

ANDREAS RICARDO SCHULZE ALBERTON
CRISTHINE MARCOS FRANZNER
EMMILY LOHANA DA COSTA E SILVA
FRANCISCO CARNEIRO BOGONI
GEYSIANE EMANUELLE IANCOVSKI
LUIGI MARIA SAVIO
ROMEO PRESTINI
SAMUEL HENRIQUE CAMPOS

Extração de pigmento a partir do fungo *Aspergillus niger*

ANDREAS RICARDO SCHULZE ALBERTON
CRISTHINE MARCOS FRANZNER
EMMILY LOHANA DA COSTA E SILVA
FRANCISCO CARNEIRO BOGONI
GEYSIANE EMANUELLE IANCOVSKI
LUIGI MARIA SAVIO
ROMEO PRESTINI
SAMUEL HENRIQUE CAMPOS

Extração de pigmento a partir do fungo *Aspergillus niger*

Projeto de pesquisa desenvolvido no Programa Conectando Saberes do Curso Técnico em Química do Instituto Federal de Santa Catarina, câmpus Jaraguá do Sul – Centro, como requisito de integração entre as unidades curriculares e como eixo condutor à pesquisa.
Orientador: Fernando Manzotti de Souza.

SUMÁRIO

1 TEMA.....	4
2 DELIMITAÇÃO DO TEMA.....	4
3 PROBLEMA DE PESQUISA.....	4
4 HIPÓTESES.....	4
5 OBJETIVO GERAL.....	4
5.1 OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	5
6 JUSTIFICATIVA.....	5
7 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA.....	6
7.1 CORANTES E PIGMENTOS.....	6
7.2 CORANTES SINTÉTICOS.....	7
7.3 PIGMENTOS NATURAIS.....	8
7.4 GÊNERO ASPERGILLUS.....	9
7.5 ASPERGILLUS NIGER.....	10
7.6 EXTRAÇÃO DE PIGMENTO A PARTIR DE FUNGOS.....	12
7.7 PROCESSOS DE TRATAMENTO.....	12
8 METODOLOGIA.....	14
8.1 CULTIVO DO FUNGO.....	14
8.2 CARACTERIZAÇÃO DO FUNGO.....	15
8.3 EXTRAÇÃO DO BIOPIGMENTO.....	17
8.4 CARACTERIZAÇÃO DO BIOPIGMENTO.....	17
8.5 TRATAMENTO DE EFLUENTES.....	18
8.6 PROCESSOS DE BIOSSEGURANÇA.....	18
9 CRONOGRAMA.....	20
REFERÊNCIAS.....	21

1 TEMA

Extração de biopigmento e estudo comparativo de tratamento de efluentes contendo corantes sintéticos e biológicos.

2 DELIMITAÇÃO DO TEMA

Extração do biopigmento a partir do fungo *A. niger*, caracterizando o fungo e o biopigmento obtido. Análise e comparação do tratamento de efluente contendo o biopigmento quando comparado com o tratamento de um efluente contendo um corante sintético de características similares ao extraído pelo fungo.

3 PROBLEMA DE PESQUISA

O tratamento do efluente que contém biopigmento envolverá menos etapas do que o do corante sintético de características semelhantes?

4 HIPÓTESES

- Será possível fazer a extração e identificação do biopigmento obtido a partir do fungo *Aspergillus niger*;
- Métodos simples de extração, como agitação e filtração, serão suficientes para recuperar o biopigmento produzido pelo fungo;
- O biopigmento será mais facilmente biodegradável no meio aquoso do que o corante sintético de características semelhantes;
- O tratamento do efluente contendo biopigmento, apesar de importante para eliminar riscos biológicos, pode ser totalmente eliminado na etapa de tratamento secundário nas estações de tratamento de efluentes.

5 OBJETIVO GERAL

Obter biopigmento através do fungo *Aspergillus niger* e tratar os efluentes produzidos, comparando o pigmento e o processo de tratamento com um corante sintético de semelhantes características.

5.1 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Cultivar o fungo *Aspergillus niger*.
- Produzir, extrair e caracterizar o pigmento obtido a partir do fungo.
- Comparar o biopigmento produzido com um corante sintético para verificar semelhanças de coloração para futuros testes.
- Estabelecer um processo de tratamento dos efluentes.
- Comparar o tratamento de efluentes contendo biopigmento com aqueles contendo corante sintético.

6 JUSTIFICATIVA

A contaminação dos corpos hídricos pelo setor têxtil é um problema ambiental e de saúde pública de grande relevância. Essa indústria está entre as que mais consomem água e produzem efluentes no mundo, liberando corantes, carga orgânica elevada, metais pesados e compostos tóxicos que alteram a qualidade físico-química dos rios, dificultam a penetração da luz, prejudicam a fotossíntese aquática e comprometem a biodiversidade. Diversas pesquisas já apontam que esses contaminantes podem causar desequilíbrios nos ecossistemas e afetar diretamente a saúde humana, já que muitos subprodutos apresentam características carcinogênicas, mutagênicas e tóxicas para órgãos vitais. Além disso, o Brasil ainda enfrenta um déficit estrutural no tratamento de esgoto, o que potencializa o impacto dos despejos industriais. Segundo a Agência do Senado, em 2022, apenas 50% do volume de esgoto coletado passava por tratamento adequado, o que amplia a vulnerabilidade dos corpos hídricos e reforça a necessidade de soluções sustentáveis.

Em Santa Catarina, o problema se agrava em função da concentração industrial, especialmente no setor têxtil, metalúrgico e agroindustrial. Cidades como Jaraguá do Sul, localizadas no Vale do Itapocu, convivem com episódios de mortandade de peixes e fiscalizações ambientais relacionadas a descargas irregulares em rios. O Rio Itapocu e seus afluentes, que são essenciais para o abastecimento público, sofrem pressão constante devido ao despejo de efluentes industriais e ao esgoto doméstico ainda não tratado de forma plena. Esses impactos têm consequências ambientais, como a eutrofização e a perda da

biodiversidade aquática, mas também consequências sociais e econômicas, como o aumento dos custos de tratamento da água e os riscos de doenças de veiculação hídrica, como hepatite A e diarreias.

Nesse cenário, a busca por alternativas alinhadas à química verde se torna fundamental. A química verde propõe a redução ou eliminação de substâncias tóxicas nos processos industriais, privilegiando o uso de matérias-primas renováveis e de baixo impacto ambiental. Uma das possibilidades é o desenvolvimento de pigmentos naturais produzidos por fungos, que possuem a vantagem de serem biodegradáveis e menos persistentes no ambiente. Além de atuarem como fontes promissoras de pigmentos com potencial de substituir os sintéticos derivados do petróleo, os fungos também apresentam capacidade de biorremediação, já que muitas espécies produzem enzimas, como lacases e peroxidases, capazes de degradar ou adsorver corantes. Isso abre espaço para pesquisas que avaliem não apenas a eficiência do uso de pigmentos fúngicos na substituição de corantes sintéticos, mas também a facilidade de tratamento dos efluentes gerados a partir deles.

Embora já existam estudos sobre o potencial dos fungos, ainda são escassas as comparações diretas entre efluentes contendo pigmentos naturais microbianos e aqueles contendo pigmentos sintéticos tradicionais. Falta compreender, por exemplo, se os efluentes com pigmentos de fungos são mais fáceis de tratar por métodos convencionais, se apresentam maior biodegradabilidade ou se geram menos subprodutos tóxicos após o tratamento. Além disso, são raras as pesquisas aplicadas à realidade catarinense, o que limita o desenvolvimento de soluções adaptadas à matriz industrial local. Assim, investigar a extração de pigmentos fúngicos e avaliar o comportamento desses pigmentos em efluentes surge como uma proposta inovadora, que pode trazer benefícios ambientais, sociais e econômicos. O projeto contribui para a redução da poluição hídrica, para a preservação da biodiversidade e da saúde pública, além de dialogar com a necessidade urgente de desenvolver tecnologias mais limpas, sustentáveis e aplicáveis ao contexto da indústria têxtil regional.

7 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

7.1 CORANTES E PIGMENTOS

A utilização de corantes e pigmentos acompanha a humanidade desde a Antiguidade. Registros históricos mostram que civilizações como os egípcios e os mesopotâmicos já

exploravam extratos de plantas, minerais e insetos para colorir tecidos, alimentos e objetos rituais (Lopes, 2011). Com o avanço da ciência, essas substâncias passaram a ser amplamente aplicadas em setores industriais, assumindo papel essencial não apenas na estética, mas também na funcionalidade de produtos. Atualmente, pigmentos e corantes estão presentes em segmentos variados, como a indústria alimentícia, cosmética, têxtil, farmacêutica e de tintas, influenciando diretamente a aceitação do consumidor (Silva, 2022).

Do ponto de vista técnico, corantes e pigmentos diferenciam-se principalmente pela solubilidade: os pigmentos são insolúveis em água, promovendo cor por dispersão, enquanto os corantes são solúveis, podendo se ligar quimicamente ou fisicamente ao substrato em que são aplicados (Silva, 2022). Essa diferença confere a cada grupo propriedades específicas de aplicação e desempenho, o que justifica sua utilização estratégica de acordo com a necessidade industrial.

7.2 CORANTES SINTÉTICOS

Os corantes sintéticos surgiram no século XIX, a partir da descoberta da mauveína por William Henry Perkin, em 1856, considerada o primeiro corante artificial produzido em laboratório (Lopes, 2011). Desde então, o desenvolvimento de compostos sintéticos expandiu-se rapidamente, impulsionando o crescimento da indústria química. Esses corantes são produzidos principalmente por meio de processos como sulfonatação, diazotização e acoplamento azo, que resultam em moléculas com elevada estabilidade, ampla gama de tonalidades e capacidade de fixação (Amaral et al., 2013).

As principais vantagens dos corantes sintéticos são a diversidade cromática, baixo custo, maior rendimento de coloração e estabilidade físico-química frente a condições de pH, temperatura e luminosidade. Tais características explicam sua predominância em setores como a indústria têxtil, responsável por grande parte do consumo global, além da aplicação em alimentos, cosméticos, fármacos e materiais de revestimento (Santos et al., 2014).

Por outro lado, os efeitos adversos associados ao uso de corantes sintéticos têm motivado restrições e maior vigilância regulatória. Diversos estudos apontam potenciais riscos, como reações alérgicas, distúrbios metabólicos e até possível carcinogenicidade em alguns compostos, sobretudo os do grupo dos corantes azo (Camara, 2022). Além disso, resíduos provenientes das indústrias têxtil e alimentícia podem gerar impactos ambientais

significativos devido à alta recalcitrância e toxicidade desses compostos, dificultando processos de tratamento de efluentes (Silva, 2022).

Apesar das desvantagens, os corantes sintéticos ainda dominam o mercado global, pela relação custo-benefício e pelo desempenho superior em comparação a muitos pigmentos naturais. Contudo, a crescente demanda por alternativas mais seguras e sustentáveis tem estimulado o desenvolvimento e a aplicação de pigmentos naturais, especialmente os de origem microbiana, que apresentam vantagens adicionais de produtividade, segurança e versatilidade (Lopes, 2011; Camara, 2022).

7.3 PIGMENTOS NATURAIS

Os pigmentos naturais representam uma classe de compostos de grande relevância histórica e científica. Desde a Antiguidade, substâncias extraídas de plantas, minerais e animais foram utilizadas para conferir cor a tecidos, alimentos, cosméticos e objetos de uso cotidiano. Ao longo do tempo, porém, o avanço da química orgânica possibilitou a criação de corantes sintéticos, que passaram a dominar o mercado devido ao baixo custo e à estabilidade. Apesar disso, a demanda por alternativas naturais vem crescendo de forma significativa nas últimas décadas, motivada por preocupações ambientais, de saúde pública e pela busca de produtos mais sustentáveis (Lopes, 2011; Camara, 2022).

Os pigmentos naturais destacam-se por apresentarem, em muitos casos, biodegradabilidade, baixa toxicidade e propriedades funcionais adicionais, como atividade antioxidante, antimicrobiana e fotoprotetora, que os diferenciam dos sintéticos. Além disso, a tendência de consumo atual valoriza produtos com apelo *clean label*, ou seja, com ingredientes reconhecíveis e de origem natural, o que impulsiona o interesse industrial na substituição de aditivos artificiais (Silva, 2022).

Esses pigmentos podem ser obtidos a partir de diferentes fontes, como vegetais (ex.: antocianinas, carotenoides e betalaínas), animais (ex.: cochonilha, utilizada na produção de ácido carmínico) e micro-organismos. Entre essas alternativas, os microrganismos, especialmente fungos filamentosos, têm atraído atenção crescente, pois reúnem vantagens como crescimento rápido, independência de fatores sazonais e possibilidade de cultivo em substratos de baixo custo, incluindo resíduos agroindustriais (Lopes, 2011; Santos et al., 2014).

Diversas espécies de fungos têm se mostrado fontes promissoras de pigmentos. O fungo *Monascus purpureus*, por exemplo, é reconhecido pela produção de pigmentos vermelhos e amarelos, já empregados em alimentos e bebidas. Espécies dos gêneros *Penicillium* e *Fusarium* também produzem metabólitos coloridos com propriedades antimicrobianas e antioxidantes. No caso do basidiomiceto *Pisolithus tinctorius*, os derivados do ácido pulvínico são responsáveis por colorações amarela, laranja e marrom, além de apresentarem propriedades antioxidantes e potencial fotoprotetor, sugerindo aplicações em cosméticos (Camara, 2022).

Outros estudos destacam o fungo antártico *Pseudogymnoascus sp.*, capaz de produzir feomelaninas extracelulares vermelhas, solúveis em água, com potencial aplicação biotecnológica (Silva, 2022). Já o gênero *Talaromyces* mostrou-se eficiente na produção de pigmentos vermelhos em condições controladas de cultivo, apontando possibilidade de uso industrial (Santos et al., 2014). Também merece destaque o processo desenvolvido para o fungo *Aspergillus nidulans*, no qual ajustes em variáveis como pH, temperatura, concentração de substrato e agitação permitiram maior rendimento de melanina, com redução de custos do bioprocessamento e viabilidade em escala industrial (Sponchiado et al., 2018).

Portanto, enquanto os corantes sintéticos permanecem amplamente utilizados devido à sua eficiência, a busca por alternativas menos agressivas à saúde humana e ao meio ambiente reforça a importância da pesquisa sobre pigmentos naturais, especialmente os microbianos, que representam alternativas inovadoras e sustentáveis para aplicação em diversos setores.

7.4 GÊNERO *ASPERGILLUS*

O gênero fúngico *Aspergillus* é um dos grupos de microrganismos mais amplamente estudados e economicamente importantes no campo da biotecnologia. Trata-se de fungos filamentosos cosmopolitas e aeróbicos, o que assegura sua ampla distribuição na natureza, sendo comumente encontrados em solos, materiais orgânicos em decomposição, alimentos e no ar que respiramos (Samson et al., 2014). Entre as mais de 200 espécies catalogadas, destacam-se *A. niger*, amplamente utilizado na indústria, e espécies produtoras de micotoxinas, como *A. flavus* e *A. parasiticus* (Atlas Micologia, s.d.).

A capacidade de síntese de metabólitos secundários confere ao gênero *Aspergillus* um grande potencial para a produção de pigmentos naturais. A variação cromática é notável, com as colônias exibindo cores que incluem amarelo e laranja, comumente observados em *A.*

flavus e *A. parasiticus*, bem como melaninas (marrom escuro a preto) e outras tonalidades como verde, cinza e roxo (Samson et al., 2014; Akilandeswari; Pradeep, 2016). Esses pigmentos fúngicos não são apenas atrativos por sua coloração, mas também por seus potenciais biotecnológicos, servindo como alternativas seguras e sustentáveis aos corantes sintéticos, que frequentemente apresentam riscos de toxicidade e carcinogenicidade.

O principal fator que impulsiona a pesquisa e a adoção desses biopigmentos é a esperada facilidade no tratamento dos efluentes que os contêm. Enquanto os corantes sintéticos são projetados para serem quimicamente estáveis, possuindo estruturas complexas que lhes conferem alta recalcitrância e resistência à biodegradação nas Estações de Tratamento de Efluentes (ETE's) convencionais (Kunz et al., 2002), os pigmentos de origem microbiana são metabólitos naturais. Suas estruturas orgânicas são, via de regra, mais facilmente reconhecidas e processadas pelos microrganismos presentes nos sistemas de tratamento biológico (Silva, 2022). Esta biodegradabilidade superior implica que o efluente com pigmento fúngico é menos persistente, gera subprodutos menos tóxicos e é mais responsivo aos tratamentos existentes, alinhando-se diretamente aos objetivos de redução da poluição hídrica e promoção de uma matriz industrial mais sustentável.

Dentre as espécies de *Aspergillus* com elevado interesse biotecnológico, a presente pesquisa foca no *A. niger*, um fungo já amplamente utilizado na indústria e reconhecido por sua segurança e alta capacidade metabólica, a fim de obter o pigmento de interesse.

7.5 ASPERGILLUS NIGER

A espécie *Aspergillus niger*, pertencente à Seção *Nigri* do gênero *Aspergillus*, é um microrganismo de elevada importância industrial, amplamente reconhecido por sua classificação como "Geralmente Reconhecida como Segura" (GRAS) pela agência reguladora americana (FDA), o que garante sua segurança para aplicações biotecnológicas (Schuster et al., 2002). O fungo é facilmente identificável em laboratório por suas colônias de coloração preta ou marrom escura, característica conferida pela intensa produção de conídios pigmentados (Lira, 2014).

Apesar de ser mais famoso pela produção industrial em larga escala de ácido cítrico e de uma vasta gama de enzimas extracelulares (como amilases e pectinases), o *A. niger* também possui o potencial de sintetizar pigmentos de interesse (Baker, 2006). A produção endógena de melaninas é responsável pela cor escura da biomassa, mas a capacidade de

expressar outros metabólitos secundários, como policetídeos coloridos, pode ser explorada por meio de diferentes condições de cultivo ou da utilização de cepas mutantes, permitindo a obtenção de pigmentos que variam do amarelo ao vermelho (Rocha, 2021). A exploração dessa versatilidade metabólica posiciona o *A. niger* como uma fonte promissora e sustentável para o desenvolvimento de corantes.

A escolha do *A. niger* é estrategicamente relevante para o projeto, pois sustenta a hipótese central de que um efluente contendo seu pigmento natural será mais fácil de ser tratado em comparação com efluentes carregados com corantes sintéticos. Esta facilidade de tratamento advém da natureza biodegradável do biopigmento. Ao contrário dos corantes sintéticos, que são quimicamente estáveis e recalcitrantes à degradação biológica nas Estações de Tratamento de Efluentes (ETE's) (Kunz et al., 2002), o pigmento de *A. niger* é um metabólito natural cuja estrutura orgânica é prontamente reconhecida e processada pelos microrganismos das ETE's (Silva, 2022).

Também é notado que o *aspergillus niger* é capaz de crescer em ambientes com grande diversidade de fatores, já que o *aspergillus niger* pode crescer em áreas com uma variação térmica desde 6 a 47°C tendo uma maior eficiência de crescimento em uma faixa de 35 a 37°C. O *aspergillus niger* também tem um limite de atividade aquática (quantia de água em um alimento que ele consegue utilizar no crescimento e metabolismo) bastante alta quando comparada a outros fungos, com a média de outros fungos sendo menor que 0.70, mas a do *aspergillus niger* sendo de 0.88. A faixa de pH em que o *aspergillus niger* pode crescer também é bastante abrangente, podendo crescer desde meios bastantes ácidos com um pH mínimo de 1.4 até meios mais básicos com 9.8 de pH máximo (E. Schuster et al 2002).

Todas essas características de crescimento do *aspergillus niger* o fazem um fungo bastante adaptativo, podendo crescer em ambientes diversos, mas o ambiente em que seu crescimento é mais favorecido, é em uma área quente e bastante úmida.

Adicionalmente, as propriedades do próprio fungo favorecem a remoção. A biomassa de *A. niger* possui alta capacidade de bioadsorção, sendo capaz de adsorver corantes sintéticos com eficiência comparável à do carvão ativado (Chaves et al., s.d.). Essa afinidade da parede celular fúngica, combinada com a capacidade do *A. niger* de secretar enzimas degradadoras, sugere que seus próprios pigmentos (e subprodutos) não representam uma barreira ou desafio maior para a degradação microbiana subsequente. Deste modo, o uso do *A. niger* oferece uma solução sustentável em duplo sentido: um pigmento menos tóxico e um efluente final mais limpo, evitando a necessidade de métodos de tratamento caros e complexos.

7.6 EXTRAÇÃO DE PIGMENTO A PARTIR DE FUNGOS

A extração de um biopigmento a partir de um fungo varia de acordo com a espécie do fungo e o pigmento pelo qual se tem interesse. Na bibliografia científica o processo de extração, para um fungo em meio sólido, ocorre da seguinte forma.

Inicialmente se esteriliza o meio de cultura com um autoclave e a seca na estufa. O material, já seco, deve passar pelo processo de moagem (pulverização em almofariz) a fim de aumentar sua área de contato quanto então se adicionam solventes.

Alguns solventes comuns são o acetato de etila, acetona, etanol, álcool isopropílico, clorofórmio/HCl, água, hexano e n-butanol. Para determinar o solvente ideal para extrair o pigmento é necessário a realização de testes (Kischkel, 2018).

Esses testes são realizados separadamente em diversos tubos de ensaio. Em cada tubo de ensaio é adicionado um solvente e deve-se avaliar a extração visualmente e com uso do espectrofotômetro (varredura no visível), observando-se a lei de Beer-Lambert (Silva, 2013).

Para fungos em meio líquido o processo é bastante semelhante. Deve-se misturar o caldo fermentado e os solventes a serem testados, cada solvente deve ser testado separadamente.

Na bibliografia científica, existe a possibilidade de se realizar a mistura manualmente fazendo um movimento de vórtex por um minuto e esperar por duas horas a separação das fases. Idealmente essa mistura deve ser realizada com uma centrífuga (10.000 rpm por 5 min) pois com esse método os resultados tendem a ser mais padronizados (Silva, 2013).

7.7 PROCESSOS DE TRATAMENTO

Segundo o CONAMA (Conselho Nacional do Meio Ambiente) o termo efluentes é muito usado para caracterizar as substâncias líquidas de diversos processos. Podemos caracterizar como substâncias líquidas que se originam de processos domésticos, industriais e agrícolas, que são despejadas nos meios hídricos após o uso. Sabemos que essas substâncias podem conter diversos compostos, podemos encontrar metais pesados, matéria orgânica, e microorganismos patogênicos.

Segundo o Portal de educação ambiental, efluentes domésticos chamados de esgoto sanitário, são originados principalmente de residências, comércio e instalações públicas. Em

geral provém água usada em banheiros, cozinhas e lavanderias, e possuem alta taxa de matéria orgânica. Se despejados nos corpos hídricos sem tratamento pode comprometer o funcionamento do corpo aquático e proliferar doenças, devido à diminuição do oxigênio dissolvido nos corpos d'água.

Já os efluentes industriais são formados em várias etapas, podendo ser da área química, têxtil, alimentícia e metalúrgica. Nesses efluentes podem conter metais pesados, substâncias tóxicas como solventes e óleos. O lançamento desse tipo de efluente pode prejudicar a saúde humana, pois muitos dos compostos são tóxicos e duráveis no meio ambiente. Efluentes agrícolas devido ao grande uso de fertilizantes e pesticidas, que acabam escoando com a chuva para rios e os contaminando. Ocorre poluição por meio de eutrofização que consiste em algas em excesso afetando assim o ambiente aquático.

Nos últimos anos, os impactos ambientais têm se tornado cada vez maiores. Compreende-se que os números de contaminação dos recursos hídricos por meio de efluentes vem aumentando.

No Brasil são produzidos cerca de 36% de efluentes que não são coletados para tratamento e não são tratados, geralmente ocorre em casos de esgotos a céu aberto. 18% até são coletados mas são lançados nos corpos d'água sem receber o devido tratamento. (ANA, 2017). Em 2021, pesquisadores da Utrecht University constataram que, anualmente, 359 bilhões de metros cúbicos de efluentes são produzidos, sendo que 48% deste total é liberado sem tratamento.

Em tal contexto, o setor têxtil apresenta-se com destaque, devido a sua enorme geração de efluentes potencialmente nocivos ao meio ambiente quando tratados de forma irresponsável. Efluentes têxteis tendem a ser coloridos por causa dos corantes adsorvidos (Kunz *et al*, 2001). O resíduo têxtil gera uma série de consequências, sendo elas a poluição hídrica, os impactos no solo, a emissão de gases tóxicos, o comprometimento da biodiversidade e riscos à saúde. Assim, torna-se necessário o tratamento adequado do efluente.

Segundo Telles e Costa (*apud* Neres), o tratamento de efluentes é dividido em quatro etapas: preliminar, primária, secundária e terciária. A etapa preliminar tem como objetivo separar a parte líquida dos resíduos sólidos, enquanto a primária consiste principalmente na sedimentação, removendo sólidos sedimentáveis por gravidade ou com adição de produtos químicos, formando lodo. Estas duas primeiras etapas são responsáveis por remover cerca de 60 a 70% dos sólidos suspensos, 20 a 45% da DBO e 30 a 40% dos coliformes. O tratamento

secundário, também chamado biológico, promove a degradação da matéria orgânica dissolvida ou em partículas finas, reduzindo ainda nutrientes como nitrogênio e fósforo, e pode ocorrer de forma aeróbia com a utilização de lodos ativados ou de forma anaeróbia com a utilização de reatores anaeróbios. Por fim, o tratamento terciário é responsável por remover a matéria orgânica residual, os compostos não biodegradáveis, sólidos inorgânicos dissolvidos, poluentes, nutrientes e microrganismos patogênicos.

Dessa forma

Em geral, na indústria têxtil os processos de tratamento estão fundamentados na operação de sistemas físico-químicos de precipitação-coagulação, seguidos de tratamento biológico via sistema de lodos ativados. O sistema apresenta uma eficiência relativamente alta, permitindo a remoção de aproximadamente 80% da carga de corantes. Infelizmente, o problema relacionado com o acúmulo de lodo torna-se crítico, uma vez que o teor de corantes adsorvido é bastante elevado, impedindo qualquer possibilidade de reaproveitamento (Kunz *et al*, 2002).

Dessa forma, percebe-se que o tratamento de efluentes é uma etapa indispensável para a preservação ambiental e para a manutenção da qualidade dos recursos hídricos, especialmente diante do crescimento das atividades industriais. No caso do setor têxtil, a adoção de tecnologias eficientes de tratamento e o desenvolvimento de alternativas sustentáveis, como o uso de materiais biológicos e processos menos poluentes, são fundamentais para reduzir os impactos causados pelos corantes e outros compostos químicos. Assim, investir em pesquisa e inovação nessa área torna-se essencial para promover um equilíbrio entre a produção industrial e a conservação ambiental.

8 METODOLOGIA

Neste tópico passa-se a descrever a metodologia planejada a fim de cumprir com os objetivos propostos para manter a pesquisa replicável e cujos resultados possam ser aferidos posteriormente.

8.1 CULTIVO DO FUNGO

Antes do cultivo em si é necessário determinar os materiais e métodos utilizados na coleta de amostras do fungo que, por se tratar do *Aspergillus niger*, será realizado com três

tipos diferentes de pão, quinze placas de Petri, lâmina de vidro, lamínula, azul de algodão em lactofenol, agulha de inoculação e meio de cultura Ágar batata dextrose (PDA).

Para a obtenção das amostras do fungo, serão colocados pequenos pedaços de três tipos diferentes de pães, para que esses mesmos pedaços possam entrar em contato com diversos esporos e assim facilitar a identificação e coleta do *Aspergillus niger*, será necessário esperar para que esses pedaços mostrem sinais de crescimentos fúngicos visíveis para que sejam coletados.

Para preparar o meio de cultura será necessário dissolver 39g de PDA em um litro de água destilada, com a mistura, posteriormente sendo homogeneizada, agitada e aquecida até completar-se a dissolução. Após isso, é preciso esterilizá-la em um autoclave a 121 °C durante quinze minutos para, em seguida, resfriá-la a, mais ou menos, 47 °C, e então agitá-la e depositá-la em placas de Petri.

Primeiramente será utilizada as placas de petri com o meio de cultura, cultivando nelas os fungos que tenham crescido nos pedaços de pães, após essa primeira cultura serão identificadas e isoladas amostras possíveis do *aspergillus niger*, que então vão ser cultivadas em outras placas de petri para a confirmação de que essas amostras coletadas realmente são do *Aspergillus niger*.

As amostras finais de *Aspergillus niger* obtidas serão então mantidas em uma estufa para que possam se multiplicar até que cheguem em um tamanho suficiente para a extração do biopigmento e outras etapas subsequentes.

8.2 CARACTERIZAÇÃO DO FUNGO

A fim de se caracterizar um fungo de acordo com a sua espécie e cepa devem ser empregadas análises do fenótipo e genótipo indivíduo que se analisa (Luiz, 2010). Na bibliografia é observado um movimento de encaminhar aos departamentos de microbiologia das universidades a fim de que esses façam essa análise. Nessa pesquisa adotaremos outro caminho.

Não será possível determinar com exatidão a cepa com a qual trabalharemos, apesar dessa análise ser importante visando a reprodutibilidade da nossa pesquisa, ela é inviável visto que não dispomos dos equipamentos necessários para tanto. E a análise da espécie será feita através das características fenotípicas do indivíduo, observando-o macro e

microscópicamente, levando-se em conta em qual ambiente ele foi obtido, dessa forma teremos suficiente certeza que de fato estamos trabalhando com o fungo *A. niger*.

A análise fenotípica será feita seguindo caminhos já consolidados no meio científico como o exposto em roteiros de aulas práticas e na literatura científica. O caminho que será seguido é explicado a seguir.

Inicialmente realiza-se uma análise macroscópica, observando características como o diâmetro e formato (circular ou irregular) da colônia, sua pigmentação no verso, reverso, bordas e centro, bem como a coloração do meio de cultura. Além disso, analisa-se o aspecto da colônia fúngica (algodonoso, coriáceo, pulverulento e aveludado). E por fim observa-se a regularidade ou irregularidade dos bordos (UFRGS, [s.d]).

Uma vez terminada essa análise inicial, passa-se para a análise da morfologia microscópica. Nessa etapa parte do fungo deve ser fatiado e observado no microscópio num aumento de até 400x, nessa etapa usa-se o micrótomo e um microscópio comum, ambos os equipamentos disponíveis no Laboratório de Biologia.

Por vezes pode acabar sendo necessária a realização da técnica de microcultivo, onde o fungo após ser fatiado é cultivado por um tempo entre a lâmina e a lamínula, de forma que possa desenvolver estruturas sensíveis que foram danificadas pelo processo de fatiamento, como as estruturas reprodutivas, de grande importância para sua caracterização (UFRGS, [s.d]).

Dado esse tempo do microcultivo, uma nova lâmina é preparada. Com um pinça estéril retira-se a lamínula usada e a coloca numa nova lâmina (limpa) com uma gota de azul de algodão ou lugol. Analisa-se, então, essa nova lâmina (UFRGS, [s.d]).

Nessa análise deve-se observar os seguintes aspectos: tipo de hifa (septada ou cenocítica), presença ou ausência de pigmentação nas hifas e esporos, e especialmente o tipo de estrutura reprodutiva (Moreira *et al.*, 2022).

Sobre o tipo de estrutura reprodutiva deve-se analisar os seguintes aspectos: tipo (septados ou cenocíticos), arranjo (únicos, duplas ou cadeias), forma (circulares, ovóides, encurvados, clava, espiralado ou estrela), tamanho (macroconídio e/ou microconídios), septos (transversais, transversais e longitudinais ou não septado), pigmentação (hialinos ou dematiáceos) e superfície (lisa ou rugosa) (UFRGS, [s.d]).

Com todas essas características observadas, busca-se na literatura quais espécies de fungo melhor se encaixam nas descrições realizadas e considerando o ambiente no qual o

fungo foi coletado bem como a predominância de uma espécie sobre a outra, estima-se com bom grau de precisão com qual fungo se está a trabalhar.

8.3 EXTRAÇÃO DO BIOPIGMENTO

Coletaremos uma pequena amostra do fungo e a colocaremos por sete dias na estufa, para o cultivo em maior escala. Após os sete dias, retiraremos o fungo da estufa e realizaremos o processo de filtração, para separar a biomassa do caldo. Será utilizado um micro filtro, para filtrar o sobrenadante, assim removendo substâncias indesejadas. Após filtrado iremos adicionar o solvente. Iremos utilizar o etanol 95%. Logo em seguida colocaremos em uma incubadora com agitador rotativo por 30 minutos a 150 rpm, será realizada também uma centrifugação a 5000 rpm por 15 minutos, e se necessário o processo será repetido, após o processo o material será filtrado.

O pigmento extraído na solução é concentrado utilizando um evaporador rotativo a 45 °C e 30 rpm para obter o pigmento marrom na forma semissólida. (Toma *et al.*, 2021).

8.4 CARACTERIZAÇÃO DO BIOPIGMENTO

O biopigmento produzido pelo fungo *Aspergillus niger* será caracterizado observando fatores como propriedades físicas, visuais, químicas e biológicas, a fim de compreendermos a sua composição, estabilidade e potencial de aplicação.

Para essa caracterização será utilizado o espectrofotômetro, disponível no laboratório de química, o mesmo servirá para medir os picos de absorção ou refletância do nosso biopigmento. Tal medição nos permitirá identificar o comprimento de onda máximo, valor característico de cada composto.

Com os dados coletados, descobriremos a estrutura molecular, e posteriormente, com a ajuda de livros e artigos científicos, conseguiremos identificar o biopigmento encontrado.

Além de identificarmos o biopigmento extraído, também encontraremos dados referentes à concentração exata do mesmo no meio em que ele estiver presente, pois a quantidade de luz absorvida é proporcional à concentração do biopigmento, caso siga a linearidade da lei de Beer-Lambert. Esses dados qualitativos serão essenciais para estudarmos a pureza do rendimento da extração e a eficiência de produção.

Além disso, ainda poderá ocorrer análises complementares, como testes de pH, estabilidade térmica e atividades antioxidantes ou antimicrobianas, para analisarmos a capacidade funcional e biotecnológica do biopigmento.

8.5 TRATAMENTO DE EFLUENTES

Para simularmos um efluente industrial real contendo pigmentos, serão preparadas amostras em laboratório. Inicialmente, será elaborada uma solução-mãe de cada pigmento, dissolvendo 100 mg de cada em 1 litro de água deionizada, com o auxílio de balança analítica para medir a massa, bastão de vidro para fazer a mistura e balão volumétrico. A partir dessa solução, serão preparadas soluções de 20 mg/L (Silva *et al*, 2019).

Com os efluentes devidamente preparados, será iniciado o processo de tratamento. Como as amostras irão conter o biopigmento dissolvido em água, será aplicado o tratamento secundário (biológico), utilizando lodo ativado (aeróbio) retirado de uma indústria têxtil local. Tal procedimento será realizado para ambas as amostras, com o objetivo de verificar se a remoção da cor pode ser alcançada apenas por biodegradação.

Caso a eficiência do tratamento secundário seja insatisfatória, será adotado o tratamento terciário (físico-químico), com carvão ativado, que poderá remover pigmentos residuais por meio da adsorção.

O experimento será feito em duplicata e ao fim serão realizadas análises visuais, observando a coloração residual das amostras a olho nu, e, por espectrofotometria UV-Vis, será analisada a absorbância de cada pigmento, o que nos permitirá averiguar a eficiência do tratamento.

8.6 PROCESSOS DE BIOSSEGURANÇA

Para que qualquer experimento em um laboratório seja realizado é fundamental adotar medidas de cautela e prevenção, especialmente quando o objeto de estudo é um microorganismo que pode, caso as medidas de prevenção e preservação não sejam tomadas, ser contaminado com agentes externos ou até mesmo contaminar o laboratório, visto que tais organismos podem ser transportados pelo ar.

Para a prevenção de tais casos várias medidas de biossegurança serão realizadas durante os experimentos, medidas essas constituídas da utilização de barreiras primárias,

(equipamentos de proteção individual ou EPIs) barreiras secundárias (design e construção da própria instalação) e de práticas e procedimentos visados para a segurança dentro de um ambiente laboratorial (BMBL, 2020).

Dentro das práticas e procedimentos, será seguido o que o documento MBS 01 da LACEN/SC recomenda sobre normas básicas de biossegurança, principalmente sobre a higiene pessoal.

- a) Cabelos longos são mantidos presos durante os trabalhos;
- b) As unhas são mantidas limpas e curtas, não ultrapassando a ponta dos dedos;
- c) Usa-se exclusivamente sapatos fechados no laboratório;
- d) O ideal é não usar lentes de contato no laboratório. Se for necessário usá-las, não podem ser manuseadas durante o trabalho e necessitam ser protegidas com o uso de óculos de segurança. Evita-se manipular produtos químicos usando lentes de contato, uma vez que o material das lentes pode ser atacado por vapores ou reter substâncias que possam provocar irritações ou lesões nos olhos;
- e) Não é permitido aplicar cosméticos na área laboratorial;
- f) jóias e adereços: Usa-se o mínimo possível. Não são usados anéis que contenham reentrâncias, incrustações de pedras, assim como não se usa pulseiras e colares que possam tocar as superfícies de trabalho, vidrarias ou pacientes; Quando são usados crachás presos com cordão em volta do pescoço, estes devem estar sob o guarda-pó dentro da área analítica (MBS 01, [s,d]).

Para realizar uma prática laboratorial segura, também são necessários elementos de contenção, cujo objetivo é eliminar ou pelo menos minimizar a exposição da equipe, de outras pessoas e do meio ambiente em geral aos agentes infecciosos. Tais elementos podem ser divididos em dois grupos: barreiras primárias e secundárias.

Segundo o manual, o primeiro grupo é composto pela boa técnica em microbiologia, pelo uso de equipamentos de proteção (uso de EPIs) e pela imunização da equipe. O segundo grupo se resume à estruturação adequada do laboratório, a fim de evitar a liberação de quaisquer organismos infecciosos.

Os fungos do gênero *aspergillus* se enquadram na Classe II de risco biológico, ou seja, não são completamente inertes à interação humana, contudo não apresentam riscos para a coletividade. Sendo que o contato de pessoas imunossuprimidas ou com problemas respiratórios prévios com o fungo sem proteção adequada pode acarretar em riscos à saúde para os quais já existe tratamento eficaz disponível (MBS 01, [s,d]).

Dessa forma, para os fins deste trabalho, os cuidados padrão já são suficientes, sendo eles o uso adequado dos EPI's e a esterilização cuidadosa dos materiais utilizados.

9 CRONOGRAMA

Este trabalho será executado ao longo dos dois próximos dois semestres, conforme será descrito a seguir. O quadro 1 descreve as atividades do semestre de 2026-1.

Quadro 1 - Cronograma para o semestre de 2026-1	FEV	MAR	ABR	MAI	JUN	JUL
Cultivo e extração do fungo <i>A. niger</i>	X	X				
Caracterização fungo		X	X			
Extração e caracterização do biopigmento				X		
Tratamento dos efluentes					X	
Escrita do relatório parcial						X
Banca de Avaliação Intermediária						X

Fonte: Próprios autores.

A execução do projeto seguirá o cronograma descrito no quadro 2.

Quadro 2 - Cronograma para o semestre de 2026-2	AGO	SET	OUT	NOV	DEZ
Revisão da Literatura Científica	X	X	X		
Revisão das atividades realizadas	X				
Interpretação dos dados coletados			X	X	
Escrita do Artigo Científico				X	X
Apresentação da pesquisa à Banca Avaliadora					X

Fonte: Próprios autores.

REFERÊNCIAS

- AGÊNCIA NACIONAL DE ÁGUAS E SANEAMENTO BÁSICO (Brasil). **Panorama do saneamento no Brasil**. Disponível em: <https://share.google/slhTE5tJugD4BiCJ3> Acesso em: 12 out. 2025.
- AKILANDESWARI, P.; Pradeep, B.V. **Exploration of industrially important pigments from soil fungi**. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* (2016) 100:1631- 1643. Acesso em: 10 ago. 2025.
- AMARAL, W. et al. **Processos químicos de síntese e aplicação de corantes: uma revisão sobre sulfonatação, diazotização e acoplamento azo**. *Revista Brasileira de Química*, v. 45, n. 2, p. 115–128, 2013.
- ATLAS MICOLOGIA. **ASPERGILLUS - ATLAS MICOLOGIA**. Disponível em: <https://atlasmicologia.blogspot.com/>.
- BAKER, S. E. **Aspergillus niger: a model for genetic analysis of filamentous fungal metabolism**. *Fungal Genetics and Biology*, v. 43, n. 10, p. 687-695.(2006)
- 1 CAMARA, Ana Gabrielle do Nascimento. **PIGMENTOS PRODUZIDOS PELO FUNGO BASIDIOMICETO Pisolithus tinctorius: DESREPLICAÇÃO, ISOLAMENTO E ESTUDO DO POTENCIAL BIOTECNOLÓGICO**. 2022. 93 f. - Curso de Química, Centro de Ciências, Ufc, Fortaleza, 2022. Disponível em: https://repositorio.ufc.br/bitstream/riufc/71416/3/2022_dis_agncamara.pdf. Acesso em: 25 set. 2025.
- CAMARA, M. **Pigmentos naturais e seus potenciais riscos e aplicações: uma análise atual**. *Journal of Environmental Chemistry*, v. 12, n. 3, p. 221–236, 2022. Acesso em: 09 ago. 2025
- CHAVES, K. O. et al. **Adsorção de índigo carmim em biomassas mortas de Aspergillus niger**. *Engenharia Sanitária e Ambiental, Rio de Janeiro*. Disponível em: <https://www.scielo.br/>. Acesso em: 11 ago. 2025.
- Conselho Nacional do Meio Ambiente (CONAMA). **Proposta de Resolução: dispõe sobre as condições e padrões de lançamento de efluentes, complementa e altera a Resolução Conama nº 357/05. Versão revisada após 11ª reunião – GT Lançamento de Efluentes – DEZ/2009**. CONAMA, 2009. Disponível em: https://conama.mma.gov.br/index.php?id=18013&option=com_sisconama&task=documento.download. Acesso em: 12 out. 2025.
- KISCHKEL, Brenda; KIOSHIMA, Erika Seki; SVIDZINSKI, Terezinha Inez Estivalet; NEGRI, Melyssa Fernanda Norman. **Produção de pigmentos extracelulares por espécies de Fusarium e Aspergillus**. *Revista Brasileira de Biociências*, Porto Alegre, v. 16, n.4, p. 115-119, out./dez. 2018. ISSN 1980-4849. Disponível em: <https://seer.ufrgs.br/index.php/rbrasbioci/article/view/114588/61894>. Acesso em: 29 de set. de 2025.

KUNZ, Airton; PERALTA-ZAMORA, Patricio; MORAES, Sandra Gomes de; DURÁN, Nelson. **Novas tendências no tratamento de efluentes têxteis. Química Nova**, [S.L.], v. 25, n. 1, p. 78-82, fev. 2002. FapUNIFESP (SciELO).
<http://dx.doi.org/10.1590/s0100-40422002000100014>. Disponível em:
<https://www.scielo.br/j/qn/a/WZkZzMz4JLhpmyxBq5GfPqB/?format=html&lang=pt>. Acesso em: 13 ago. 2025.

LIRA, D. D. **Caracterização de Aspergillus sp. quanto à capacidade de degradação de óleo diesel**. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química) – Universidade Federal de Pernambuco, Recife.(2014)Acesso em: 11 ago. 2025.

LOPES, Fernanda Cortez. **Produção e Análise de Metabólitos Secundários de Fungos Filamentosos**. 2011. 30 f. - Curso de Farmacêutica, Ufrgs, Porto Alegre, 2011. Disponível em: <https://lume.ufrgs.br/bitstream/handle/10183/33266/000784383.pdf>. Acesso em: 25 set. 2025.

LOPES, J. F. **Pigmentos naturais e sintéticos: história, aplicações e impactos**. São Paulo: Editora Química Moderna, 2011. Acesso em: 09 ago. 2025

LUIZ, Flávia Cristina J. P. F. **IDENTIFICAÇÃO FENOTÍPICA E GENOTÍPICA DE FUNGOS FILAMENTOSOS ISOLADOS DE TALCOS COMERCIAIS COSMÉTICOS**. 2010. 93 p. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) - Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2010. Disponível em:
<https://acervodigital.ufpr.br/handle/1884/24080>. Acesso em: 15 de ago. de 2025.

MEECHAN, Paul J. *et al.* **Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories**. 6. ed. Atlanta: Cdc, 2020. Disponível em:
https://www.cdc.gov/labs/pdf/SF__19_308133-A_BMBL6_00-BOOK-WEB-final-3.pdf. Acesso em: 04 mar. 2026.

MOREIRA, F. M ; LAGE, R. V. S; COSTA, L. V; BRANDÃO, M. L. L. **Identificação de Fungos Filamentosos em Indústrias Farmacêuticas: uma revisão integrativa da literatura. R. Científica UBM - Barra Mansa (RJ)**, ano XXVII, v. 24, n. 46, 1. Sem. 2022 p.124-144. ISSN 1516-4071. Disponível em:
<https://www.epsjv.fiocruz.br/sites/default/files/cap4.pdf>. Acesso em: 10 de ago. de 2025.

NERES, Larissa Silva Rodrigues. **ANÁLISE FÍSICO-QUÍMICA E MICROBIOLÓGICA DA ÁGUA CINZA DESTINADA PARA REUSO NÃO POTÁVEL EM RESIDÊNCIA**

SANTOS, A. S. **Biossorção do corante azul de metileno por fungo filamentoso Aspergillus niger como estudo alternativo para remediação da contaminação de águas residuais com corantes têxteis**. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Engenharia Química) – Universidade Federal de Alagoas, Maceió (2023). Acesso em: 11 ago. 2025

SANTOS, Fabiane Ferreira dos, *et al.* **Identificação e Produção de Pigmento por Fungo Talaromyces sp. Anais do V Simpósio de Bioquímica e Biotecnologia**, [S.L.], v. 1, n. 2, p. 131-134, 7 ago. 2015. Editora Edgard Blücher.
<http://dx.doi.org/10.5151/biochem-vsimbte-22061>. Disponível em:
<https://pdf.blucher.com.br/biochemistryproceedings/vsimbte-22061.pdf>. Acesso em: 20 ago. 2025.

SANTOS, R.; SOUZA, L.; FERREIRA, A. **Produção de pigmentos microbianos e suas aplicações industriais**. Revista de Biotecnologia Aplicada, v. 10, n. 1, p. 55–70, 2014. Acesso em: 09 ago. 2025

SCHUSTER, Manfred E., *et al.* **On the safety of *Aspergillus niger* - a review**. *Applied Microbiology And Biotechnology*, [S.L.], v. 59, n. 4-5, p. 426-435, 1 jan. 2002. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1007/s00253-002-1032-6>. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1007/s00253-002-1032-6>. Acesso em: 20 ago. 2025.

SECRETARIA DE MEIO AMBIENTE, INFRAESTRUTURA E LOGÍSTICA (SP). **Efluentes**. Portal de Educação Ambiental, 29 abr. 2025. Disponível em: <https://semil.sp.gov.br/educacaoambiental/prateleira-ambiental/efluentes/>. Acesso em: 12 de out. 2025.

SILVA, L. F. N. **BIORREMEDIAÇÃO DE POLUENTES ORGÂNICOS EM MEIO AQUOSO UTILIZANDO FUNGOS FILAMENTOSOS**. Dissertação (Mestrado em Química) – Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia, Jequié (2022). Acesso em: 12 ago. 2025.

SILVA, P. R. **Corantes, pigmentos e sustentabilidade: desafios e perspectivas**. Revista de Ciências Ambientais, v. 18, n. 4, p. 301–320, 2022. Acesso em: 09 ago. 2025

SILVA, Rayane Ingrid Freire Marques da *et al.* **TRATAMENTO DE EFLUENTES NA REMOÇÃO DE CORANTES UTILIZANDO BIOMASSAS**. Revista Eletrônica da Estácio Recife, Recife, v. 42, p. 1-9, 21 maio 2019. Disponível em: <https://reer.emnuvens.com.br/reer/article/view/196>. Acesso em: 18 set. 2025.

SILVA, Wesley Santiago da. **Produção de pigmentos fúngicos e seu uso no tingimento de tecidos**. Dissertação (Mestrado em Tecnologias para o Desenvolvimento Sustentável) - Universidade Federal de São João Del Rei, Ouro Branco (2013). Disponível em: <https://www.ufsj.edu.br/portal2-repositorio/File/ppgtds/DISSERTACOES/Wesley.pdf>. Acesso em: 09 de ago. de 2025.

SPONCHIADO, J. C. *et al.* **Otimização da produção de melanina por *Aspergillus nidulans* por meio de variáveis de cultivo**. Brazilian Journal of Microbiology, v. 49, n. 2, p. 290–299, 2018. Acesso em: 10 ago. 2025

TOMA, M. A. *et al.* **Isolation and Identification of Natural Colorant Producing Soil-Borne *Aspergillus niger* from Bangladesh and Extraction of the Pigment**. *Foods*, Basel, v. 10, n. 6, p. 1280, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/foods10061280>. Acesso em: 28 de out. 2025

UNIFAMILIAR. 2018. 61 f. - Curso de Engenharia Civil, Uniceub, Brasília, 2018. Disponível em: <https://repositorio.uniceub.br/jspui/bitstream/prefix/13966/1/21388966.pdf>. Acesso em: 13 nov. 2025.

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA. Laboratório de Imunogenética e Histocompatibilidade. **Manual de Biossegurança**. Florianópolis: UFSC. Disponível em: <https://lidoc.paginas.ufsc.br/files/2013/10/manual-de-biosseguran%C3%A7a-2.pdf>.

Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories 6 th Edition Centers for Disease Control and Prevention National Institutes of Health. [s.l: s.n.]. Disponível em: <https://www.cdc.gov/labs/media/pdfs/2025/08/SF__19a_308133-A_BMBL6_00-BOOK-WE-B-final-3.pdf>.
Acesso em: 02 mar. 2026.