

BIODEGRADAÇÃO DE UMA MISTURA DE CORANTES TÊXTEIS USANDO O FUNGO *Ganoderma* sp: UM ESTUDO CINÉTICO

Wagner José Barreto*, Nathalia D'Elboux Bernardino e Renata Afonso

Departamento de Química, Centro de Ciências Exatas, Universidade Estadual de Londrina, CP 6001, 86051-980 Londrina – PR, Brasil

Suely Mayumi Obara Doi

Departamento de Bioquímica e Biotecnologia, Centro de Ciências Exatas, Universidade Estadual de Londrina, CP 6001, 86051-980 Londrina – PR, Brasil

Recebido em 25/3/10; aceito em 10/11/10; publicado na web em 18/2/11

BIODEGRADATION OF DYES IN TEXTILE WASTEWATER BY FUNGUS *Ganoderma* sp: A KINETIC STUDY. The kinetics of biodegradation by the fungus *Ganoderma* sp of textile dyes Yellow, Blue and Red Procion were studied in effluents using UV-Vis spectroscopy, Partial Least Squares Regression (PLS) and univariate analysis. The kinetic of the reactions were founded intermediate between first and second orders and the rate constants were calculated. The biodegradation after 72 h at 28 °C were 33.6, 43.5 and 57.7% for the dyes Yellow, Blue and Red Procion, respectively. The quantitative analysis of the effluent by HPLC method can not be used without previous separation.

Keywords: dyes; PLS; *Ganoderma* sp.

INTRODUÇÃO

Nas últimas décadas, os problemas ambientais têm se tornado cada vez mais críticos e frequentes, devido ao crescimento populacional e ao aumento da atividade industrial. A contaminação dos corpos de água e o conseqüente comprometimento destes têm levado à realização de estudos com o intuito de desenvolver tecnologias capazes de minimizar o volume e a toxicidade dos efluentes industriais.

Uma grande quantidade de corantes é liberada no processamento têxtil como efluente, devido à fixação incompleta dos corantes às fibras, e muitos estudos têm mostrado que algumas classes desses corantes, principalmente azocorantes, e seus subprodutos, podem ser tóxicos, carcinogênicos e/ou mutagênicos.¹ Cerca de 60% dos corantes utilizados em indústrias têxteis são corantes azos, que se caracterizam pela função -N=N- ligado a grupos aromáticos.²

Esses corantes são particularmente problemáticos porque apresentam pouca fixação na fibra e, dessa forma, aproximadamente 10 a 20% do total de corantes usados no processo de tingimento são descartados como efluentes.³ O tratamento de efluentes têxteis contendo corantes é difícil e ineficiente se forem utilizados os processos convencionais porque os corantes apresentam estruturas complexas, de natureza sintética, além de serem estáveis à luz e temperatura.^{4,5} Há basicamente três tipos de tratamento utilizados para os efluentes têxteis: físicos, químicos e biológicos.⁶ Os métodos físicos incluem diferentes métodos de precipitação, incluindo coagulação, floculação e decantação,⁷ adsorção em carvão ativado⁸ e bioadsorção.^{9,10} Os métodos químicos mais comuns são os processos oxidativos, que incluem os reagentes de Fenton, e os fotoquímicos na presença de H₂O₂ ou TiO₂,⁷ e os que ocorrem a partir da clivagem do anel aromático da molécula do corante.¹⁰ Os tratamentos biológicos podem ser classificados, segundo a presença do oxigênio no processo, em aeróbicos ou anaeróbicos^{5,11} e apresentam grande potencial, pois não têm custo elevado de operação.¹² Nos processos biológicos podem

ser empregados diferentes micro-organismos, incluindo bactérias e fungos, pois eles são fáceis de manipular, têm velocidade de crescimento rápida e alta capacidade de adaptação.¹³

Dentre os processos que usam fungos destacam-se os chamados fungos de podridão branca que é um grupo heterogêneo de organismos capazes de degradar a lignina presente em vegetais, bem como outros compostos recalcitrantes, pois produzem enzimas lignolíticas.^{4,7,14} O mecanismo de descoloração de corantes por fungos da podridão branca é complexo e envolve as enzimas lignina peroxidases (LiPs), as manganês peroxidases (MnPs)¹⁵ e as lacases¹⁶ que são proteínas que agem como catalisadores biológicos e diminuem a energia de ativação das reações. Os fungos, no entanto, diferem entre si na capacidade de degradar os corantes devido às diferenças qualitativas e quantitativas de produção dessas enzimas.¹⁷

Torna-se importante, portanto, estudar a cinética desses processos de degradação microbiológicos que envolvem para sua efetivação o conhecimento das concentrações de cada corante em função do tempo. Essa é uma tarefa difícil devido à complexidade do sistema em que ocorrem as reações. Um dos mais importantes problemas na química analítica é a estimativa do número e concentração das espécies em misturas através de espectros ou cromatogramas.^{18,19} Diferentes métodos têm sido usados para determinação de misturas de corantes em diferentes matrizes. Com exceção da espectrofotometria UV-Vis, estes métodos necessitam de instrumentos sofisticados e, conseqüentemente, possuem um custo operacional elevado.

A determinação espectrofotométrica de misturas de corantes orgânicos é um problema muito complexo devido às interferências espectrais que resultam em bandas de absorção amplamente sobrepostas. Para este tipo de determinação, o método convencional de calibração univariada é inviável e usa-se então a calibração multivariada. Uma das vantagens da análise de multicomponentes usando calibração multivariada é a velocidade na determinação de componentes na mistura, evitando a separação preliminar.²⁰ Existem vários métodos estatísticos utilizados nos processos de calibração para analisar espectros de misturas: regressão por mínimos quadrados

*e-mail: barreto@uel.br

clássicos (CLS), regressão linear múltipla (MLR), regressão pelo inverso dos mínimos quadrados (ILS), regressão nas componentes principais (PCR) e regressão por mínimos quadrados parciais (PLS).

No método PLS primeiro é desenvolvido um modelo de calibração e depois o modelo é aplicado aos dados da mistura para calcular as concentrações individualmente.²¹ Um ponto importante no método PLS é o *design* completo das amostras de calibração (matriz de calibração) que compreende todas as possíveis interferências que influenciam nos espectros das amostras de predição. Isso inclui as interações entre os componentes a serem determinados e a influência de substâncias presentes nos espectros do analito.²²

O objetivo deste trabalho foi estudar a cinética de degradação microbiológica dos corantes têxteis Amarelo Procion, Azul Procion e Vermelho Procion pelo fungo *Ganoderma* sp contidos em um efluente, aplicando a espectrofotometria UV-Vis, a regressão por mínimos quadrados parciais (PLS) e a calibração univariada.

PARTE EXPERIMENTAL

Material

Os corantes e reagentes industriais utilizados são comerciais e foram cedidos por indústrias têxteis. Utilizaram-se os corantes reativos: Amarelo Procion HE4R 100% (CI: *Reactive Yellow* 84), Azul Procion HEGN 125% (CI: *Reactive Blue* 198) e Vermelho Procion HE7B (CI: *Reactive Red* 141). Os reagentes e soluções empregados para o preparo do meio de cultivo apresentaram grau analítico e os reagentes usados como fase móvel, na análise cromatográfica, com grau HPLC.

Todas as soluções foram preparadas com água destilada e as soluções para análise cromatográfica foram preparadas com água ultrapura (Millipore Plus). O micro-organismo utilizado foi o fungo filamentos, da classe dos basidiomicetos *Ganoderma* sp isolado pela Profa. Dra. S. M. O. Doi, do Departamento de Bioquímica e Biotecnologia da UEL. Esse fungo foi transferido do meio de manutenção em ABD (agar-batata-dextrose) a 4 °C para uma placa Petri com ABD mantida em estufa a 28 ± 2 °C durante 10 dias.

Planejamento experimental

As proporções das misturas dos corantes para a obtenção da curva de calibração foram determinadas seguindo um planejamento experimental do tipo centroide-simplex triangular, no qual os vértices correspondem às soluções de corantes puros, as arestas às misturas binárias de mesma proporção e o ponto central à uma mistura ternária de mesma proporção. Misturas ternárias axiais foram incluídas no planejamento, totalizando 10 composições diferentes de misturas das soluções dos corantes. Nessas preparações foram usados os mesmos reagentes e seguiu-se o mesmo procedimento que as indústrias de tingimento têxtil normalmente usam, tornando os dados cinéticos obtidos mais próximos dos efluentes reais.

Preparo da curva de calibração

Em balão volumétrico de 100 mL foram preparadas três soluções estoque (1000 mg L⁻¹) para cada corante. As misturas para construir o conjunto de calibração foram preparadas em 100 mL de água destilada, adicionando-se 6 gotas de Quimerol 535, soluções estoque dos corantes seguindo as proporções em volumes conforme o planejamento experimental, acrescidas de 3 g de sal refinado (NaCl) e 1 g de barrilha leve (Na₂CO₃). Em seguida, 23,25 mL dessas misturas foram adicionadas a um Erlenmeyer de 125 mL com 0,5 mL de meio de Vogel e 0,05 g de extrato de levedura. O pH do meio foi ajustado

para 5,0 com H₃PO₄ 1 e 0,1 M e NH₄OH 1 e 0,1 M (Hanna Instruments, HI 9321). Todos os frascos de Erlenmeyer foram autoclavados à temperatura de 121 °C por 20 min. Uma solução de glucose 10% foi preparada e autoclavada separadamente do meio de cultivo e 1,25 mL foi adicionado a cada frasco da mistura de forma estéril em uma câmara de fluxo laminar.

Preparo do efluente em escala laboratorial

Em 100 mL de água destilada adicionou-se 6 gotas de Quimerol 535, 0,05 g de cada corante, 3 g de sal refinado (NaCl) e 1 g de barrilha leve (Na₂CO₃). Foram transferidos 12,5 mL desse efluente para cada Erlenmeyer de 125 mL e adicionados 10,75 mL de água destilada, 0,5 mL de meio de Vogel e 0,05 g de extrato de levedura. O pH do efluente foi ajustado para 5,0 com H₃PO₄ 1 e 0,1 M e NH₄OH 1 e 0,1 M (Hanna Instruments, HI 9321). Todos os frascos de Erlenmeyer foram autoclavados à temperatura de 121 °C por 20 min. Uma solução de glucose 10% foi preparada e autoclavada separadamente do meio de cultivo e 1,25 mL foi adicionado a cada efluente para, em seguida, se inocularem os 3 micélios fúngicos em câmara de fluxo laminar de forma estéril. Após a adição da glicose e dos micélios fúngicos, cada frasco de Erlenmeyer foi agitado a 180 rpm (incubadora rotatória orbital Cientec CT-712) à temperatura de 28 °C. Após cada tempo (0, 12, 24, 48 e 72 h), os efluentes foram retirados da incubadora, centrifugados (Presvac DCS-16-RV) por 20 min com 3400 rpm e filtrados a vácuo com membrana de éster de celulose com poro de 0,45 µm (Millipore).

Foi preparado um efluente controle seguindo-se o mesmo procedimento descrito acima, mas sem a adição dos três discos de micélios fúngicos.

Preparação do branco

O branco foi preparado em 100 mL de água destilada, misturando-se respectivamente, 6 gotas de Quimerol 535, 3 g de sal refinado (NaCl), 1 g de barrilha leve (Na₂CO₃). Para o preparo do meio de cultivo retiraram-se 23,25 mL da solução e a esse volume foram adicionados 0,05 g de extrato de levedura, 0,5 mL do meio de Vogel em um Erlenmeyer de 125 mL. O pH da solução foi ajustado para 5,0 com H₃PO₄ 1 e 0,1 M e NH₄OH 1 e 0,1 M, autoclavados à 121 °C por 20 min e após, de forma estéril, em câmara de fluxo laminar, foi adicionado 1,25 mL de glicose, esterilizada, obtendo-se um volume final de 25 mL. Este procedimento foi realizado para cada repetição da curva de calibração e efluente.

Obtenção dos espectros de absorção UV-Vis

Os espectros de absorção UV-Vis (Thermo Scientific Evolution 60) das soluções do conjunto de calibração e do efluente obtido em escala laboratorial foram registrados à temperatura ambiente, de 200 a 800 nm, utilizando cubeta de quartzo de 1 cm de caminho óptico e um branco preparado conforme descrito acima. Para obtenção dos espectros UV-Vis os efluentes foram diluídos com água (1 mL do efluente: 10 mL de solução final).

Análise estatística dos dados

Para a análise estatística dos dados através da regressão por mínimos quadrados parciais (PLS) foi usado o programa Parles_V2. 1A.²³

Cromatografia líquida de alta eficiência

A análise cromatográfica (Thermo Electron Corporation Finnigan

Surveyor Plus) foi realizada com bomba quaternária e detector de arranjo de fotodiodo (PDA) operando nos comprimentos de onda de 254, 412, 544 e 627 nm. Uma coluna cromatográfica C18 Zorbax ODS com 5 μm de empacotamento (Agilent Technologies, 250 x 4,6 mm) foi utilizada na análise e uma pré-coluna foi instalada para proteger a coluna cromatográfica. Foi empregada na separação uma fase móvel usando o método de gradiente com tampão fosfato pH 3,0/acetonitrila.¹⁶ O software ChromQuest 4.2 foi usado para o processamento dos dados. O volume de injeção foi de 20 μL e o fluxo de 1 mL/min a 25 °C na coluna de separação. As amostras para análise foram filtradas em nylon 0,22 μm antes da injeção.

Preparo da curva analítica para o método univariado absorvância x concentração

Para a determinação das concentrações usando curvas analíticas a partir das medidas de absorvância dos máximos de absorção, foram construídas curvas analíticas usando-se concentrações de 24,185 à 4,031 mg L⁻¹ para os corantes Amarelo Procion, Azul Procion e Vermelho Procion obtendo-se as retas; $Y = 0,00878X - 0,01867$ ($r^2 = 0,996$), $Y = 0,01548X + 0,00047$ ($r^2 = 0,997$) e $Y = 0,00954X + 0,02161$ ($r^2 = 0,997$), respectivamente.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Concentração dos corantes no efluente

Os espectros UV-Vis de cada um dos corantes puros e das misturas da curva de calibração são apresentados na Figura 1A e 1B. Observa-se que os máximos de absorção estão em 412, 627 e 544 nm para o

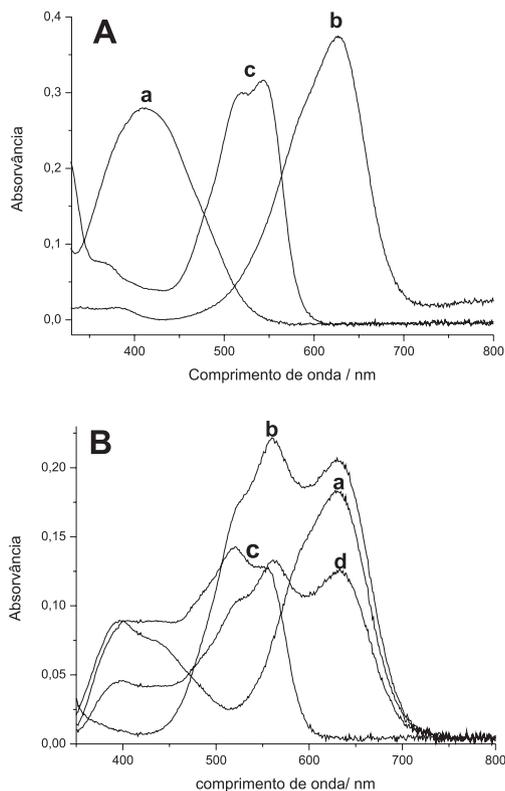


Figura 1. (A) Espectros de absorção UV-Vis das soluções estoques dos corantes: (a) Amarelo Procion, (b) Azul Procion e (c) Vermelho Procion, (B) espectros de absorção UV-Vis das misturas contendo os corantes Amarelo Procion, Azul Procion e Vermelho Procion, nas proporções em volume: (a) 1:1:0, (b) 0:1:1, (c) 1:0:1 e (d) 1:1:1

Amarelo Procion (corante 1), Azul Procion (corante 2) e Vermelho Procion (corante 3), respectivamente.

Para a validação do método de regressão por mínimos quadrados parciais (PLS) foram calculadas as concentrações das soluções correspondentes aos pontos axiais da curva de calibração e verificou-se que são muito próximas dos valores experimentais (Tabela 1). As concentrações dos corantes nos efluentes nos tempos de 0, 12, 24, 48 e 72 h foram obtidas pela PLS usando 3 componentes principais (CP), que explicaram 99,92% da variância contida nos dados sem perda de informação relevante (Figura 2A) e apresentaram baixo RMSE (raiz quadrada média do erro de previsão) (Figura 2B).

Tabela 1. Concentrações (mg L⁻¹) experimentais e calculadas dos corantes Amarelo Procion, Azul Procion e Vermelho Procion nas misturas axiais da curva de calibração usando 3, 4 e 5 componentes principais

Misturas	Concentração (mg L ⁻¹)			
	Experimental	Calculada		
		3 CP ^a (% erro)	4 CP ^b (% erro)	5 CP ^c (% erro)
Amarelo Procion				
Ponto 8	16,12	14,66 (9,1)	15,27 (5,3)	15,66 (2,9)
Ponto 9	4,03	2,66 (33,9)	3,24 (19,6)	3,65 (9,4)
Ponto 10	4,03	2,64 (34,5)	3,57 (11,4)	3,70 (8,2)
Azul Procion				
Ponto 8	4,03	3,89 (4,5)	4,35 (7,7)	4,40 (9,2)
Ponto 9	16,12	15,48 (3,9)	15,93 (1,2)	16,00 (0,7)
Ponto 10	4,03	3,62 (10,2)	3,88 (3,7)	3,81 (5,5)
Vermelho Procion				
Ponto 8	4,03	3,46 (14,1)	3,87 (4,0)	4,55 (12,9)
Ponto 9	4,03	3,28 (18,6)	3,58 (11,2)	4,02 (0,2)
Ponto 10	16,12	15,14 (6,1)	15,55 (3,5)	15,53 (3,7)

Erro médio das nove amostras: ^a = 15,0%; ^b = 7,5% ^c = 5,9%

Embora o erro usando 3 componentes tenha sido maior do que usando 4 ou 5 componentes, Tabela 1, no decorrer do trabalho verificou-se que eles apresentavam melhores resultados nas análises dos efluentes, efeitos sinérgicos com os outros corantes ou componentes não corantes do efluente, pode ser uma possível explicação para esse fato. Essa hipótese está apoiada nas análises de CLAE dos corantes puros, misturados e no efluente analisado. Verificou-se que não há semelhança nos tempos de retenção dos picos dos corantes puros com os das misturas, e muito menos com os dos efluentes, isto é, os cromatogramas são muito diferentes entre si para a identificação de cada corante. Estas variações dos cromatogramas com a composição podem ser explicadas pelas mudanças estruturais que os corantes sofreram com mudança do pH (hidrólise), que causaram mudanças acentuadas nas suas polaridades.

A Figura 3 mostra os espectros UV-Vis das soluções dos efluentes após o processo de biodegradação em função do tempo. Esses espectros mostram a diminuição da absorvância dos corantes Amarelo Procion, Azul Procion e Vermelho Procion na mistura do efluente com o aumento do tempo após a inoculação, indicando uma degradação significativa de cada corante no efluente pelo fungo *Ganoderma* sp.

Foi realizado também um cálculo da concentração dos corantes no efluente medindo-se os máximos de absorvância de cada corante e utilizando uma curva analítica que seguiu a Lei de Beer para cada corante (método univariado). Este estudo foi realizado para efeito de comparação com os resultados obtidos com o método do PLS.

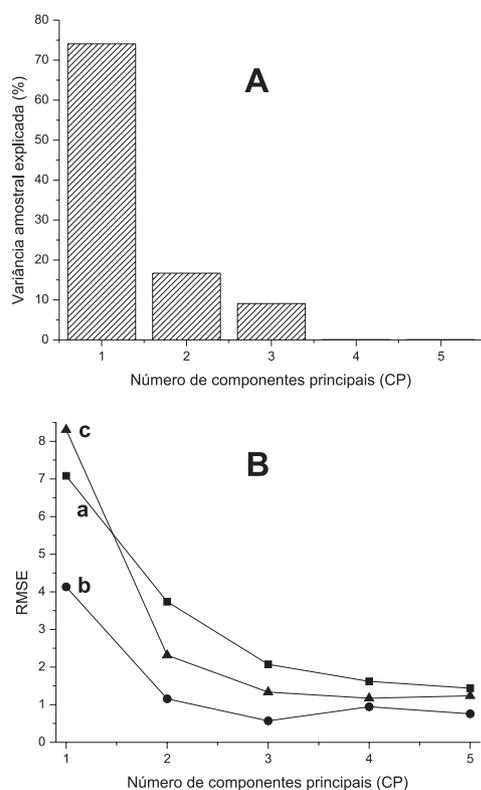


Figura 2. (A) Porcentagem de variância explicada em função do número de componentes principais, (B) variação do RMSE em função do número de CP para cada corante: (a) Amarelo Procion, (b) Azul Procion e (c) Vermelho Procion

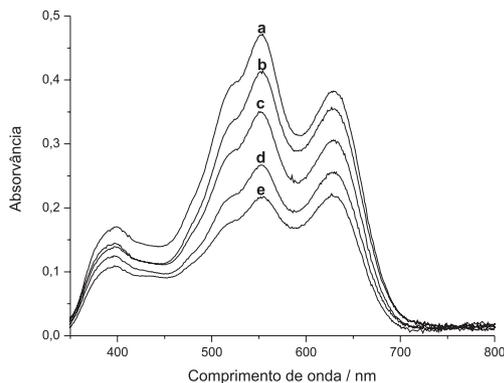


Figura 3. Espectros UV-Vis do efluente degradado pelo fungo *Ganoderma sp* nos tempos de incubação (h): (a) 0, (b) 12, (c) 24, (d) 48 e (e) 72 h

Cinética de biodegradação dos corantes no efluente

Com as concentrações calculadas pela PLS foi realizado o estudo cinético do processo de degradação, obtendo-se a ordem da reação de descoloração do corante pelo fungo e as constantes de velocidades.

O método utilizado para a determinação da ordem de reação foi o do ajuste da melhor reta obtida entre as equações de velocidade de ordem zero ($[A] - [A]_0 = -kt$), primeira ordem ($\ln[A] - \ln[A]_0 = -kt$) e segunda ordem ($1/[A] - 1/[A]_0 = kt$). As retas obtidas para as equações de primeira e segunda ordem são muito semelhantes e com coeficientes de correlação praticamente iguais, Tabela 2, indicando que a reação tem ordem intermediária entre elas, isto é, fracionária. Este fato indicou que o mecanismo de reação é complexo, envolvendo mais de uma enzima no processo de biodegradação, não se enquadrando nos modelos mais simples de catálise enzimática. Isso foi confirmado usando-se as concentrações obtidas pelo método uni-

Tabela 2. Parâmetros cinéticos calculados para biodegradação dos corantes Amarelo Procion, Azul Procion e Vermelho Procion, pelo fungo *Ganoderma sp* a 28 °C utilizando as concentrações obtidas pelo PLS^a e com o método univariado^b

Corante	Ordem	Equação	R ²	k / 10 ⁻³ h ⁻¹
Amarelo Procion	zero ^a	$y = 19,428 - 0,085 x$	0,932	84,69
	zero ^b	$y = 18,309 - 0,088 x$	0,963	88,42
	primeira ^a	$y = -0,064 - 0,005 x$	0,953	5,06
	primeira ^b	$y = -0,047 - 0,006 x$	0,978	5,79
	segunda ^a	$y = 0,0511 + 0,0003 x$	0,969	0,31
	segunda ^b	$y = 0,0538 + 0,0004 x$	0,987	0,38
Azul Procion	zero ^a	$y = 21,9301 - 0,1381 x$	0,983	138,15
	zero ^b	$y = 24,2725 - 0,1493 x$	0,987	149,36
	primeira ^a	$y = -0,0044 - 0,0081 x$	0,992	8,16
	primeira ^b	$y = -0,0031 - 0,0079 x$	0,995	7,93
	segunda ^a	$y = 0,0439 + 0,0004 x$	0,996	0,49
	segunda ^b	$y = 0,0397 + 0,0004 x$	0,998	0,43
Vermelho Procion	zero ^a	$y = 29,2164 - 0,2442 x$	0,981	244,25
	zero ^b	$y = 30,2125 - 0,2355 x$	0,986	235,53
	primeira ^a	$y = -0,0236 - 0,0120 x$	0,996	12,08
	primeira ^b	$y = -0,0123 - 0,0409 x$	0,998	10,96
	segunda ^a	$y = 0,0314 + 0,0006 x$	0,998	0,63
	segunda ^b	$y = 0,0307 + 0,0005 x$	0,998	0,53

^a = obtido usando o método PLS; ^b = obtido usando o método univariado

variado, que também não mostraram distinção clara entre uma cinética de primeira ou segunda ordem para os três corantes. As constantes de velocidade devem ter, portanto, um valor intermediário entre os encontrados para a primeira e segunda ordem.

Os resultados mostraram que o corante Vermelho Procion apresentou maior constante de velocidade do que os outros dois corantes, ou seja, a velocidade de biodegradação do corante Vermelho Procion pelo fungo *Ganoderma sp* foi mais rápida, seguida do Azul Procion e Amarelo Procion.

Apesar da biodegradação desses corantes apresentarem baixas constantes de velocidade, o que mostra que é uma reação muito lenta, é possível utilizar o fungo *Ganoderma sp* para biodegradação de efluentes contaminados com corantes têxteis.

CONCLUSÕES

A utilização do método PLS foi viável, mais simples de realizar, sendo possível quantificar os corantes individualmente em função do tempo e com erros relativamente baixos. Verificou-se que o uso do método de análise pela CLAE foi inviável pela impossibilidade de identificar os três corantes nos cromatogramas das misturas. A ordem da reação não foi claramente definida, sendo intermediária entre primeira e segunda ordem, entre 5,06 e 0,31 x 10⁻³ h⁻¹; 8,16 e 0,49 x 10⁻³ h⁻¹; 12,08 e 0,63 x 10⁻³ h⁻¹ para os corantes Amarelo Procion, Azul Procion e Vermelho Procion, respectivamente. A degradação dos corantes foi significativa em 72 h de incubação a 28 °C, sendo 33,6% para o corante Amarelo Procion, 43,5% para o Azul Procion e 57,7% para o Vermelho Procion.

AGRADECIMENTOS

Ao auxílio financeiro do CNPq (476270/2007-3), Fundação Araucária, FAEPE/Uel. N. D. Bernardino agradece a bolsa PIBIC/CNPq e R. Afonso a bolsa de mestrado CAPES. Os autores agradecem à Profa. Dra. I. S. Scarmínio pelas valiosas discussões.

REFERÊNCIAS

1. Mechichi, T.; Mhiri, N.; Sayadi, S.; *Chemosphere* **2006**, *64*, 998.
2. Kunz, A.; Peralta-Zamora, P.; Moraes, S. G.; Duran, N.; *Quim. Nova* **2002**, *25*, 78.
3. Murugesan, K.; Dhamija, A.; Nam, I.; Kim, Y.; Chang, Y.; *Dyes Pigm.* **2007**, *75*, 176.
4. Eichlerová, I.; Homolka, L.; Nerud, F.; *Dyes Pigm.* **2007**, *75*, 38.
5. García-Montaña, J.; Domènech, X.; García-Hortal, J. A.; Torrades, F.; Peral, J.; *J. Hazard. Mater.* **2008**, *154*, 484.
6. Kamida, H. M.; Durrant, L. R.; Monteiro, R. T. R.; Armas, E. D.; *Quim. Nova* **2005**, *28*, 629.
7. Forgacs, E.; Cserhádi, T.; Oros, G.; *Environ. Int.* **2004**, *30*, 953.
8. Slokar, T. M.; Marechal, A. M. L.; *Dyes Pigm.* **1998**, *37*, 335.
9. Akar, T.; Ozcan, A. S.; Tunalı, S.; Ozcan, A.; *Bioresour. Technol.* **2008**, *99*, 3057.
10. Robinson, T.; McMullan, G.; Marchant, R.; Nigam, P.; *Bioresour. Technol.* **2001**, *77*, 247.
11. Sponza, D. T.; Isik, M.; *Enzyme Microb. Technol.* **2004**, *34*, 147.
12. Romero, S.; Blázquez, P.; Caminal, G.; Font, X.; Sarrà, M.; Gabarrell, X.; Vicent, T.; *Biochem. Eng. J.* **2006**, *31*, 42.
13. Shedbalkar, U.; Dhanve, R.; Jadhav, J.; *J. Hazard. Mater.* **2008**, *157*, 472.
14. Kirby, N.; Marchant, R.; McMullan, G.; *FEMS Microbiol. Lett.* **2000**, *188*, 93.
15. Harazono, K.; Nakamura, K.; *Chemosphere* **2005**, *59*, 63.
16. Zhao, X.; Hardin, I. R.; *Dyes Pigm.* **2007**, *73*, 322.
17. Machado, K. M. G.; Compant, L. C. A.; Morais, R. O.; Rosa, L. H.; Santos, M. H.; *Braz. J. Microbiol.* **2006**, *37*, 481.
18. Peralta-Zamora, P.; Kunz, A.; Nagata, N.; Poppi, R. J.; *Talanta* **1998**, *47*, 77.19.
19. Scarminio, I. S.; Ishikawa, D. N.; Barreto, W. J.; Paczkowski, E. L.; Arruda, I. C.; *Quim. Nova* **1998**, *21*, 590.
20. Nevado, J. J. B.; Flores, J. R.; Llerena, M. J. V.; *Fresenius J. Anal. Chem.* **1998**, *361*, 465.
21. Carvalho, A. R.; Sánchez, M. N.; Wattoom, J.; Brereton, R. G.; *Talanta* **2006**, *68*, 1190.
22. López-de-Alba, P. L.; Wróbel-Kaczmarczyk, K.; Wróbel, K.; López-Martínez, L.; Hernández, J. A.; *Anal. Chim. Acta* **1996**, *330*, 19.
23. Viscarra-Rossel, R. A.; *Chemom. Intell. Lab. Syst.* **2008**, *90*, 72.