

Remoção biológica de fenol por uso de reator contínuo com inóculo de *Aspergillus niger*

Biological removal of phenol by use of continuous reactor with *Aspergillus niger* inoculum

Zuleika Bezerra Pinheiro

Tecnóloga em Gestão Ambiental e Mestranda do Programa de Pós-Graduação em Tecnologia e Gestão Ambiental do Instituto Federal do Ceará (IFCE)

Kelly Rodrigues

Engenheira Civil. Doutora Hidráulica e Saneamento pela Escola de Engenharia de São Carlos da Universidade de São Paulo (EESC-USP). Professora da Área de Química e Meio Ambiente e do Programa de Pós-Graduação em Tecnologia Ambiental do IFCE

Carlos Ronald Pessoa-Wanderley

Engenheiro Civil, Mestre em Engenharia Ambiental e Sanitária pela Universidade Federal do Ceará (UFC). Professor do Curso de Engenharia Ambiental das Faculdades UNED de Maracanaú/IFCE

Rinaldo dos Santos Araújo

Químico Industrial. Doutor em Química Inorgânica pela UFC. Professor da Área de Química e Meio Ambiente e do Programa de Pós-Graduação em Tecnologia Ambiental do IFCE

Glória Marinho

Farmacêutica. Bioquímica. Doutora em Hidráulica e Saneamento pela EESC-USP Professora da Área de Química e Meio Ambiente e do Programa de Pós-Graduação em Tecnologia Ambiental do IFCE

Resumo

Neste trabalho, um meio aquoso contendo 250 mg/L de fenol e macro e micronutrientes foi submetido ao tratamento em reator de leito fixo e escoamento contínuo, inoculado com *Aspergillus niger*. O reator foi operado sob tempo de detenção hidráulica de oito horas, dividido em duas fases de alimentação: na presença (Fase I) e ausência (Fase II) de 0,5 g/L de glicose no meio. As remoções médias de matéria orgânica, medida em demanda química de oxigênio, e de fenol foram, respectivamente, de 92% e 99%, na Fase I, e de 77% de matéria orgânica e de fenol, na Fase II. A perda de eficiência registrada na Fase II foi atribuída à produção excessiva de biomassa e de mucilagem, bem como pela provável diminuição da atividade enzimática dos micro-organismos envolvidos no processo.

Palavras-chave: água residuária, *Aspergillus niger*, fenol, glicose, tratamento biológico.

Abstract

In this work, an aqueous mean containing 250 mg/L of phenol and macro and micro nutrients was submitted to treatment in a continuous fixed bed reactor inoculated with the *Aspergillus niger*. The reactor was operated under eight hours of hydraulic detention, divided into two feeding phases in the presence (Phase I) and absence (Phase II) of 0.5 g/L of glucose in the mean. The organic matter removal, measured in chemical demand of oxygen and phenol were of 92% and 99% in Phase I, and 77% of organic matter and phenol in Phase II. The loss of the efficiency observed in the Phase II was attributed to extreme production of biomass and mucilage inside the reactor and for the reduction of the enzymatic activity of the involved microorganisms in the process.

Keywords: wastewater, *Aspergillus niger*, phenol, glucose, biological treatment.

Introdução

A contaminação do ambiente por compostos naturais e xenobióticos, presentes em despejos industriais, tem sido observada, sobretudo, a partir do século 20, devido ao incremento das atividades do parque industrial em todo o mundo. A presença de compostos aromáticos em águas residuárias industriais dificulta o processo de tratamento, sendo que muitas dessas substâncias, como os compostos fenólicos, são de natureza persistente (VINCIGUERRA *et al.*, 1995; RODRIGUES, 2006).

Os compostos fenólicos caracterizam-se pela presença do grupo hidroxila (OH) diretamente ligado a um anel benzênico e fazem parte da composição de vários efluentes industriais, tais como, os da indústria de beneficiamento da castanha de caju, das refinarias de petróleo, das indústrias têxteis, de papel e celulose, de azeite de oliva e de fundições de metais, entre outros (RODRIGUES, 2006).

Os fenóis são compostos ácidos, bactericidas, com efeitos carcinogênicos e mutagênicos (BOLAÑOS *et al.*, 2001), cuja presença no meio ambiente pode causar sérios danos. De acordo com Prieto *et al.* (2002), estes compostos são extremamente tóxicos ao homem, tanto por ingestão como por inalação, ainda que em baixas concentrações (1 mg/L). No Brasil, o Ministério da Saúde determinou que o limite máximo de fenol, permitido em água destinada ao abastecimento público, é de 0,1 µg/L e a concentração de 0,5 mg/L de fenóis foi estabelecida como padrão para o lançamento de qualquer tipo de efluente (BRASIL, 2004).

O tratamento de águas residuárias contendo compostos fenólicos em reatores com fungos tem mostrado ser viável devido à obtenção de efluentes com menores toxicidades e diminuição das concentrações de fenóis (RODRÍGUEZ *et al.*, 1998; RODRIGUES, 2006; RODRIGUES *et al.*, 2007; ERGÜL *et al.*, 2008).

A inoculação de fungos em reatores usados no tratamento de efluentes contendo compostos aromáticos persistentes, como fenol e seus derivados, constitui uma alternativa interessante, pois esses micro-organismos produzem enzimas (*celulases*, *ligninases*, *peroxidases*, entre outras) que tornam o organopoluente mais acessível à biodegradação (RODRIGUES, 2006). Os fungos do gênero *Aspergillus*, assim como *Geotrichum*, *Phanerochaete* e outros são capazes de utilizar compostos aromáticos através da produção de enzimas catabólicas (GARCÍA *et al.*, 2000, CERETI *et al.*, 2004).

De acordo com Kyriacou *et al.* (2005), várias espécies de *Aspergillus* têm demonstrado eficiência na degradação de compostos fenólicos, especialmente a espécie *Aspergillus niger* que tem sido utilizada no tratamento de águas residuárias com compostos fenólicos por apresentar boa eficiência na remoção do composto pela ação de enzimas *fenol hidroxilase* e *catecol 1,2-dioxigenases* (SANTOS; LINARDI, 2004).

Neste trabalho, foi estudado o tratamento de água residuária sintética contendo fenol por reator inoculado com *Aspergillus niger* AN400, na presença e na ausência de fonte primária de carbono (glicose).

Material e métodos

Meio aquoso sintético

O meio foi preparado conforme descrito por Rodrigues (2006), sendo sua composição em g/L: NH_4SO_4 (2); NaNO_3 (1); KH_2PO_4 (0,20); MgSO_4 (0,25); $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (0,01); $\text{CuSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ (0,08); H_2MoO_4 (0,05); $\text{MnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ (0,05); $\text{Fe}_2(\text{SO}_4)_3$ (0,05) e ZnSO_4 (0,04). O fenol ($\text{C}_6\text{H}_5\text{OH}$) foi adicionado na concentração de 0,25 g/L. Água de abastecimento foi utilizada para o preparo das soluções aquosas e, após a adição do fenol e dos sais, o pH foi ajustado a 4,0 com uso de H_2SO_4 10% (v/v).

Inóculo

Os esporos de *Aspergillus niger* AN400 foram produzidos em placas de Petri estéreis contendo 15 mL de meio de cultura Sabouraud Dextrose, previamente esterilizado a 121°C, durante 15 minutos, e 1 mL de solução de Vishniac, como fonte de nutrientes para os fungos. As placas permaneceram a 28°C, durante cinco dias, para o crescimento dos esporos por toda sua superfície, período após o qual os mesmos foram removidos para tubos de ensaio para posterior contagem. A remoção dos esporos das placas de Petri foi realizada com uso de alça de Drigalsky e solução de Tween 80.

Para a contagem dos esporos foi preparada uma solução de esporos utilizando 50 µL de suspensão, previamente agitada em agitador tipo Vórtex, acrescido de 950 µL de solução Tween 80, resultando em diluição de 1:20. Em seguida, 20 µL da solução preparada foram transferidos para câmara de Neubauer, onde se procedeu a contagem dos esporos em microscópio óptico Bioval com aumento de 400 vezes.

Reator

O reator foi construído em tubo cilíndrico de acrílico, diâmetro externo de 100 mm, espessura das paredes de 5 mm, altura de 0,85 m e volume total de 4,45 L. A câmara de entrada da água residuária localizava-se na parte inferior e a saída do efluente, no topo do reator, conforme apresentado na Figura 1. O ar foi fornecido ao meio por mini-compressor (vazão de ar de 150 L/h e potência de 5W).

Ao longo do eixo longitudinal do reator foram colocados três contentores, constituídos de placas de PVC perfuradas, presas a uma haste de aço inoxidável, fixada, por encaixe, no fundo do reator. A função dos contentores foi a de evitar o deslocamento do meio suporte e seu consequente arraste.

O reator recebeu inóculo na forma de suspensão de 2×10^6 esporos/mL e foi mantido sob recirculação do efluente durante cinco dias, para o estabelecimento do biofilme e aclimação dos micro-organismos.

Matrizes cúbicas de poliuretano, com arestas de 1 cm e densidade aparente de 23 kg/m³, foram utilizadas como material suporte.

Na operação do reator de escoamento contínuo foi utilizada, como fonte primária de carbono, a glicose (0,5 g/L) e o mesmo foi coberto com revestimento em polietileno preto para prevenir perdas de fenol por fotodegradação (RAO; VIRARAGHAVAN, 2002).

O reator foi submetido a um tempo de detenção hidráulica de 8 h, em duas fases distintas: afluente constituído pela água residuária com fenol, acrescida de 0,5 g/L de glicose (Fase I) e afluente constituído apenas por água residuária com fenol (Fase II). As Fases I e II abrangeram, respectivamente, 67 e 83 dias.

Variáveis analisadas

Para acompanhamento do processo foram realizadas análises de demanda química de oxigênio (DQO), potencial hidrogeniônico (pH) e oxigênio dissolvido (OD), segundo com APHA (1998) e fenol, de acordo com Bolaños (2001), por cromatografia gasosa usando um GC Perkin Elmer Clarus 500; coluna capilar de 30 m x 0,25 µm com fase estacionária cianopropil, temperatura do injetor de 250°C; temperatura do detector de ionização por chama (FID) de 200°C e fluxo de gás de arraste (N₂) de 1,5 mL/min. Para esta determinação foram adicionados a 2 mL da amostra: 0,5 g de NaCl, 50 µL de solução de 2-clorofenol (padrão interno), 0,5 mL de solução de H₂SO₄ (1 M) e 1,0 mL de éter etílico. A mistura obtida foi agitada durante um minuto em vórtex e a fase etérea foi separada para injeção.

A quantificação do fenol foi feita padrão interno para uma faixa de concentração entre 0 e 0,25 mg/L. O limite de detecção encontrado foi de 0,25 mg/L e a recuperação estimada de fenol variou entre 87 e 105%.

As análises de nitrogênio amoniacal e de nitrato foram esporadicamente realizadas apenas quando da caracterização da água residuária, sendo as mesmas executadas de acordo com APHA (1998).

No final do experimento, a biomassa por grama de espuma de poliuretano foi quantificada, a partir de análise de sólidos totais voláteis (STV), promovendo-se o desprendimento do biofilme por uso de agitação manual, com auxílio de pérolas de vidro. Amostras do biofilme foram submetidas a exames de microscopia óptica de contraste de fases, em microscópio eletrônico.

A obtenção dos valores da relação carbono/nitrogênio (C/N) foi realizada por estequiometria a partir da fórmula molecular das substâncias que compuseram o meio sintético utilizado, conforme Rodrigues (2006).

Capacidade de adsorção do fenol no material suporte

A massa de fenol adsorvida na espuma de poliuretano foi estimada em ensaio realizado antes da adição do inóculo no reator. Experimentalmente, foram utilizados 500 mg/L de fenol em água de torneira, como água de alimentação do reator, medindo-se a concentração de fenol no efluente ao longo de 60 minutos, em intervalos de

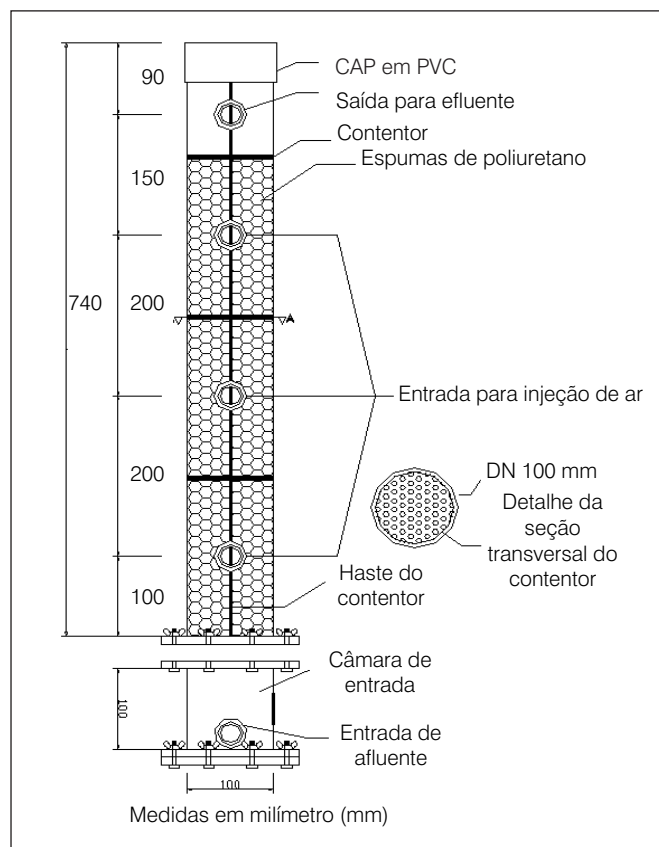


Figura 1 – Detalhes do reator com leito fixo e escoamento ascendente com meio suporte de espuma de poliuretano e contedores

10 minutos. Durante o ensaio, o reator foi operado com TDH de 2 horas e vazão de 1,20 L/h. Os dados obtidos no ensaio foram empregados na Equação 1, a qual forneceu a massa de fenol adsorvido na espuma adsorvente.

$$m = \Sigma [Q (C_o - C_e)] \times \Delta t \quad \text{Equação 1}$$

Onde:

m: massa de fenol adsorvida no suporte de poliuretano;

Q: vazão do afluente no reator (L/h);

C_o: concentração de fenol no afluente (mg/L);

C_e: concentração de fenol no efluente (mg/L);

Δt: intervalo de tempo reacional (h).

Resultados e discussões

Na Fase I, a remoção média de matéria orgânica solúvel foi de 92%, sendo que as maiores remoções foram em torno de 98%, ocorreram no 53º e 56º dias de operação, conforme a Figura 2, onde são mostradas as remoções de matéria orgânica, medidas em DQO, alcançadas tanto na Fase I (com glicose) quanto na Fase II (sem glicose).

É importante mencionar que a eficiência de remoção de matéria orgânica solúvel apresentou valores superiores a 80%, na maior parte

da operação do reator, com as menores remoções observadas no início da operação.

De acordo com Rodrigues (1999), eficiências menores podem ser apresentadas na partida (*start*) do reator, devido ao estágio inicial de formação do biofilme e da adaptação dos microrganismos ao meio (fase *lag*). Em tempo, a eficiência de remoção de matéria orgânica aumentou progressivamente ao longo da Fase I, indicando a boa adaptação dos fungos que colonizaram prontamente a superfície do material suporte.

Na Fase II, a perda de eficiência média de remoção de DQO (77%), em relação à fase anterior, pode ter ocorrido, possivelmente, pela colmatação do leito, acarretada tanto pela provável produção excessiva de biomassa quanto de material mucilagenoso. A mucilagem é geralmente composta de polissacarídeos extracelulares, proteínas e glicoproteínas, com propriedades adesivas, que ajudam na fixação ao suporte e tem a função de proteger os micro-organismos do efeito tóxico de poluentes (COSTA *et al.*, 2004).

O mucilágeno produzido por fungos pode conter enzimas, como *esterases*, *invertases* e *peroxidases*, entre outras (GRIFFIN, 1994). Contudo, é importante mencionar que a própria diminuição da atividade enzimática dos micro-organismos também teria contribuído para os menores percentuais de eficiência registrados na Fase II, pois provavelmente a produção de enzimas catabólicas teria sido prejudicada devido ao comprometimento do transporte de nutrientes para o biofilme.

Além disso, a idade do biofilme também exerce influência sobre a produção de enzimas. De acordo com Blanquez *et al.* (2006), células mais antigas têm sua morfologia alterada ao longo do tempo e tendem a apresentar diminuição da atividade enzimática e, consequentemente, na diminuição da eficiência do processo.

Outro aspecto interessante de se observar é sobre a relação C/N, uma vez que a mesma tem relação com o controle do crescimento do biofilme e, assim, contribui para o sucesso do processo de tratamento de águas residuárias (LOPÉZ *et al.*, 2006).

No presente estudo, foram utilizadas relações de C/N igual a 1,0 – para a água residuária contendo fenol e glicose (Fase I) – e de 0,5 – para água residuária contendo apenas fenol (Fase II). Curiosamente, os melhores resultados foram alcançados para relação C/N = 1. Na Fase II, quando a concentração de carbono no afluente ao reator foi equivalente à metade da concentração de nitrogênio (C/N = 0,5), pela retirada da glicose da alimentação, a colmatação do leito foi quantitativa e houve a perda de eficiência no sistema (Figura 2), sendo que o mesmo somente se apresentou mais estável no final desta fase.

De acordo com Carlile e Watkinson (1994), uma relação C/N elevada (50:1) conduzirá à produção de polissacarídeos extracelulares, álcoois e lipídios. Em contrapartida, valores de C/N abaixo de 10:1 favorecem a produção de alto conteúdo protéico. Porém, os mecanismos da produção de polissacarídeos pelos fungos ainda não foram totalmente elucidados e a quantidade e a composição destas substâncias são influenciadas pelo pH, concentração de oxigênio dissolvido, fonte e concentração de nitrogênio, entre outros fatores (ZHENG *et al.*, 2008).

A concentração de nitrogênio no meio, aparentemente, possui controle sobre a produção de polissacarídeos. Youssef *et al.* (1999) relataram que em meios com elevada concentração de NH_4^+ , o metabolismo fúngico produz maior quantidade de biomassa em relação ao de polissacarídeos extracelulares. Além disso, a produção de polissacarídeos extracelulares diminui na presença de melanina, em meios com baixa relação C/N e ricos em nitrato (ZHENG *et al.*, 2008).

A melanina é um polímero multifuncional, de peso molecular elevado, encontrado em várias espécies de fungos e bactérias e que é formado a partir da polimerização oxidativa de compostos fenólicos, sob a ação das enzimas fenol oxidases, em meios contendo nitrato como fonte de nitrogênio (LANGFELDER *et al.*, 2003).

Nesta pesquisa, a água residuária possuía concentração elevada, tanto de nitrato como de NH_4^+ , respectivamente, de 160 mg/L e 300 mg/L. Nos últimos 15 dias de operação do reator, o biofilme formado apresentou coloração acentuada, variando de preto ao marrom escuro, sendo uma evidência da degradação do fenol. Contudo a pesar do *Aspergillus niger* ter reconhecida capacidade de sintetizar melanina (PRENAFETA BOLDÚ, 2002), a mesma pode também ser produzida por outros micro-organismos, devendo-se levar em consideração no processo o envolvimento de bactérias e leveduras que contaminaram o meio, conforme foi constatado nas análises por microscopia realizadas no final do experimento.

Fato semelhante foi observado por Rodrigues (2006) que também avaliou a remoção de fenol por *Aspergillus niger*, na ausência de substrato primário, em reatores de escoamento contínuo. Os reatores, operados sob TDH de 6 horas, apresentaram percentuais médios de remoção de 72% (reator com manta de poliamida como suporte) e 78% (reator com espuma de poliuretano como suporte), ambos inferiores aos registrados nesta investigação.

Desta forma, a produção de melanina poderia ser uma hipótese para explicar a melhora da eficiência no final da Fase II (C/N = 0,5), sendo importante mencionar que a ocorrência de sua produção apenas no final da Fase II pode ter decorrido de alterações metabólicas, tendo como resultado maior concentração de nitrato no meio, embora não se possa afirmar devido ao fato de não terem sido efetuadas análises de nitrato e amônia no efluente do reator.

Na Fase I, paralelamente à remoção de DQO, o fenol foi removido do meio (Figura 3), com eficiência média elevada, de 99%. Na Fase II a remoção média de fenol foi somente de 77%. Adicionalmente, verificou-se que, no 107º, 112º e 120º dias de operação, a concentração de fenol no efluente do reator apresentou valores elevados, com variações de 170 a 200 mg/L, coincidindo com as maiores concentrações de matéria orgânica registradas no efluente no mesmo período, entre 334 e 430 mg/L.

Durante quase toda a Fase I, a concentração de fenol medido no efluente permaneceu abaixo de 0,5 mg/L, limite máximo determinado pela Resolução CONAMA no. 357, de 17 de março de 2005, para o lançamento de águas residuárias em corpos receptores (BRASIL, 2005), exceto nos 9º (5 mg/L) e 67º (7 mg/L) dias de operação.

Ao longo dos 150 dias de operação do sistema (Fases I e II), segundo a Equação 1, foi removida massa de fenol estimada em 279 g, resultando em uma remoção de 4 g de fenol por grama de espuma. O ensaio de adsorção realizado mostrou que a capacidade de adsorção da espuma de poliuretano foi de 0,22 g de fenol por grama de espuma de poliuretano, indicando que a via predominante para remoção do fenol do meio aquoso sintético ocorreu por assimilação biológica.

Com relação ao pH, apesar do ajuste inicial do afluente (pH = 4,0), condição mais propícia para o desenvolvimento do *Aspergillus niger* (GRIFFIN, 1994) e preferível para inibição de bactérias, o efluente apresentou-se ácido somente até o 12º dia de operação, período a partir do qual assumindo verificou-se valores de pH entre 7 e 8, os quais persistiram até o final da Fase I (Figura 4). Este fato provavelmente está relacionado às interações metabólicas entre o *Aspergillus niger* e os micro-organismos contaminantes.

Na Fase II, quando houve interrupção na alimentação de glicose e a conseqüente diminuição da relação C/N, foi observado efeito negativo sobre o consumo de fenol pelos micro-organismos, porém os resultados obtidos não permitem afirmar que, nesta fase, as menores remoções de fenol e de matéria orgânica tenham sido influenciadas pela menor valor da relação C/N.

Foram registrados aumentos da concentração de fenol no afluente do reator, nos 107º, 112º e 120º dias. Assim, é possível que tenha ocorrido maior concentração de ácido mucônico no meio, como resultado da degradação biológica do fenol (VAN SCHIE; YOUNG, 2000), o que se refletiu nos valores de pH obtidos, os quais foram mais baixos na Fase II de alimentação, variando de 4,8 a 7,4.

Ainda na Fase II, melhores resultados foram obtidos com a desobstrução do leito do reator pela retirada do excesso de biomassa, sempre após a obtenção das menores eficiências 12% (117º dia), 26% (112º dia) e 19% (120º dia).

As análises por microscopia revelaram a presença de leveduras, *Alternaria* sp. e de bactérias que também teriam participado do processo, porém *Aspergillus niger* foi a espécie dominante.

Conclusões

O tratamento da água residuária pelo uso de reator de escoamento contínuo, inoculado com *Aspergillus niger* AN400, resultou em excelentes remoções de matéria orgânica e de fenol. Durante a operação do reator, sob o tempo de detenção de 8 horas, na Fase I, com adição de glicose (0,5 g/L) no afluente, tendo-se alcançado eficiências médias de remoção de matéria orgânica de 92% e de fenol de 99%.

A elevação do pH, provavelmente, foi influenciada pela existência de outros micro-organismos, conforme revelado nos exames microscópicos, como reflexo de interações metabólicas entre as espécies presentes no meio, as quais também participaram do processo de tratamento.

Fatores como produção excessiva de biomassa e de material mucilagenoso e a possível diminuição da atividade enzimática podem

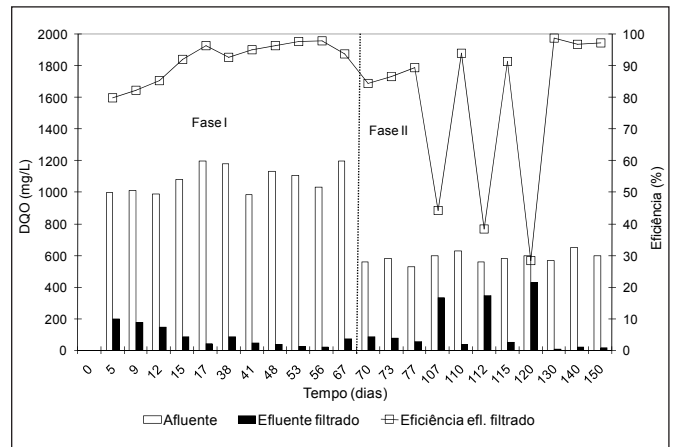


Figura 2 – Variações das concentrações de matéria orgânica, medida em DQO, no afluente e efluente do reator de escoamento contínuo, operado com TDH de 8 horas, com (Fase I) e sem glicose (Fase II)

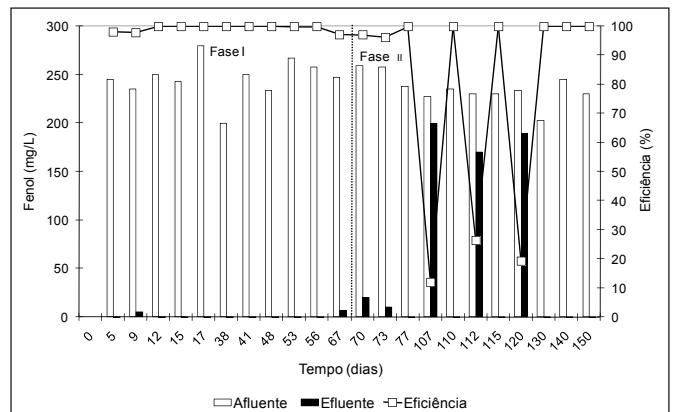


Figura 3 – Variações das concentrações de fenol no afluente e efluente do reator de escoamento contínuo, operado com TDH de 8 horas, com (Fase I) e sem glicose (Fase II)

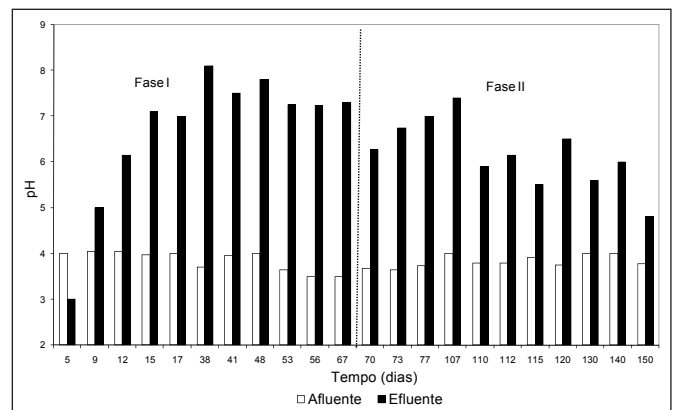


Figura 4 – Variações do pH no afluente e efluente do reator de escoamento contínuo, operado com TDH de 8 h, com (Fase I) e sem glicose (Fase II)

ter contribuído para a perda da eficiência do processo, evidenciada na Fase II. Em relação à relação C/N, os dados obtidos não foram suficientes para afirmar que a mesma tenha influenciado o processo, devendo-se proceder a estudos mais aprofundados para constatação de sua relação com o controle do crescimento de biomassa.

A concentração de fenol no efluente sintético, durante a maior parte do experimento, ficou abaixo da máxima recomendada pela legislação brasileira (BRASIL, 2005), indicando a viabilidade do uso do reator inoculado com fungos para o tratamento da água residuária contendo fenol.

Agradecimentos

Ao CNPq pela concessão de bolsa de iniciação científica e ao Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia pelo suporte financeiro.

Referências

- APHA. *Standard methods for the examination of water and wastewater*. 20th ed. Washington: American Public Assossication, 1998.
- BLANQUEZ, P.; SARRA, M.; VICENT, M.T. *Study o the cellular retention time and the partial biomass renovation in a fungal decolourisation continuous process*. *Water Research*, vol. 40, p. 1650-1656, 2006.
- BOLAÑOS, M.L.R. *et al.* Phenol degradation in horizontal-flow anaerobic immobilized biomass (haib) reactor under mesophilic conditions. *Water Science and Technology*, v. 44, n. 4, p. 167-174, 2001.
- BRASIL. Portaria n. 518 de 25 de março de 2004. Brasília, DF: Ministério da Saúde, 2004.
- BRASIL. Conselho Nacional Do Meio Ambiente (CONAMA). Resolução n. 357 de 17 de março de 2005, *Classificação das águas doces, salobras e salinas do Território Nacional*. Diário Oficial da União, Brasília Seção 1, p. 58-63, 2005.
- CARLILE, M.J.; WATKINSON, S.C. *The Fungi*. San Diego: Academic Press – Harcourt Brace & Company, 1994.
- COSTA, J.M.; CORBELLINI, V.A.; SCROFERNEKER, M.L. Study of different nitrogens sources on glucose uptake and production of melanin precursors and fungal mass of *Fonsecaea pedrosoi* cultered in tricyclazole. *Process Biochemistry*. v. 39, p. 633-636, 2004.
- CERETI, C.F. *et al.* Reuse of microbially trated olive mill wastewater as fertiliser for wheat (*Triticum durum* Desf.). *Bioresource Technology*, v. 91, n. 2, p. 135-140, 2004.
- ERGÜL, F.E. *et al.* Dephenolisation of olive mill wastewater using adapted *Trametes versicolor*. *International Biodeteriorization & Biodegradation*, doi:10.1016/j.ibiod.2008.01.018, 2008.
- GONZÁLES, G. *et al.* Biodegradation of phenol in a continuous process: comparative study of stirred tank and fluidized-bed bioreactors. *Bioresource Technology*, v. 76, n. 3, p. 245-251, 2001.
- GRIFFIN, D.H. *Fungal Physiology*. New York: Wiley-Liss, 1994.
- KYRIACOU, A. *et al.* Combined bioremediation and advanced oxidation of green table olive processing wastewater. *Process Biochemistry*, v. 40, p. 1401-1408, 2005.
- LANGFELDER, K. *et al.* Biosynthesis of fungal melanins and their importance for human pathogenic fungi. *Fungal Genetics and Biology*, v. 38, p. 143-158, 2003.
- LOPEZ, M.J. *et al.* Biodelignification and humification of horticultural plant residues by fungi. *International Biodeterioration & Biodegradation*, v. 56, p. 24-30, 2006.
- PIETRO, M.B. *et al.* Degradation of phenol by *Rhodococcus erythropolis* UPV-1 immobilized on biolite® in a packed-bed reactor. *Journal of Biotechnology*. v. 97, p. 1-11, 2002.
- PRENAFETA BOLDU, F.X. *Growth of fungi on volatile aromatic hydrocarbons: environmental technology perspectives*. Thesis (Wageningen University). Wageningen, 2002.
- RODRIGUES, K.A. Tratamento biológico de água residuária sintética de laticínios por decomposição fúngica. 113f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Civil, área de concentração em Saneamento Ambiental) – Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 1999.
- RODRIGUES, K.A. *Uso de reatores biológicos com fungos para remoção de fenol de água residuária sintética*. 130f. Tese (Doutorado em Hidráulica e Saneamento) – Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2006.
- RODRIGUES, K.A. *et al.* Influência da glicose sobre o consumo de fenol por *Aspergillus niger* an 400 em reatores em batelada. *Revista Engenharia Sanitária*, v. 12, n. 2, p. 222-228, 2007.
- RAO, J.R.; VIRARAGHAVAN, T. Biosorption of phenol from an aqueous solution by *Aspergillus niger* biomass. *Bioresource Technology*, v. 85, p. 165-171, 2002.
- SANTOS, V.L.; LINARDI, V.R. Biodegradation of phenol by a filamentous fungi isolated from industrial effluents – identification and degradation potential. *Process Biochemistry*, v. 39, n. 12, p. 1001-1006, 2004.
- VAN SCHIE, P.M.; YOUNG, L.Y. Biodegradation of phenol: mechanisms and applications. *Bioremediation Journal*, v. 4, n. 1, p. 1-18, 2000.
- VINCIGUERRA, V. *et al.* Correlated effects during the bioconversion of waste olive waters by *Lentinus edodes*. *Bioresource Technology*, v. 51, n. 2, p. 221-276, 1995.
- YOUSSEF, F.; ROUKAS, T.; BILIADERIS, C.G. Pullulan production by a non-pigmented strain of *Aureobasidium pullulans* using batch and fed-batch culture. *Process Biochemistry*, v. 34, p. 355-366, 1999.
- ZHENG, W. *et al.* Effects of melanin on the accumulation of exopolysaccharides by *Aureobasidium pullulans* grown o nitrate. *Bioresource Tecnology*, v. 99, p. 7480-7486, 2008.