

Descoloração do corante Azul Brilhante de Remazol R por leveduras isoladas de moluscos do Rio Subaé, no estado da Bahia, Brasil

Decolorization of Remazol Brilliant Blue R dye by yeasts isolated from molluscs of the Subaé River (Bahia, Brazil)

Liliane Andrade Sande da Silva¹, Juliana Mota de Oliveira², Elizabeth Amélia Alves Duarte³, Norma Suely Evangelista Barreto⁴, Márcia Luciana Cazetta⁵

RESUMO

Os objetivos deste trabalho foram estudar o potencial de descoloração do corante Azul Brilhante de Remazol R (RBBR) por cinco isolados de leveduras identificados como OJU2, SJL6, SF5, SJ10 e SJU5, otimizar as condições de crescimento das leveduras e verificar a toxicidade do produto obtido após a descoloração. Para isso, foram realizados ensaios em batelada variando os seguintes parâmetros: pH (2 a 8), concentração de glicose (0 a 3%), concentração do corante (25 a 100 ppm) e temperatura (20 a 40°C). As leveduras mostraram capacidade de descolorir o RBBR com eficiência entre 80 e 93%, depois de 24 horas. A melhor condição para descoloração do RBBR ocorreu em pH ácido, 2% de glicose, 25 ppm do corante e 25°C. Com os ensaios com *Artemia salina*, foi observado diminuição da toxicidade após tratamento com os isolados SJ10 e SJU5, depois de 120 horas de incubação.

Palavras-chave: fungos; corante têxtil; biorremediação.

ABSTRACT

This research aimed to study the potential for decolorization of the Brilliant Blue dye Remazol R (RBBR) by five yeasts, identified as OJU2, SJL6, SF5, SJ10 and SJU5, optimize the conditions of growth of these yeasts and verify the toxicity of the product obtained after decolorization. For this purpose, tests were performed in batch in varying parameters: pH (2 to 8), glucose concentration (0 to 3%), dye concentration (25 to 100 ppm) and temperature (20 to 40°C). The yeasts showed ability to decolorize RBBR by biodegradation with rates ranging between 80 and 93% after 24 hours. The optimal conditions for decolorization were acid pH, glucose 2%, 25 ppm dye concentration and 25°C. After the toxicity tests with *Artemia salina*, decreased toxicity was observed following treatment with isolated SJU5 and SJ10, after 120 hours incubation.

Keywords: fungi; textile dye; bioremediation.

INTRODUÇÃO

Os corantes sintéticos são largamente utilizados em variadas aplicações industriais, incluindo a indústria têxtil. Mais de 10 mil corantes estão comercialmente disponíveis, e pelo menos 10% deles são lançados no ambiente por meio de águas residuais (FU & VIRARAGHAVAN, 2001). A presença de corantes em um corpo d'água é altamente visível, mesmo em concentrações muito baixas, e reduz a penetração da luz, afetando a fotossíntese. Além disso, alguns corantes podem ser tóxicos ou mutagênicos e carcinogênicos (NIGAM *et al.*, 2000; DOGAN *et al.*, 2005).

Os corantes podem ser classificados pelo seu grupo cromóforo e possuem diferenças nas estruturas e na estabilidade química. O Azul Brilhante de Remazol R (RBBR) pertence à classe dos corantes antraquinônicos e representa um importante organopoluente tóxico e recalcitrante. É um composto derivado do antraceno que apresenta elevada toxicidade, por conta do comportamento químico similar aos compostos que pertencem à família de hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (HPA), que são muito difíceis de serem metabolizados (MECHICHI; MHIRI; SAYADI, 2006; OSMA; TOCA-HERRERA;

¹Mestre em Microbiologia Agrícola pela Universidade Federal do Recôncavo da Bahia (UFRB) - Cruz das Almas (BA), Brasil.

²Doutoranda pela Universidade Estadual de Feira de Santana (UEFS) - Feira de Santana (BA), Brasil.

³Pós-graduanda do Programa de Pós-graduação em Microbiologia Agrícola pela UFRB - Cruz das Almas (BA), Brasil.

⁴Doutor em Ciências Biológicas pela Universidade Federal de Pernambuco (UFPE) - Recife (PE), Brasil. Docente Adjunto IV do Centro de Ciências Agrárias, Ambientais e Biológicas (CCAAB) da UFRB - Cruz das Almas (BA), Brasil.

⁵Doutor em Ciências Biológicas pela Universidade Estadual Paulista (UNESP) - Rio Claro (SP), Brasil. Docente Associada I do Centro de Ciências Exatas e Tecnológicas da Universidade Federal do Recôncavo da Bahia - Cruz das Almas (BA), Brasil.

Endereço para correspondência: Liliane Andrade Sande da Silva - Hospital Universitário de Medicina Veterinária da Universidade Federal do Recôncavo da Bahia - Avenida Rui Barbosa, 710 - Centro - 44380-000 - Cruz das Almas (BA), Brasil - E-mail: liliane_sande@yahoo.com.br

Recebido: 10/12/15 - **Aceito:** 26/09/16 - **Reg. ABES:** 157568

RODRÍGUEZ-COUTO, 2010; HADIBARATA & KRISTANTI, 2012). Além disso, o RBBR é utilizado como molécula modelo para isolamento de espécies degradadoras de poluentes, uma vez que permite selecionar microrganismos produtores de enzimas envolvidas na hidrólise da lignina (MACHADO & MATHEUS, 2006).

Os corantes sintéticos são altamente resistentes à biodegradação e, com frequência, não são removidos por processos de tratamento convencionais químicos e físicos, o que os torna um relevante fator de poluição ambiental (ROBINSON; CHANDRAN; NIGAM, 2001; JAROSZ-WILKOŁAZKA *et al.*, 2002). Métodos biológicos para tratamento de efluentes, especialmente os baseados na biodegradação, são mais atrativos por possibilitar a redução da toxicidade dos subprodutos da descoloração. Ademais, possuem baixo custo operacional quando comparados aos métodos físicos e químicos de tratamento de efluentes (HEINFLING-WEIDTMANN *et al.*, 2001; KUHAD *et al.*, 2004). Nesse contexto, uma estratégia promissora é a utilização de microrganismos com capacidade de descoloração (ROBINSON; CHANDRAN; NIGAM, 2001; LIU *et al.*, 2004).

Por ter rápido crescimento e suportar condições de baixo pH e de elevada concentração de sais, o uso de leveduras na descoloração de corantes apresenta vantagens em relação a bactérias e fungos filamentosos (QU *et al.*, 2012). Várias espécies de leveduras, como *Pichia* sp. e *Candida tropicalis*, vêm demonstrando elevada capacidade de descolorir corantes por meio de adsorção e/ou degradação (QU *et al.*, 2010; TAN *et al.*, 2013). A síntese de enzimas extracelulares é outra vantagem da aplicação de microrganismos como método alternativo na descoloração de efluentes.

Nessa perspectiva, o objetivo deste trabalho foi selecionar leveduras com potencial para descoloração do corante RBBR mediante análise dos efeitos de diferentes parâmetros, como pH, temperatura, concentração de glicose e concentração inicial do corante sobre a descoloração. Também fez parte do propósito desta pesquisa avaliar a toxicidade final do processo de degradação.

METODOLOGIA

Corante

Foi utilizado o corante antraquinônico Azul Brilhante de Remazol R (RBBR) (Sigma-Aldrich, St. Louis, EUA) como solução estoque na concentração final de 10.000 ppm, pela dissolução do pó em água destilada.

Triagem das leveduras

Foram utilizadas leveduras da micoteca do Laboratório de Bioquímica da Universidade Federal do Recôncavo da Bahia (UFRB), isoladas de moluscos coletados no município de São Francisco do Conde, na Baía de Todos os Santos, considerando o eixo longitudinal do Rio Subaé

(da nascente à foz). Os isolados foram conservados em glicerol a 20% em temperatura de -20°C. Eles foram reativados em placas de Petri contendo meio Sabouraud dextrose por 24-48 horas e incubados a 25°C. A triagem para a capacidade de descoloração em meio líquido foi realizada em frascos de Erlenmeyer de 250 mL contendo 60 mL do Meio Normal de Descoloração (MND) modificado (RAMALHO *et al.*, 2004), constituído por: extrato de levedura (0,25%), KH_2PO_4 (0,5%), $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (0,013%), $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ (0,05%), glicose (2%) e concentração final do corante de 25 ppm. Os frascos de Erlenmeyer foram inoculados com 6 mL de uma suspensão celular padronizada ($\text{D.O.}_{600} = 0,8$) das culturas e incubados a 25°C por 120 horas a 150 rpm. Realizaram-se os ensaios em triplicata, e, como controle, foi utilizado o MND acrescido do corante sem o inóculo e a cada 24 horas, alíquotas de 1 mL foram retiradas e centrifugadas por 20 minutos a 5.000 rpm. Analisaram-se as amostras em espectrofotômetro no comprimento de onda de 595 nm, e a porcentagem de descoloração foi obtida por meio da Equação 1:

$$\text{Descoloração (\%)} = (A-B)/A \times 100 \quad (1)$$

Em que:

A = absorvância do meio não inoculado; e

B = absorvância residual do meio.

Determinação do crescimento celular

O crescimento celular foi determinado por turbidimetria a 600 nm.

Descoloração em diferentes condições de cultivo

Para definir as melhores condições para a descoloração do RBBR, as variáveis escolhidas foram: pH (2 a 8), concentração inicial do corante (25, 50, 75 e 100 ppm), concentração de glicose (0,0; 0,5; 1,0; 2,0 e 3,0%) e temperatura de incubação (20 a 40°C, com intervalo de 5°C). Esses parâmetros foram avaliados separadamente pelo método de um fator por vez (*one-factor-at-a-time*), na seguinte ordem: pH, concentração de glicose, temperatura e concentração do corante, com a fixação dos valores que proporcionaram melhor eficiência na descoloração.

Todos os ensaios foram realizados em triplicata, em condições aeróbicas, com agitação de 150 rpm durante 24 horas, utilizando como controle o MND com corante sem inóculo.

Triagem da absorvância do sobrenadante em espectro de luz visível

O sobrenadante dos cultivos de cada isolado, nas condições ótimas de descoloração, foi analisado em espectrofotômetro em diferentes intervalos de tempo (24, 48, 72 e 96 horas) nos comprimentos de onda de 400 a 800 nm, com intervalo de 100 nm.

Teste de toxicidade aguda utilizando *Artemia salina*

O ensaio de toxicidade aguda foi realizado com náuplios de *Artemia salina*, de acordo com o método descrito por Matthews (1995), com algumas adaptações. Dez náuplios do microcrustáceo foram transferidos para tubos de ensaio contendo diferentes concentrações do corante e do sobrenadante (6, 12, 25, 50, 100%) após a etapa de descoloração nas condições otimizadas. Mantiveram-se os ensaios em temperatura ambiente por 24 horas, e para o controle negativo foi utilizada somente água artificial do mar. Todos os testes ocorreram em triplicata. O resultado da toxicidade aguda foi obtido por meio do cálculo da CL_{50} (média da concentração letal, em que 50% dos náuplios morrem em 24 horas de exposição), utilizando o programa Trimmed Spearman-Kärber (AN, 2006).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Triagem das leveduras

As cinco leveduras selecionadas apresentaram porcentagens de descoloração acima de 80% nas primeiras 24 horas de incubação. Os isolados SJL6 e SJ10 apresentaram descoloração de 93%, enquanto OJU2, SJU5 e SF5 exibiram porcentagens de descoloração que variaram de 82 a 86%. A eficiência de descoloração manteve-se elevada até 40 horas, embora tenha sido registrada uma pequena queda depois de 24 horas.

Descoloração do corante Azul Brillante de Remazol R em diferentes condições de cultivo

Efeito do pH

Os valores de pH onde ocorreram as maiores taxas de descoloração do RBBR concentraram-se na faixa ácida entre 3 e 5 (Figura 1A),

enquanto para o crescimento celular foi de 4 a 6 (Figura 1B). A faixa de pH de 3 a 5 está relacionada à faixa ótima de atuação das enzimas ligninolíticas, às quais é atribuída a descoloração inespecífica dos corantes para diferentes fungos (GUO *et al.*, 2008; HADIBARATA & KRISTANTI, 2012; TAN *et al.*, 2013; YAN *et al.*, 2014). O pH do meio de cultura possui importante efeito na descoloração de corantes e, de acordo com Kodam *et al.* (2005) e Garg *et al.* (2012), está relacionado com o transporte das moléculas do corante através da membrana celular e com o desempenho fisiológico ótimo das culturas microbianas. Além disso, enzimas ligninolíticas de fungos possuem atividade máxima em pH ácido e tendem a diminuir em valores extremos de pH (SARATALE *et al.*, 2011; SENTHILKUMAR; PERUMALSAMY; PRABHU, 2014). Por isso, nos ensaios de descoloração microbiana, o pH constitui um dos fatores mais importantes.

Efeito da concentração inicial de glicose

Em relação à fonte de carbono, de acordo com as Figuras 2A e 2B, todos os isolados tiveram valores elevados de descoloração e de crescimento a partir de 1% de glicose. De modo geral, células de leveduras não crescem sem glicose ou sem nenhuma outra fonte de carbono facilmente metabolizável (SOLÍS *et al.*, 2012), assim como descrito para outras espécies de leveduras, como *Debaryomyces polymorphus* e *Candida tropicalis* (YANG *et al.*, 2008). O aumento concomitante do crescimento celular e da descoloração de corantes pela suplementação de fontes de carbono é atribuído ao fato de que a maioria dos fungos, na ausência de um cossubstrato, não consegue utilizar o corante em seu metabolismo, sendo necessária uma fonte externa para que ocorra a biodegradação (PADMAVATHY *et al.*, 2003; SARIOGLU & BISGIN, 2007). Nesse contexto, Yang *et al.* (2008) demonstraram em seu trabalho com *D. polymorphus* e *C. tropicalis* que a glicose tem papel importante na degradação

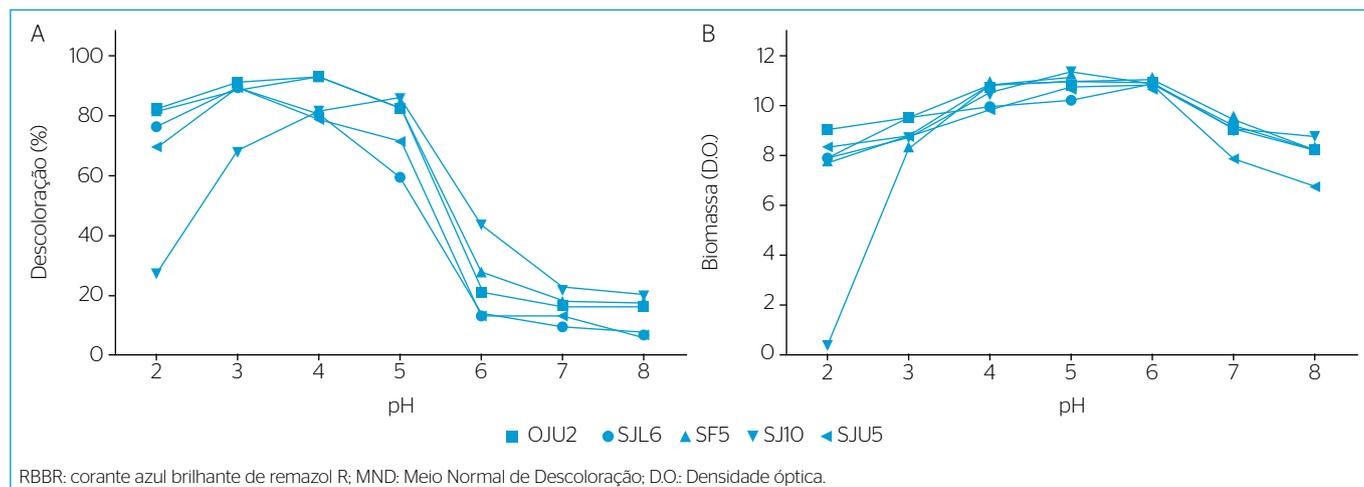


Figura 1 - Efeito do pH na descoloração do RBBR (A) e no crescimento celular (B) dos isolados na concentração de 25 ppm em meio MND com 2% de glicose a 25°C por 24 horas.

dos corantes, por atuar tanto como fonte de carbono e energia para o crescimento celular como na síntese de enzimas que atuam no processo de remoção da cor, como a manganês peroxidase (MnP) e a glicose peroxidase.

Efeito da temperatura

As melhores porcentagens de remoção da cor e de crescimento celular ocorreram na faixa de temperatura de 25 a 30°C (Figuras 3A e 3B), entretanto, de 35°C em diante, a descoloração diminuiu

consideravelmente, acompanhada pelo decréscimo acentuado da produção de biomassa.

Estudos sugerem que a relação inversamente proporcional da descoloração e do aumento da temperatura pode ser explicada pela perda da viabilidade celular ou da desnaturação das enzimas responsáveis pela descoloração (AKSU & TEZER, 2000; SARATALE et al., 2011). Resultados semelhantes foram encontrados para outras leveduras em diferentes corantes (LIU et al., 2011; JAFARI; SOUDI; KASRA-KERMANSHAHI, 2014; TAN et al., 2014).

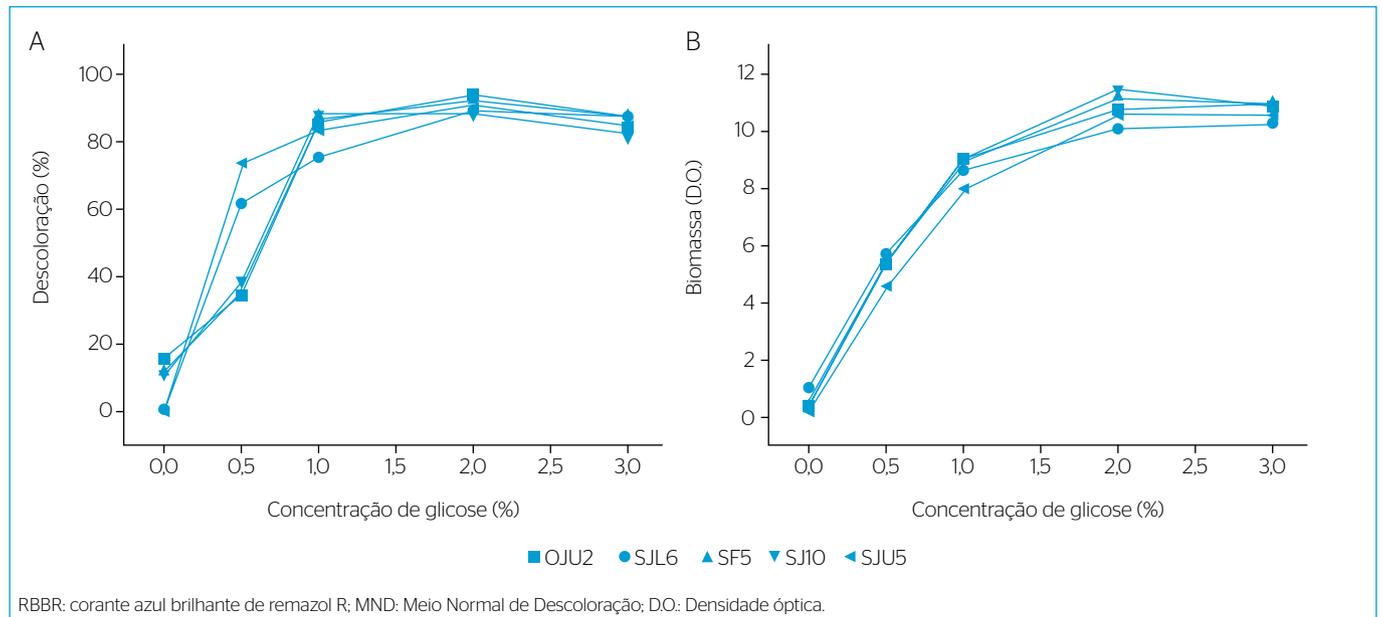


Figura 2 - Efeito da concentração de glicose na descoloração do RBBR (A) e no crescimento celular (B) dos isolados a 25 ppm em meio MND a 25°C por 24 horas.

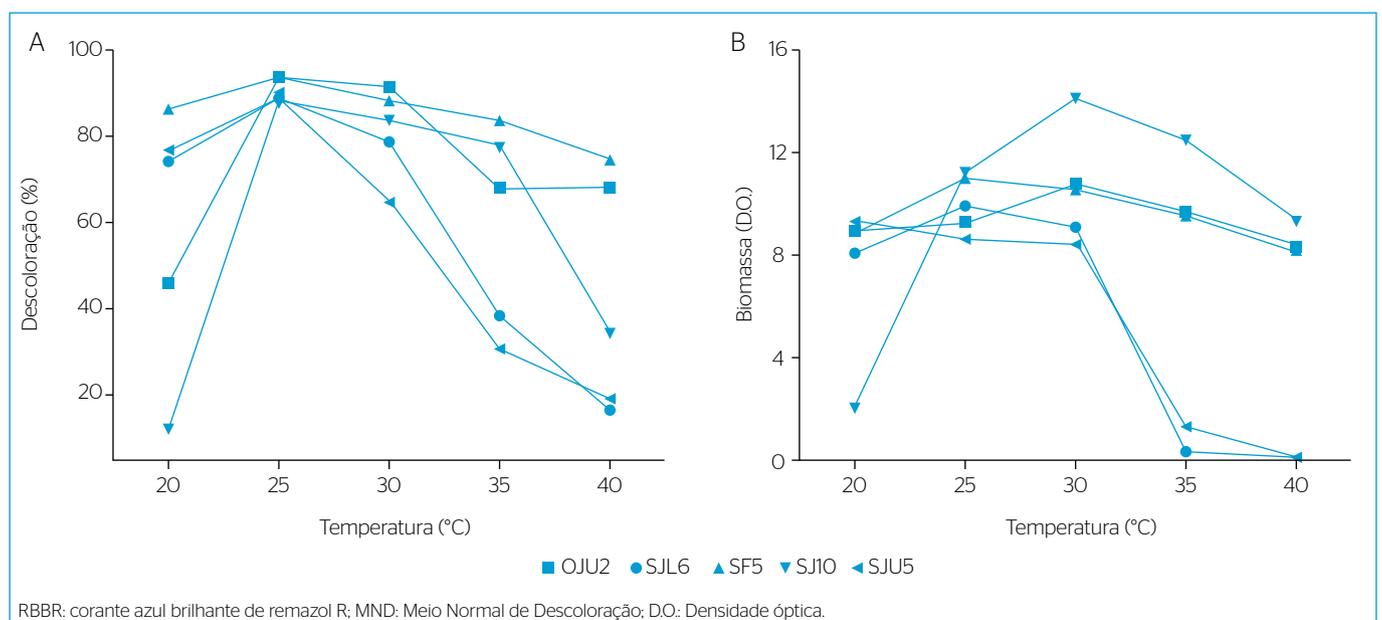


Figura 3 - Efeito da temperatura nas taxas de descoloração do corante RBBR (A) e no crescimento celular (B) dos isolados a 25 ppm em meio MND com 2% de glicose por 24 horas.

Efeito da concentração do corante

O efeito da concentração inicial do corante tem importante papel no crescimento do microrganismo e na eficiência da descoloração. Para o isolado SF5, as porcentagens de descoloração mantiveram-se acima de 70% até 75 ppm. Para os isolados OJU2 e SJL6, a eficiência de descoloração ficou acima de 85% até 50 ppm, mantendo-se acima de 70% para SJL6 até 100 ppm. O isolado SJ10 foi o que apresentou menor tolerância ao aumento da concentração do corante, com valores máximos de descoloração a 25 ppm (Figura 4A).

O comportamento do crescimento celular variou entre os isolados. Para SJU5, SF5 e OJU2, o aumento da concentração do corante elevou o crescimento celular, que foi ótimo a 75 ppm. Para os isolados SJL6 e SJ10, ao contrário, o crescimento diminuiu a partir de 25 ppm (Figura 4B). A relação inversamente proporcional entre o aumento da concentração inicial do corante e as taxas de descoloração é comumente descrita para fungos (YEMENDZHIEV; ALEXIEVA; KRASTANOV, 2009; JADHAV *et al.*, 2009; LIU *et al.*, 2011) e pode ser explicada em razão do aumento da carga orgânica do corante e da toxicidade de alguns subprodutos após a descoloração.

Estudos demonstraram que o crescimento e a descoloração, por processos de bioacumulação ou biorredução, foram consideravelmente inibidos em elevadas concentrações iniciais do corante e que, nesses casos, usualmente é necessário mais tempo de incubação para que ocorra efetiva descoloração (DÖNMEZ, 2002; AKSU, 2003). No entanto, em mecanismos de descoloração que envolvem processos enzimáticos oxidativos — que, em geral,

necessitam de curto intervalo de tempo (em torno de 24 horas) para descoloração —, o aumento da concentração do corante não mostra inibição significativa no crescimento do microrganismo (YANG *et al.*, 2005).

Ensaio de validação nas condições ótimas de cultivo

Em comparação com as condições iniciais de descoloração, a otimização do processo permitiu alcançar mais eficiência na remoção da cor em menor tempo de incubação, caindo de 24 horas, nas condições iniciais, para 18 horas, na condição otimizada (Figuras 5A e 5B). As maiores porcentagens de descoloração ocorreram a 2% de glicose, com concentração inicial do corante de 25 ppm e temperatura de 25°C para todos os isolados. No entanto, em relação ao pH, as melhores porcentagens de descoloração deram-se com pH 4,0 para OJU2 e SF5, pH 3,0 para SJL6 e SJU5 e pH 5,0 para SJ10. Esses resultados demonstram a influência da composição do meio de cultura no tempo necessário para a descoloração de corantes.

De modo geral, as leveduras apresentam taxas elevadas de descoloração em períodos de tempo mais curtos, entre 18 e 48 horas (LIU *et al.*, 2011; PAJOT *et al.*, 2011; QU *et al.*, 2012; JAFARI; SOUDI; KASRA-KERMANSHAHI, 2014), especialmente quando comparadas com fungos filamentosos, como, por exemplo, na descoloração do corante Amido Black 10B por *Phanerochaete chrysosporium*, que atingiu 98% de descoloração após três dias de incubação (SENTHILKUMAR; PERUMALSAMY; PRABHU, 2014). Contudo Miranda *et al.* (2013) relataram que foi preciso 10 dias para se obter 96% de descoloração

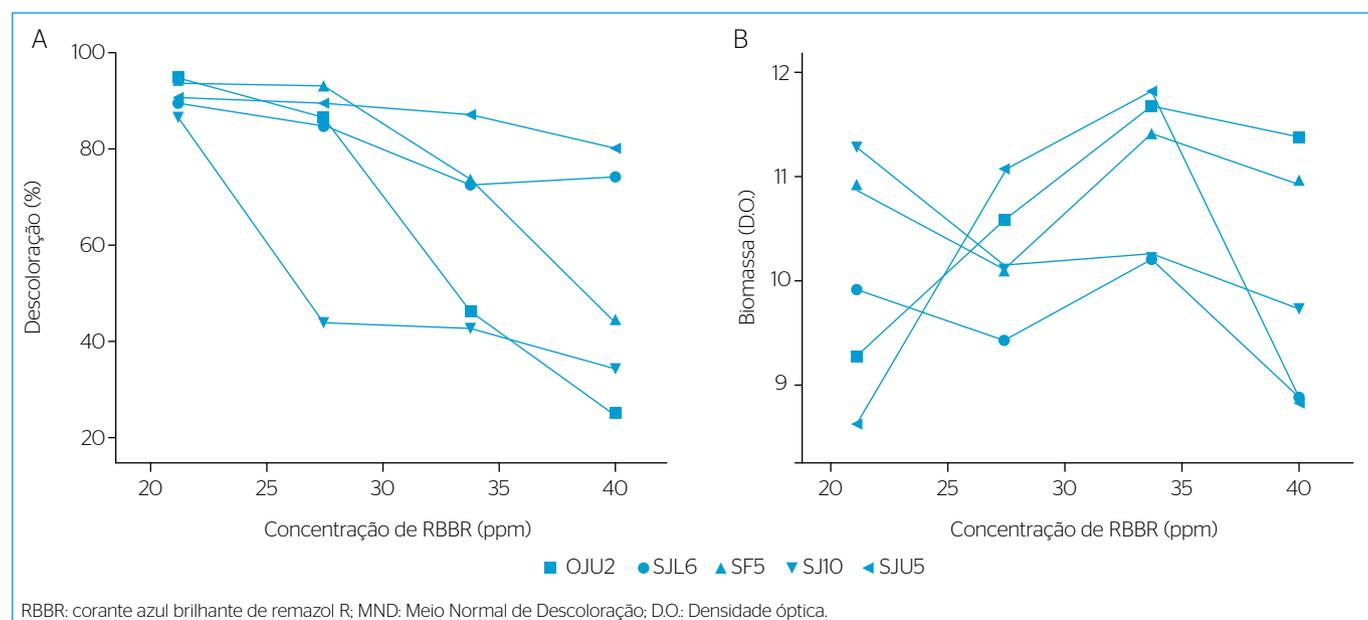


Figura 4 - Efeito da concentração inicial do corante nas taxas de descoloração do RBBR (A) e no crescimento celular (B) dos isolados a 2% de glicose, 25 °C por 24 horas.

de efluente têxtil utilizando os fungos filamentosos *Curvularia lunata* e *P. chrysosporium*.

Assim, diferentes tempos de descoloração podem ser obtidos dependendo do corante, do microrganismo e do processo envolvido na descoloração, mas, sem pormenorizar, as leveduras apresentam vantagens quanto aos fungos filamentosos, uma vez que apresentam taxa de crescimento e, conseqüentemente, de descoloração em períodos de tempo menores.

Triagem da absorbância do sobrenadante em espectro de luz visível

A análise do sobrenadante obtido após a descoloração mostrou que houve diminuição significativa do valor da absorbância quando comparado ao do corante não tratado (Figura 6).

A diminuição e a alteração nos picos de absorbância em diferentes comprimentos, associado ao fato de a biomassa não ter sofrido alteração na cor, comprovaram que aconteceu a degradação do corante (QU *et al.*, 2012; JAFARI; SOUDI; KASRAKERMANSHAHI, 2014) — um processo dependente de energia e que envolve a hidrólise da molécula por processos enzimáticos (SARATALE *et al.*, 2011).

Observou-se, também, que há um pico de absorbância em 24 horas de incubação no comprimento de onda de 450 nm, que desapareceu ou diminuiu a partir de 48 horas para todos os isolados. De acordo com Buitrón, Quezada e Moreno (2004) e Davies *et al.* (2006), a redução progressiva dos valores da absorbância tem sido relacionada com a biodegradação, e as diferenças nos picos de absorbância do corante

tratado e não tratado expressam a decomposição da molécula em vários intermediários aromáticos incolores, produzidos e acumulados durante o processo de descoloração.

Teste de toxicidade aguda com *Artemia salina*

Testes de toxicidade vêm se tornando cada vez mais importantes, pois muitas vezes, durante a degradação de moléculas, há a formação de metabólitos que possuem elevada toxicidade (GOTTILIEB *et al.*, 2003; WANG *et al.*, 2005; RIZZO, 2011).

O valor da CL_{50} obtido no presente estudo na análise do RBBR não tratado foi de 8,16%. Após o processo de descoloração, apenas os isolados SJ10 e SJU5 apresentaram diminuição da toxicidade depois de 120 horas de incubação, com CL_{50} de 19,5 e 20,8%, respectivamente. Para os demais isolados, a toxicidade elevou-se muito após a descoloração e não foi possível obter média da concentração letal.

Esses resultados mostram que para alguns microrganismos, ainda que os intermediários da degradação sejam tóxicos, é possível diminuir a toxicidade do RBBR com mais tempo de incubação, como ocorreu nos experimentos de Babu *et al.* (2015). Resultados semelhantes foram encontrados por Almeida & Corso (2014), em que, mesmo obtendo elevada taxa de descoloração do corante Vermelho de Procion MX-5B[®] pelo fungo *Aspergillus terreus*, o produto da degradação foi mais tóxico para *Artemia salina* que o corante não tratado.

Os resultados expostos demonstram a importância da realização de testes de toxicidade, visto que a ausência de cor não indica, necessariamente, a ausência de toxicidade. Além disso, a degradação

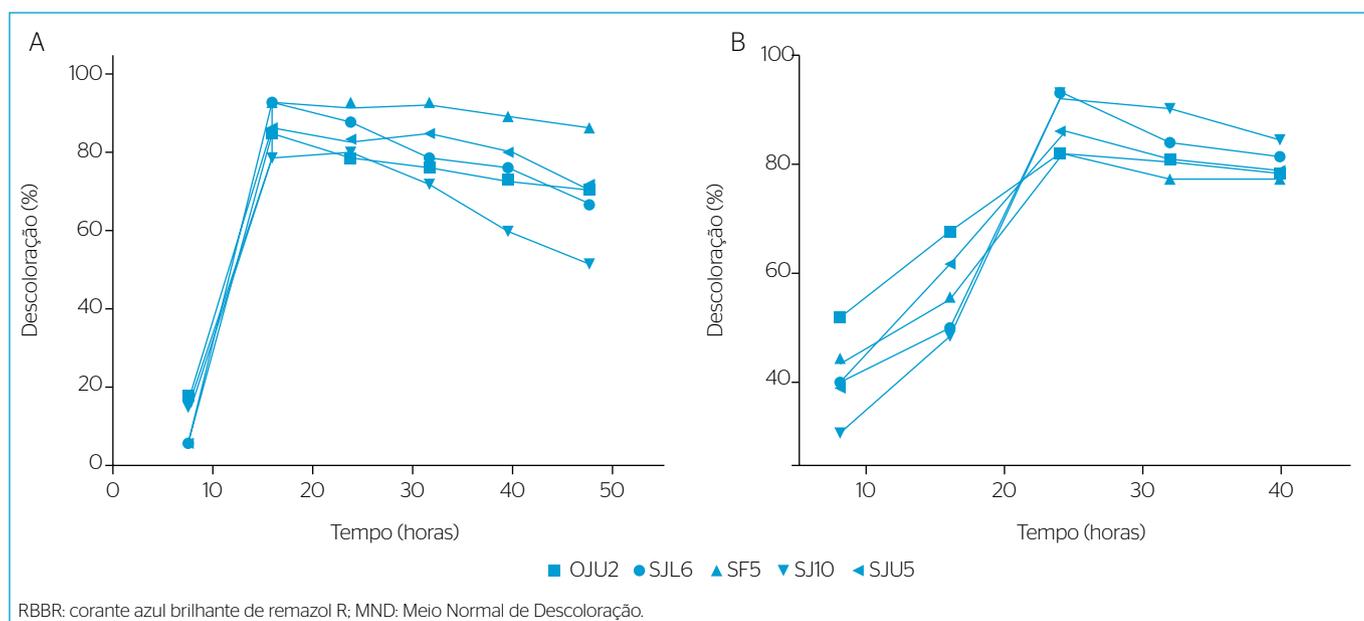


Figura 5 - Taxas de descoloração do corante RBBR na concentração de 25 ppm em meio MND nas melhores condições de cultivo (A) e nas condições iniciais de cultivo (B).

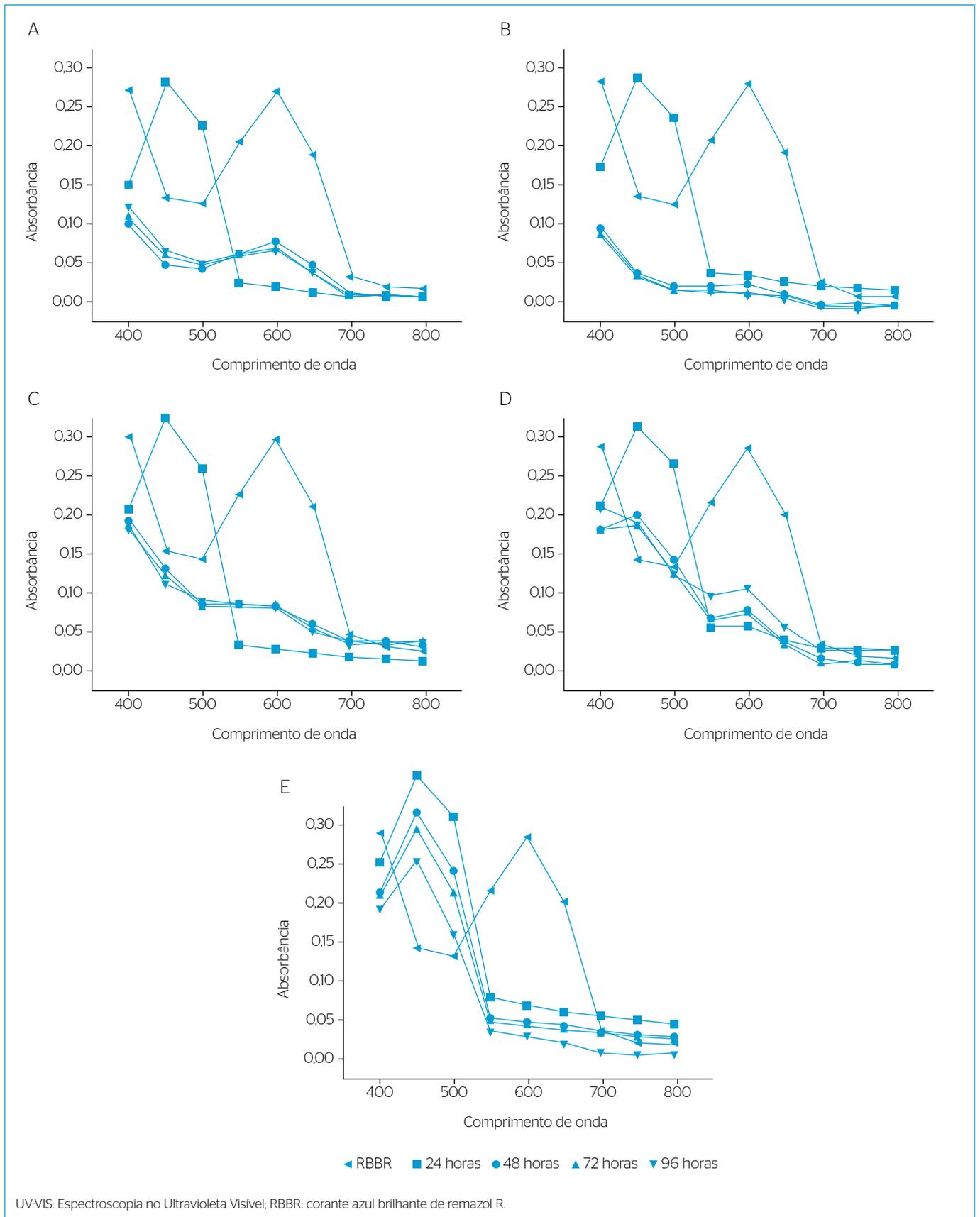


Figura 6 - Espectro UV-VIS do RBBR antes e depois da biodegradação pelos isolados OJU2 (A), SJL6 (B), SF5 (C), SJ10 (D) e SJU5 (E) por 24 , 48 , 72 e 96 horas nas condições otimizadas.

incompleta de corantes pode levar a efeitos adversos maiores em comparação ao efluente bruto descartado, por conta da formação de metabólitos altamente tóxicos durante a degradação da molécula do corante (ALMEIDA & CORSO, 2014).

CONCLUSÕES

As leveduras utilizadas no presente estudo apresentaram elevado potencial de descoloração do corante RBBR. A análise de diferentes

parâmetros abióticos demonstrou também a influência da composição do meio de cultura no tempo e na eficiência durante todo o processo de degradação, no entanto apenas o sobrenadante tratado com os isolados SJU5 e SJ10 indicaram menor toxicidade.

Assim, mais estudos devem ser realizados com o intuito de conhecer os intermediários formados e as enzimas envolvidas no processo de descoloração, bem como cocultivos com outros microrganismos, com os objetivos de aumentar o grau de degradação da molécula e diminuir sua toxicidade.

REFERÊNCIAS

- AKSU, Z. (2003) Reactive dye bioaccumulation by *Saccharomyces cerevisiae*. *Process Biochemistry*, v. 38, n. 10, p. 1437-1444.
- AKSU, Z. & TEZER, S. (2000) Equilibrium and kinetic modeling of biosorption of Remazol Black B by *Rhizopus arrhizus* in a batch system: effects of temperature. *Process Biochemistry*, v. 36, n. 5, p. 431-439.
- ALMEIDA, E.J.R. & CORSO, C.R. (2014) Comparative study of toxicity of azo dye Procion Red MX-5B following biosorption and biodegradation treatments with the fungi *Aspergillus niger* and *Aspergillus terreus*. *Chemosphere*, v. 112, p. 317-322.
- AN, Y.J. (2006) Assessment of comparative toxicities of lead and copper using plant assay. *Chemosphere*, v. 62, n. 8, p. 1359-1365.
- BABU, S.S.; MOHANDASS, C.; VIJAYARAJ, A.S.; DHALE, M.A. (2015) Detoxification and color removal of Congo Red by a novel *Dietzia* sp. (DTS26): a microcosm approach. *Ecotoxicology and environmental Safety*, v. 114, p. 52-60.
- BUITRÓN, G.; QUEZADA, M.; MORENO, G. (2004) Aerobic degradation of the azo dye Acid Red 151 in a sequencing batch biofilter. *Bioresource Technology*, v. 92, n. 2, p. 143-149.
- DAVIES, L.C.; PEDRO, I.S.; NOVAIS, J.M.; MARTINS-DIAS, S. (2006) Aerobic degradation of Acid Orange 7 in a vertical-flow constructed wetland. *Water Research*, v. 40, n. 10, p. 2055-2063.
- DOGAN, E.; YESILADA, E.; OZATA, L.; YOLOGIU, S. (2005) Genotoxic testing of four textile dyes in two crosses of *Drosophila* using wing somatic mutation and recombination test. *Drug and Chemical Toxicology*, v. 28, n. 3, p. 289-301.
- DÖNMEZ, G. (2002) Bioaccumulation of the reactive textile dyes by *Candida tropicalis* growing in molasses medium. *Enzyme and Microbial Technology*, v. 30, n. 3, p. 363-366.
- FU, Y. & VIRARAGHAVAN, T. (2001) Fungal decolorization of dye wastewaters: a review. *Bioresource Technology*, v. 79, n. 3, p. 251-262.
- GARG, S.K.; TRIPATHI, M.; SINGH, S.K.; TIWARI, J.K. (2012) Biodecolorization of textile dye effluent by *Pseudomonas putida* SKG-1 (MTCC 10510) under the conditions optimized for monoazo dye Orange II color removal in simulated minimal salt medium. *International Biodeterioration & Biodegradation*, v. 74, p. 24-35.
- GOTTILIEB, A.; SHAW, C.; SMITH, A.; WHEATLEY, A.; FORSYTHE, S. (2003) The toxicity of textile reactive azo dyes after hydrolysis and decolorization. *Journal of Biotechnology*, v. 101, n. 1, p. 49-56.
- GUO, M.; LU, F.; LIU, M.; LI, T.; PU, J.; WANG, N.; LIANG, P.; ZHANG, C. (2008) Purification of recombinant laccase from *Trametes versicolor* in *Pichia methanolica* and its use for the decolorization of anthraquinone dye. *Biotechnology Letters*, v. 30, n. 12, p. 2091-2096.
- HADIBARATA, T. & KRISTANTI, R.A. (2012) Effect of environmental factors in the decolorization of Remazol Brilliant Blue R by *Polyporus* sp. S133. *Journal of the Chilean Chemical Society*, v. 57, n. 2, p. 1095-1098.
- HEINFLING-WEIDTMANN, A.; REEMTSMA, T.; STROM, T.; SZEWCZYK, U. (2001) Sulfophthalimide as major metabolite formed from sulfonated phthalocyanine dyes by the white-rot fungus *Bjerkandera adusta*. *FEMS Microbiology Letters*, v. 203, n. 2, p. 179-183.
- JADHAV, S.U.; GHODAKE, G.S.; TELKE, A.A.; TAMBOLI, D.P.; GOVINDWAR, S.P. (2009) Degradation and detoxification of disperse dye Scarlet RR by *Galactomyces geotrichum* MTCC 1360. *Journal of Microbiology and Biotechnology*, v. 19, n. 4, p. 409-415.
- JAFARI, N.; SOUDI, M.R.; KASRA-KERMANSHAHI, R. (2014) Biodecolorization of textile azo dyes by isolated yeast from activated sludge: *Issatchenkia orientalis* JKS6. *Annals of Microbiology*, v. 64, n. 2, p. 475-482.
- JAROSZ-WILKOLAZKA, A.; KOCHMANSKA-RDEST, J.; MALARCZYK, E.; WARDAS, W.; LEONOWICZ, A. (2002) Fungi and their ability to decolorize azo and anthraquinonic dyes. *Enzyme and Microbial Technology*, v. 30, n. 4, p. 566-572.

- KODAM, K.M.; SOOJHAWAN, I.; LOKHANDE, P.D.; GAWAI, K.R. (2005) Microbial decolorization of reactive azo dyes under aerobic conditions. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, v. 21, n. 3, p. 367-370.
- KUHAD, R.C.; SOOD, N.; TRIPATHI, K.K.; SINGH, A.; WARD, O.P. (2004) Developments in microbial methods for the treatment of dye effluents. *Advances in Applied Microbiology*, v. 56, p. 185-213.
- LIU, W.; CHAO, Y.; YANG, X.; BAO, H.; QUIAN, S. (2004) Biodecolorization of azo, anthraquinonic and triphenylmethane dyes by white-rot fungi and a laccase-secreting engineered strain. *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology*, v. 31, n. 3, p. 127-132.
- LIU, X.; ZHANG, J.; JIANG, J.; LI, R.; XIE, Z.; LI, S. (2011) Biochemical degradation pathway of Reactive Blue 13 by *Candida rugopelliculosa* HXL-2. *International Biodeterioration and Biodegradation*, v. 65, n. 1, p. 135-141.
- MACHADO, K.M.G. & MATHEUS, D.R. (2006) Biodegradation of Remazol Brilliant Blue R by ligninolytic enzymatic complex produced by *Pleurotus Ostratus*. *Brazilian Journal of Microbiology*, v. 37, n. 4, p.468-473.
- MATTHEWS, R.S. (1995) *Artemia salina* as a test organism for measuring superoxide-mediated toxicity. *Free Radical Biology and Medicine*, v.18, n. 5, p. 919-922.
- MECHICHI, T; MHIRI, N.; SAYADI, S. (2006) Remazol Brilliant Blue R decolorization by the laccase from *Trametes trogii*. *Chemosphere*, v. 64, n. 6, p. 998-1005.
- MIRANDA, R.C.M.; GOMES, E.B.; PEREIRA JUNIOR, N.; MARIN-MORALES, M.A.; MACHADO, K.M.; GUSMÃO, N.B. (2013) Biotreatment of textile effluent in static bioreactor by *Curvularia lunata* URM 6179 and *Phanerochaete chrysosporium* URM 6181. *Bioresource Technology*, v. 142, p. 361-367.
- NIGAM, P.; ARMOUR, G.; BANAT, I.M.; SINGH, D.; MARCHANT, R. (2000) Physical removal of textile dyes effluents and solid-state fermentation of dye-adsorbed agricultural residues. *Bioresource Technology*, v. 72, n. 3, p. 219-226.
- OSMA, J.F.; TOCA-HERRERA, J.L.; RODRÍGUEZ-COUTO, S. (2010) Transformation pathway of Remazol Brilliant Blue R by immobilised laccase. *Bioresource Technology*, v. 101, n. 22, p. 8509-8514.
- PADMAVATHY, S.; SANDHYAN, S.; SWAMINATHAN, K.; SUBRAHMANYAM, Y.V.; CHAKRABARTI, T.; KAUL, S.N. (2003) Aerobic decolorisation of reactive azo dyes in presence of cosubstrates. *Chemical and Biochemical Engineering Quarterly*, v. 17, n. 2, p. 147-151.
- PAJOT, H.F.; DELGADO, O.D.; FIGUEROA, L.I.C.; FARIÑA, J.I. (2011) Unraveling the decolorizing ability of yeast isolates from dye-polluted and virgin environment: an ecological and taxonomical overview. *Antonie van Leeuwenhoek*, v. 99, n. 3, p. 443-456.
- QU, Y.; CAO, X.; MA, Q.; SHI, S.; TAN, L.; LI, X.; ZHOU, H.; ZHANG, X.; ZHOU, J. (2012) Aerobic decolorization and degradation of Acid Red B by a newly isolated *Pichia* sp. TCL. *Journal of Hazardous Materials*, v. 223-224, p. 31-38.
- QU, Y.; SHI, S.; MA, F.; YAN, B. (2010) Decolorization of reactive Dark Blue K-R by the synergism of fungus and bacterium using Response Surface Methodology. *Bioresource Technology*, v. 101, n. 21, p. 8016-8023.
- RAMALHO, P.A.; CARDOSO, M.H.; CAVACO-PAULO, A.; RAMALHO, M.T. (2004) Characterization of azo reduction activity in a novel ascomycete yeast strain. *Applied and Environmental Microbiology*, v. 70, n. 4, p. 2279-2288.
- RIZZO, L. (2011) Bioassays as a tool for evaluating advanced oxidation processes in water and wastewater treatment. *Water Research*, v. 45, n. 15, p. 4311-4340.
- ROBINSON, T.; CHANDRAN, B.; NIGAM, P. (2001) Studies on the production of enzymes by white-rot fungi for the decolorization of textile dyes. *Enzyme and Microbial Technology*, v. 29, n. 8, p. 575-579.
- SARATALE, R.G.; SARATALE, G.D.; CHANG, J.S.; GOVINDWAR, S.P. (2011) Bacterial decolorization and degradation of azo dyes: a review. *Journal of the Taiwan Institute of Chemical Engineers*, v. 42, n. 1, p. 138-157.
- SARIOGLU, M. & BISGIN, T. (2007) Removal of Maxilon Yellow GL in a mixed methanogenic anaerobic culture. *Dyes and Pigments*, v. 75, n. 3, p. 544-549.
- SENTHILKUMAR, S.; PERUMALSAMY, M.; PRABHU, H.J. (2014) Decolorization potential of white-rot fungus *Phanerochaete chrysosporium* on synthetic dye bath effluent containing Amido Black 10B. *Journal of Saudi Chemical Society*, v. 18, n. 6, p. 845-853.
- SOLÍS, M.; SOLÍS, A.; PÉREZ, H.I.; MANJARREZ, N.; FLORES, M. (2012) Microbial decoloration of azo dyes: a review. *Process Biochemistry*, v. 47, n. 12, p. 1723-1748.
- TAN, L.; NING, S.; ZHANG, X.; SHI, S. (2013) Aerobic decolorization and degradation of azo dyes by growing cells of a newly isolated yeast *Candida tropicalis* TL-F1. *Bioresource Technology*, v. 138, p. 307-313.
- TAN, L.; LI, H.; NING, S.; XU, B. (2014) Aerobic decolorization and degradation of azo dyes by suspended growing cells and immobilized cells of a newly isolated yeast *Magnusiomyces ingens* LH-F1. *Bioresource Technology*, v. 158, p. 321-328.
- WANG, L.; YAN, J.; HARDY, W.; MOSLEY, C.; WANG, S.; YU, H. (2005) Light-induced mutagenicity in *Salmonella* TA102 and genotoxicity/cytotoxicity in human T-cells by 3,3'-dichlorobenzidine: a chemical used in the manufacture of dyes and pigments and in tattoo inks. *Toxicology*, v. 207, n. 3, p. 411-418.

YAN, J.; CHEN, D.; YANG, E.; NIU, J.; CHEN, Y.; CHAGAN, I. (2014) Purification and characterization of a thermotolerant laccase isoform in *Trametes trogii* strain and its potential in dye decolorization. *International Biodeterioration & Biodegradation*, v. 93, p. 186-194.

YANG, Q.; YEDILER, A.; YANG, M.; KETTRUP, A. (2005). Decolourization of an azo dye, Reactive Black 5 and MnP production by yeast isolate: *Debaryomyces polymorphus*. *Biochemical Engineering Journal*, v. 24, n. 3, p. 249-253.

YANG, Q.; TAO, L.; YANG, M.; ZHANG, H. (2008) Effects of glucose on the decolorization of Reactive Black 5 by yeast isolates. *Journal of Environmental Sciences*, v. 20, n. 1, p. 105-108.

YEMENDZHIEV, H.; ALEXIEVA, Z.; KRASTANOV, A. (2009) Decolorization of synthetic dye Reactive Blue 4 by mycelial culture of white-rot fungi *Trametes versicolor* 1. *Biotechnology & Biotechnological Equipment*, v. 23, n. 3, p. 230-232.