

II-194 – REMOÇÃO DO CORANTE TÊXTIL ÍNDIGO CARMIM UTILIZANDO ETANOL COMO FONTE DE CARBONO PARA O FUNGO *ASPERGILLUS NIGER* AN 400

Alana Mayara Ximenes de Souza⁽¹⁾

Gestão Ambiental no IFCE - Campus Fortaleza. Mestranda no Programa de Pós- Graduação em Tecnologia e Gestão Ambiental no IFCE - Campus Fortaleza.

Andreza Dnarla Oliveira Santos⁽²⁾

Gestão Ambiental no IFCE - Campus Fortaleza. Mestranda no Programa de Pós- Graduação em Tecnologia e Gestão Ambiental no IFCE - Campus Fortaleza.

Igor do Nascimento Barreto⁽³⁾

Graduando em Gestão Ambiental no IFCE – Campus Fortaleza.

Carlos Ronald Pessoa Wanderley⁽⁴⁾

Mestre em Engenharia Civil - Saneamento Ambiental (UFC). Doutorando em Engenharia Civil com ênfase em Recursos Hídricos. Professor do Curso de Engenharia Ambiental, IFCE - Campus Maracanaú.

Kelly de Araújo Rodrigues Pessoa⁽⁵⁾

Doutora em Hidráulica e Saneamento (EESC-USP). Professora do Curso de Tecnologia em Gestão Ambiental e do Programa de Pós-Graduação em Tecnologia Ambiental, Campus Fortaleza – IFCE.

Endereço⁽¹⁾: Rua B, 1208 – Parque Dois Irmãos - Fortaleza - CE - CEP: 60761-235 - Brasil - Tel: (85) 99962658 - e-mail: alanamxsouza@gmail.com .

RESUMO

A atividade têxtil gera grandes volumes de efluentes com altas concentrações de corantes sintéticos, entre eles o Índigo Carmim, sendo que a sua descolorização pode ocorrer biologicamente, a partir da biomassa fúngica de forma eficiente e sem a geração de subprodutos tóxicos. De posse das condições adequadas para o metabolismo do fungo escolhido para o tratamento, como o fornecimento de uma fonte de carbono adequada, o tratamento de efluente poderá ocorrer com maior eficiência. Neste trabalho o etanol foi utilizado na concentração de 0,5 g/L como cossubstrato, para a avaliação da sua presença no meio nutriente juntamente com a água residuária têxtil diluída, em um sistema de bateladas sequenciais operados em ciclos de 48h sob aeração. Os resultados obtidos no sistema quanto à degradação do corante demonstraram um sistema eficiente, com média de 83%. Quanto à remoção de matéria orgânica carbonácea total, a média foi de 39%, quanto à parcela solúvel a média foi de 42%. Das porções nitrogenadas o sistema obteve uma eficiência de remoção de Nitrato elevada, com média de 86%. As demais formas (Amônia e Nitrito) apresentaram eficiência de remoção inconstante.

PALAVRAS-CHAVE: Álcool, fungo filamentoso, bateladas sequenciais.

INTRODUÇÃO

Devido aos elevados volumes de efluentes produzidos no ramo industrial têxtil e ao fato de seus principais componentes serem corantes sintéticos, ao passo que já se sabe das consequências adversas da presença desses poluentes em corpos hídricos ou em contato com seres humanos, diversos tipos de tratamento são aplicados a estas águas residuárias (TAMBOLI *et al.*, 2010; ANASTASI *et al.*, 2012). São utilizados desde métodos físicos, químicos ou a junção dos dois, que podem ser processos caros e ineficazes, além de inapropriados, por muitas vezes, devido à geração de subprodutos de toxicidade semelhante ao poluente alvo do tratamento (EICHLEROVA, HOMOLKA E NERUD, 2007).

Micro-organismos são aplicados biotecnologicamente e ambientalmente de modo amplo (ERDEN, *et al.*, 2009). Tais aplicações incluem a biorremediação de efluentes industriais, principalmente têxteis e petroquímicos, devido à capacidade de degradação de compostos recalcitrantes (SOUZA e ROSADO, 2009; PAJOT *et al.*, 2011). Bactérias, fungos, leveduras, e algas estão entre os micro-organismos que podem ser utilizados na degradação de corantes de diferentes classes estruturais. Entre os organismos, os fungos tem

destaque quanto a sua capacidade de utilizar apenas o corante como fonte de carbono, ou promovendo a sua deterioração, através da absorção pela biomassa (KHELIFI *et al.*, 2009) ou de enzimas extracelulares capazes de quebrar as ligações estruturais do poluente em questão (NIEBISCH *et al.*, 2010).

Um composto têxtil nocivo ambientalmente devido aos seus grupos aromáticos tóxicos é o corante Índigo Carmim, e está entre um dos corantes que mais contaminam o meio ambiente, entretanto tratamentos físicos ou químicos são ineficientes para a remoção deste corante de águas residuárias. A biodegradação deste poluente, pode ocorrer pela ação de vários micro-organismos incluindo bactérias anaeróbias e termófilas. (RAMYA, ANUSHA, e KALAVATHY *et al.*, 2008) mas está sendo evidenciada por fungos, incluindo as espécies da podridão, devido a participação na decomposição de madeira, pois produzem enzimas oxidativas, bastante efetivas na degradação do poluente (YOUNES e SAYADI, 2013).

Os fungos podem ser cultivados em diferentes tipos de material suporte, inclusive os de origem industrial, para as mais diversas finalidades, de fato que um crescimento aderido propicia uma melhor interação do micro-organismo com o meio sendo que esta não é removida do sistema em um sistema de bateladas sequenciais, permanecendo assim uma biomassa já adaptada à carga poluente (AL-JANABI, 2009). O processo de descolorização pode ser ainda mais eficiente quando devidamente controlado, em termos de fornecimento de cossubstrato, como fontes de carbono e micro nutrientes, bem como condições operacionais como fornecimento de oxigênio e estabelecimento de um pH adequado para o metabolismo fúngico, e sua consequente produção enzimática (KHELIFI *et al.*, 2009). O etanol apresenta-se como o mais comum tipo de álcool utilizado em muitas atividades industriais, e integra o grupo de substâncias que podem ser consideradas fontes de carbono aceitáveis (AL-JANABI, 2009).

O objetivo deste trabalho foi avaliar a capacidade de degradação do corante sintético Índigo Carmim, principal constituinte de uma água residuária têxtil, em um reator aeróbio com fungos operado em regime de bateladas sequenciais, empregando etanol na concentração de 0,5 g/L como cossubstrato. Utilizando no reator a biomassa da espécie fúngica *Aspergillus niger* AN 400, sendo que alimentação do reator se deu utilizando 20% (v/v) da água residuária têxtil colorida com Índigo Carmim mais 80% (v/v) de água da torneira.

MATERIAIS E MÉTODOS

Características do efluente

O efluente *in natura* era proveniente de uma indústria têxtil local, onde foram realizadas coletas em regime semanal. A fonte das amostras se dava no tanque de equalização, à montante do tratamento biológico ao qual a indústria submetia a sua água residuária.

O recipiente de coleta constituía-se em um frasco de polietileno de 5 L descontaminado com ácido clorídrico 10% (v/v). Após a coleta, a caracterização era encaminhada ao Laboratório de Tecnologia Ambiental (LATAM), no Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Ceará (IFCE) para a realização das análises físicas e químicas de parâmetros com influência nas respostas metabólicas do micro-organismo ao meio ao qual ele é exposto.

Cultivo do micro-organismo e produção de esporos

Foi preparada suspensão de esporos de *Aspergillus niger* AN 400 a partir de sua inoculação em Ágar Saboraud contido em placas de Petri, esterilizados previamente em autoclave a 121°C, por 20 minutos.

Durante cinco dias, as placas inoculadas, permaneceram em uma incubadora microbiológica à temperatura de cerca de 28°C. Ao final deste período foi observado o crescimento dos esporos por toda a placa. Estes foram removidos das placas com solução de Tween 80 e transferidos para tubos de ensaio. Deste conteúdo, foram utilizados 50µL, previamente agitados com Vórtex, acrescido de 950µL de solução de Tween 80, resultando em uma suspensão de esporos, da qual foram retirados 20µL e colocados em uma câmara de Neubauer, onde ocorreu a contagem dos esporos em microscópio óptico, com aumento de 400 vezes. A concentração de esporos obtida na suspensão foi de $4,9 \times 10^9$ esporos/mL

Imobilização do *Aspergillus niger* AN 400

A espécie fúngica foi imobilizada em espuma de poliuretano cortada em cubos de 1 cm de arestas. Foram esterilizados 15 g dessa espuma (em autoclave, por 20min a 121°C), e estas foram colocadas em saquinhos de

polietileno. Estas armações foram distribuídas igualmente em três erlenmeyers de 250 ml de capacidade contendo 150 mL do meio nutriente, com sua constituição discriminada na Tabela 1.

Tabela 1: Meio de nutrientes para a imobilização do *Aspergillus niger* AN 400.

NUTRIENTE	CONCENTRAÇÃO	UNIDADE
Etanol	0,5	g/L
MgSO ₄ .7H ₂ O	1	mg/L
K ₂ HPO ₄	0,8	mg/L
CaCl ₂ .2H ₂ O	0,04	mg/L
CuSO ₄ .5H ₂ O	0,32	mg/L
H ₂ MoO ₄	0,2	mg/L
MnSO ₄ .H ₂ O	0,2	mg/L
Fe ₂ (SO ₄) ₃ .H ₂ O	0,2	mg/L
ZnSO ₄ .7H ₂ O	0,16	mg/L
Solução de micronutrientes Vishniac	1	mL/L
Megacilin Super Plus® (Antibiótico)	0,1	g/L

Tabela 2: Constituição da solução de micronutrientes Vishniac.

NUTRIENTE	CONCENTRAÇÃO	UNIDADE
H ₃ BO ₃	50	g/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
CoCl ₂ .6H ₂ O	0,20	mg/L

Posteriormente, inoculou-se a solução de esporos, na concentração de 2×10^6 esporos/mL, de modo a evitar contaminação. Os erlenmeyers foram mantidos durante 2 semanas, em uma mesa agitadora horizontal, sob agitação de 150 rpm e cerca de 28°C, sendo que ao se completar 48 h, o meio antigo foi substituído por um novo. Após os procedimentos descritos, as espumas contendo o biofilme fúngico formado foram transferidas para o reator em sistema de batelada sequencial para o início do mesmo.

Montagem, operação e monitoramento do reator biológico

Neste trabalho, o tratamento foi realizado com a água residuária *in natura* diluída a 20% (v/v), a qual foi inserida no reator, juntamente com os macronutrientes necessários, demonstrados na Tabela 1, micronutrientes – que compunham a solução Vishniac, Tabela 2 – antibiótico Megacilin Super Plus® (0,1 g/L) e etanol, na concentração de 0,5 g/L, como cossubstrato.

O reator, em vidro de capacidade de 5 L, foi operado em ciclos de 48 h, recebendo a cada ciclo o afluente. Antes da adição do efluente ao reator, o pH do meio era ajustado para 5, propiciando a espécie fúngica o pH adequado para o seu metabolismo, além disso, um meio ácido caracteriza uma barreira para atividade de possíveis bactérias contaminadoras (RODRIGUES, 2006).

O monitoramento do reator se deu pelas determinações de matéria orgânica (expressa em DQO), pH, amônia, nitrito e nitrato, realizadas conforme APHA (2005), exceto nitrato que seguia os procedimentos de Rodier (1975). A determinação da concentração de corante foi estimada através da espectrofotometria com a leitura em absorbância ($\lambda = 610$ nm), através de uma curva construída, que, a partir de soluções com concentrações conhecidas do corante obtinham-se as absorbâncias correspondentes. Estabelecendo, assim, relações entre concentração de corante e absorbância (RODRIGUES *et al.*, 2011). Foram realizados 48 ciclos para avaliação de remoção de corante e de DQO. Devido à problemas laboratoriais, as análises das frações nitrogenadas somente ocorreram nos 26 últimos ciclos de operação do reator nessas condições de experimento.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Corante

Na Figura 1 é apresentada em resposta as análises de quantificação da concentração de corante nas amostras de Entrada e Saída do reator em cada ciclo operacional. Observou-se a concentração máxima de corante afluente no Ciclo 25 (49,4 mg/L) e mínima no Ciclo 38 (7,9 mg/L). A máxima concentração efluente foi constatada no Ciclo 30 (10,2 mg/L) e a mínima no Ciclo 15 (0,77 mg/L). A Eficiência máxima de remoção se deu no Ciclo último (97%) e a mínima no 38º (52%), com média de 82,9%.

Em 2008, Khelifi *et. al.*, utilizando o fungo *Aspergillus alliaceus* 121C, na remoção de Índigo Carmim e Vermelho do Congo para avaliação do efeito das fontes de carbono e nitrogênio no metabolismo fúngico, obtiveram eficiência de remoção para o corante Índigo carmim de 98,6% utilizando glicose como fonte de carbono. Em 2013, Younes e Sayadi, associaram a remoção de corante Índigo Carmim, em um consórcio microbiano avaliando a interação da lacase existente no meio, à biotransformação ou adsorção do corante pelas células, como forma de descolorização do meio.

Utilizando etanol (0,05 g/L) como cossustrato, Chen *et. al* (2008), para os fungos da podridão branca *Phanerochaete sordida* TXJ-1302A e *Tyromyces lautus* TXJ-1302B na remoção do corante Orange-G, em reatores de ciclos operacionais de 12 horas, e pH ajustado para 4,5. Nessas condições obtiveram eficiências de remoção de corante de cerca de 92%. Os autores afirmaram que os resultados sugeriram que o etanol é uma fonte de carbono efetiva e barata, que somente apresentará toxicidade para o organismo, estando acima de 10% no meio, auxiliando na aceleração do metabolismo fúngico.

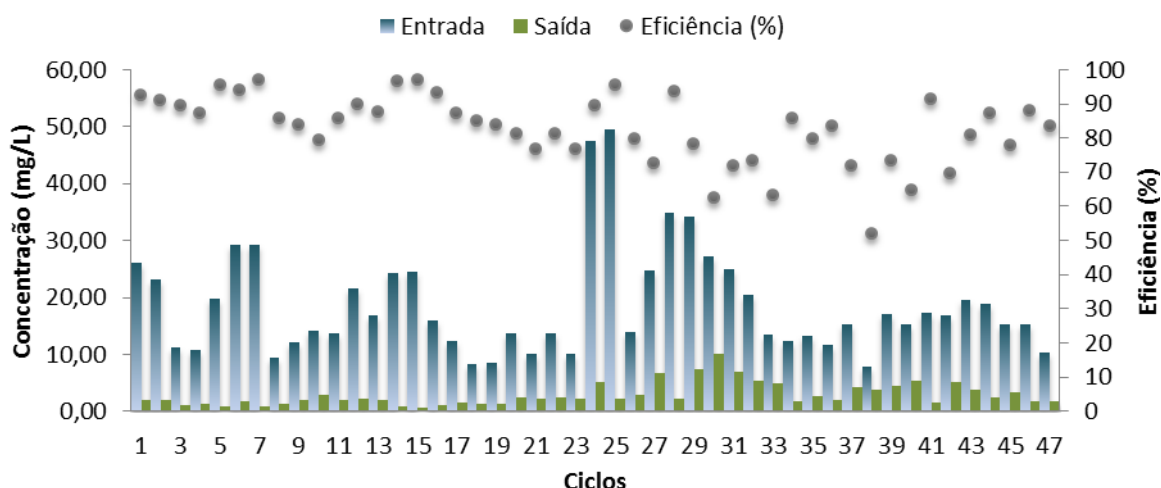


Figura 1: Concentrações do corante Índigo Carmim afluentes e efluentes do reator em cada ciclo e suas respectivas Eficiências de remoção.

pH

Na Figura 2 são mostradas as medidas de pH nas amostras de Caracterização, Entrada e Saída do reator em 48 Ciclos operacionais de 48 h cada. Os valores máximos em termos de pH são encontrados no Ciclo 14 (pH efluente de 7,01) e os mínimos no Ciclo 25 (pH efluente de 5,02). O máximo valor da caracterização do efluente têxtil se deu na amostra do Ciclo 47 e o mínimo no Ciclo 14. A média de pH efluente do reator foi de 6,26.

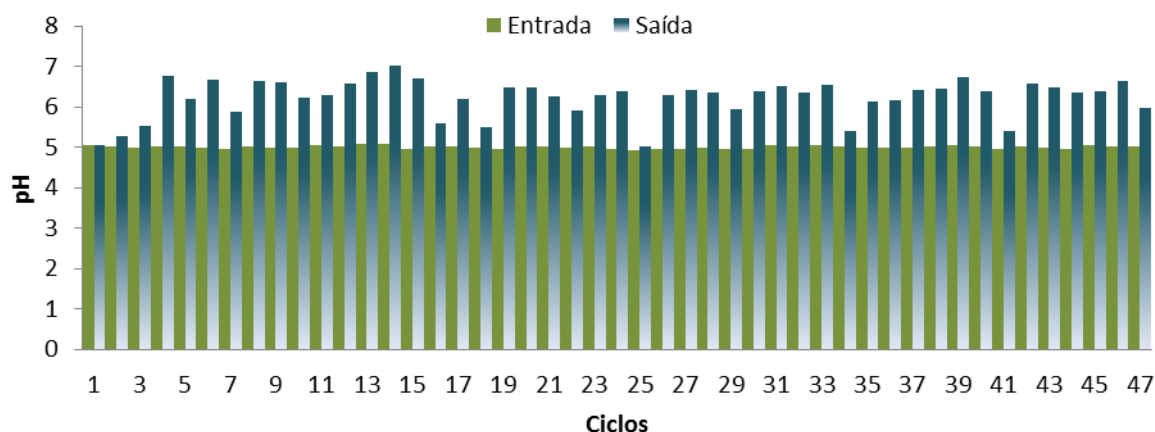


Figura 2: Valores de pH nas amostras afluente, efluentes e de caracterização do reator.

Em 2013, Younes e Sayadi utilizaram a enzima lacase como substrato, produzida pelo fungo filamentosso *Scytalidium thermophilum* para investigar a taxa de eficiência de descolorização do corante Índigo Carmim em um consórcio microbiano. Com ensaios utilizando a faixa de pH de 3 a 9, os autores constataram que o pH ótimo para a descolorização do corante era 5. O pH exerceu um papel tão importante nas reações enzimáticas, quanto o substrato o possui.

Demanda Química de Oxigênio

Quanto à análise da amostra bruta, somadas às parcelas particuladas e solúveis da matéria orgânica, a média obtida foi de 39%. Quanto à parcela dissolvida ou solúvel a média de remoção foi de 42%. Em ambas as porções analisadas a máxima remoção foi de 86%. Entretanto, as duas porções analisadas não obtiveram eficiência de remoção de matéria orgânica em alguns ciclos.

Anastasi *et. al* (2012) avaliaram a eficiência de remoção de corante de efluentes têxteis diversificados e da DQO do meio em reatores com a biomassa de nove fungos da podridão branca e com lodos ativados. Verificou-se que a biomassa fúngica, em destaque a espécie *Trametes pubescens* MUT2400, se sobressai na remoção do corante por absorção/adsorção celular, enquanto o sistema de lodos ativados se destaca quanto a mineralização de matéria orgânica, já que a biomassa produz metabólitos oriundos da própria ruptura da molécula do corante.

Novotny *et. al* (2011), afirmaram que, além da remoção de corante, o tratamento com fungos pode gerar metabólitos enzimáticos que junto a própria parcela de biomassa fúngica - que se desprende do meio como matéria orgânica - poderia ser contabilizada na amostra bruta, o que pode explicar as baixas (ou nenhuma) eficiência de remoção na maioria dos ciclos.

Amônia

A concentração de N-NH₃ efluente média nos 26 ciclos avaliados foi de 16,2 mg/L. Na Figura 4 está discriminada a máxima eficiência de remoção de nitrogênio inorgânico em forma de amônia no Ciclo 7 (94,79%), ciclo este que apresentou a concentração mínima operacional efluente do reator (1,4 mg/L). Nenhuma eficiência foi detectada nos Ciclos 17 e 19. A amônia pode ser a via preferencial de consumo de nitrogênio pelo fungos (PAPAGIANNI *et. al*, 2004) para tanto esses microrganismos liberam enzimas extracelulares para a conversão de NO₂ e NO₃ em NH₃ através das enzimas *nitrato reductase* e *nitrito reductase*.

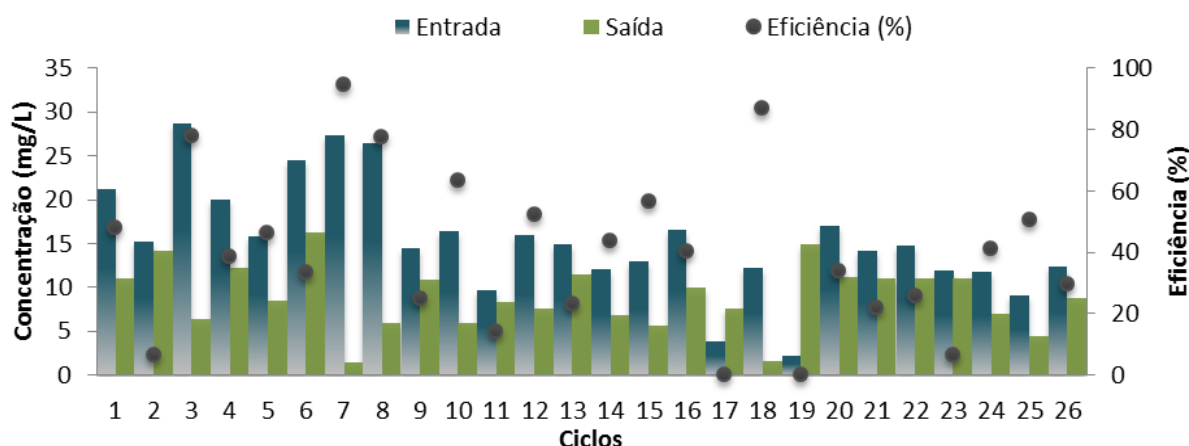


Figura 4: Concentrações e Eficiência de remoção de N-NH₃ (Amônia) no reator em bateladas.

Nitrito

Quanto à fração de nitrogênio inorgânico na forma de Nitrito, as análises espectrofotométricas demonstraram resultados com eficiência média de remoção de 30,5%. Na Figura 5 é possível observar que o reator não apresentou eficiência em 12 dos 26 ciclos analisados. As concentrações afluentes e efluentes eram muito baixas.

As concentrações afluentes e efluentes de nitrito também foram inferiores às demais frações nitrogenadas levadas em consideração neste ensaio, fato que se intensifica, por ser a parcela intermediária na biotransformação do nitrogênio inorgânico presente no meio.

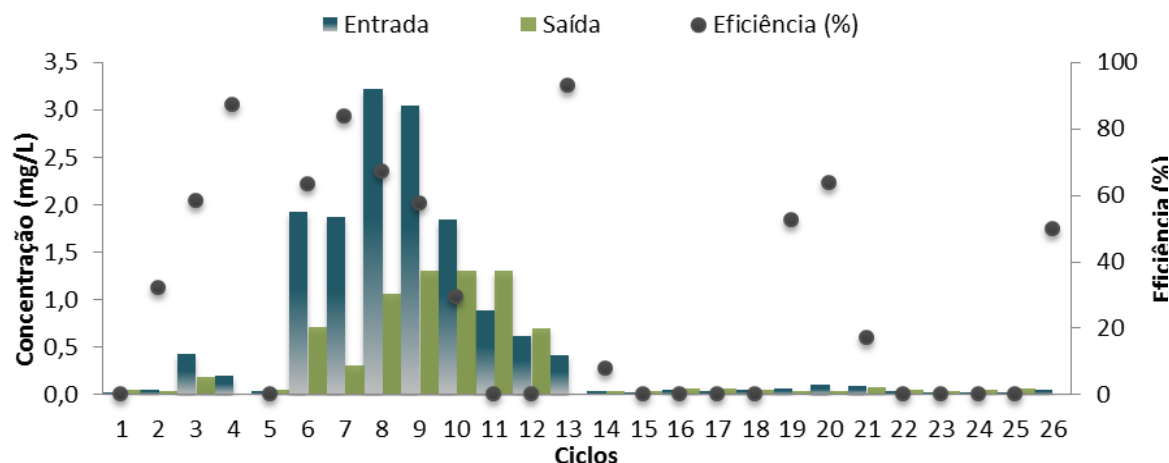


Figura 5. Concentrações de Nitrito nas amostras de Entradas, Saídas e Caracterizações do biorreator analisado.

Nitrato

Na Figura 6 verifica-se os resultados das determinações analíticas da parcela de nitrogênio orgânico oxidado à forma de nitrato. A Eficiência média obtida nos 26 ciclos analisados foi de 85,6%. A eficiência mínima detectada foi no Ciclo 17 (36,3%) e a máxima no Ciclo 11 (98%), mesmo ciclo com a maior concentração de N-NO₃ afluente detectada (10,14 mg/L).

A utilização de nitrato (NO₃⁻) nos fungos se dá através de sua redução à nitrito, sob a ação da enzima *nitrato redutase*, que então será convertida a amônia, forma na qual é mais facilmente assimilada pelos fungos, mediante a ação da enzima *nitrito redutase* (RODRIGUES e MARINHO, 2012; WOOD *et al.*, 2006).

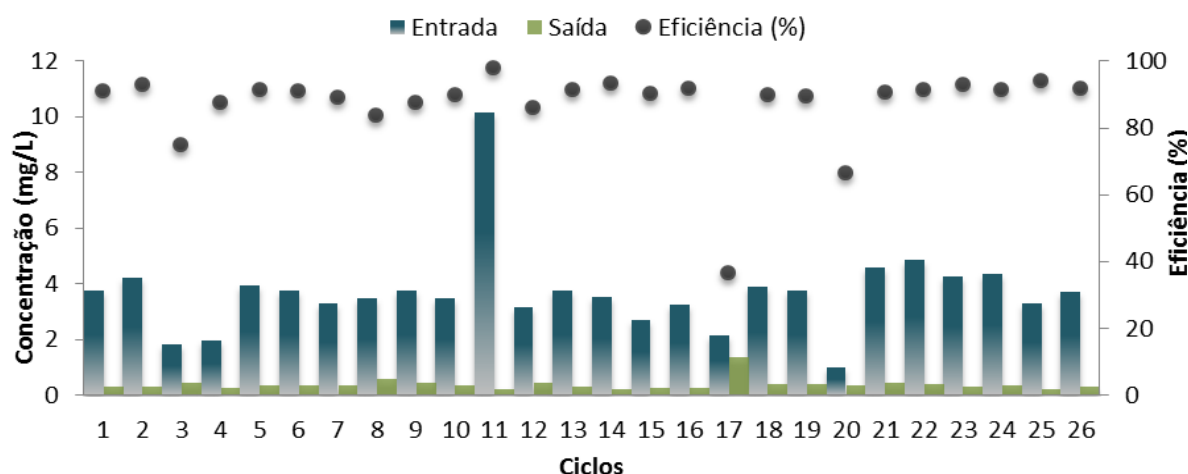


Figura 6. Concentrações de Nitrato afluentes e efluentes do reator (mg/L) e as respectivas Eficiências de remoção.

CONCLUSÕES

O etanol não se mostrou tóxico para o *Aspergillus niger* AN 400.

A média de remoção de corante foi de 83%, com máxima de 93%.

Devido ao desprendimento de biomassa do inóculo para o meio, as eficiências de remoção de matéria orgânica em termos de DQO, foram instáveis.

A eficiência de remoção de amônia apresentou-se inconstante, assim como a do nitrito, já que as amostras de entrada do reator possuíam baixa concentração de nitrito. Verificou-se que a eficiência de remoção de nitrato foi elevada, com média de 86%, provavelmente devido à sua conversão às outras formas (NO_2 e NH_4^+).

Através de análises de variáveis fundamentais podem ser reconhecidas as condições adequadas para o desenvolvimento do potencial enzimático fúngico, permitindo então determinar as condições adequadas para que seja otimizada a capacidade de degradação de, até mesmo, compostos persistentes, como corantes.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. AL-JANABI, A. A. H. S. Degradation of Ethanol by Two Species of Dermatophytes: *Trichophyton mentagrophytes* and *Epidermophyton floccosum*. *Global Journal of Biotechnology & Biochemistry* 4 (2): 148-151, 2009.
2. ANASTASI, A., SPINA, F., ROMAGNOLO, A., TIGINI, V., PRIGIONE, V., VARESE, G. C. Integrated fungal biomass and activated sludge treatment for textile wastewaters bioremediation. *Bioresource Technology* 123 (2012) 106–111.
3. APHA; Standard methods for the examination of water and wastewater, 21 American Health Association: Washington D. C., 2005.
4. CHEN, C., CHEN, J., NI, W. TIAN, X., HUANG, F. Biodegradation of Orange G by wood-rot fungi *Phanerochaete sordida* TXJ-1302A and *Tyromyces lauteus* TXJ-1302B. *Bioresource Technology* 99 (2008) 3926–3929.
5. EICHLEROVA, I., HOMOLKA, L., NERUD, F. Decolorization of high concentrations of synthetic dyes by the white rot fungus *Bjerkandera adusta* strain CCBAS 232. *Dyes and Pigments* 75 (2007) 38 - 44.
6. ERDEN, E., UCAR, M.C., GEZER, T., PAZARLIOGLU, N. K. Screening for ligninolytic enzymes from autochthonous fungi and applications for decolorization of remazole Marine Blue. *Brazilian Journal of Microbiology* (2009) 40:346-353.
7. KHELIFI, E., AYED, L., BOUALLAGUI, H., TOUHAMI, Y., HAMDI, M. Effect of nitrogen and carbon sources on Indigo and Congo red decolorization by *Aspergillus alliaceus* strain 121C. *Journal of Hazardous Materials* 163 (2009) 1056–1062.

8. KHELIFI, E., GANNOUN, H., TOUHAMI, Y., BOUALLAGUI, H., HAMDI, M. Aerobic decolorization of the índigo dye-containing textile wastewater using continuous combined bioreactors. *Journal of Hazardous Materials* 152 (2008) 683-689.
9. NIEBISCH, C. H., MALINOWSKI, A. K., SCHADECK, R., MITCHELL, D. A., KAVA-CORDEIRO, V., PABA, J. Decolorization and biodegradation of reactive blue 220 textile dye by *Lentinus crinitus* extracellular extract. *Journal of Hazardous Materials* 180 (2010) 316 – 322.
10. NOVOTNY', C., SVOBODOVÁ, K., FUCHS, W., BENADA, O., KOFRON'OVÁ, O., HEISSENBERGER, A. Potential of combined fungal and bacterial treatment for color removal in textile wastewater. *Bioresource Technology* 102 (2011) 879–888.
11. PAJOT, H. F., FARIÑA, J. I., FILGUEROA, L. I. C. Evidence on manganese peroxidase and tyrosinase expression during decolorization of textile industry dyes by *Trichosporon akiyoshidainum*. *International Biodeterioration & Biodegradation* 65 (2011) 1199 – 1207.
12. PAPAGIANNI, M; MATTEY, M. Physiological aspects of free and immobilized *Aspergillus niger* cultures producing citric acid under various glucose concentrations. *Process Biochemistry* 39 (2004) 1963 –1970.
13. RAMYA, M., ANUSHA, B., KALAVATHY, S. Decolorization and biodegradation of Indigo carmine by a textile soil isolate *Paenibacillus larvae*. *Biodegradation*. Volume 19, *Issue 2*, pp 283-291 (2008).
14. RODRIGUES, K. A., MARINHO, G. Aplicação de fungos em reatores para o tratamento de efluentes industriais. *In Fungos e águas residuárias: nova tecnologia/ Kelly Rodrigues, Glória Marinho*. Imprima. p 13-29, 2012.
15. RODRIGUES, K. A.; SILVA, K. M. L.; MARINHO, G. M.; LIMA, P. C.; PESSOA WANDERLEY, C. R.; SILVA, G. M. Remoção de corante por uso de *Aspergillus niger* AN400 em reator em bateladas sequenciais. *Quím. Nova* vol. 34. n.7 São Paulo, 2011.
16. RODRIGUES, K. A. Uso de reatores biológicos com fungos para a remoção de fenol de água residuária sintética, 2006. 145f. Tese (Doutorado em saneamento) – Escola de Engenharia de São Carlos da Universidade de São Paulo, São Carlos, 2006.
17. RODIER, J. L'analyse de l'eau: eaux naturelles, eaux résiduelles, eaux de mer. Volume 1, 5ed. Dunod (Ed.) Paris. 1975.
18. SOUZA, A. F., ROSADO, F. R. Utilização de fungos basidiomicetes em biodegradação de efluentes têxteis. *Revista em Agronegócios e Meio Ambiente*, v.2, n.1, p. 121-139, jan./abr. 2009.
19. TAMBOLI, D. P., GOMARE, S. S., KALMEC, S. S., JADHAV, U. U. GOVINDWAR, S. P. Degradation of Orange 3R, mixture of dyes and textile effluent and production of polyhydroxyalkanoates from biomass obtained after degradation. *International Biodeterioration & Biodegradation* 64 (2010) 755 - 763.
20. WOOD, C. C., PÓREE, F., DREYER, I., KOEHLER, G. J., UDVARDI, M. K. Mechanism of ammonium transport, accumulation and retention in oocytes and yeast cells expressing *Arabidopsis* atAMT1;1. *FEBS Letters*, v. 580, p. 3931 – 3936, 2006.
21. YOUNES, S. B., SAYADI, S. Detoxification of Indigo carmine using a combined treatment via a novel trimeric thermostable laccase and microbial consortium. *Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic* 87 (2013) 62–68.