

REVISTA AIDIS

de Ingeniería y Ciencias Ambientales:
Investigación, desarrollo y práctica.

INFLUÊNCIA DA FONTE PRIMÁRIA DE CARBONO E DE MACRONUTRIENTES NA REMOÇÃO DE ÍNDIGO CARMIM POR *Aspergillus Niger* EM REATOR DE ESCOAMENTO CONTÍNUO

Carolina de Oliveira Marinho¹
* Bárbara Chaves Aguiar Barbosa²
Carlos Ronald Pessoa Wanderley¹
Glória Marinho¹
Kelly de Araújo Rodrigues Pessoa¹

INFLUENCE OF THE PRIMARY SOURCE OF CARBON AND MACRONUTRIENTS ON THE REMOVAL OF INDIGO CARMINE BY *Aspergillus Niger* IN A CONTINUOUS FLOW REACTOR

Recibido el 4 de agosto de 2020. Aceptado el 4 de mayo de 2021

Abstract

The primary carbon source influence and macronutrients on the efficiency of a continuous flow fungal reactor in the removal of indigo carmine dye (100 mg/L) was evaluated. Aspergillus niger was the species inoculated in the reactor that was operated under hydraulic detention time of 12 h, in three phases: phase I - addition of 1 g / L of glucose and macronutrients; phase II - addition of 0.5 g/L of glucose and macronutrients and phase III - addition of 0.5 g/L of glucose and absence of macronutrients. The average removals of dye and organic matter in phases I, II and III were 93%, 98%, 36% and 65% and 74% and 35%, respectively, and those for ammonia nitrogen were 30%, 12.5 % and 96%, respectively, in phases I, II and III. Nitrate was removed less efficiently than ammoniacal nitrogen in phases I and II, except in phase III, when both were removed with an average efficiency of 96%. The largest mass of affluent dye was removed biologically. The results also indicated that there was a better removal of dye when glucose and macronutrients were added to the medium, with performance being impaired when the nutritional solution had its addition suppressed (phase III). This showed that the efficiency of the system regarding the removal of the dye was influenced by the extra addition of nutrients, as well as by the concentration of the co-substrate (glucose), demonstrating the potential of the technology for use in the treatment of textile effluents.

Keywords: continuous reactor, co-substrate, mycorremediation, textile dye.

¹ Laboratório de Tecnologia Ambiental, Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Ceará – IFCE, Fortaleza, Ceará, Brasil.

² Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Maranhão – IFMA, Brasil.

* *Autor correspondente:* Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Ceará – IFCE, Laboratório de Tecnologia Ambiental-LATAM. Avenida Treze de Maio, nº 2081, Benfica, Fortaleza, Ceará. CEP: 60040-215. Email: barbara.barbosa@ifma.edu.br

Resumo

Foi avaliada a influência da fonte primária de carbono e de macronutrientes sobre a eficiência de reator fúngico de escoamento contínuo na remoção de corante índigo carmim (100 mg/L). *Aspergillus niger* foi a espécie inoculada no reator que foi operado, sob tempo de detenção hidráulica de 12 h, em três fases: fase I - adição de 1 g/L de glicose e macronutrientes; fase II - adição 0.5 g/L de glicose e macronutrientes e fase III - adição de 0.5 g/L de glicose e ausência de macronutrientes. As remoções médias de corante e de matéria orgânica nas fases I, II e III foram, respectivamente, de 93% 98%, 36% e 65% e 74% e 35% e as de nitrogênio amoniacal foram de 30%, 12.5% e 96%, respectivamente, nas fases I, II e II. O nitrato foi removido com menor eficiência que o nitrogênio amoniacal nas fases I e II, exceto na fase III, quando ambos foram removidos com eficiência média de 96%. A maior massa de corante afluente foi removida pela via biológica. Os resultados indicaram ainda que houve melhor remoção de corante quando glicose e de macronutrientes foram adicionados ao meio, sendo o desempenho prejudicado quando a solução de nutricional teve sua adição suprimida (fase III). Isto mostrou que a eficiência do sistema quanto à remoção do corante foi influenciada pela adição extra de nutrientes, assim como pela concentração do cossustrato (glicose), demonstrando o potencial da tecnologia para uso no tratamento de efluentes têxteis.

Palavras chave: corante têxtil, cossustrato, micorremediação, reator contínuo.

Introdução

As discussões sobre as atividades que causam impactos no meio ambiente têm se intensificado desde o fim da década de 1950. Atualmente busca-se ainda mais tecnologias que possam promover o consumo aliado à boas práticas de manejo dos recursos ambientais (Olivatto *et al.*, 2018).

Uma das atividades que possuem elevado potencial de alteração do ambiente é a desenvolvida pelas indústrias têxteis. Esse tipo de indústria é caracterizado pelo elevado consumo de corantes e de água, sendo consequente a geração de efluentes com elevado nível de coloração (Silva, 2019), pois, segundo Madhavan *et al.* (2010), durante algumas etapas do processo industrial têxtil ocorre o descarte de 1 a 20% dos corantes usados. O lançamento de efluentes têxteis *in natura* em corpos receptores causa muitos impactos ambientais. Por exemplo, a presença desses efluentes promove a diminuição da atividade fotossintética, através da coloração da água, e aumenta sua toxicidade, advinda principalmente dos subprodutos formados durante a clivagem das moléculas do corante (Jeronimo *et al.*, 2019).

Com a necessidade de promover o consumo sustentável e atender as legislações ambientais cada vez mais rigorosas, as indústrias têxteis modernas adotaram novas formas de tratamento para esses efluentes. No entanto, faz-se necessário investigar alternativas para melhorar os processos de tratamento e a disposição final desses rejeitos (Macedo, 2019). Nesse sentido, muitos processos biotecnológicos vêm sendo desenvolvidos. O uso de tratamentos biológicos utilizando micro-organismos aeróbios e anaeróbios, apresentam-se como processos que tratam os efluentes têxteis de modo eficiente, econômico e com menor geração possível de resíduos (Ü. D. Gül, 2019).

Dentre os micro-organismos que atuam na remediação de compostos poluentes, os fungos se destacam por possuírem vários mecanismos que possibilitam a metabolização de moléculas persistentes dos corantes têxteis. Outra vantagem desses seres é sua capacidade de sintetizar extensa gama de compostos bioquímicos finos e enzimas não específicas e oxidantes, o que facilita a degradação de maior gama de poluentes (Ü. D. Gül, 2019).

Diversas pesquisas tem sido desenvolvidas na área da micorremediação como relatado por, Khalaf (2008), Kumar *et al.* (2012), Molla e Khan (2018), Chicatto *et al.* (2018), Covi Jr *et al.* (2019), Ortiz-Monsalve (2019) e Santos *et al.* (2020), autores estes que obtiveram resultados promissores na remoção de compostos recalcitrantes.

Contudo é crucial entender o funcionamento do metabolismo fúngico e as estratégias operacionais a serem adotadas visando o alcance de maiores remoções do poluente. Dentro deste contexto, observa-se que a fonte primária de carbono e a concentração de nitrogênio exercem influência sobre o desempenho do processo de micorremediação, como observado nos trabalhos de Rybczynska-Tkaczyk e Kornitłowicz-Kowalska (2017) e Eibes e Hormaza (2019).

Segundo Rybczynska-Tkaczyk e Kornitłowicz-Kowalska (2017) o tipo de cossustrato e da fonte de nitrogênio, assim como a concentração a ser adicionada, reflete diretamente no aumento de eficiência de remoção do poluente principal. Os autores avaliaram a adição de diferentes cossustratos na remoção de cor de efluente de processamento de papel pelos fungos *Haematonectria haematococca* BwIII43, K37 e 33 *Trichoderma harzianum* BsIII33, tendo-se obtido o melhor desempenho do processo, com eficiência superior a 90%, quando da adição de glicose (2.5 g/L) e de sulfato de amônio (2.5 g/L), em pH 6.

Já Merino, Eibes e Hormaza (2019), apontaram que extrato de levedura foi mais eficiente com fonte de nitrogênio para *Pleurotus ostreatus* e *Trametes versicolor* na remoção de Brilhante Azul e de Vermelho Allura, sendo glicose e manitol os cossustratos adicionados ao meio aquoso. Porém, nas condições estudadas, a glicose não foi o cossustrato mais eficiente para a remoção dos corantes, indicando que os micro-organismos e as características do meio influenciam diretamente na escolha do cossustrato e da fonte de nitrogênio a ser adicionada. Avaliar as condições que proporcionem melhoria do desempenho dos micro-organismos é de suma importância, pois cada espécie irá possuir demandas nutricionais específicas.

Assim, buscou-se estudar a remoção do corante índigo carmim de efluente têxtil sintético em reator de leito fixo e escoamento contínuo inoculado com *Aspergillus niger* AN 400, utilizando glicose como cossustrato e adicionando solução de macronutrientes.

Materiais e métodos

Produção da suspensão de esporos fúngicos

Aspergillus niger AN 400 foi cultivado em placas de Petri contendo meio de cultura Ágar *Sabouraud Dextrose*, acrescido de 1 mL/L de solução de Vishniac e de 0,05 g/L de cloranfenicol, conforme metodologia de Sampaio (2005). As placas foram mantidas a temperatura de $28^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}$ por 7 dias. Posteriormente os esporos foram removidos com 4 mL de solução de Tween 80 ($\text{C}_{64}\text{H}_{124}\text{O}_{26}$) e transferidos para tubos de ensaio. Para contagem dos esporos, preparou-se uma solução utilizando 50 μL de suspensão de esporos, previamente agitada, acrescida de 950 μL de Tween. Em seguida foram transferidos para uma câmara de Newbauer 20 μL da solução preparada, onde se procedeu a contagem dos esporos em microscópio óptico. Para o cálculo do número de esporos foi utilizada a Equação 1:

$$\text{Esporos/mL} = \text{esporos contados} \times \text{diluição} \times 2.5 \times 10^5$$

Equação (1)

Imobilização da biomassa em meio suporte

Os fungos foram imobilizados em espuma de poliuretano (60 g), cortada em cubos de 1 cm de aresta – previamente esterilizada por 20 min a 121°C , com uso de frascos de 5 L, contendo 4 L de meio de crescimento constituído por 1 ml/L de solução Vischiniac (g/L): EDTA (10), $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ (4), $\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ (1), $\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ (0.32), $(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24} \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ (0.22), $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (1,47), $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ (1) e clorafenicol (0,5). Em seguida, inoculou-se 2×10^6 esporos/mL da suspensão de esporos dentro do reator de escoamento contínuo que já continha as espumas de poliuretano (60 g) esterilizadas, e meio de crescimento. Inicialmente, o reator permaneceu sob aeração durante 24 horas, sendo alimentado com meio de crescimento durante 10 dias, até a formação do biofilme na superfície do material suporte, em regime de batelada. Após esse período, o reator foi operado em regime de escoamento contínuo.

Água residuária sintética

O efluente foi produzido com água de abastecimento, adicionado de solução Vishniac (1mL/L) e macronutrientes – 0.5 g/L de $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, 0.25 g/L de NaNO_3 , 0.20 g/L de KH_2PO_4 , 0.25 g/L de MgSO_4 , 0.01 g/L de $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, 0.08 g/L de $\text{CuSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 0.05 g/L de H_2MoO_4 , 0.05 g/L de $\text{MnSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$, 0.05 de $\text{Fe}_2(\text{SO}_4)_3$ e 0.04 g/L de ZnSO_4 . A glicose também foi adicionada ao meio sintético, em diferentes concentrações. A concentração de corante índigo carmim no meio era de 100 mg/L, sendo que hidrossulfito de sódio (0.02 g/L) foi também utilizado para melhorar a solubilização do corante. Para manutenção do meio ácido, utilizou-se ácido sulfúrico 5 N, uma vez que meios com valores mais baixos de pH são mais favoráveis para a produção de enzimas degradadoras (Reginatto *et al.*, 2017).

Monitoramento do reator

O reator foi operado em 3 fases distintas: fase I, com uso de 1g/L de glicose e adição de macronutrientes no afluente; fase II, com 0,5 g/L de glicose e adição de macronutrientes e fase III, com 0,5 g/L de glicose, porém sem adição extra de macronutrientes. Antes de cada fase houve a inoculação e imobilização fúngica no reator de fluxo contínuo. Foram realizadas para cada fase de operação nove coletas do afluente e efluente do reator, operado sob o tempo de detenção hidráulica (TDH) de 12 horas. As análises realizadas foram de Demanda Química de Oxigênio (DQO) – de amostras bruta e solúvel –, corante, compostos nitrogenados – amônia e nitrato – e pH, sendo todas executadas de acordo com os métodos descritos no APHA (2005), exceto corante que e nitrato, os quais foram executados conforme descrito por Rodrigues *et al.* (2011). Foi utilizado um espectrofotômetro UV-Vis Shimadzu 1601 PC para a leitura das absorbâncias na determinação do corante.

Ensaio de adsorção no meio suporte

O ensaio de adsorção do corante no meio suporte foi realizado em frasco de vidro de 5 L, onde foram adicionados 12 g de espumas de poliuretano, previamente secas em estufa, corante índigo carmim na concentração de 100 mg/L e solução de Vishniac. A capacidade máxima de adsorção do corante na espuma foi monitorada a partir da sua concentração inicial e final no meio durante período de 120 minutos, sendo retiradas alíquotas em tempos determinados. A equação 2 foi utilizada para encontrar a massa total de corante adsorvido no material suporte:

$$\text{Massa de corante adsorvida (mg)} = (C_0 - C_e) \times V \text{ (mg/L)} \quad \text{Equação (2)}$$

onde, C_0 : Concentração de corante afluente (mg/L); C_e : Concentração de corante no efluente (mg/L); V: Volume (L).

Análise de subprodutos da degradação

Amostras do afluente e efluente de cada uma das fases foram submetidas à levantamento espectroscópico das bandas de absorção. Para isso, foram realizadas “varreduras” das amostras centrifugadas entre 200 e 1000 nm em espectrofotômetro UV-Vis (Thermo *Evolution 100*).

Resultados e discussão

A variação da concentração do corante índigo carmim na entrada e saída do Reator Biológico com Fungos (RBF) ao longo das Fases I e II está expressa na Figura 1.

Na Fase I, o valor médio de corante no afluente de RBF foi de 109 ± 5.6 mg/L, sendo que, após o tratamento, registrou-se no efluente uma concentração média de 4.25 mg/L, o que demonstrou a eficiência do sistema quanto à remoção do índigo carmim, resultando em um percentual médio de remoção de 96%. Foram observadas remoções superiores a 99% nos pontos amostrais 4, 6, 7 e 8.

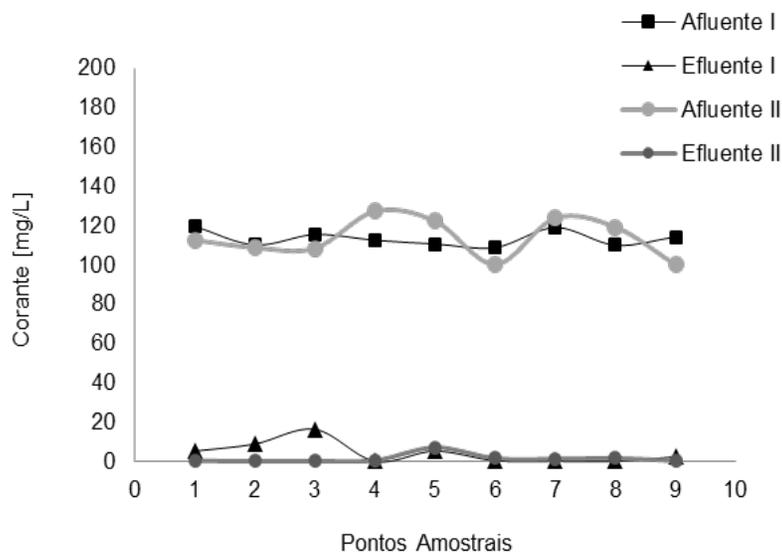


Figura 1. Variação da concentração de corante no RBF durante as Fases I e II.

Já na Fase II, a concentração média do corante índigo carmim afluente foi de 112 ± 3.22 mg/L. No efluente, observou-se remoção média de 98% e remoções acima de 99% nos pontos 1, 2, 3, 4, 7 e 9. Cabe indicar que nessa fase houve diminuição da concentração de glicose, e mesmo na nessa condição as remoções de corante foram elevadas, indicando que a espécie fúngica utilizou bem o corante como fonte de carbono mesmo com menor concentração de glicose.

Silva (2012) investigou a descoloração do índigo carmim presente em um efluente têxtil in natura pelo *Aspergillus niger* em reatores de batelada sequencial, operados com tempo reacional de 48 horas, verificando a influência da presença de macronutrientes na descoloração. A concentração de corante no afluente variou de 3 a 20 mg/L, sendo acrescido no meio glicose (3 g/L) e fontes de nitrogênio - $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ e NaNO_3 . A média de remoção do corante foi de 55%. O menor percentual de remoção obtido por Silva (2012), em comparação com a presente pesquisa, pode ser atribuído ao excesso de glicose utilizado pelo autor, o que pode fazer com que ocorra repressão enzimática do metabolismo microbiano (Adnan *et al.*, 2016).

Asses *et al.* (2018) também utilizaram a espécie fúngica *Aspergillus niger* para remoção do corante. Os autores avaliaram a capacidade da espécie degradar o azocorante vermelho do congo (250 mg/L). O estudo consistiu em avaliar a capacidade de micorremediação associada aos efeitos

do pH, concentração inicial de corante, temperatura e agitação, velocidade de descoloração e produção de enzimas. Os resultados obtidos indicaram que *Aspergillus niger* foi capaz de remover 97% do corante do meio líquido, com pH variando entre 5 e 6, após seis dias de contato, sob agitação de 150 rpm. Ao comparar o trabalho de Asses *et al.* (2018) com o presente estudo, observa-se que embora se tenha alcançado eficiências de remoção de corante similares em ambos os trabalhos, o uso de reator contínuo para tratamento de efluentes contendo corantes tem como vantagem permitir processamento de maiores vazões. Cabe então mencionar que, apesar da estrutura molecular do corante azo e do indigóide serem diferente, ambos são considerados tóxicos e difícil degradação no meio, podendo causar o último, inclusive, danos permanentes à córnea e conjuntiva do homem (Secula *et al.*, 2011).

Remoções interessantes de corantes também têm sido alcançadas com biomassa fúngica morta como reportado por Dogan *et al.* (2018) que estudaram a remoção de índigo carmim, em concentração de 100 mg/L, por biomassa morta de *Pleurotus ostreatus*, e registraram uma remoção máxima do poluente de 83%. Porém, as eficiências alcançadas por Dogan *et al.* (2018) foram inferiores que as obtidas nesta pesquisa, além do fato de que o uso da biomassa morta representa apenas a transferência do poluente de fases, da líquida para sólida, não solucionando de fato o problema ambiental, já que a mesma atua meramente como adsorvente.

Na Fase III, a concentração média do corante no afluente foi de 101 ± 4.3 mg/L (Figura 2). Já os valores obtidos no efluente durante essa fase, foram maiores que aqueles registrados nas Fases I e II, observando-se percentual médio de remoção de 36%.

Nesta fase, com a glicose mantida em 0.5 g/L e os macronutrientes retirados do meio, a eficiência de remoção do corante foi menor em comparação as Fases I e II, tendo-se registrado na Fase III remoção média de 36%, com máximas nos pontos 1 e 9, de 62% e 69%, respectivamente. No ponto 6 foi observada menor remoção de corante (7.4%). Assim, a retirada dos macronutrientes do afluente ao reator não foi benéfica para remoção do índigo carmim, de modo que com a supressão da adição de macronutrientes, o meio não suprir as necessidades nutricionais dos fungos, conforme reportado por Esposito e Azevedo (2010). Estes autores verificaram que a presença de macronutrientes como nitrogênio, fósforo e enxofre, entre outros, é fundamental para o bom funcionamento do metabolismo fúngico na síntese de macromoléculas celulares de interesse celular.

A eficiência baixa de remoção de corante registrada na Fase III pode estar relacionada à uma possível diminuição da produção de enzimas fúngicas, devido à ausência ou limitação de fontes de nitrogênio no meio, visto que a excreção de enzimas é influenciada pelas concentrações de nutrientes como carbono e nitrogênio (Elisashvili e Kachlishvili, 2009), além de outros fatores como pH, temperatura, oxigênio dissolvido, agitação e a presença de micronutrientes (molibdênio, zinco, cobalto, entre outros) (Singh e Chen, 2008; Chicatto *et al.*, 2018; Covi Jr *et al.*, 2019).

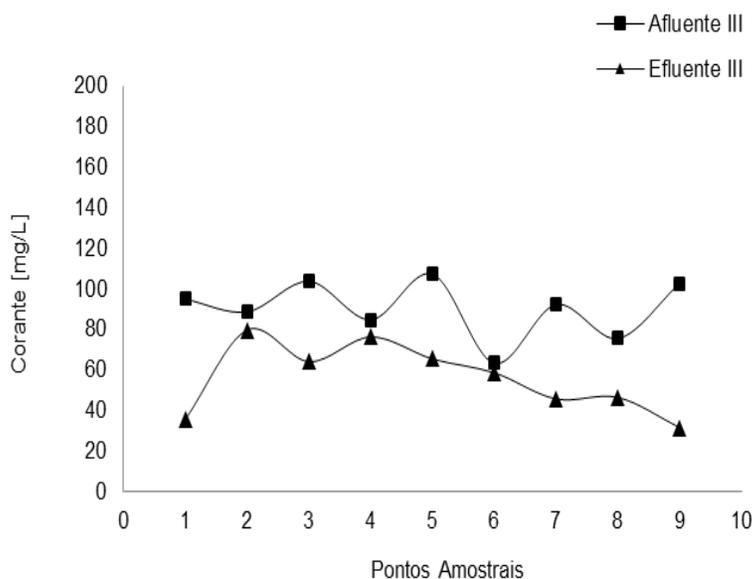


Figura 2. Variação da concentração de corante índigo carmim no RBF na Fase III.

A ação da degradação por via biológica pode ser endossada pelo ensaio de adsorção realizado no material suporte que indicou uma capacidade de adsorção do corante pela espuma suporte de 0.012 g/g. Como foi removida uma massa total de 8.52 de corante e, observando-se que havia no interior do reator 60 g espuma, haveria 0.142 g de índigo carmim por grama de espuma suporte, valor este superior à capacidade de adsorção deste material suporte. Apenas 8.5% do corante afluente ao reator ficou retido em seu interior por adsorção ao material suporte. Embora corante também possa adsorver no biofilme, conforme estudo de Assis *et al.* (2018), a biomassa fúngica possui capacidade limitada de adsorver o corante, sendo que os autores chegaram a um valor de 27% para a massa de vermelho do congo retida na biomassa de *Aspergillus niger*.

A microrremediação também pode ser endossada pelas varreduras realizadas no afluente e efluente do reator. Na Figura 3 é mostrada a varredura espectrofotométrica realizada no afluente e efluente do reator, no 8^a ponto amostral da Fase I, sendo observada a presença de três picos principais no afluente, com um deles ocorrendo na banda que absorve na região correspondente à faixa visível responsável pela coloração azul do índigo carmim (λ : 675 nm) e os outros dois picos na banda de absorção na região do UV visível (λ : 205 e 295 nm), que se referem à fração aromática do corante.

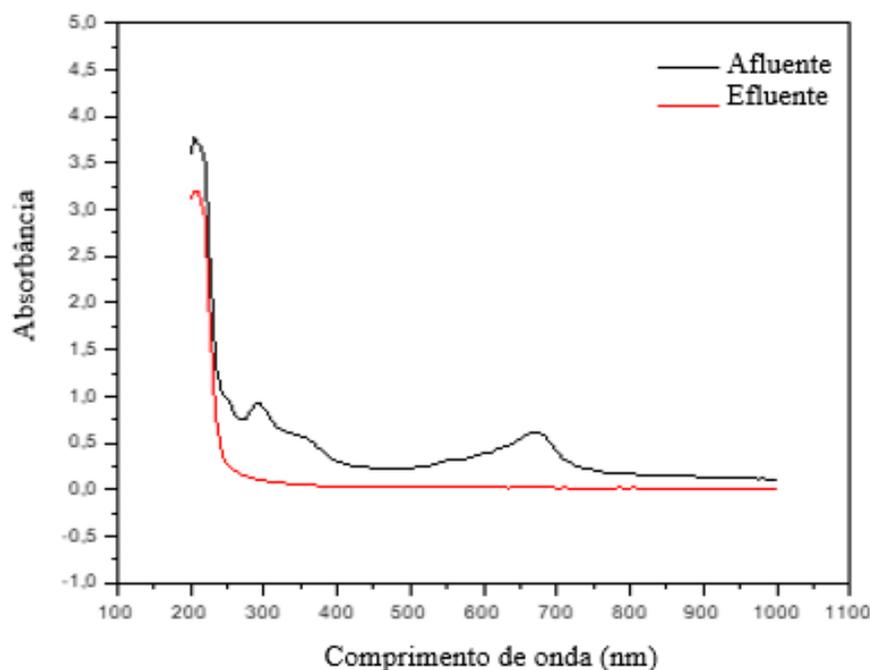


Figura 3. Varredura do índigo carmim no afluente e efluente do 8º ponto amostral da Fase I.

Ao comparar com a varredura feita no efluente, houve diminuição da intensidade das bandas na região relativa ao grupo cromóforo do índigo carmim, o que ficou evidente na perda de coloração da água residuária após passar pelo reator. Nas demais frações aromáticas da molécula do corante, nos comprimentos de onda de 205 nm e 295 nm, foram registradas remoções de 15% e 89%, respectivamente, o que ratificou os resultados obtidos em termos de degradação de corante. O pico no comprimento de 205 nm e o baixo percentual de remoção indicam a presença da molécula de benzeno no meio, como subproduto da degradação do corante.

No tocante a variável que representa a quantidade de matéria orgânica total e solúvel (DQO), observou-se que na Fase I, a média da concentração de DQO total na entrada do reator foi de 1197 mg/L, sendo a remoção mínima obtida no 2º ponto amostral, restando no efluente 879.83 mg/L. A maior remoção de DQO foi registrada no 8º ponto, ficando no efluente uma concentração de 1.45 mg/L, como apresentado na Figura 4. Em relação a matéria orgânica solúvel, a concentração média afluente foi 775.02 mg/L, com a mínima de 637.25 mg/L (8º ponto) e máxima de 979.76 mg/L (5º ponto). No efluente, a média de concentração de DQO solúvel foi de 135 mg/L, mínima de 0.46 mg/L (7º ponto) e máxima de 431.75 mg/L (4º ponto).

A remoção média de DQO total na Fase I foi de 65%. Os percentuais máximos obtidos foram no 7º e 8º pontos amostrais, com remoções de 99.6 % e 99.8%, respectivamente. Os percentuais mínimos de remoção registrados ocorreram no 2º e 4º pontos, os quais foram de 34.5% e 35%, respectivamente. A remoção média de DQO solúvel foi de 84%, a máxima foi de 99% obtida nos pontos amostrais 2, 3, 6, 7 e 8, e a mínima foi de 51.71% referente ao 4º ponto.

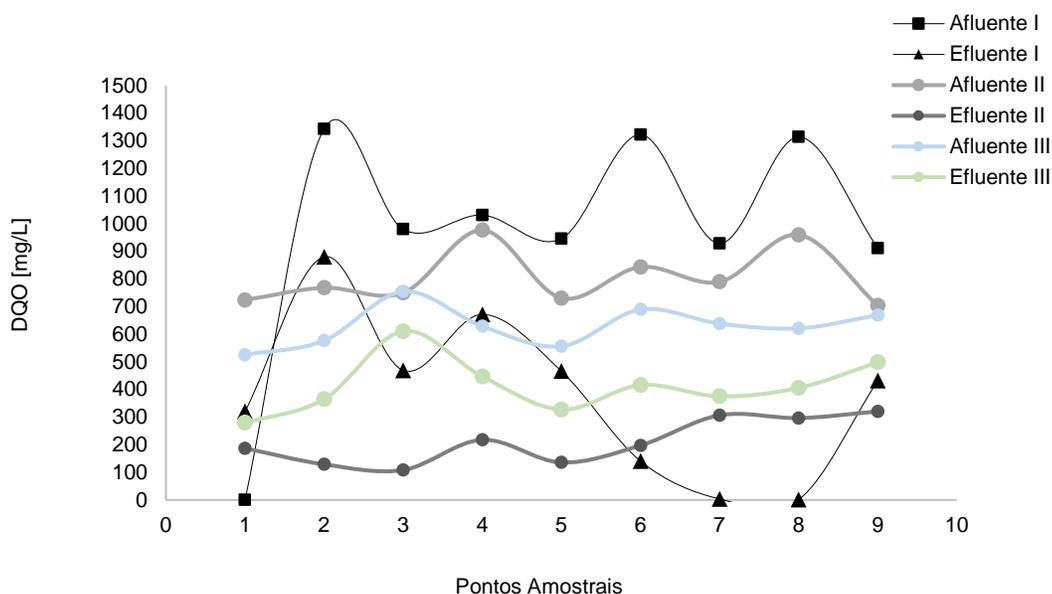


Figura 4. Variação da concentração de DQO total no RBF nas Fases de operação do reator.

Na Fase I, ao longo da operação do reator, o emprego de 1 g/L de glicose como cossustrato propiciou o crescimento exagerado de biofilme em seu interior, provocando por diversas vezes a colmatção do leito e, posteriormente, a perda de biomassa. Na literatura são relatados como frequentes os problemas de operação associados ao crescimento excessivo de fungos em reatores contínuos de leito fixo, o que acaba por causar obstruções no leito (Hai *et al.*, 2008; Khelifi *et al.*, 2008; Divriklioglu, Akar S., Akar T, 2019).

Para Fase II, a concentração média afluente de DQO total foi 805 mg/L, com máxima registrada no 4º ponto amostral de 977 mg/L e mínima de 703 mg/L, no 9º ponto amostral. No efluente, a concentração média de DQO total foi 211 mg/L, com máxima e mínima de 320.35 mg/L (9º ponto) e 129 mg/L (2º ponto), respectivamente. Já a DQO solúvel do efluente apresentou concentração média de 137 mg/L, com valores máximos e mínimos de 282 mg/L e 61 mg/L, respectivamente.

A respeito da Fase II, o percentual médio de remoção de matéria orgânica total foi de 74%, superior ao percentual obtido na Fase I (65%). Os percentuais de remoção registrados na Fase II indicaram maior estabilidade do sistema quando comparados os resultados obtidos na Fase I. Porém, em nenhuma dos pontos amostrais da Fase II, foram observadas remoções acima de 90%, sendo a remoção máxima e mínima de 83% (2º ponto) e 54% (9º ponto), respectivamente. O percentual médio de remoção de DQO solúvel nesta etapa foi 77%, bem semelhante ao percentual médio da DQO total.

Quando se passou a adicionar 0.5g/L de glicose no afluente do reator, não foram observados mais episódios de colmatação, o que favoreceu a não quantificação de biomassa dispersa no momento da análise de DQO solúvel. A remoção máxima e mínima de DQO solúvel foi de 90% (3º ponto) e 56% (9º ponto).

As remoções baixas apresentadas em alguns pontos amostrais das Fases I e II teriam relação com a perda de biomassa, o que, segundo Meksi *et al.* (2007), pode ocorrer devido à presença de subprodutos tóxicos provenientes da decomposição do Hidrossulfito de sódio, que foi adicionado na água residuária sintética para solubilizar o corante índigo carmim. Além disso, a maior concentração de glicose no meio favoreceu o crescimento do biofilme, o que terminou por provocar sua saída com o efluente. Essa situação fez com que houvesse maior quantificação de matéria orgânica, como consequência da maior presença de fragmentos do biofilme no efluente.

Quando a remoção de matéria orgânica não é muito elevada em comparação com as remoções de corante, pode indicar fragmentação da molécula do corante, já que as bandas do espectro de absorção de cor sofrem intensa diminuição (Ali *et al.*, 2008, e Casas *et al.*, 2009). Porém, em solução, provavelmente existem muitos intermediários orgânicos, não identificados que não teriam sido efetivamente assimilados pelos micro-organismos, os quais contribuem na parcela de DQO remanescente.

Ali *et al.* (2008) e Ikeda *et al.* (2006) relataram que o fungo ao utilizar a fonte de carbono para síntese de biomassa e energia, promove a produção de metabólitos quando da ruptura das ligações químicas do composto a sofrer degradação. Os metabólitos formados podem ser acumulados no interior da célula ou excretados. Assim, as baixas eficiências de remoção de matéria orgânica solúvel podem estar associadas à presença de produtos secundários no meio, oriundos da degradação da glicose pelo fungo.

Sharari *et al.* (2013) afirmaram que alguns compostos recalcitrantes requerem mais tempo para que a biodegradação seja completa, o que pode ter ocorrido nesta pesquisa, especialmente em componentes resultantes da molécula do índigo carmim ou outras moléculas persistentes presentes no efluente. Possivelmente, o TDH de 12 horas pode ter sido insuficiente durante as Fases I e II para total metabolização dos compostos considerados complexos.

Na Fase III, a concentração média, máxima e mínima afluente de DQO total foi de 629 mg/L, 754 mg/L (3º ponto) e 525 mg/L (1º ponto), respectivamente. Após o tratamento biológico, a concentração média de DQO total foi 414 mg/L, os valores máximos e mínimos dos efluentes foram de 611 mg/L (3º ponto) e 279 mg/L (1º ponto).

Com relação à DQO solúvel no afluente, a concentração máxima foi registrada no 6º ponto amostral, consistindo em 625 mg/L, e a mínima de 483 mg/L, no 9º ponto amostral. A concentração média na entrada do reator na referida coleta foi de 566 mg/L. Entretanto a concentração média no efluente foi de 332 mg/L e os valores máximos e mínimos foram 413 mg/L (8º ponto) e 269 mg/L (1º ponto), respectivamente.

O percentual médio de remoção de matéria orgânica total foi de 35%, notoriamente inferior aos percentuais obtidos nas fases anteriores desta pesquisa. Provavelmente, a ausência de macronutrientes influenciou no desempenho do reator, como indicado por Putzke e Putzke (2002), que afirmaram a importância da presença de nutrientes para o crescimento, esporulação e metabolismo fúngico, o que justificaria as baixas remoções de DQO e corante, pois houve pequeno crescimento de biomassa nesta fase. As remoções máximas e mínimas de DQO total foram de 47% (1º ponto) e 19% (3º ponto), respectivamente. O percentual médio de remoção de DQO solúvel foi 41%, bem semelhante ao percentual médio da DQO total desta fase e a remoção máxima e mínima de 52% (7º ponto amostral) e 24.5% (9º ponto amostral).

Mesmo que a remoção de DQO na Fase III tenha sido inferior as observadas nas demais fases, ainda houve remoção da matéria orgânica no meio. Por exemplo, Molla e Khan (2018) avaliaram a diminuição da toxicidade de efluente têxtil em Bangladesh com duas cepas de fungos filamentosos, *Trichoderma harzianum* e *Mucor hiemalis*, e relataram remoção de DQO 91.35%, tendo o afluente in natura concentração de 582 mg/L, valor esse inferior aos registrados na presente pesquisa, pois na Fase III, a concentração maior registrada no afluente foi de 754 mg/L, o que também pode ter interferido no processo de remoção do poluente pela espécie fúngica estudada, visto que além da concentração de matéria orgânica ser elevada, o meio não dispunha de macronutrientes para desenvolvimento apropriado.

Contrariamente ao ocorrido nas Fases I e II, em praticamente todos os pontos amostrais da Fase III, com exceção do 1º, as eficiências de degradação do índigo carmim foram menores em relação à matéria orgânica dissolvida no meio aquoso, em termos de DQO. Este fato foi atribuído à possível formação de subprodutos que foram prontamente assimilados pelo fungo decorrente da oxidação da glicose adicionada no meio por ação de enzimas excretadas pela espécie *Aspergillus niger*, como as flavoproteínas e lactonases, que são responsáveis pela hidrólise da glicose a ácido glucônico (Bankar *et al.*, 2009).

Além disso, a ausência de nutrientes específicos como o nitrogênio pode interferir na produção de enzimas que atuam na quebra da molécula do corante, visto que a presença ou ausência do nitrogênio afeta diretamente o funcionamento do sistema enzimático e causa alterações no metabolismo secundário da célula (Leatham e Kirk, 1983; Reginatto *et al.*, 2017). Gupta *et al.* (2019) também constataram que espécies fúngicas necessitam de macro e micronutrientes em concentrações adequadas para se desenvolverem e consumirem compostos recalcitrantes. Os autores concluíram que a presença de glicose favoreceu o crescimento fúngico e que os macronutrientes permitiram melhor produção enzimática, esta última necessária para degradação dos poluentes alvo.

Os valores finais de pH da Fase I mantiveram-se na faixa ácida, com variação de pH de 3.22 e 4.16, conforme apresentado na Figura 5. Também pode-se avaliar que na Fase II os valores de pH afluente foram ajustados e variaram de 4.12 a 5.24, visto que Kumar *et al.* (2012) indicaram que o pH ótimo para o crescimento e que favorece a remoção de corante têxtil por diferentes fungos varia entre pH 4 e 6, e além disso, essa faixa de pH influencia na carga elétrica da superfície da biomassa fúngica, que, por sua vez influencia na adsorção de grupos carregados ou formas iônicas do corante na solução. Já os valores efluentes registraram pequenas oscilações permanecendo na faixa ácida, variando de 3.8 a 4.84.

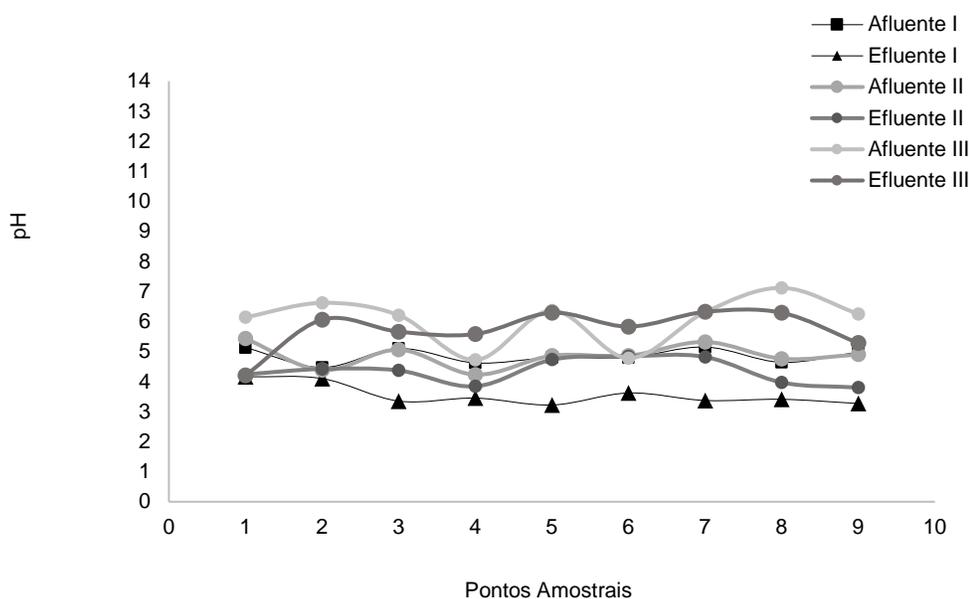


Figura 5. Variação do pH no reator biológico ao longo das fases de operação do reator.

O *Aspergillus niger* possui a capacidade de produzir ácidos orgânicos a partir do consumo da glicose, mantendo o pH entre 2 e 4, que é uma vantagem competitiva frente aos outros micro-organismos, pois é nessa faixa de pH que ocorre maior produção de enzimas, o que pode contribuir para degradação do corante (Pires, 2011; Reginatto *et al.*, 2017).

Na Fase III, os valores de pH efluente apresentaram alterações em relação aos registrados nas fases anteriores (Figura 5). Nos pontos amostrais 3, 4, 5 e 6 o pH de saída foi levemente superior ao de entrada, tendendo a neutralidade, já nos pontos 1, 2, 7, 8 e 9 o efluente manteve-se na faixa ácida. Esse comportamento pode estar relacionado ao pouco consumo de corante e DQO do meio, o que pode ter mantido o pH do efluente mais próximo da neutralidade, visto que o consumo de fontes de carbono leva à acidificação do meio pela liberação de ácidos orgânicos (Liao *et al.*, 2018).

Sobre as parcelas de nitrogênio no meio, nitrogênio amoniacal, observou-se que Fase I, na entrada do reator, a concentração média foi de 123.5 mg/L, com valor máximo de 130 mg/L (2º ponto) e mínimo de 116 mg/L (1º ponto), como apresentado na Figura 6. Após o tratamento, a concentração média efluente de amônia foi de 87 mg/L, sendo o valor máximo de amônia no efluente de 111 mg/L (4º ponto) e mínimo de 40.03 mg/L (5º ponto).

Observou-se que a remoção de amônia apresentou grandes oscilações, obtendo-se remoção média de 31%, remoção máxima de 66% (5º ponto), que coincidiu com o ponto amostral onde ocorreu a maior acidificação do meio, com pH afluente de 3.22, e a mínima foi de 5.9%. Liu *et al.* (2016) indicaram que em pH mais ácido há maior consumo de amônia por espécies fúngicas e quando a concentração de amônia está em concentrações superiores a 100 mg/L, pode existir diminuição de consumo pelo micro-organismo, o que pode explicar também média de remoção de amônia baixa.

Ocorreram variações no consumo de amônia, de modo que, em alguns momentos, seu consumo foi mais acentuado. Porém, houve diminuição desse consumo nos pontos amostrais 4, 6 e 7 em relação aos pontos amostrais anteriores. Conforme Li e Kane (2009) existe liberação de compostos nitrogenados armazenados no interior das células fúngicas para o meio, sendo estes decompostos diretamente a NH_4^+ , o que pode esclarecer as reduções nos percentuais de remoção de amônia.

Na Fase II a concentração de amônia variou no afluente de 133 mg/L (4º ponto) a 154.6 mg/L (9º ponto), com uma concentração média de 144 mg/L (Figura 6). Após o tratamento, a concentração média no efluente de amônia foi de 126 mg/L, sendo a concentração máxima de amônia no efluente de 151 mg/L (9º ponto) e mínima de 116.5 mg/L (1º ponto). A remoção média de amônia foi de 12.5%, inferior que a remoção média da Fase I (30.2%), possivelmente pela menor disponibilidade de glicose (0.5 g/L), sendo a remoção máxima de 20.5% e mínima de 1.7%. Na Fase II a concentração de amônia no meio também foi superior a 100 mg/L, o que, segundo Liu *et al.* (2016), pode ser uma condição não propícia para seu consumo no meio.

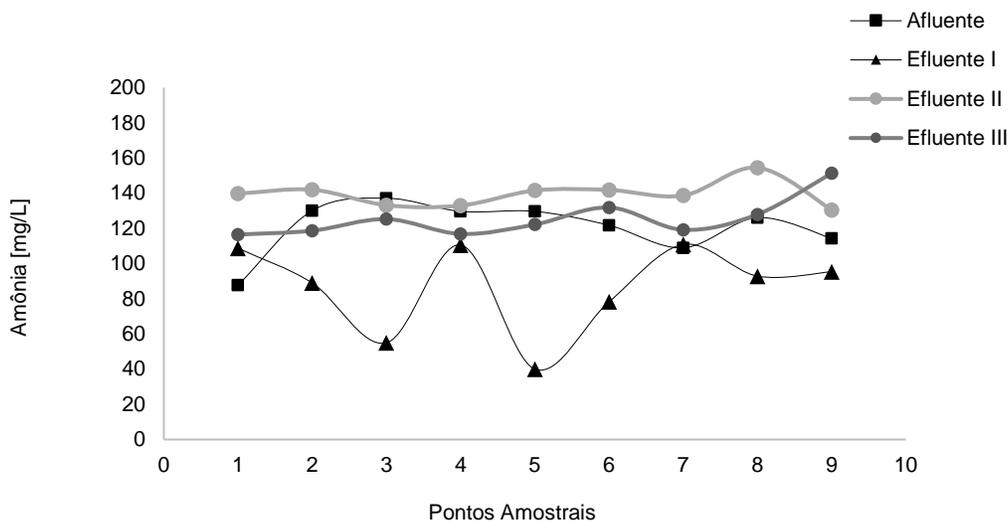


Figura 6. Variação da amônia no reator biológico ao longo das Fases I e II de operação do reator.

Já na Fase III, a concentração média de nitrogênio amoniacal afluente foi de 32 mg/L, bem menor que as concentrações registradas nas fases I e II, devido à ausência dos macronutrientes, principalmente $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ e NaNO_3 , fontes de nitrogênio em maior concentração dos nutrientes adicionados. Por sua vez, no efluente, a concentração média de amônia foi de 1.23 mg/L, com máximo de 1.64 mg/L no 5º ponto e mínimo de 0.8 mg/L no 2º ponto. A remoção média de amônia foi de 96%, muito superior que as remoções médias da Fase I (30.2%) e Fase II (12.5%). A remoção máxima foi registrada no 2º ponto (97%) e mínima no 3º ponto (95%).

Para fração de nitrato, na Fase I, os valores afluentes apresentaram concentração média de 34.2 mg/L, com valor máximo de 39.5 mg/L (2º ponto) e mínimo de 29.82 mg/L (8º ponto), resultando eficiências de remoção, respectivamente de 9%, 18% e 5%).

O melhor desempenho do sistema em remover nitrogênio amoniacal em relação ao nitrato foi atribuído à disponibilidade de amônia na água residuária sintética (123.5 ± 5.7 mg/L). Espécies como *Aspergillus niger* conseguem assimilar amônia e nitrato simultaneamente, ainda que a velocidades de assimilação de amônio seja superior à de nitrato, pois o amônio é a forma preferencial e prontamente assimilada pelo fungo (Sangtjean e Schmidt, 2002).

Por outro lado, o nitrato requer sua conversão à amônio para somente depois ser utilizado pelo fungo em seu metabolismo, de modo que a concentração afluente de nitrogênio amoniacal nesta

fase deve ter suprido os requisitos do metabolismo microbiano, levando, provavelmente, uma inibição na ação das enzimas *nitrato reductases* e *nitrito reductases*, responsáveis pela a conversão do nitrato a nitrito e deste à amônia, respectivamente (Rodrigues e Marinho, 2012).

Passando para a fase II, houve declínio de eficiência de remoção de nitrato em comparação com a fase I, com a remoção média foi de 3% e máxima de 16% no 7º ponto amostral. A eficiência mínima de remoção de nitrato ficou abaixo de 1%, nos pontos amostrais 3, 5, 6 e 9 e, concomitantemente, as menores remoções de amônia também foram nesses pontos. Este cenário sugere que o nitrito intracelular foi convertido a nitrato dentro da célula, diminuindo assim o consumo de nitrato e amônia que estariam disponíveis no meio (Haq *et al.*, 2005).

Por fim, para Fase III, foi registrado melhor desempenho quanto à remoção de nitrato, com uma concentração média de nitrato na entrada do sistema de de 6 mg/L e, na saída, de 0.001 mg/L, resultando em eficiência acima de 99%, na maior parte dos pontos amostrais.

Contudo, diferentemente das fases anteriores, o nitrogênio estava em disponibilidade menor no meio em relação às fases I e II, quando havia um maior teor de nitrogênio no afluente aos micro-organismos, mostrando a perda de eficiência quando o sistema foi submetido ao cenário de alta disponibilidade de nitrogênio, com concentrações de nitrogênio amoniacal de $123.5 \text{ mg/L} \pm 5.6$ (fase I) e $143,5 \text{ mg/L}$ (fase II), o que requer, nas condições estudadas, o uso de pós-tratamento no intuito de obter maiores remoções de nitrogênio para afluentes ricos deste nutriente.

Conclusões

Nas condições estudadas, o uso de reator fúngico de leito fixo e escoamento ascendente possibilitou remoção do corante sintético índigo carmin. A adição de glicose em concentrações de 1 g/L e 0.5 g/L e de macronutrientes, favoreceu a remoção do corante e de DQO. Contudo, com a glicose em menor concentração (0.5 g/L) e supressão da adição de macronutrientes houve perda de eficiência da remoção de corante, o qual foi removido do meio por ação dos fungos, conforme demonstrado no teste de adsorção no material suporte.

Em relação ao nitrogênio amoniacal e ao nitrato, a melhor remoção ocorreu na fase III, possivelmente relacionada à não adição de macronutrientes, indicando que a concentração desses íons no afluente foi excessiva às necessidades dos fungos e, conseqüentemente, restringiu seu maior aproveitamento do meio nas fases I e II, de forma que o processo de tratamento é influenciado também pela concentração de nitrogênio presente no afluente. Porém, em linhas gerais, o sistema estudado demonstrou alcançar bom desempenho, sendo uma tecnologia de grande alcance potencial para o tratamento de efluentes contendo corantes têxteis.

Referências

- Adnan, L. A., Hadibarata, T., Sathishkumar, P., Mohd Yusoff, A. R. (2016) Biodegradation Pathway of Acid Red 27 by White-Rot *Fungus Armillaria sp.* F022 and Phytotoxicity Evaluation. *Clean - Soil, Air, Water*, **44**(3), 239-246. <https://doi.org/10.1002/clean.201400249>
- Ali, N., Ikramullah., Lutfullah, G., Hameed, A., Ahmed, S. (2008) Decolorization of Acid red 151 by *Aspergillus niger* SA1 under different physicochemical conditions. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, **24**(7), 1099 -1105. <https://doi.org/10.1007/s11274-007-9581-6>
- APHA - American Public Health Association (2005). Standard methods for the examination of water and wastewater. 22. ed. Washington, D. C.: APHA.
- Asses, N., Ayed, L., Hkiri, N., Hamdi, M. (2018) Congo Red Decolorization and Detoxification by *Aspergillus niger*: Removal Mechanisms and Dye Degradation Pathway. *BioMed Research International*, **2018**, Article ID 3049686,1-9. <https://doi.org/10.1155/2018/3049686>
- Bankar, B. S., Bule, V. M., Singhal, R. S., Ananthanarayan, L. (2009) Glucose oxidase — An overview. *Biotechnology Advances*, **27**(4), 489 -501. <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2009.04.003>
- Casas, N., Parella, T., Vicent, T., Caminal, G., Sarra, M. (2009) Metabolites from the biodegradation of triphenylmethane dyes by *Trametes versicolor* or laccase. *Chemosphere*, **75**(10), 1344-1349. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2009.02.029>
- Chicatto, J. A., Rainert, K. T., Gonçalves, M. J., Helm, C. V., Altmajer-Vaz, D., Tavares, L. B. B. (2018) Decolorization of textile industry wastewater in solid state fermentation with Peach-Palm (*Bactris gasipaes*) residue. *Brazilian Journal of Biology*, **78**(4), 718-727. <https://dx.doi.org/10.1590/1519-6984.175074>
- Covi Jr., M. A., dos Santos, A. G., de Paulo Silva, E., Maimoni, G. F., Martins, H. N., de Moura Assis, M. L., Camargo, C. A. C. M., Camargo, M. A. F. (2019) Advances in the Treatment of Textile Effluents: A Review. *Open Access Library Journal*, **6**, 1-13. <https://doi.org/10.4236/oalib.1105549>
- Divriklioglu, M., Akar, S. T., Akar, T. (2019) A passively immobilized novel biomagsorbent for the effective biosorptive treatment of dye contamination. *Environmental Science and Pollution Research*, **26**, 25834-25843. <https://doi.org/10.1007/s11356-019-05716-8>
- Dogan, D., Boram, F., Kahraman, S., Akmil-Basar, C., Yesilada, O. (2018) Dye removal by dead biomass of newly isolated *Pleutotus ostreatus* strain. *Indian Journal of Biotechnology*, **17**, 290-301.
- Elisashvili, V., Kachlishvili, E. (2009) Physiological regulation of laccase and manganese peroxidase production by white-rot Basidiomycetes: A review. *Journal of Biotechnology*, **144**(1), 37-42. <https://doi.org/10.1016/j.jbiotec.2009.06.020>
- Espósito, E., Azevedo, J. L. (2010) Fungos: uma introdução à biologia, bioquímica e biotecnologia. 2 ed. Revisada e ampliada. Caxias do Sul, EDUCS.
- Gupta, C., Balakrishnan, R. M., Priyanka, U., Pugazhendhi, A. (2019) Mycosensing of soil contaminants by *Ganoderma lucidum* and *Omphalotus subilludens* including the insights on growth media requirements. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, **20**, 1-9. <https://doi.org/10.1016/j.bcab.2019.101239>
- Haq, I. U., Ali, S., Qadeer, M. A., Iqbal, J. (2005) Optimization of nitrogen for enhanced citric acid productivity by a 2-deoxy D-glucose resistant culture of *Aspergillus niger* NGd-280. *Bioresource Technology*, **96**(5), 645-648. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2004.06.010>
- Ikeda, Y., Park, E.Y., Okuda, N. (2006) Bioconversion of waste office paper to gluconic acid in a turbine blade reactor by the filamentous fungus *Aspergillus niger*. *Bioresource Technology*, **97**(8), 1030-1035. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2005.04.040>
- Jeronimo, R. A., Pinheiro, S. G., Alves, A. E., Melo, A. M.; El-Deir, S. G. (2019) Escolha das espécies biomonitoras de efluente têxtil. *Revista Gestão e Sustentabilidade Ambiental*, **8**(3), 312-324. <https://doi.org/10.19177/rgsa.v8e32019312-324>

- Khalaf, M. (2008) Biosorption of reactive dye from textile wastewater by non-viable biomass of *Aspergillus niger* and *Spirogyra sp.* *Bioresource Technology*, **99**(14), 6631 - 6634. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2007.12.010>
- Khelifi, E., Gannoun, H., Touhami, Y., Bouallagui, H., Hamdi, M. (2008) Aerobic decolorization of the indigo dye-containing textile wastewater using continuous combined bioreactors. *Journal of Hazardous Materials*, **152**(2), 683-689. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2007.07.059>
- Kumar, G., Mongolla, P., Joseph, V. (2012) Biochemistry decolorization and biodegradation of triphenylmethane dye, brilliant green, by *Aspergillus sp.* isolated from Ladakh, India. *Biochemistry*, **47**(9), 1388-1394. <https://doi.org/10.1016/j.procbio.2012.05.015>
- Leatham, G. F., Kirk, T. K. (1983) Regulation of ligninolytic activity by nutrient nitrogen in white-rot basidiomycetes. *FEMS Microbiology Letters*, **16**(1), 65 -67. <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/0378109783903051>
- Li, S. C., Kane, P. M. (2009) The yeast lysosome-like vacuole: Endpoint and crossroads dos vacuolos. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular Cell Research*, **1793**(4), 650-663. <https://doi.org/10.1016/j.bbamcr.2008.08.003>
- Liao, J., Jiang, J., Xue, S., Qingyu, C., Wu, H., Manikandan, R., Huang, L. (2018) A novel acid-producing fungus isolated from bauxite residue: the potential to reduce the alkalinity. *Geomicrobiology Journal*, **35** (10), 840-847. <https://doi.org/10.1080/01490451.2018.1479807>
- Liu, Z., Liu, G., Cai, H., Shi, P., Chang, W., Zhang, S. (2016) **Paecilomyces variotii**: A Fungus Capable of Removing Ammonia Nitrogen and Inhibiting Ammonia Emission from Manure. *PLoS ONE*, **11**(6), 1-14. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0158089>
- [Macedo, K. R.](#) (2019) Métodos de tratamento de efluentes gerados pela indústria têxtil: uma revisão bibliográfica. Monografia de conclusão de curso de Bacharelado em Ciência e Tecnologia na Universidade Federal Rural do Semiárido. Mossoró. 12pp.
- Madhavan, J., Kumar, P. S. S., Anandan, S., Grieser, F., Ashokkumar, M. (2010) Degradation of acid red 88 the combination of sonolysis and photocatalysis. *Separation Science and Technology*, **74**(4), 336-341. <https://doi.org/10.1016/j.seppur.2010.07.001>
- Meksi, N., Kechida, M., Mhenni, F. (2007) Cotton dyeing by indigo with the borohydride process: Effect of some experimental conditions on indigo reduction and dyeing quality. *Chemical Engineering Journal*, **131**, 187-193. <https://doi.org/10.1016/j.cej.2007.01.001>
- Merino, A., Eibes, G., Hormaza, A. (2019) Effect of copper and different carbon and nitrogen sources on the decolorization of an industrial dye mixture under solid-state fermentation. *Journal of Cleaner Production*, **237** (10), 1-12. <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2019.117713>
- Molla, A. H., Khan, H. I. (2018) Detoxification of textile effluent by fungal treatment and its performance in agronomic usages. *Environmental Science and Pollution Research*, **25** (11), 10820-10828. <https://doi.org/10.1007/s11356-018-1361-3>
- Olivatto, G. P., Carreira, R., Tornisiello, V. L., Montagner, C. C. (2018) Microplásticos: Contaminantes de preocupação global no Antropoceno. *Revista Virtual Química*, **10** (6), 1968-1989. <https://doi.org/10.21577/1984-6835.20180125>
- Ortiz-Monsalve, S. (2019) Micorremediação de efluentes de tingimento de couro usando cepas de fungos nativos. Tese de doutorado em Engenharia Química da Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Porto Alegre. 85pp.
- Pires, J. N. (2011) Avaliação do tratamento de água residuária de indústria têxtil utilizando reatores em batelada inoculados com *Aspergillus niger* AN 400. Monografia de conclusão de curso de Tecnologia em Gestão Ambiental do Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Ceará. 122pp.
- Putzke, J., Putzke, M. T. L. (2002) Os reinos dos fungos. Santa Cruz do Sul: EDUNISC. 829p., v.2.
- Reginatto, C., Rossi, C., Miglioranza, B. G., Santos, M. dos, Meneghel, L., Silveira, M. M. da, Malvessi, E. (2017) Pectinase production by *Aspergillus niger* LB-02-SF is influenced by the culture medium composition and the addition of the enzyme inducer after biomass growth. *Process Biochemistry*, **58**, 1-8. <https://doi.org/10.1016/j.procbio.2017.04.018>

- Rodier, J. L'analyse de l'eau: eaux naturelles, eaux residuales, eaux de mer (1975). 5. ed. Paris: Dunod, v.1.
- Marinho, G. M., Rodrigues, K. A. (2012) Fungos e águas residuárias industriais: nova tecnologia. Coordenação Laboratório de Tecnologia Ambiental do IFCE - Recife: Imprima.
- Rybczyńska-Tkaczyk, K., Kornilowicz-Kowalska, T. (2017) Biotransformation and ecotoxicity evaluation of alkali lignin in optimized cultures of microscopic fungi. *International Biodeterioration & Biodegradation*, **117**, 131 -140. <https://doi.org/10.1016/j.ibiod.2016.12.011>
- Sampaio, G. M. M. S. (2005) Remoção de metil paration e atrazina com reatores com fungos (2005). Tese de doutorado em Hidráulica e Saneamento da Universidade da universidade de São Paulo. São Carlos. 114pp.
- Sangtien, T., Schmdit, S. (2002) Growth of subtropical ECM fungi with different nitrogen sources using a new floating culture technique. *Mycological Research*, **106**(1), 75-85. <https://doi.org/10.1017/S0953756201005226>
- Santos, K da C. G., Neves, A. G. D., Cruz, N. V dos S., Pequeno, A. F. F., Silva, R. L. A., Nascimento, T. P., Nascimento, D. C. S., Costa, R. M. P., da Silva, M. V., Porto, A. L. F. (2020) Descoloração de efluente de uma lavanderia de beneficiamento têxtil localizada em Toritama/PE. por fungo filamentosos. *Brazilian Journal of Development*, **6**(1), 3338-3350.
- Secula, M. S., Cretescu, I., Petrescu, S. (2011) An experimental study of Indigo Carmine removal from aqueous solution by electrocoagulation. *Desalination*, **277**, 227-235. <https://doi.org/10.1016/j.desal.2011.04.031>