestrado em Agronomia) Escola superior de Agricultura Luiz Queiros. Universidade de São Paulo. Piracicaba, 54p, 2004.
5. ESPOSITO,E.,AZEVEDO,J.L. Fungos: Uma introdução à biologia, bioquímica e biotecnologia. Caixas do Sul, 510 p , 2004.
6. GRIFFIN, D. H. Fungal physiology. 2nd ed. New York: Wiley-Liss, 458p., 1994.
7. IKEDA,Y.,PARK,E.Y.,OKUDA,N. Bioconversion of waste office paper to gluconic acid in a turbine blade reactor by the filamentous fungus *Aspergillus niger*. *Bioresource Technology*, v.97, n.8. 1030-1035, 2006.
8. MORE, T. T., YAN, S., TYAGI, R. D., SURAMPALLI, R.Y. Potential use of filamentous fungi for wastewater sludge treatment. *Bioresource Technology* 101, 7691–7700, 2010.
9. PIRES, J. Avaliação do tratamento de água residuária de indústria têxtil utilizando reatores em batelada inoculados com *aspergillus niger* an 400. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Tecnologia em Gestão Ambiental), Departamento de Química e Meio Ambiente, IFCE, Fortaleza, 66p, 2011.
10. PUTZKE,J.,PUTZE,M.T.L. Os reinos dos fungos. Santa cruz do Sul: EDUNISC. 829p. v.2, 2002.
11. Rodrigues ,H. D. P. Potencial biossorbitivo e biodegradativo das células de *saccharomyces cerevisiae* livres e imobilizadas em alginato de cálcio na remoção de corantes têxteis. Dissertação (mestrado), Instituto de Biociências do Campus de Rio Claro, Universidade Estadual Paulista, 2010.
12. 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 - jan/mar 2004, 73-81. ,2004.
13. SILVA,L.V.C; ANDRADE.M.V.F.; RODRIGUES.K. MARINHO.GLORIA. Remoção de DQO e nutrientes de efluente sintético de laticínio em bateladas sequenciais com *Aspergillus niger* NA 400. Fungos e Águas Residuárias Industriais: uma nova tecnologia. Fortaleza, Editora Imprima, 414p, 2012.
14. SIQUEIRA, J. P.; MOREIRA, I. C. DE Q.; CELESTINO, P.; WANDERLEY, C. R. P.; MARINHO, G.; RODRIGUES, K. Tratamento de água residuária com BTX por reatores em bateladas com inóculo fúngico. *Fungos e águas residuárias industriais: Nova Tecnologia*, 2012
15. SOMARI,N. *et al.* Evolution of the efficacy of up flow anaerobic sludge blanket reactor in removal of colour and reduction of COD in real textile . *Bioresource Technology* v. 99, n. 9, P. 3692-3699, 2008.
16. SUMATHI,S., MANJU,B.S. Uptake of reactive textile dyes by *aspergillus foetidus*. *Enzyme microbiology technology*, v.27, p. 347-355, 2000.
17. ZHAO,X.,HARDIN,I.R.,HWANG,H. Biodegradation of a model azo disperse dye by the white rot fungus *Pleurotus ostreatus*. *International Biodeterioration & Biodegradation* ,2006
18. LOPES, M.S.S. Estudo do metabolismo do fungo *Aspergillus niger* AN400 na remoção de nutrientes e fenol. Trabalho de Conclusão de Curso(Curso (Graduação em Tecnologia em Gestão Ambiental), Departamento de Química e Meio Ambiente, IFCE, Fortaleza, 68f. 2008.
19. SANTAELLA,S.T.,SILVAJÚNIOR,F.C.G.,GADELHA,D.A.C.,COSTA,K.O.,AGUIAR,R.,ARTHAUD,I. D.B.LEITÃO,R.C. Tratamento de efluentes de refinaria de petróleo em reatores com *Aspergillus niger*. *Revista Engenharia Sanitária e Ambiental*, v.14, n. 1,p. 139-148, 2009.
20. DAS, N. and DAS, C. Bioaccumulation of Synthetic Dyes by *Candida tropicalis* Growing in Sugarcane Bagasse Extract Medium.D. **Environmental Biotechnology Division, School of Biosciences and Technology**, VIT University, Vellore, 632 014, Tamil Nadu, India. , 2010.