



UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO  
Escola de Engenharia de Lorena - EEL

REBECA SOUZA DE ANDRADE

**Pigmentos de *Monascus* e sua aplicação na indústria de alimentos**

Lorena  
2020

REBECA SOUZA DE ANDRADE

**Pigmentos de *Monascus* e sua aplicação na indústria de alimentos**

Trabalho de Graduação  
apresentado à Escola de  
Engenharia de Lorena da  
Universidade de São Paulo como  
requisito parcial para conclusão  
do curso de Engenharia  
Bioquímica.

Orientador: Prof. Dr. Júlio César dos Santos

Lorena  
2020

AUTORIZO A REPRODUÇÃO E DIVULGAÇÃO TOTAL OU PARCIAL DESTE TRABALHO, POR QUALQUER MEIO CONVENCIONAL OU ELETRÔNICO, PARA FINS DE ESTUDO E PESQUISA, DESDE QUE CITADA A FONTE

Ficha catalográfica elaborada pelo Sistema Automatizado  
da Escola de Engenharia de Lorena,  
com os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

de Andrade, Rebeca Souza

Pigmentos de Monascus e sua aplicação na indústria  
de alimentos / Rebeca Souza de Andrade; orientador  
Júlio César dos Santos. - Lorena, 2020.  
48 p.

Monografia apresentada como requisito parcial  
para a conclusão de Graduação do Curso de Engenharia  
Bioquímica - Escola de Engenharia de Lorena da  
Universidade de São Paulo. 2020

1. Pigmento. 2. Monascus. 3. Fermentação. 4.  
Alimentos. I. Título. II. dos Santos, Júlio César,  
orient.

ESTE EXEMPLAR CORRESPONDE À VERSÃO FINAL DO TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO DA ALUNA REBECA SOUZA DE ANDRADE, ORIENTADA PELO PROF. JÚLIO CÉSAR DOS SANTOS.



---

ASSINATURA DO ORIENTADOR

## **AGRADECIMENTOS**

A Deus, pela graça de cada dia.

À minha família, pelo apoio e pelo amor em todo tempo, especialmente a meu pai, Celso Donizete, a minha mãe, Maria Elza, e a meu irmão, Rafael.

Ao Prof. Dr. Júlio César dos Santos, pela orientação deste trabalho com verdadeiro empenho, zelo e equilíbrio.

À Escola de Engenharia de Lorena – EEL/USP, pela oportunidade e pelo privilégio de cursar o ensino superior em Engenharia Bioquímica e realizar esse trabalho.

A todos os professores e funcionários, que participaram da minha formação acadêmica e contribuíram direta e indiretamente na elaboração deste trabalho.

A todos os colegas, que colaboraram com ideias, reflexões e suporte para o desenvolvimento deste trabalho.

A Jhon Deivid, por sempre me apoiar e estimular, amparando a execução deste trabalho.

## RESUMO

ANDRADE, R. S. Pigmentos de *Monascus* e sua aplicação na indústria de alimentos. 2020. Trabalho de Conclusão de Curso (Engenharia Bioquímica) – Escola de Engenharia de Lorena, Universidade de São Paulo, Lorena, 2020.

A cor é uma característica relevante na indústria alimentícia, pois está associada às características sensoriais dos alimentos. Agentes corantes são compostos que conferem cor e estão presentes naturalmente em vegetais, insetos, minerais e microrganismos. As fontes naturais de cor são utilizadas pelo ser humano há milhares de anos, mas, há pouco mais de dois séculos, fontes sintéticas têm sido desenvolvidas e aplicadas na indústria por apresentarem maior estabilidade e menor custo. Entretanto, tem sido percebido que o uso desses compostos sintéticos pode ser prejudicial à saúde do consumidor devido ao potencial alergênico e tóxico que apresentam. Diante desse cenário e da maior conscientização do consumidor, alimentos considerados naturais têm ganhado maior aceitação e popularidade e, com isso, o interesse pela produção de biopigmentos, ou seja, pigmentos de origem natural, tem crescido. A síntese de pigmentos por microrganismos é uma alternativa à produção industrial por apresentarem vantagens no processo, além desses compostos possuírem propriedades benéficas à saúde. *Monascus* é um gênero de fungos filamentosos produtores naturais de pigmentos e são utilizados na fermentação de alimentos na Ásia há muitos séculos. O objetivo deste trabalho foi, por meio da revisão de trabalhos científicos, apresentar as oportunidades e desafios envolvidos na produção de pigmentos por *Monascus*, considerando as propriedades desses biopigmentos, estratégias e condições de cultivo até então utilizadas, além das técnicas desenvolvidas para superar desafios da produção, a aplicação na indústria de alimentos – considerando a finalidade, regulamentação e propriedades bioativas – e o potencial de mercado. Por fim, visou-se a identificar perspectivas de pesquisa para aumentar a eficiência da produção industrial dos biopigmentos e mostrar a relevância de investimentos nessa área do conhecimento.

Palavras-chave: Pigmento. *Monascus*. Fermentação. Alimentos.

## ABSTRACT

ANDRADE, R. S. *Monascus* pigments and their application in food industry. 2020. Trabalho de Conclusão de Curso (Engenharia Bioquímica) – Escola de Engenharia de Lorena, Universidade de São Paulo, Lorena, 2020.

Color is a relevant characteristic in food industry, as it is associated with sensory characteristics of foods. Coloring agents are compounds that impart color and are naturally present in vegetables, insects, minerals and microorganisms. Natural color sources have been used by humans for thousands of years, but just over two centuries ago, synthetic sources have been developed and applied in the industry because they present greater stability and lower cost. However, it has been realized that the use of these synthetic compounds can be harmful to the consumer's health due to the allergenic and toxic potential they may exhibit. In view of this scenario and greater consumer awareness, foods considered natural have gained greater acceptance and popularity and thereby the interest in the production of biopigments, that is, pigments of natural origins, has grown. The synthesis of pigments by microorganisms is an alternative to industrial production because they present advantages to the process, in addition to having beneficial health properties. *Monascus* is a genus of filamentous fungi that produce natural pigments and have been used in the fermentation of foods in Asia for many centuries. The objective of this work was, by performing a review of scientific literature, to present the opportunities and challenges involved in the production of pigments by *Monascus*, considering the properties of these biopigments, cultivation strategies and conditions used until then, besides techniques developed to overcome the challenges of production, application in the food industry - considering the purpose, regulation and bioactive properties – and the market potential. Finally, the aim was to identify research perspectives to increase the efficiency of industrial production of biopigments and to show the relevance of investments in this knowledge area.

Keywords: Pigment. *Monascus*. Fermentation. Foods.

## SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	8
2	FUNGOS DO GÊNERO <i>MONASCUS</i> E A PRODUÇÃO DE PIGMENTOS.....	10
2.1	Pigmentos de <i>Monascus</i> : composição, via metabólica e propriedades.....	11
3	CONDIÇÕES DE CULTIVO DE <i>MONASCUS</i> PARA PRODUÇÃO DE PIGMENTOS: FERMENTAÇÃO EM ESTADO SÓLIDO, FERMENTAÇÃO SUBMERSA E O USO DE CÉLULAS IMOBILIZADAS.....	17
4	FATORES QUE INFLUENCIAM NO CULTIVO PARA PRODUÇÃO DE PIGMENTOS DE <i>MONASCUS</i> .....	21
5	DESAFIOS DA PRODUÇÃO DE PIGMENTOS POR <i>MONASCUS</i> E ALTERNATIVAS PARA SUPERÁ-LOS.....	23
5.1	O desafio da citrinina: segurança da aplicação industrial de pigmentos de <i>Monascus</i> .....	23
5.2	Demais desafios da produção em larga escala.....	26
6	APLICAÇÃO NA INDÚSTRIA DE ALIMENTOS.....	29
6.1	Da culinária doméstica ancestral à indústria alimentícia contemporânea.....	30
6.2	Legislações sobre utilização de produtos microbianos.....	32
6.3	Propriedades bioativas.....	34
7	APLICAÇÃO DE PIGMENTOS DE <i>MONASCUS</i> EM OUTROS RAMOS DA INDÚSTRIA.....	37
8	PERSPECTIVAS DE MERCADO NA APLICAÇÃO DE PIGMENTOS DE <i>MONASCUS</i> NA INDÚSTRIA ALIMENTÍCIA.....	39
9	CONCLUSÕES E PERSPECTIVAS FUTURAS.....	40
	REFERÊNCIAS.....	41



## 1 INTRODUÇÃO

A cor é uma característica fundamental dos produtos das indústrias alimentícia, cosmética, farmacêutica e têxtil. Na indústria alimentícia, contribui com as qualidades sensoriais dos alimentos e é associada a características como estética, frescor, segurança e valor nutricional. Logo, apresenta efeito direto no valor de mercado de produtos alimentícios corados.

O uso de substâncias que conferem cor aos alimentos é feito pela humanidade desde a antiguidade, sendo a sua maioria de origem natural, predominantemente vegetal. Entretanto, há aproximadamente dois séculos, o desenvolvimento de compostos sintéticos e sua aplicação na coloração dos alimentos resultaram na substituição daqueles de origem natural (SEN; BARROW; DESHMUKH, 2019). Tal substituição ocorreu devido a aspectos como maior estabilidade química, baixo custo de produção e maiores variações de tonalidades dos compostos sintéticos.

Ao longo dos anos, porém, uma possível relação entre a ingestão de agentes corantes sintéticos e o surgimento de problemas toxicológicos, alergenicidade, carcinogenicidade e hiperatividade em crianças passou a ser investigada (OPLATOWSKA-STACHOWIAK; ELLIOTT, 2017). Em decorrência de tais suspeitas, muitos corantes alimentícios sintéticos foram proibidos, conduzindo ao aumento do uso de corantes alimentícios naturais na indústria (SEN; BARROW; DESHMUKH, 2019).

Diante disso, tem crescido o interesse de consumidores por alimentos rotulados como naturais, crescimento este motivado por maior conscientização da população quanto ao produto consumido e quanto à importância da adoção de um estilo de vida mais saudável e sustentável. Essa tendência de aumento da demanda de agentes corantes naturais é prevista para crescer 7% ao ano nos próximos anos (SEN; BARROW; DESHMUKH, 2019).

Agentes corantes naturais são considerados seguros pelas agências de regularização, desde que não sejam alergênicos, tóxicos ou carcinogênicos e sejam biodegradáveis, sendo assim ambientalmente amigáveis. São, principalmente, advindos de insetos, minérios, plantas ou microrganismos. Estes últimos são preferencialmente utilizados por apresentarem uma série de benefícios, como facilidade de obtenção em larga escala, menor custo de produção e de matéria prima, maiores rendimentos, ausência de sazonalidades e possibilidade de melhoramento genético da cepa para aumento da produção.

Corantes e pigmentos são substâncias que conferem cor. Considerando uma classificação estritamente química, a principal distinção entre uma e outra é a solubilidade:

corantes são solúveis e pigmentos são insolúveis quando aplicados a materiais (RAPP, 2009). Entretanto, uma classificação estritamente química não pareceu ser rigorosamente considerada nos materiais consultados sobre pigmentos e corantes de origem natural. Buscou-se então utilizar no presente trabalho os termos correlatos aos textos de referência.

Biopigmentos produzidos por fungos filamentosos do gênero *Monascus* têm sido utilizados principalmente em alimentos, medicamentos e como agentes corantes para a indústria têxtil. Tais fungos produzem pigmentos amarelos, laranjas e vermelhos, além de outros metabólitos secundários como monacolininas e ácido gama-aminobutírico (GABA), substâncias conhecidas por suas propriedades terapêuticas. Todavia, também podem produzir uma micotoxina, que é chamada de citrinina, limitando uma maior aplicação dos pigmentos e outros metabólitos secundários de *Monascus* (AGBOYIBOR et al., 2018).

Atualmente, são conhecidas as rotas bioquímicas de produção de pigmentos de *Monascus*, fatores que as influenciam, a composição de pigmentos e suas propriedades benéficas à saúde. Tal conhecimento é importante para entender as etapas da produção dos pigmentos e a quais fatores estão suscetíveis, a fim de realizar alterações adequadas às condições de cultivo e aplicar métodos de melhoramentos genéticos, com o intuito de otimizar a produção de biopigmentos. (AGBOYIBOR et al., 2018).

Logo, é notável que o consumo de pigmentos naturais é benéfico às pessoas e ao meio ambiente, havendo tendência de consumo pelo mercado e muitas oportunidades de pesquisa e desenvolvimento nessa área do conhecimento. A principal perspectiva para os pigmentos de *Monascus* está no desenvolvimento e aprimoramento de tecnologias viáveis à indústria para redução, remoção ou inibição da citrinina.

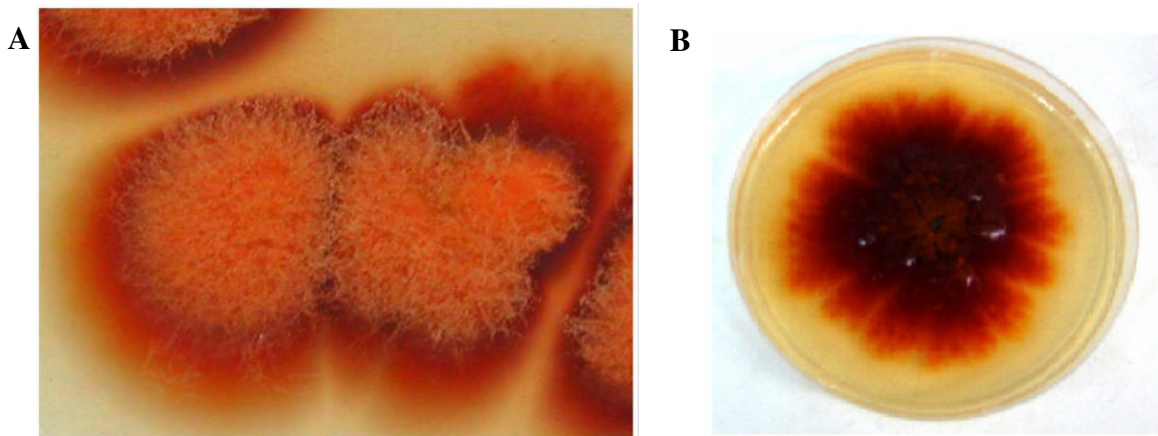
Neste contexto, este trabalho teve como objetivo proceder a uma revisão crítica da literatura buscando conhecer oportunidades e limitações ligadas à produção de pigmentos a partir de *Monascus* e seu potencial de comercialização na área de alimentos, principalmente considerando desenvolvimentos recentes. Inicialmente, apresentaram-se os diferentes tipos de pigmentos de *Monascus* e suas propriedades registradas na literatura, sendo então discutidos métodos de cultivo de *Monascus* e os fatores que mais influenciam a produção dos pigmentos. Também foram discutidos os desafios de produção de pigmentos de *Monascus*, bem como alternativas para contorná-los, e a aplicação dos pigmentos na indústria, com destaque ao setor de alimentos, as exigências das agências reguladoras, as propriedades bioativas dos pigmentos e o potencial de mercado. Finalmente, a revisão foi concluída abordando perspectivas futuras ao tema.

## 2 FUNGOS DO GÊNERO *MONASCUS* E A PRODUÇÃO DE PIGMENTOS

O uso de fungos para a obtenção de produtos comercialmente importantes tem aumentado rapidamente ao longo do último meio século. Exemplos desses produtos são enzimas, antibióticos, produtos do gênero alimentício, entre outros. Particularmente na indústria de alimentos e de ração animal, há um interesse crescente por pigmentos produzidos durante o processo de fermentação. Tal interesse decorre do potencial desses pigmentos de incrementar a cor natural dos alimentos e de propiciar um novo aspecto sensorial para atrair consumidores. Assim, atenção tem sido dada a fungos filamentosos sintetizadores e secretores naturais de pigmentos e que são tradicionalmente utilizados em produtos alimentícios (GMOSEK et al., 2017).

Exemplo em destaque de fungo produtor de pigmentos é o gênero *Monascus*, nome dado por possuir apenas um asco com esporos (DUFOSSÉ et al., 2005). Trata-se de um gênero de fungos ascomicetos, majoritariamente isolados de alimentos orientais, como o arroz fermentado vermelho ou angkak, um dos primeiros substratos de onde foi isolado (DUFOSSÉ, 2016; VENDRUSCOLO et al., 2016). São microrganismos aeróbios, cuja faixa de temperatura ideal de crescimento encontra-se entre 30 e 35 °C; crescem em um meio de até 0,85 de atividade de água e apresentam metabolismo respiro-fermentativo. Produzem enzimas líticas, condição que propicia seu crescimento em diversos substratos: monossacarídeos, dissacarídeos, amido, pectina, celulose e etanol. Pode ser classificado como Crabtree negativo, pois excesso de glicose no meio de cultura resulta na formação de etanol sob condições aeróbicas (PATAKOVA, 2013). Na Figura 1, há imagens de duas espécies de *Monascus*: *Monascus purpureus* e *Monascus ruber*.

Figura 1 – *Monascus purpureus* (A) e *Monascus ruber* (B) crescendo em placas de petri



Fonte: Adaptado de Dufossé (2018); Meinicke (2008).

Mais de vinte espécies de *Monascus* são apresentadas na literatura, das quais nove apenas foram internacionalmente reconhecidas até então: *M. argentinensis*, *M. eremophilus*, *M. floridanus*, *M. lunisporas*, *M. pallens*, *M. pilosus*, *M. purpureus*, *M. ruber*, e *M. sanguineus*. No entanto, três são as espécies mais comuns usadas em aplicações industriais: *M. pilosus*, *M. purpureus* e *M. ruber* (VENDRUSCOLO et al., 2016). Na Tabela 1, estão listadas espécies de *Monascus* mais utilizadas na produção de pigmentos, bem como os processos empregados.

Tabela 1 – Principais espécies de *Monascus* utilizadas para produção de pigmentos e seus processos

Processo	Espécie	Referência
<b>Fermentação em estado sólido</b>	<i>Monascus ruber</i>	GOMAH; ABDEL-RAHEAM; MOHAMED, 2017
	<i>Monascus purpureus</i>	EMBABY; HUSSEIN; HUSSEIN, 2018
	<i>Monascus pilosus</i>	CHENG et al., 2010
<b>Fermentação submersa</b>	<i>Monascus ruber</i>	TERÁN HILARES et al., 2018
	<i>Monascus purpureus</i>	HUAWEI et al., 2019
	<i>Monascus anka</i>	KANG et al., 2014

Fonte: Adaptado de Vendruscolo et al. (2016)

Muitos são os metabólitos sintetizados por esses microrganismos e incluem pigmentos comestíveis, isoflavonas, enzimas, ácidos graxos, ácidos orgânicos, ácido dimerúmico (DMA, antioxidante), vitaminas, ácido  $\gamma$ -aminobutírico (GABA, agente hipotensor), monacolina K (lovastatina, anti-hipercolesterolêmico) e outros componentes ativos (KIM; KU, 2018).

## 2.1 Pigmentos de *Monascus*: composição, via metabólica e propriedades

A produção de pigmentos por microrganismos é muito comum na natureza (VENDRUSCOLO et al., 2013). Entre as culturas de fungos, *Monascus* spp. produzem uma variedade de pigmentos azafilonas com variantes de cor (DUFOSSE, 2016). Suas estruturas moleculares são semelhantes, bem como suas propriedades químicas e são principalmente produzidos intracelularmente (VENDRUSCOLO et al., 2016). Atualmente, há registros de

mais de 50 pigmentos azafilonas produzidos por *Monascus*, pois substâncias azafilonas facilmente reagem com compostos nitrogenados, originando produtos derivados ou pigmentos complexados (DUFOSSÉ, 2018; YULIANA et al., 2017).

Os metabólitos de *Monascus* podem ser classificados em quatro grupos, com base em sua cor: amarelo, laranja, vermelho e metabólitos incolores (MOSTAFA; ABBADY, 2014). São, geralmente, analisados por métodos de cromatografia e espectrofotometria (MANAN; MOHAMAD; ARIFF, 2017). Dentre diversos pigmentos comestíveis produzidos por *Monascus*, há seis principais, dos quais dois são amarelos (ankaflavina e monascina), dois são laranja (rubropunctatina e monascorubrina) e dois são vermelhos (rubropunctamina e monascorubramina) (MEINICKE et al., 2012; VENDRUSCOLO et al., 2016). Esses pigmentos (Tabela 2) apresentam propriedades benéficas à saúde, sendo caracterizados como uma alternativa promissora a pigmentos naturais na indústria de alimentos (KIM; KU, 2018; MOSTAFA; ABBADY, 2014; VELMURUGAN et al., 2011).

A síntese dos pigmentos de *Monascus* ocorre pela condensação de acetato com malonato no citosol, levando à formação de um cromóforo hexacetídeo pelo complexo enzimático da policetídeo sintase. Ácidos graxos de cadeia média, por exemplo o ácido octanóico, são sintetizados pela via dos ácidos graxos e se ligam à estrutura do cromóforo através de uma reação de transesterificação, gerando o pigmento laranja monascorubrina ( $C_{23}H_{26}O_5$ ) ou rubropunctatina ( $C_{21}H_{22}O_5$ ). A redução do pigmento laranja monascorubrina dá origem ao pigmento amarelo ankaflavina ( $C_{23}H_{30}O_5$ ) e a redução da rubropunctatina origina a monascina ( $C_{21}H_{26}O_5$ ). Os pigmentos vermelhos monascorubramina ( $C_{23}H_{27}NO_4$ ) e rubropunctamina ( $C_{21}H_{23}NO_4$ ) são produzidos pela reação do pigmento de cor laranja com compostos contendo  $NH_3$  e  $-NH_2$  na molécula (DUFOSSÉ et al., 2016; VENDRUSCOLO et al., 2016).

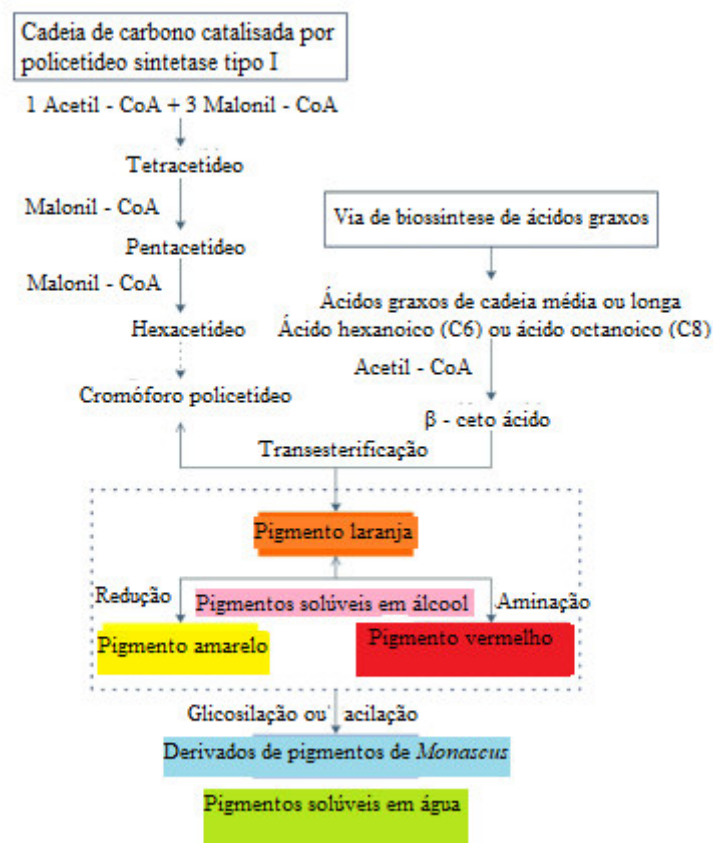
Tabela 2 – Principais pigmentos comestíveis produzidos por *Monascus*

Composto	Estrutura	Solubilidade	Cor
Rubropunctatina		Solúvel em álcool	Laranja
Monascorubrina		Solúvel em álcool	Laranja
Monascina		Solúvel em álcool	Amarelo
Ankaflavina		Solúvel em álcool	Amarelo
Rubropunctamina		Solúvel em álcool	Vermelho
Monascorubramina		Solúvel em álcool	Vermelho

Fonte: Adaptado de Agboyibor et al. (2018)

Na Figura 2, é possível observar a via metabólica de síntese dos pigmentos de *Monascus*.

Figura 2 – Via de síntese de pigmentos por *Monascus*



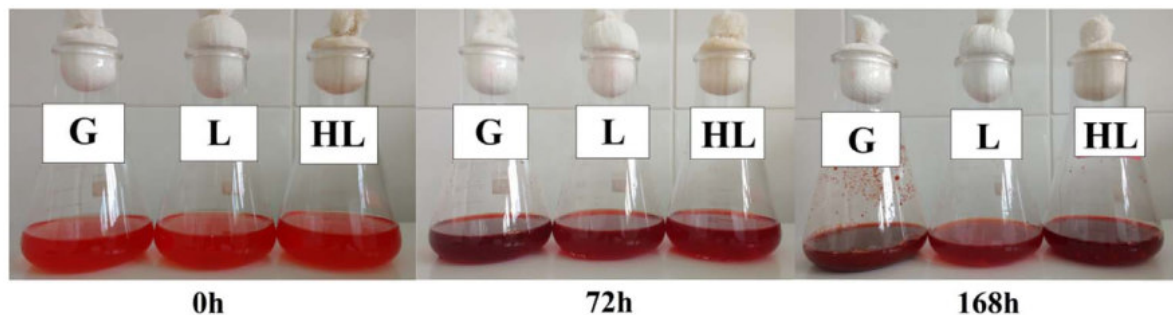
Fonte: Adaptado de Agboyibor et al. (2018).

Pigmentos de *Monascus* comumente apresentam-se como uma mistura de seus três componentes de cores (vermelho, laranja e amarelo), com a predominância dos compostos de cor vermelha (CHEN; WU, 2016). Os pigmentos vermelhos são de grande interesse em razão de suas propriedades antimicrobiana, antioxidante, antitumoral, citotóxica, imunossupressora e teratogênica (LIN et al., 2008). Têm sido isolados de outros pigmentos de *Monascus*, pois, na fabricação de alimentos, o pigmento vermelho é o mais empregado e difícil de ser obtido por fontes naturais (MANAN; MOHAMAD; ARIFF; 2017). Segundo Vendruscolo e colaboradores (2013), a proteína ou o aminoácido a que o pigmento vermelho está associado exerce uma forte influência na especificação desses pigmentos. Mostafa e Abbady (2014) relatam que os pigmentos vermelhos apresentam alta estabilidade em valores extremos de pH, elevada intensidade de luz e em temperaturas acima de 70 °C. Além disso, são altamente

solúveis em água e em álcool e são estáveis em meios com elementos como cálcio, cobre, ferro e magnésio.

Na Figura 3, observa-se a produção de pigmentos vermelhos por *Monascus ruber* CCT 3802 em diferentes meios e tempos de cultivo submerso, conforme reportado por Da Costa e Vendruscolo (2017). Os meios estudados continham diferentes fontes de carbono: glicose, lactose e lactose hidrolisada (glicose e galactose no mesmo meio como resultado da hidrólise). Observou-se que, após 72 horas de cultivo, a cor de cada meio foi bastante similar. Porém, após 168 horas de cultivo, foi possível verificar que a cor do meio contendo lactose estava significativamente mais clara que a cor dos meios contendo glicose e lactose hidrolisada, os quais apresentaram coloração semelhante entre si. O estudo obteve como resultado maior produção de pigmentos vermelhos em meio com lactose hidrolisada, demonstrando o benefício do processo de hidrólise ao consumo de lactose por *Monascus* (DA COSTA; VENDRUSCOLO, 2017).

Figura 3 – Produção de pigmentos vermelhos por *Monascus ruber* CCT 3802 em meios de cultivo com glicose (G), lactose (L) e lactose hidrolisada (HL) nos tempos 0, 72 e 168 horas de cultivo submerso



Fonte: Da Costa; Vendruscolo (2017).

Dentre os mais de 50 pigmentos de *Monascus* identificados, cerca de 20 são pigmentos amarelos, sendo eles hidrofóbicos ou hidrofílicos. Mostraram boa resistência à fotodegradação, a valores extremos de pH, bem como boa estabilidade térmica. Os pigmentos hidrofílicos apresentaram resistência a íons metálicos em diferentes valores de pH. Além disso, possuem propriedades benéficas à saúde – estão relacionados à redução de diabetes e de obesidade –, assim como amplas aplicações na indústria de alimentos. Em virtude dessas características, esses pigmentos possuem elevado potencial de serem empregados como alimentos funcionais (CHEN; WU, 2016). Na Figura 4, observa-se a imagem de um pigmento amarelo em pó produzido por *Monascus ruber* M7.



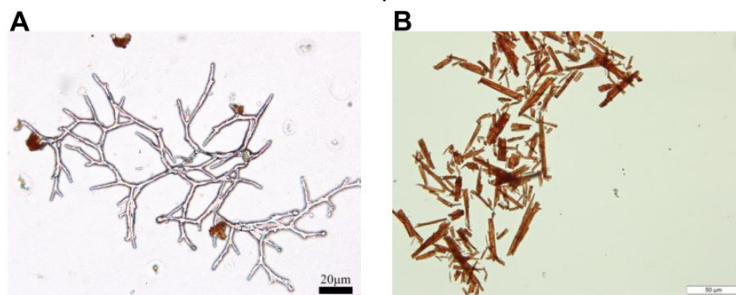
Figura 4 – Pigmento amarelo produzido por *Monascus ruber* M7



Fonte: Liu et al. (2016).

Os principais pigmentos laranja, monascorubrina e rubropunctatina, apresentam alta sensibilidade ao calor, à faixa de pH entre 2,00 e 10,00 e à luz. Havendo compostos contendo grupo amino, como aminoácidos, proteínas e ácidos nucleicos no meio, os pigmentos laranja são convertidos em pigmentos vermelhos solúveis em água (MOSTAFA; ABBADY, 2014). Porém, os pigmentos laranja monafilol A-D inibem carcinoma de laringe e adenocarcinoma de cólon em humanos e são antioxidantes (AGBOYIBOR et al., 2018). Na Figura 5, encontram-se imagens de micélio produtor de pigmentos laranjas extracelulares, bem como a imagem de cristais de pigmentos.

Figura 5 – Produção de pigmentos laranja extracelulares de *Monascus*. (A) morfologia de micélio de uma cultura submersa (barra = 20  $\mu$ m); (B) cristais de pigmentos laranjas em formato de agulha (barra = 50  $\mu$ m)



Fonte: Liu et al. (2018).

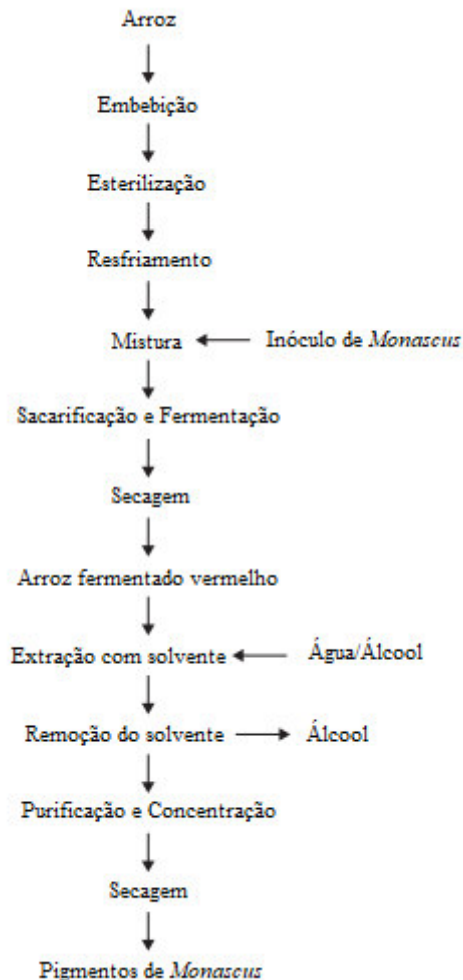
Metabólitos incolores de *Monascus* não serão abordados em detalhe nesse trabalho, pois o tema em questão abrange pigmentos a serem utilizados na indústria de alimentos. Como metabólitos incolores não emitem cor no espectro de luz visível, não possuem potencial de serem utilizados como pigmentos naturais. Todavia, é válido mencionar que alguns desses metabólitos, como monascopiridinas e xantomonasinas, contribuem a propriedades terapêuticas de pigmentos vermelhos de *Monascus* (RADU et al., 2011).

### **3 CONDIÇÕES DE CULTIVO DE *MONASCUS* PARA PRODUÇÃO DE PIGMENTOS: FERMENTAÇÃO EM ESTADO SÓLIDO, FERMENTAÇÃO SUBMERSA E O USO DE CÉLULAS IMOBILIZADAS**

A produção de pigmentos de *Monascus* em grande quantidade possui um custo elevado e, portanto, para que a substituição de pigmentos sintéticos seja favorecida na indústria, é necessário desenvolver processos de baixo custo (AGBOYIBOR et al., 2018). Uma condição de cultivo com características que podem satisfazer tal objetivo é a fermentação em estado sólido, a qual é altamente adequada ao desenvolvimento de fungos, pois o crescimento de suas hifas ocorre sobre o substrato, podendo este se tratar de resíduos agrícolas, reduzindo o custo da produção (MANAN; WEBB, 2017; SADH; DUHAN; DUHAN, 2018). Exemplos de materiais utilizados são farelo de arroz, torta de óleo de coco, bagaço de cana-de-açúcar, farelo de trigo, torta de óleo de gergelim, raspas de mandioca, farinha de semente de jaca, bagaço de cevada e polpa cítrica (EMBABY; HUSSEIN; HUSSEIN, 2018).

Nesse tipo de fermentação, o substrato ou suporte sólido empregado deve apresentar um teor de umidade suficiente para garantir o crescimento do microrganismo (SINGHANIA et al., 2017). Ademais, Hamid e Said (2016, 2018) e Suraiya e colaboradores (2018) comprovaram que o teor de umidade afeta a produção de pigmento e concluíram que o teor ótimo de umidade inicial é em torno de 50%. Se o teor de umidade for inferior ou superior, a produção de pigmento é reduzida. Os resultados dessa técnica são vantajosos, incluindo: alta produtividade de pigmentos com elevada concentração e estabilidade, repressão catabólica reduzida e baixo nível de esterilidade exigido (HÖLKER; HÖFER; LENZ, 2004; SEHRAWAT et al., 2017). Na Figura 6, está o esquema de um processo de fermentação em estado sólido, a partir de arroz, para produção de pigmentos de *Monascus*.

Figura 6 – Fluxograma da produção de pigmentos de *Monascus* por fermentação em estado sólido

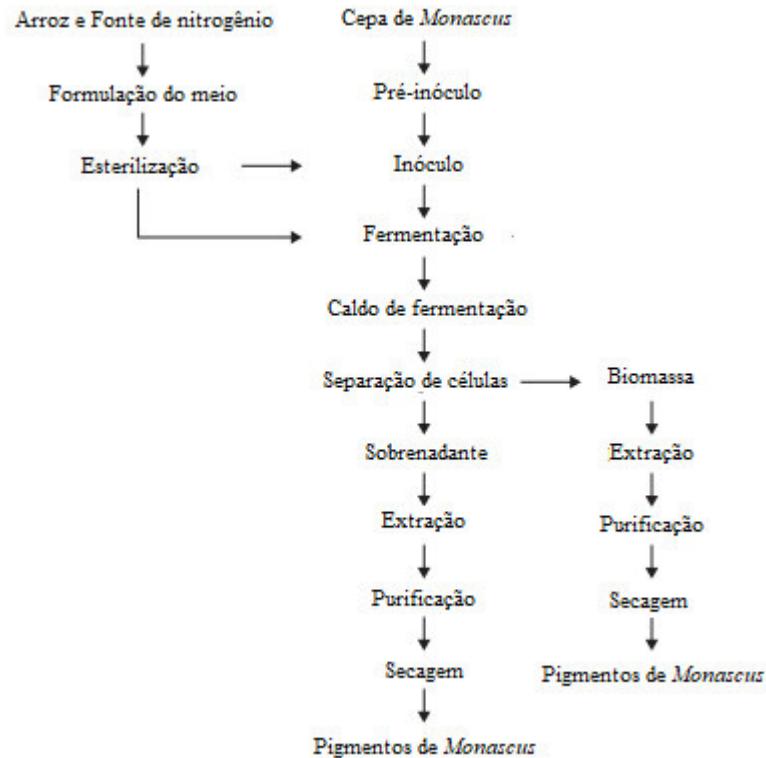


Fonte: Adaptado de Wang; Chen; Qi (2017).

Fermentação submersa é outra condição de cultivo estudada e aplicada, havendo, entretanto, limitações a serem superadas com esta opção. A composição, pH e agitação do meio em muito influenciam o rendimento de pigmentos; além disso, estes são em sua maioria retidos no interior das células, adicionando uma complexidade ao processo de produção (CHAUHAN, 2017; MANAN; MOHAMAD; ARIFF, 2017). Tais fatores têm demonstrado menor produção de pigmento em meio submerso em comparação ao cultivo em estado sólido, devido à inibição por produto. Todavia, essa técnica de cultivo apresenta vantagens e, portanto, é válido investir em estratégias que mitiguem suas limitações. O cultivo submerso de *Monascus* apresenta o potencial de superar desvantagens do cultivo em estado sólido como baixo rendimento, necessidade significativa de mão de obra, tempo e área de cultivo. Há também um grande interesse nessa técnica em razão do controle que pode ser exercido sobre o cultivo (SOCCOL et al., 2017; VENDRUSCOLO et al., 2016). Na Figura 7, está o esquema

de um processo de fermentação submersa, utilizando arroz como substrato para produção de pigmentos de *Monascus*.

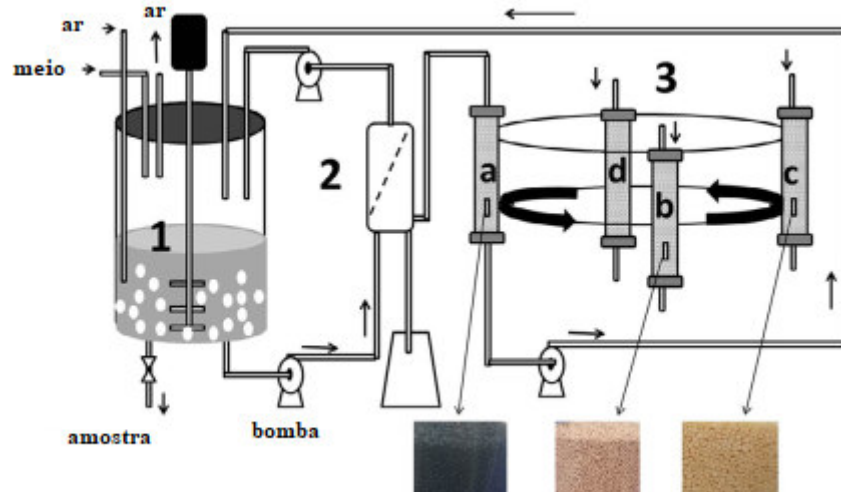
Figura 7 – Fluxograma da produção de pigmentos de *Monascus* por fermentação submersa



Fonte: Adaptado de Wang; Chen; Qi (2017).

O cultivo com células imobilizadas tem se mostrado promissor por apresentar maior produção e menor custo em relação às condições de cultivo com células livres (GUNGORMUSLER-YILMAZ et al., 2016; SEKOAI et al., 2018; ROUF; KANOJIA; NAIK, 2017). Liu e colaboradores (2019) realizaram um estudo com células de *Monascus* imobilizadas e elaboraram um sistema de fermentação e separação simultâneo (esquema na Figura 8), que obteve maior produtividade de pigmento extracelular comparado a cultivos em batelada convencionais. Outras vantagens da estratégia de cultivo com células imobilizadas são maior densidade celular por volume de reator, separação facilitada do meio, menor risco das células serem lavadas do reator durante o processo, fase de adaptação reduzida, maior índice de conversão de substrato em células ou produto, menor inibição por produto, menor tempo de cultivo e melhor controle de reprodução celular em relação a cultivos com células livres (AGBOYIBOR et al., 2018).

Figura 8 – Esquema do sistema de fermentação e separação simultâneo. (1) fermentação com células imobilizadas; (2) microfiltração e separação celular; (3) separação por adsorção de pigmentos extracelulares de *Monascus*; (a) coluna de adsorção; (b) coluna de dessorção; (c) coluna de regeneração; (d) coluna de pré-tratamento



Fonte: Adaptado de Liu et al. (2019).

Os suportes utilizados na imobilização das células por aprisionamento em gel, como o alginato de cálcio, oferecem diversas características vantajosas, como facilidade na preparação e realização do processo, sendo não dispendioso, além de apresentar elevada biocompatibilidade, baixo custo e boa disponibilidade no mercado. Todavia, apresenta desvantagens associadas à decomposição do gel, escape de células do suporte, baixa resistência mecânica e poros de grande tamanho. Tais desvantagens têm sido investigadas e técnicas de revestimento têm sido estudadas, para melhorar as propriedades de gel de alginato na imobilização de células (ELAKKIYA; PRABHAKARAN; THIRUMARIMURUGAN, 2016; ROUF KANOJIA; NAIK, 2017; SIMÓ et al., 2017).

#### 4 FATORES QUE INFLUENCIAM NO CULTIVO PARA PRODUÇÃO DE PIGMENTOS DE *MONASCUS*

Os principais fatores que influenciam a produção de pigmento por *Monascus* são fontes de carbono e nitrogênio, temperatura e pH. Esses parâmetros influenciam crescimento e metabolismo celular, secreção, quantidade e qualidade dos pigmentos. As melhores fontes de nitrogênio para produção de pigmentos incluem cloreto e nitrato de amônio e glutamato (MANAN; MOHAMAD; ARIFF, 2017; YULIANA et al., 2017).

A suplementação com fonte de nitrogênio e sua concentração no meio de cultivo variam conforme o substrato utilizado; alguns substratos não necessitam de suplementação de nitrogênio por apresentarem composição suficiente de proteínas para promoção do crescimento celular e produção de pigmento, a exemplo do arroz para obtenção de angkak (arroz fermentado vermelho). Contudo, em cultivos empregando farinha de semente de jaca como substrato, a suplementação foi fundamental à produção de pigmentos solúveis em água (CARELS; SHEPHERD, 1978; JUNG et al., 2003).

A produção de pigmentos e o crescimento celular são afetados também pelo tipo de fonte de carbono empregado no cultivo. As mais indicadas para elevado crescimento celular, conjuntamente com elevada produção de pigmento, são glicose e oligossacarídeos. Entretanto, altas concentrações de glicose ( $50 \text{ g L}^{-1}$ ) geralmente promovem efeito contrário, além de produção indesejada de etanol (MANAN; MOHAMAD; ARIFF, 2017). Contudo, em elevada concentração de maltose ( $60 \text{ g L}^{-1}$ ) ou usando etanol como fonte de carbono, foi observada maior produção de pigmento comparado ao uso de glicose (HUAWEI et al., 2019; JUZLOVÁ et al., 1994).

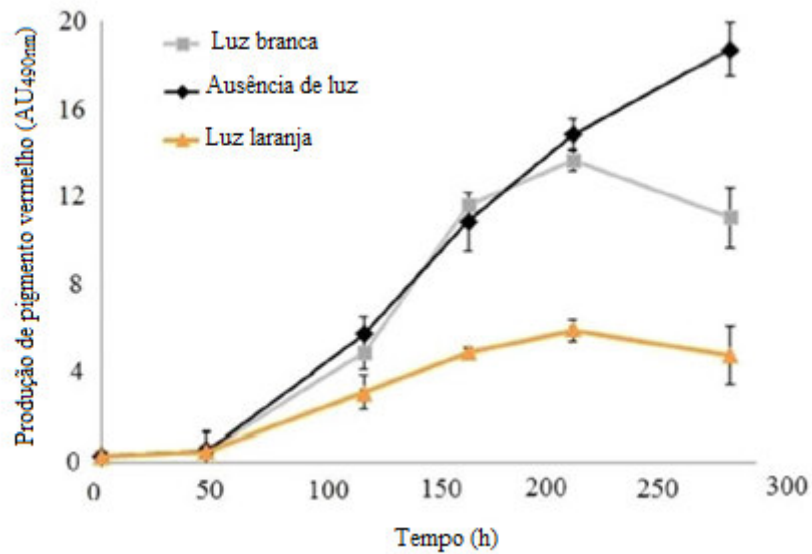
Uma faixa ótima de temperatura foi observada para diversas espécies de *Monascus*, variando de 25 a 37 °C, sendo que, em temperaturas mais elevadas, há uma redução na produtividade para a maioria das espécies de *Monascus* (MANAN; MOHAMAD; ARIFF, 2017).

De forma geral, o crescimento celular é inibido em pH inferior a 2,00 e superior a 8,50 (VELMURUGAN et al., 2011). Baixos valores de pH estimulam a produção de pigmentos amarelos e a faixa de pH entre 5,50 e 8,50 é considerada ótima para produção de pigmentos vermelhos, sendo que o pH mais favorável à produção de pigmentos laranja está abaixo de 4,00 (CHEN; WU, 2016; MOHAMED et al., 2012, PATROVSKY et al., 2019).

Em trabalho realizado por TERÁN HILARES e colaboradores (2018), observou-se a influência da luz visível na produção de pigmento vermelho por *Monascus ruber* em cultivo

submerso, utilizando hidrolisado de bagaço de cana-de-açúcar como substrato. Os resultados mostraram que a produção de pigmento mais expressiva ocorreu em ausência de luz, como se observa na Figura 9. Além disso, o biopigmento produzido apresentou elevada estabilidade térmica.

Figura 9 – Produção de pigmento vermelho por *Monascus ruber* em cultivo submerso contendo hidrolisado de bagaço de cana-de-açúcar



Fonte: Adaptado de Terán Hilares et al. (2018).

## **5 DESAFIOS DA PRODUÇÃO DE PIGMENTOS POR *MONASCUS* E ALTERNATIVAS PARA SUPERÁ-LOS**

Para viabilizar a produção industrial de pigmentos de *Monascus*, os microrganismos devem ser de natureza não patogênica e não tóxica, possuir capacidade de utilizar uma ampla gama de fontes de carbono e nitrogênio, possuir resistência à concentração de sal, temperatura e pH, produzindo efeito de cor plausível. Ademais, o processo geral deve ser simplificado para incluir menos etapas de extração (NIGAM; LUKE, 2016). Combinar todas essas características representa um desafio da produção de pigmentos de *Monascus* na obtenção de um processo ambientalmente amigável e economicamente viável.

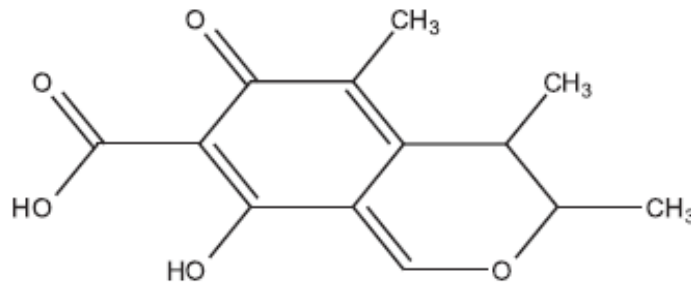
Antigamente, os pigmentos de *Monascus* eram produzidos por métodos rudimentares e identificados visualmente. Recentemente, métodos mais sofisticados e avançados foram desenvolvidos para a produção, detecção, identificação e determinação dos metabólitos, a fim de obter boa qualidade, alto rendimento, cor, estabilidade e segurança (MOSTAFA; ABBADY, 2014). Avanços na pesquisa têm demonstrado maneiras de superar os desafios da produção desses pigmentos.

### **5.1 O desafio da citrinina: segurança da aplicação industrial de pigmentos de *Monascus***

Citrinina é uma micotoxina: metabólito secundário de efeito tóxico produzido por fungos. Fungos do gênero *Monascus* produzem esse metabólito conjuntamente com a produção de pigmentos (LIANG et al., 2018; PATROVSKY et al., 2019). Trata-se de uma micotoxina nefro-hepatotóxica, pois compromete a estrutura e a função dos rins, assim como a função e o metabolismo do fígado (BOVDISOVA et al., 2016; MARIAPPAN et al., 2018). Tais propriedades têm limitado a utilização de *Monascus* na indústria alimentícia, seja na fabricação direta de alimentos ou na produção de pigmentos naturais adicionados a alimentos (NING et al., 2017). Por ser produzida por *Monascus*, além de outros fungos como os do gênero *Penicillium*, a citrinina (estrutura química na Figura 10) é uma toxina relacionada à contaminação por alimentos estocados por muito tempo, a exemplo de arroz, cevada, milho, nozes e trigo (DE OLIVEIRA FILHO et al., 2017).



Figura 10 – Estrutura da citrinina, micotoxina produzida por *Monascus*



Fonte: Adaptado de Cheng et al. (2010).

Japão, EUA e países europeus determinaram na legislação um limite na concentração de citrinina em produtos de *Monascus* (LIANG et al., 2018). As legislações europeia e japonesa estabeleceram a concentração máxima de citrinina em 2000  $\mu\text{g kg}^{-1}$  de suplemento alimentar e 0,2  $\mu\text{g g}^{-1}$  de pigmento de *Monascus* (NING et al., 2017). Por sua vez, a legislação nos EUA definiu as seguintes concentrações limites de citrinina: 200  $\mu\text{g L}^{-1}$  de pigmentos de *Monascus*, 5  $\text{mg L}^{-1}$  de arroz fermentado vermelho e 2  $\text{mg L}^{-1}$  de alimentos que contenham arroz vermelho fermentado (MOGHADAM et al., 2019). Dessa forma, a presença de citrinina dificulta a exportação de produtos de *Monascus*, tornando-se relevantes as estratégias para a obtenção desses produtos sem a presença de citrinina (LIANG et al., 2018).

No Brasil, há legislação para algumas micotoxinas como aflatoxinas (BRASIL, 2011). Para a citrinina não há legislação atualmente no Brasil, contudo a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) publicou em 2019 um edital de chamamento para auxiliar na definição e na atualização das concentrações toleradas de contaminantes nos alimentos. Da lista de contaminantes no edital, constava a citrinina (BRASIL, 2019). O prazo para envio das contribuições encerrou em janeiro de 2020, e até junho de 2020 não havia publicação sobre o resultado do edital.

Pesquisas têm sido desenvolvidas e têm-se demonstrado que mudanças nos parâmetros de cultivo, como a composição do meio de cultura de *Monascus*, têm intensificado a produção de pigmentos e reduzido a produção de citrinina (HONG et al., 2020; HU et al., 2017; PATROVSKY et al., 2019; ZHEN et al., 2019). Uma pesquisa realizada por Moghadam e colaboradores (2019) sugeriu um tratamento térmico e o uso de *Saccharomyces cerevisiae* para remover citrinina por adsorção de uma cepa de *Monascus purpureus*. A máxima adsorção de citrinina, de 4,43  $\text{mg L}^{-1}$  para 0,01  $\text{mg L}^{-1}$ , ocorreu a 121°C em uma concentração celular de *S. cerevisiae* igual a  $10^5$  células  $\text{mL}^{-1}$ .

Em outra pesquisa, realizada por Kang e colaboradores (2014), a produção de citrinina foi influenciada pelos valores de pH: em baixo pH (inferior a 3,00), não houve produção desta micotoxina. Tal resultado foi observado independentemente da fonte de nitrogênio empregada, ou seja, a baixos valores de pH, a fonte de nitrogênio não teve efeito sobre a inibição de citrinina. Porém, outra etapa da pesquisa mostrou o efeito de fontes de nitrogênio sobre a produção da toxina, que está relacionado aos valores de pH do meio ao final do cultivo. Observou-se que, ao utilizar  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  como fonte de nitrogênio, o pH do meio atingiu valores baixos e, conseqüentemente, não houve produção de citrinina. Contudo, ao utilizar  $\text{NaNO}_3$  como fonte de nitrogênio, o meio atingiu maior valor de pH, constatando-se produção deste composto. Esse resultado foi observado em diferentes concentrações das fontes de nitrogênio, mostrando que a fonte de nitrogênio utilizada no cultivo influencia o pH final do meio e esse valor regula a produção de citrinina.

Modificações genéticas têm sido uma alternativa importante à inibição ou redução da produção de citrinina por *Monascus*. O gene responsável pela síntese da citrinina, relacionado à enzima policetídeo sintase, tem sido estudado em *Monascus purpureus* e resultados promissores foram obtidos. Utilizando a cepa industrial de *M. purpureus* SM001, o gene da policetídeo sintase – pksCT – foi clonado de forma bem sucedida, com a finalidade de suprimir a produção de citrinina (SEN; BARROW; DESHMUKH, 2019). A regulação de genes participantes da síntese da citrinina é uma alternativa a ser considerada, pois, conforme Ning e colaboradores (2017) descreveram, a deleção do gene *ctnE*, que codifica uma proteína desidrogenase em *M. aurantiacus*, ocasionou na redução da produção de citrinina em 96% e no aumento da produção de pigmentos em 40%, em relação ao controle. Tal resultado sugeriu a existência de certa conexão entre as vias metabólicas de síntese de citrinina e de pigmentos.

Além da modificação genética, há a abordagem de seleção de cepas mutagênicas. Ketkaeo e colaboradores (2019), por exemplo, selecionaram uma cepa mutante que apresentou 80% de redução na produção de citrinina e capacidade de produção de pigmento vermelho similar à cepa selvagem.

Uma estratégia que tem se mostrado eficiente para a remoção de citrinina faz uso de denominadas nanopartículas de Maghemita com Superfície Ativa (SAMNs). Tratam-se de partículas magnéticas que possuem em sua superfície regiões de átomos de ferro (III). O princípio da técnica baseia-se na capacidade da citrinina de competir por metais de transição quelantes, a qual foi demonstrada por Da Lozzo e colaboradores (2002) em solução aquosa contendo ferro (III). Tal capacidade ocorre em razão da presença de uma forte característica quelante na molécula de citrinina, denominada de grupo ceto-enol. Logo, na superfície de

SAMNs, há regiões contendo átomos de ferro (III) subcoordenados, que reagem com citrinina, formando um complexo, e assim a micotoxina pode ser removida do meio de cultivo (MAGRO et al., 2016). A técnica citada apresenta vantagens em relação a outras técnicas envolvendo nanotecnologia, pois, para obter uma suspensão de coloides estável, não são necessários processos de revestimento ou ajustes na superfície das nanopartículas e sua síntese ocorre em água, sendo desnecessário o uso de solventes (MAGRO et al., 2012). A eficácia da técnica foi demonstrada em suspensão de *Monascus* e essa nanotecnologia tem se mostrado a mais eficiente na remoção de citrinina do meio de cultivo de *Monascus*, atuando como um mecanismo magnético estável com aplicação na indústria alimentícia.

## 5.2 Demais desafios da produção em larga escala

Os principais pigmentos de *Monascus* possuem alta solubilidade em álcoois (etanol e metanol), ácido acético e reagentes orgânicos como n-hexano, porém são pouco solúveis em água (WANG, CHEN, QI, 2017). Sabe-se que após reações de glicosilação ou de acilação, os pigmentos tornam-se solúveis em água e seus derivados são encontrados no meio extracelular (HAJJAJ et al., 1997). Outros métodos foram desenvolvidos para tornar os pigmentos solúveis em água, como sulfonação (LIU et al., 2020) e fermentação com elevada concentração de glicose (WANG et al., 2017). Métodos para aumentar sua solubilidade em água, utilizando goma arábica em condição ácida (JIAN; SUN; WU, 2016) e mudando o potencial de oxirredução do meio extracelular também foram desenvolvidos (HUANG et al., 2017). Pigmentos vermelhos, entretanto, costumam apresentar maior solubilidade em água, em função da etapa de aminação em sua via de síntese (LIU et al., 2020).

Pigmentos de *Monascus* são sensíveis à luz, sendo os pigmentos amarelos mais fotoestáveis que os vermelhos. Além disso, os pigmentos solúveis em água bem como os complexados – que reagiram principalmente com aminoácidos – demonstraram maior estabilidade à luz que os pigmentos principais (WANG, CHEN, QI, 2017). Segundo Jung e colaboradores (2011), a meia-vida de pigmentos complexados, derivados de aminoácidos, foi de 1,45 a 5,58 horas; em contrapartida, a meia-vida dos pigmentos originais foi de apenas 0,22 horas. Nanoencapsulamento tem sido utilizado para aumentar a fotoestabilidade dos pigmentos. Matsuo e colaboradores (2018) empregaram nanopartículas do copolímero poli (ácido lático-co-ácido glicólico) (PLGA) para aumentar a fotoestabilidade de pigmentos de *Monascus*. Íons metálicos também afetam a estabilidade, sendo que pigmentos hidrofílicos podem ser mais resistentes a metais como  $Mg^{2+}$ ,  $Sn^{2+}$ ,  $Ca^{2+}$ ,  $Fe^{3+}$ , e  $Al^{3+}$  (CHEN; WU, 2016).

Outros desafios estão relacionados à extração e purificação de pigmentos. Assim, métodos reportando melhor eficiência tanto na extração quanto na purificação de pigmentos têm sido desenvolvidos. Um trabalho realizado por Chen, G. e colaboradores (2017) utilizou fermentação extrativa com surfactantes não iônicos, Tween – 80, Triton X – 100 e Span – 20, para produção e extração de pigmento de uma cepa de *Monascus anka*. Os resultados demonstraram maior extração de pigmentos com Triton X – 100. Entretanto, ainda é necessário avançar na obtenção de métodos para melhorar a extração e a purificação de pigmentos, por meio de metodologias mais simples, que utilizem menos tempo e energia ao atingir o maior rendimento possível (ARULDASS; DUFOSSÉ; AHMAD, 2018).

Há ainda mais desafios vinculados ao cultivo em larga escala, o qual considera, dentre outros fatores, o microrganismo, o substrato utilizado, a configuração do biorreator e o regime de fermentação - se descontínuo, descontínuo alimentado ou contínuo - para uma produção sustentável de biopigmentos (ARULDASS; DUFOSSÉ; AHMAD, 2018).

Diferentes espécies e cepas de microrganismos apresentam características diferentes que podem afetar a produção de pigmentos. Logo, a identificação dos microrganismos mais adequados favorece a viabilização da produção em escala industrial (WANG; CHEN; QI, 2018). Liu e colaboradores (2019) selecionaram uma cepa mutante de *Monascus purpureus*, M183, que produziu pigmentos extracelulares na concentração de 35,52 UA g<sup>-1</sup>, enquanto a cepa original de *Monascus purpureus*, LQ-6, produziu 14,19 UA g<sup>-1</sup> de pigmentos extracelulares. Suraiya e colaboradores (2018) realizaram um estudo e analisaram a produção de pigmentos por duas espécies de *Monascus*: *M. purpureus* e *M. kaoliang*. Houve pouca variação de produção entre ambas: aquela produziu 83,01, 80,07 e 79,87 UA g<sup>-1</sup> e esta produziu 83,23, 77,22 e 75,09 UA g<sup>-1</sup> de pigmentos amarelo, laranja e vermelho, respectivamente. Contudo, expostos a diferentes condições de *stress*, pigmentos vermelhos de *M. purpureus* apresentaram maior estabilidade que os pigmentos vermelhos de *M. kaoliang*.

O substrato tem participação importante no elevado custo global de produção de pigmentos microbianos. Visando à mitigação de custos, resíduos agroindustriais foram analisados como substratos na produção de pigmentos, a exemplo de bagaço de cana-de-açúcar, resíduos de uva e trigo (TERÁN HILARES et al., 2018; VENDRUSCOLO et al., 2016). Além de mitigar custos, são fontes de nutrientes e melhoram a produção de pigmentos. A utilização desses substratos também reduz o acúmulo de grandes quantidades de resíduos, contribuindo com o meio ambiente (ARULDASS; DUFOSSÉ; AHMAD, 2018).

Tomando como referência trabalhos cujo objetivo é aumentar a escala de produção de biopigmentos, o planejamento de um sistema de cultivo adequado, utilizando biorreator

apropriado para uso industrial é imprescindível para atingir uma alta produção de pigmento e satisfazer as demandas da indústria (ARULDASS; DUFOSSÉ; AHMAD, 2018). A produção de pigmentos em condições controladas em biorreatores é vantajosa ao fabricante, favorecendo mitigação de problemas de variações entre lotes (AKILANDESWARI; PRADEEP, 2016). Os parâmetros controlados pelos biorreatores, como temperatura, agitação, aeração, pH, oxigênio dissolvido, entre outros, devem ser ajustados de maneira pertinente a uma produção de pigmentos competitivos comercialmente (ARULDASS; DUFOSSÉ; AHMAD, 2018). De forma semelhante, a configuração do reator e suas partes devem ser otimizadas para uma produção eficiente. Por exemplo, o tipo de impelidor ou a taxa de aeração devem ser ajustados para uma ótima troca gasosa em um cultivo submerso (GMOSE et al. 2017).

Diferentes tipos de reatores são utilizados para produzir pigmentos de *Monascus*. Bandejas e tambores rotativos são comumente empregados em fermentação em estado sólido (PATAKOVA, 2013). Por sua vez, a produção por fermentação submersa faz uso frequente de reatores de tanque agitado e *air lift* (MANAN; MOHAMAD; ARIFF, 2017). Além do biorreator, é importante considerar o modo de condução do processo. Wang e colaboradores (2017), por exemplo, realizaram um cultivo de *Monascus ruber* em batelada alimentada com elevada concentração de glicose, para produzir pigmentos amarelos solúveis em água. A alta concentração de glicose de  $300 \text{ g L}^{-1}$  promoveu máxima produção de pigmento amarelo extracelular ( $\sim 120 \text{ UA}_{350} \text{ mL}^{-1}$ ) no 9º dia de fermentação.

A otimização dos processos de produção é também crucial à viabilização econômica e operacional de produtos em escala industrial. Uma abordagem que tem se destacado na otimização da produção de pigmentos é a utilização de ferramentas matemáticas e estatísticas como a metodologia de superfície de resposta (ARULDASS; DUFOSSÉ; AHMAD, 2018). Por meio dessa metodologia é possível analisar diversas variáveis e resolver equações de múltiplas variáveis, a fim de reduzir o número de ensaios necessários, o que pode resultar no aprimoramento do produto e na mitigação da variabilidade e dos custos gerais (SEN; BARROW; DESHMUKH, 2019). Hamid e Said (2018) otimizaram a produção de pigmento vermelho por *Monascus purpureus* FTC 5356, utilizando pecíolos de folhas de dendezeiros como substrato e fermentação em estado sólido. Interações entre três variáveis foram modeladas: conteúdo inicial de umidade, valor inicial de pH e concentração de peptona. O resultado da otimização foi a produção máxima de pigmento de  $47 \text{ UA g}^{-1}$  com 55% de umidade inicial, 3% de peptona e pH 3,00. O resultado foi validado experimentalmente e os autores realizaram um planejamento composto central.

## 6 APLICAÇÃO NA INDÚSTRIA DE ALIMENTOS

Segundo a ANVISA, autarquia responsável pelo controle sanitário no país, aditivos alimentares são ingredientes adicionados aos alimentos com o objetivo de modificar suas características, como conservantes, corantes e aromatizantes (AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA, 2019). Os pigmentos de *Monascus* são utilizados, na indústria alimentícia, como aditivos alimentares naturais por apresentarem variadas funções: são antioxidantes, conservantes e intensificadores de cor, aroma e sabor (AGBOYIBOR et al., 2018; MOSTAFA; ABBADY, 2014).

A característica antioxidante está na capacidade de capturar radicais livres. Logo, tal característica é importante, pois retarda a oxidação dos alimentos (NIGAM; LUKE, 2016). Outrossim, substâncias antioxidantes, quando adicionadas a alimentos, geram benefícios à saúde, pois doenças crônicas como câncer e doenças autoimunes estão associadas à presença de radicais livres no organismo (ZENG et al., 2019). A propriedade antioxidante está relacionada à intensidade da cor; logo, a intensidade é um parâmetro relevante na análise dessa propriedade (KONGBANGKerd et al., 2014). Os pigmentos de *Monascus* costumam ser utilizados como conservantes em frutas, vegetais e peixes (YULIANA et al., 2017).

Considerando a solubilidade em água e sua natureza extracelular, os pigmentos vermelhos têm sido empregados no processamento de carnes, como substitutos de nitrito, o qual é utilizado com a função de intensificar a cor dos alimentos (CHEN et al., 2019). Na Europa, pigmentos de *Monascus* têm sido empregados como conservantes e intensificadores de cor em produtos à base de carne e de aves, incluindo salsichas, patês e presunto, substituindo parcialmente sais de nitrato e de nitrito (CHEN, W. et al., 2017). De forma semelhante, arroz fermentado vermelho é utilizado para intensificar a cor em iogurtes (AGBOYIBOR et al., 2018).

Fungos *Monascus*, além de conferir cor, também podem atribuir sabor e aroma aos alimentos, pois produzem diversos metabólitos como álcoois, ácidos orgânicos e compostos aromatizantes. Assim, a adição de pigmentos pode promover sabor e aroma específicos aos alimentos (KUMAR et al., 2015).

Há dois processos principais de produção de pigmentos de *Monascus* atualmente: fermentação em estado sólido e fermentação submersa. Sendo a fermentação em estado sólido o método tradicional de produção. Entretanto, características do processo podem variar. Na China, a fermentação em estado sólido ocorre em grandes bandejas em um ambiente com umidade e temperatura controladas por, aproximadamente, 20 dias. Já na Indonésia, a

fermentação é conduzida em jarras ou garrafas de vidro por 14 dias. O substrato é comum entre ambos os processos, o qual se trata de arroz, produzindo então o arroz fermentado vermelho ou angkak (SINGGIH; JULIANTI, 2015).

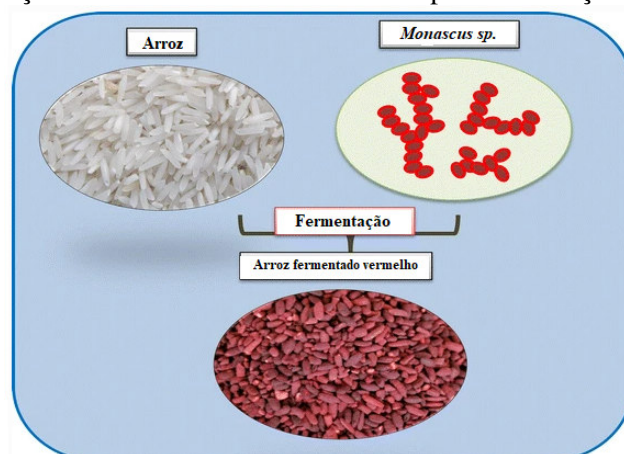
De acordo com Singgih e Julianti (2015), o arroz fermentado vermelho pode ser usado diretamente como agente corante em alimentos ou como matéria-prima para extração do pigmento. Todavia, se o processo empregado for fermentação submersa, o pigmento deve ser primeiramente extraído e então usado como agente corante. Fermentação submersa é a forma de cultivo mais adequada quando há o objetivo de separar as biomoléculas produzidas após a fermentação.

### 6.1 Da culinária doméstica ancestral à indústria alimentícia contemporânea

O gênero *Monascus* tem estado presente na culinária do leste asiático há milênios. Países como China, Coreia, Indonésia, Japão e Filipinas utilizam alimentos fermentados por *Monascus* muito antes de sua descoberta em 1884 por van Tieghem (KIM; KU, 2018). Os pigmentos são tradicionalmente encontrados em alimentos, como tofu, vinho tinto de arroz e arroz fermentado vermelho (CHEN, W. et al., 2017).

O arroz fermentado vermelho, alimento fermentado por *Monascus*, foi primeiramente registrado na literatura chinesa no final do século XVI, caracterizando-o como importante agente corante, aromatizante, conservante e terapêutico (KIM; KU, 2018; WANG; CHEN; QI, 2017). É conhecido como Hongqu na China, Koji no Japão e Red Mold Rice nos Estados Unidos (LIU et al., 2019). Na Figura 11, observa-se um esquema da formação do arroz fermentado vermelho.

Figura 11 – Obtenção de arroz fermentado vermelho por fermentação com *Monascus* sp



Fonte: Adaptado de Patel (2016).

Na década de 80, na China, foi emitida a Norma Estadual para Levedura de Arroz Vermelho (GB 4926-85) diante da aplicação de arroz fermentado vermelho como corante na fabricação de salsicha. Tal emissão expandiu a produção industrial de arroz fermentado vermelho por fermentação em estado sólido na época. Já na década de 90, tanto a cultura submersa de *Monascus* sp. quanto a extração de pigmentos vermelhos de *Monascus* com solução aquosa de etanol foram realizadas de forma bem sucedida. Assim, a utilização desses pigmentos em vez de arroz vermelho fermentado como corante melhorou significativamente sua qualidade. Desde então, novas normas estaduais (GB 15961-1995; GB 15961-2005; GB 1886.181-2016) foram emitidas pelo governo chinês. Atualmente, o tamanho de mercado de pigmentos vermelhos de *Monascus* como aditivo alimentar é de aproximadamente um bilhão de renmimbis (moeda oficial chinesa) ou 145 milhões de dólares e pelo menos cinco empresas de biotecnologia na China têm direcionado o foco de investimento nos pigmentos vermelhos de *Monascus* como seu principal produto comercial (HUANG et al., 2019).

Em virtude da excelente estabilidade e alta solubilidade em água dos pigmentos vermelhos de *Monascus*, o governo chinês emitiu uma norma para produção comercial desses pigmentos (Red Monascus Pigment®, GB 5009.150-2016). O Red Monascus Pigment® tem sido amplamente utilizado como aditivo alimentar. Pigmentos amarelos, produzidos pela sulfonação do Red Monascus Pigment®, também foram aprovados pelo governo chinês como corante alimentar comercial (Yellow Monascus Pigment®, GB 1886.66–2015). Yellow Monascus Pigment® tem sido produzido por várias empresas na China (LIU et al., 2020).

Não mais apenas na China, os pigmentos de *Monascus* têm apresentado alto valor econômico e atraído atenção em todo o mundo como corante. Apresentam diversas vantagens, como: podem ser facilmente produzidos em substratos baratos, possuem propriedades bioativas e são completamente seguros se produzidos sob condições específicas (VENDRUSCOLO et al., 2016).

Atualmente, mais de 50 patentes foram emitidas no Japão, Estados Unidos, França e Alemanha, quanto ao uso de pigmentos de *Monascus* em produtos alimentares (RAO; XIAO; LI, 2017). Estima-se que a produção anual de pigmentos de *Monascus* seja de quase 20000 toneladas somente na China e que mais de um bilhão de pessoas comam produtos contendo esses pigmentos diariamente (CHEN, W. et al., 2017).

Na China, empresas como Shandong Zhonghui Food Company, Tianyi Biological Engineering Company Limited, Nanping Lv Feng Red Rice Limited Company, entre outras produzem pigmentos de *Monascus*, arroz fermentado vermelho, além de outros produtos (LIAN et al., 2015). Tianyi Biological Engineering Company Limited possui uma produção



cujo rendimento ótimo é de até 1500 UA g<sup>-1</sup> de pigmento vermelho e 4000 UA g<sup>-1</sup> de arroz fermentado vermelho. Seus produtos foram testados e foi certificado que o teor de citrinina atende aos requisitos das normas de aditivos alimentares coreanas e japonesas (TIANYI BIOTECH.,CO.LTD.DONGGUAN, s.d.). A empresa Shandong Zhonghui Food Company exporta seus produtos para mais de 50 países e obtém bom feedback (SHANDONG ZHONGHUI FOOD CO., LTD., s.d.).

Assim, vê-se que a produção de pigmentos de *Monascus* no Oriente é explorada há anos, porém ainda muito tímida no Ocidente. Embora demonstrado que os pigmentos não são tóxicos se produzidos sob condições adequadas, agências reguladoras ocidentais têm se apresentado relutantes a seguir o exemplo de países orientais (DUFOSSÉ, 2005).

## 6.2 Legislações sobre utilização de produtos microbianos

O avanço da ciência contribuiu à conscientização da população quanto aos riscos à saúde e ao meio ambiente que o consumo e a produção de corantes sintéticos podem provocar. Diante disso, as indústrias produtoras de corantes artificiais têm sofrido a cobrança dos órgãos reguladores e dos consumidores, tornando-se menos favoráveis à produção de corantes sintéticos e seguindo a tendência de consumo de produtos naturais (MEINICKE, 2008; TOCI; ZANONI, 2016). Prova-se isso ao verificar os corantes permitidos em diversos países. Nos países da União Europeia, 25 corantes alimentícios são de origem natural (ou idênticos aos encontrados na natureza), enquanto 15 são sintéticos. Nos EUA, 35 corantes são naturais (ou idênticos aos naturais) e nove são sintéticos. Na Índia, 11 são naturais, ou idênticos aos naturais, e oito são sintéticos. No Japão, 12 corantes sintéticos são permitidos, e, na China, 11 (OPLATOWSKA-STACHOWIAK; ELLIOTT, 2017). No Brasil, 11 corantes sintéticos alimentícios são permitidos. Em contrapartida, na Noruega, corantes sintéticos não são permitidos (TOCI; ZANONI, 2016). No continente norte-americano, grandes empresas como General Mills, Nestlé e Kraft anunciaram planos de utilização de corantes naturais.

A fim de acompanhar a tendência de maior produção de corantes naturais, pigmentos sintetizados por microrganismos têm sido abordados pela pesquisa, bem como produzidos por indústrias, como mostra a Tabela 3. Exemplos notáveis são  $\beta$ -caroteno produzido pelo fungo *Blakeslea trispora*, fabricado em larga escala em países como EUA, Canadá, Austrália, Nova Zelândia e países da União Europeia; o corante vermelho Arpink Red, uma antraquinona produzida por *Penicillium oxalicum* regularizada por comissão do *Codex Alimentarius*; riboflavina, pigmento amarelo produzido por diversos microrganismos como o fungo *Ashbya*

*gossypii* e de uso permitido na maioria dos países; e pigmento de *Monascus*, de cor vermelha, chamado “Anka”, utilizado tradicionalmente em alimentos na Ásia (DUFOSSÉ, 2016, 2018).

Tabela 3 – Produção de pigmentos por microrganismos

Molécula	Cor	Microrganismo	Situação
<b>Ankaflavina</b>	Amarelo	<i>Monascus</i> sp. (fungo)	PI
<b>Antraquinona</b>	Vermelho	<i>Penicillium oxalicum</i> (fungo)	PI
<b>Astaxantina</b>	Vermelho – rosa	<i>Xanthophyllomyces dendrorhous</i> (levedura)	ED
<b>Astaxantina</b>	Vermelho – rosa	<i>Agrobacterium aurantiacum</i> (bactéria)	PP
<b>Astaxantina</b>	Vermelho – rosa	<i>Paracoccus carotinifaciens</i> (bactéria)	PP
<b>Cantaxantina</b>	Vermelho escuro	<i>Bradyrhizobium</i> sp. (bactéria)	PP
<b>Cantaxantina</b>	Vermelho escuro	<i>Haloferax alexandrinus</i> (bactéria)	PP
<b>Cantaxantina</b>	Vermelho escuro	<i>Gordonia jacobea</i> (bactéria)	ED
<b>Licopeno</b>	Vermelho	<i>Blakeslea trispora</i> (fungo)	ED
<b>Licopeno</b>	Vermelho	<i>Fusarium sporotrichioides</i> (fungo)	PP
<b>Melanina</b>	Preto	<i>Saccharomyces neoformans</i> var. <i>nigricans</i> (levedura)	PP
<b>Monascorubramina</b>	Vermelho	<i>Monascus</i> sp. (fungo)	PI
<b>Naphtoquinona</b>	Vermelho sangue	<i>Cordyceps unilateralis</i> (fungo)	PP
<b>Riboflavina</b>	Amarelo	<i>Ashbya gossypii</i> (fungo)	PI
<b>Rubrolone</b>	Vermelho	<i>Streptomyces echinoruber</i> (bactéria)	ED
<b>Rubropunctatina</b>	Laranja	<i>Monascus</i> sp. (fungo)	PI
<b>Torularodina</b>	Laranja – vermelho	<i>Rhodotorula</i> sp. (levedura)	ED
<b>Zeaxantina</b>	Amarelo	<i>Flavobacterium</i> sp. (bactéria)	ED
<b>Zeaxantina</b>	Amarelo	<i>Paracoccus zeaxanthinifaciens</i> (bactéria)	PP
<b>Zeaxantina</b>	Amarelo	<i>Sphingobacterium multivorum</i> (bactéria)	PP
<b><math>\beta</math>-caroteno</b>	Amarelo – laranja	<i>B. trispora</i> (fungo)	PI
<b><math>\beta</math>-caroteno</b>	Amarelo – laranja	<i>F. sporotrichioides</i> (fungo)	PP
<b><math>\beta</math>-caroteno</b>	Amarelo – laranja	<i>Mucor circinelloides</i> (fungo)	ED
<b><math>\beta</math>-caroteno</b>	Amarelo – laranja	<i>Neurospora crassa</i> (fungo)	PP
<b><math>\beta</math>-caroteno</b>	Amarelo – laranja	<i>Phycomyces blakesleeanus</i> (fungo)	PP
<b>Desconhecido</b>	Vermelho	<i>Penicillium purpurogenum</i> (fungo)	ED
<b>Desconhecido</b>	Vermelho	<i>Paecilomyces sinclairii</i> (fungo)	PP

Legenda: Produção Industrial (PI), Estágio de Desenvolvimento (ED), Projeto de Pesquisa (PP)

Fonte: Adaptado de Dufossé (2016); Meinicke (2008)

Países como EUA, Japão e países europeus possuem legislações sobre a aplicação de produtos microbianos como aditivos em alimentos. Nos EUA, por exemplo, há 19 aditivos alimentares de origem microbiana aprovados e seis corantes extraídos de microrganismos aprovados (NIGAM; LUKE, 2016). Ainda nos EUA, a Food and Drug Administration (FDA), órgão norte-americano regulador do uso de aditivos alimentares, aprovou o único produto derivado de *Monascus* sp.: *Monascus* 8000F, uma monacolina produzida por *Monascus pilosus* (KIM; KU, 2018).

No Brasil, cabe ao Ministério da Saúde toda a legislação de aditivos alimentares, a qual é embasada em referências internacionalmente reconhecidas, como o *Codex Alimentarius*, a União Europeia e a U.S. Food and Drug Administration – FDA (BRASIL, 1997). A legislação brasileira sobre alimentos ou ingredientes que consistam ou sejam isolados de microrganismos – como a spirulina de cianobactérias e beta-glucana de *Saccharomyces cerevisiae* – consta da Resolução n. 16/1999 sobre novos alimentos ou ingredientes (BRASIL, 1999). As enzimas ou preparações enzimáticas são consideradas coadjuvantes de tecnologia e regulamentadas pelas Resoluções 53/2014 e 54/2014 (BRASIL, 2014a,b). Coadjuvantes de tecnologia são substâncias empregadas intencionalmente na elaboração de matérias-primas, alimentos ou seus ingredientes, para uma finalidade tecnológica no tratamento ou na fabricação (AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA, 2019). A Instrução Normativa 28/2018 estabelece listas de constituintes e limites de uso de suplementos alimentares como extrato de levedura (*Saccharomyces cerevisiae*) (BRASIL, 2018).

A legislação brasileira não aborda especificamente sobre corantes de origem microbiana. Conforme artigo 10 do Decreto nº 55.871, de 26 de março de 1965, corante natural é o pigmento ou corante extraído de substância vegetal ou animal (BRASIL, 1965). Contudo, visto novas tendências de consumo, a exemplo do mercado crescente de suplementos alimentares, o avanço na pesquisa biotecnológica e a maior adesão de empresas a aditivos naturais, produtos derivados de microrganismos serão cada vez mais contemplados na legislação nacional e internacional.

### **6.3 Propriedades bioativas**

Na atualidade, a sociedade tem buscado nos alimentos não apenas um meio para saciar a fome e suprir suas necessidades nutricionais. Os consumidores também visam, por meio da alimentação, combater doenças e melhorar a qualidade de vida. Nesse contexto, os alimentos

funcionais – também conhecidos como superalimentos, alimentos nutraceuticos ou suplementos alimentares – têm conquistado cada vez mais espaço no mercado e conduzido as ações do setor alimentício de países desenvolvidos. Tais alimentos se caracterizam por complementar a alimentação ao fornecer nutrientes adicionais e neutralizar problemas de saúde (KIM; KU, 2018). Estima-se que o mercado de alimentos funcionais crescerá nos próximos anos, ultrapassando o valor de 275 bilhões de dólares em 2025, em virtude do crescente interesse do consumidor por uma alimentação saudável (GRAND VIEW RESEARCH, 2019).

Há muitos anos, civilizações asiáticas fazem uso do fungo *Monascus* e aproveitam seus benefícios, que vão além de aditivos alimentares. Em 1590, foi publicada a clássica monografia chinesa sobre ervas medicinais Ben Cao Gang Mu (Guia de Medicamentos), a qual documenta a utilização do fungo como alimento e medicamento. A obra traz registros sobre o arroz fermentado vermelho, o qual estimulava a circulação sanguínea e a digestão, além de prevenir contra problemas gástricos e intestinais (WANG; CHEN; QI, 2017).

Além desses efeitos terapêuticos, na Figura 12, estão compiladas outras propriedades benéficas à saúde dos pigmentos de *Monascus* demonstradas em pesquisas, como efeitos contra câncer, diabetes, obesidade, antimicrobiano e outros efeitos (AGBOYIBOR et al., 2018; KIM; KU, 2018).

Pigmentos de *Monascus* têm demonstrado atividade promissora na prevenção e na terapia contra o câncer de diferentes tipos de células (RAO; XIAO; LI, 2017). Inclusive, verificou-se que o desenvolvimento de produtos alimentícios e farmacêuticos anticâncer a partir de *Monascus* pode diminuir a incidência e a mortalidade em humanos devido a câncer (AKILANDESWARI; PRADEEP, 2016).

Fármacos utilizados no tratamento de algumas doenças, como a aterosclerose – doença caracterizada pelo acúmulo de gordura e outras substâncias nas artérias – apresentam problemas de toxicidade. A aplicação de pigmentos de *Monascus* que se mostraram eficientes na diminuição dos níveis de colesterol no sangue é promissora por ser considerada menos tóxica (KIM; KU, 2018).

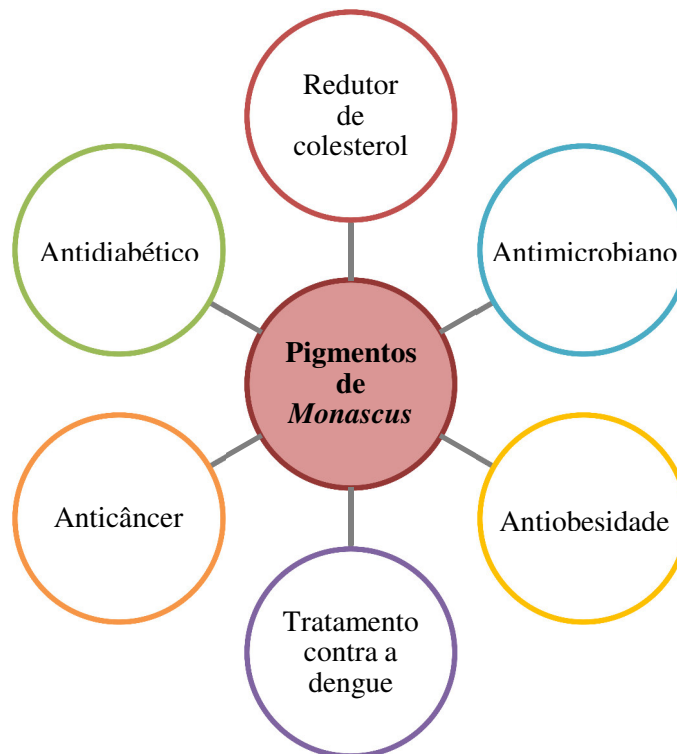
Atividade antibacteriana foi observada, condição que estimulou o uso de pigmentos de *Monascus* como substitutos ao nitrito no processamento de carne. Atividade antiviral foi registrada contra o vírus da hepatite C, sugerindo uma potencial alternativa aos tratamentos convencionais da doença (KIM; KU, 2018). Também foi demonstrada atividade antifúngica contra leveduras (CHEN; WU, 2016).

Depressão é considerada pela Organização Mundial da Saúde como uma das doenças sociais mais onerosas (MINISTÉRIO DA SAÚDE, c2020). Pigmentos de *Monascus*

apresentam eficácia antidepressiva similar à fluoxetina, medicamento indicado ao tratamento da depressão. Os pigmentos apresentam potencial em atuar sobre a dopamina no córtex frontal, melhorando sintomas da depressão (AGBOYIBOR et al., 2018). Quimicamente, a doença está associada à deficiência de neurotransmissores, como a dopamina, responsáveis pela sensação de bem-estar (MINISTÉRIO DA SAÚDE, c2020).

Foi demonstrado também o efeito significativo de extrato de *Monascus* sobre o tratamento de pessoas com dengue, cuja contagem no número de plaquetas foi aumentada (SINGGIH; JULIANTI, 2015). Assim, em um país como o Brasil, onde a dengue é considerada uma epidemia em diversos municípios, tal propriedade agrega ainda mais valor à aplicação de pigmentos de *Monascus* nas indústrias.

Figura 12 – Efeitos terapêuticos de pigmentos de *Monascus*



Fonte: Adaptado de Patel (2016).

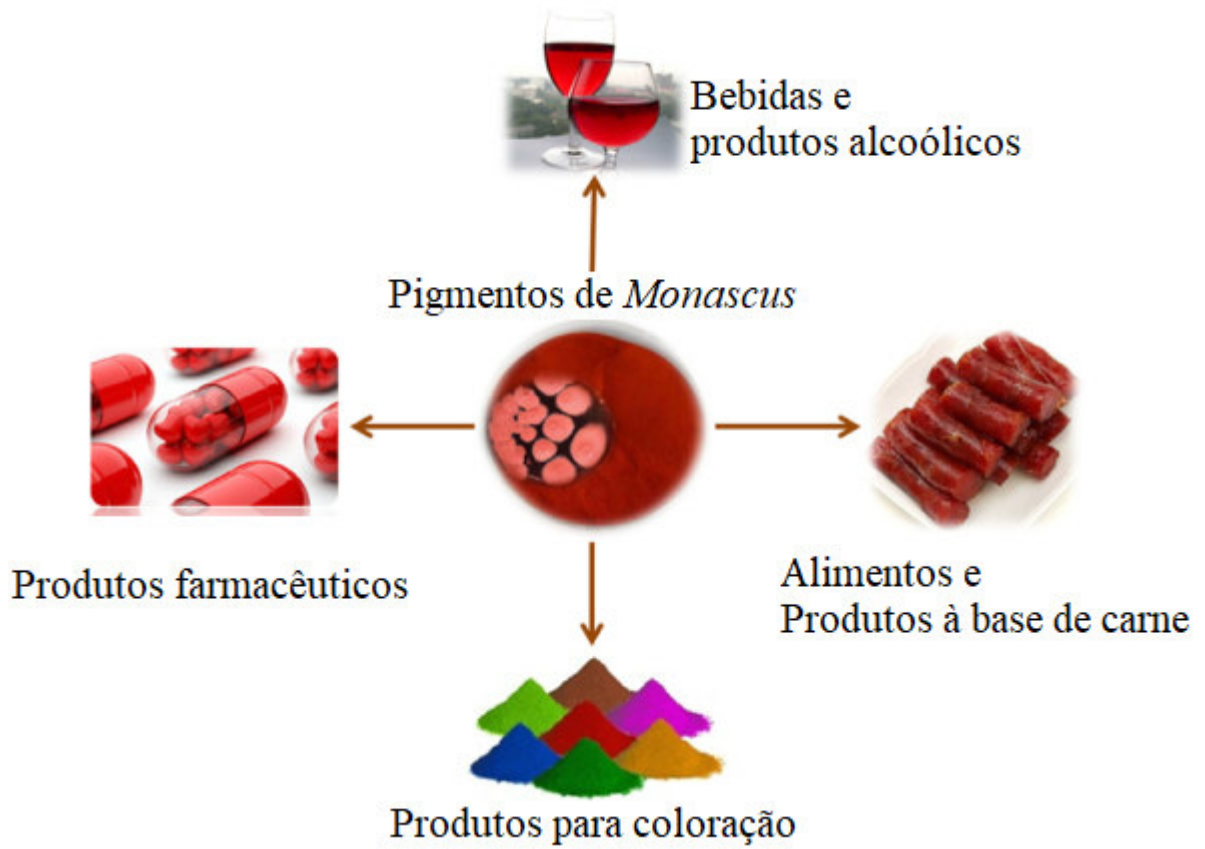
## 7 APLICAÇÃO DE PIGMENTOS DE *MONASCUS* EM OUTROS RAMOS DA INDÚSTRIA

No ramo da indústria têxtil, pigmentos de *Monascus* mostraram-se eficientes no tingimento de diferentes tipos de tecido. Amostras de lã crua foram tingidas com extratos etanólicos de pigmentos vermelho e laranja de *Monascus purpureus*, apresentando maior estabilidade o pigmento laranja. Fios de algodão também apresentaram boa estabilidade para pigmento extraído de *Monascus purpureus*. Amostras de couro foram tingidas com pigmentos de *Monascus* e as propriedades organolépticas do couro não foram afetadas; além disso, o tingimento foi eficiente e promoveu cores intensas e brilhantes (INDUMATHY; KANNAN, 2020).

Pigmentos de *Monascus* apresentam diversas propriedades de interesse à indústria farmacêutica. Algumas dessas propriedades como efeito hipolipidêmico (controle dos níveis de colesterol), atividades antifadiga e anticâncer foram demonstradas utilizando extratos de arroz fermentado vermelho (ZHU et al., 2019). Outros autores abordam as propriedades farmacológicas desses pigmentos e sua aplicação na indústria farmacêutica: exemplos são Agboyibor e colaboradores (2018), Aruldass, Dufossé e Ahmad (2018) e Kumar e colaboradores (2015).

Pigmentos de *Monascus* podem ser utilizados como aditivo em cosméticos em função de sua absorvidade molar, isto é, sua capacidade em absorver radiação em certa frequência ou atenuar luz em determinado comprimento de onda (LIU et al., 2016). Dessa forma, Koli e colaboradores (2019) analisaram pigmentos vermelho e amarelo de uma cepa de *Monascus purpureus* como aditivos em filtros solares comerciais. Concluíram que a utilização dos pigmentos era segura e que eram potenciais candidatos para aumentar naturalmente o FPS dos filtros solares comerciais.

Ainda podem ser utilizados para produzir tinta para impressoras e até para melhorar a eficiência de painéis solares onde são aplicados como um novo corante sensibilizante nas células solares (CHEN et al., 2019). Na Figura 13, observa-se uma representação da aplicação dos pigmentos em diferentes indústrias.

Figura 13 – Aplicação de pigmentos de *Monascus* em diferentes seguimentos da indústria

Fonte: Adaptado de Agboyibor et al. (2018).

## 8 PERSPECTIVAS DE MERCADO NA APLICAÇÃO DE PIGMENTOS DE *MONASCUS* NA INDÚSTRIA ALIMENTÍCIA

O mercado de pigmentos naturais está em ascensão em países de rápido crescimento econômico (ARULDASS; DUFOSSÉ; AHMAD, 2018). Apesar de serem dispendiosos, os pigmentos produzidos por microrganismos são aptos a competir nos segmentos de mercado por serem naturais, pois há consumidores dispostos a pagar pelo benefício de ingerir ingredientes naturais e saudáveis (DUFOSSÉ, 2018; YUSUF; SHABBIR; MOHAMMAD, 2017). Conjuntamente, os avanços na tecnologia e em setores industriais promovem um aumento na demanda de pigmentos naturais (DUFOSSÉ, 2018). Segundo relatório produzido por US Food Coloring Market em 2016, estima-se que o valor de mercado global de corantes alimentícios poderá atingir U\$2,5 bilhões para este ano de 2020 (KHAJURIA, 2018).

Os custos de produção de biopigmentos podem ser mitigados com o uso de substratos de baixo custo, a exemplo de resíduos agrícolas, e produção biotecnológica em massa dos pigmentos (MISHRA; VARJANI; VARMA, 2019). Dessa forma, a perspectiva é de que pigmentos de origem natural dominem o mercado de pigmentos orgânicos no futuro próximo (RAO; XIAO; LI, 2017). Conforme visto ao longo dos anos, o sucesso de pigmentos produzidos por fermentação depende da aceitação pelos consumidores, aprovação dos órgãos reguladores e o capital de investimento necessário para inserir o produto no mercado.

Décadas atrás, duvidava-se da comercialização bem sucedida de produtos alimentícios derivados de alga e pigmentos comestíveis produzidos por fermentação, devido ao alto investimento na obtenção e manutenção de lagoas de estabilização, fotobiorreatores, instalações de fermentação, os extensos e morosos estudos de toxicidade realizados pelos órgãos reguladores, além da percepção pública sobre esses produtos (MILIĆEVIĆ et al., 2010). No entanto, atualmente há no mercado mundial alimentos funcionais derivados das algas “spirulina” (*Arthrospira platensis*) e *Chlorella*, as quais são ricas em proteína e são consideradas GRAS - *Generally Recognized As Safe* (WELLS et al., 2017). No futuro, a produção industrial de pigmentos de *Monascus* nos EUA e na Europa é promissora. Haverá espaço no mercado, assim que a limitação devido à produção de citrinina for superada, por meio do aprimoramento das técnicas de produção (DUFOSSÉ, 2018).

A pesquisa em biopigmentos é relevante, considerando o perfil dos consumidores, as tendências de mercado e os desafios a superar, a fim de viabilizar a produção industrial de pigmentos de *Monascus* para aplicação em alimentos (SEN; BARROW; DESHMUKH, 2019). Esse plano de fundo valida investimentos em pesquisa nessa área do conhecimento.



## 9 CONCLUSÕES E PERSPECTIVAS FUTURAS

Corantes sintéticos podem causar uma série de efeitos nocivos à saúde tanto dos consumidores quanto dos trabalhadores da linha de produção, e os resíduos do processo de produção podem causar efeitos adversos à natureza também. Diante desse cenário, pigmentos naturais têm ganhado cada vez mais espaço no mercado. Uma fonte natural de pigmento são os microrganismos, dos quais os fungos do gênero *Monascus* se destacam pela produção de pigmentos amarelo, laranja e vermelho. São, principalmente, produzidos por fermentação em estado sólido e submersa, sendo temperatura, pH e fontes de carbono e nitrogênio os fatores que mais afetam sua produção.

Os pigmentos de *Monascus* possuem aplicações em indústrias alimentícia, farmacêutica, têxtil, cosmética. Na indústria de alimentos, são utilizados como aditivos em alimentos como tofu, vinho tinto fermentado, arroz fermentado vermelho, salsichas, vegetais e peixes, predominantemente no leste asiático. As propriedades bioativas dos pigmentos de *Monascus* têm agregado valor à sua aplicação no setor alimentício, em função da ascensão do mercado de alimentos funcionais nos últimos anos. Contudo, sua difusão pelos continentes é restringida pelas agências reguladoras dos países, devido a demais metabólitos secundários produzidos por *Monascus* na fermentação que podem ser tóxicos dependendo da concentração ingerida.

Apesar de serem produzidos em larga escala, há limitações a serem superadas como a síntese concomitante de citrinina, uma micotoxina nefro-hepatotóxica que tem limitado a exportação dos pigmentos de *Monascus* a outros países. Outras limitações como a estabilidade, solubilidade e a configuração dos biorreatores devem ser transpostas, a fim de mitigar os custos da produção industrial e aumentar a competitividade dos pigmentos naturais em relação aos sintéticos. Pesquisas envolvendo nanotecnologia, melhoramento genético e otimização matemática são algumas metodologias analisadas para superar as limitações.

Logo, em função do crescimento do mercado de corantes naturais, pesquisas sobre a produção de pigmentos por *Monascus* devem continuar a ser realizadas a fim de solucionar os problemas atuais na produção industrial e de garantir sua segurança aos consumidores e órgãos regulamentadores em todo o mundo. Pesquisas futuras devem combinar técnicas de fermentação, engenharia genética, maior compreensão das propriedades químicas dos pigmentos e de suas vias de síntese com otimização do meio de cultivo e da configuração dos biorreatores, para aumentar a eficiência, reduzir os custos e eliminar os gargalos da produção.

## REFERÊNCIAS

- AGBOYIBOR, C. *et al.* *Monascus* pigments production, composition, bioactivity and its application: A review. **Biocatalysis and Agricultural Biotechnology**, v. 16, p. 433–447, 2018.
- AKILANDESWARI, P.; PRADEEP, B. V. Exploration of industrially important pigments from soil fungi. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 100, p. 1631–1643, 2016.
- AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. Gerência Geral de Alimentos (GGALI). **TEMA 4.19. Atualização das listas de aditivos alimentares e coadjuvantes de tecnologia autorizados para uso em alimentos**. 24 fev. 2019. Disponível em: <http://portal.anvisa.gov.br/documents/33880/4513945/4.19/f4ff0444-ca30-4f32-a8c4-f28232690bbd>. Acesso em: 2 abr. 2020.
- ARULDASS, C.A.; DUFOSSÉ, L.; AHMAD, W.A. Current perspective of yellowish-orange pigments from microorganisms – a review. **Journal of Cleaner Production**, v. 180, p. 168–182, 2018.
- BOVDISOVA, I. *et al.* Toxicological Properties of Mycotoxin Citrinin. **Journal of Microbiology, Biotechnology and Food Sciences**, v. 5, p. 10–13, 2016.
- BRASIL. Decreto nº 55.871, de 26 de março de 1965. Modifica o Decreto nº 50.040, de 24 de janeiro de 1961, referente a normas reguladoras do emprego de aditivos para alimentos, alterado pelo Decreto nº 691, de 13 de março de 1962. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 09 abr. 1965. Seção 1.
- BRASIL. Portaria SVS/MS nº. 540, de 27 de outubro de 1997. Regulamento Técnico sobre Aditivos Alimentares - definições, classificação e emprego. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 28 de out. 1997. Seção 1.
- BRASIL. Resolução nº 16, de 30 de abril de 1999: Regulamento técnico de procedimentos para registro de alimentos e ou novos ingredientes. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 03 de dez. 1999. Seção 1.
- BRASIL. Resolução da Diretoria Colegiada nº 07, de 18 de fevereiro de 2011: Dispõe sobre limites máximos tolerados (LMT) para micotoxinas em alimentos. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 22 de fev. 2011. Seção 1.
- BRASIL. Resolução da Diretoria Colegiada nº 53, de 07 de outubro de 2014: Dispõe sobre a lista de enzimas, aditivos alimentares e veículos autorizados em preparações enzimáticas para uso na produção de alimentos em geral. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 08 de dez. 2014a. Seção 1.
- BRASIL. Resolução da Diretoria Colegiada nº 54, de 07 de outubro de 2014: Dispõe sobre o Regulamento Técnico sobre enzimas e preparações enzimáticas para uso na produção de alimentos em geral. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 08 de dez. 2014b. Seção 1.

BRASIL. Instrução Normativa nº 28, de 26 de julho de 2018: Estabelece as listas de constituintes, de limites de uso, de alegações e de rotulagem complementar dos suplementos alimentares. **Diário Oficial da União. Brasília**, DF, 27 de jul. 2018. Seção 1.

BRASIL. Edital de Chamamento nº 3, de 08 de abril de 2019. Recolher dados e informações sobre os níveis de ocorrência de contaminantes alimentares. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 10 abr. 2019. Seção 3.

CARELS, M.; SHEPHERD, D.Y. The effect of pH and amino acids on condition and pigment production of *Monascus major* ATCC 16362 and *Monascus rubiginosus* ATCC 16367 in submerged shaken culture. **Canadian Journal of Microbiology**, v. 24, p. 1346–1357, 1978.

CHAUHAN, D. **Production and Isolation of pigments from *Monascus purpureus* (MTCC 410) using solid state and submerged fermentation**. 2017. Undergraduate Final Project (Bachelor of Technology In Biotechnology) – Jaypee University of Information Technology, Himachal Pradesh, India, 2017.

CHEN, G. *et al.* Correlation of pigment production with mycelium morphology in extractive fermentation of *Monascus anka* GIM 3.592. **Process Biochemistry**, v. 58, p. 42-50, 2017.

CHEN, G.; WU, Z. Production and biological activities of yellow pigments from *Monascus* fungi. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, v. 32, n. 136, 2016.

CHEN, W. *et al.* Orange, red, yellow: biosynthesis of azaphilone pigments in *Monascus* fungi. **Chemical Science**, v. 8, p. 4917 – 4925, 2017.

CHEN, W. *et al.* Nature and nurture: confluence of pathway determinism with metabolic and chemical serendipity diversifies *Monascus* azaphilone pigments. **Natural Products Report**, v. 36, n. 4, 2019.

CHENG, M.J. *et al.* Secondary metabolites isolated from the fungus *Monascus pilosus*. **Revue Roumaine de Chimie**, v. 55, p. 335– 41, 2010.

DA COSTA, J. P. V.; VENDRUSCOLO, F. Production of red pigments by *Monascus ruber* CCT 3802 using lactose as a substrate. **Biocatalysis and Agricultural Biotechnology**, v. 11, p. 50–55, 2017.

DE OLIVEIRA FILHO, J. W. G. *et al.* A comprehensive review on biological properties of citrinin. **Food and Chemical Toxicology**, v. 110, p. 130-141, 2017.

DUFOSSÉ, L. Pigments, Microbial. **HAL**, HAL Id: ffhal-01734750f, 2016.

DUFOSSÉ, L. Red colourants from filamentous fungi: Are they ready for the food industry? **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 69, p. 156 – 161, 2018.

DUFOSSÉ, L. *et al.* Microorganisms and microalgae as sources of pigments for food use: a scientific oddity or an industrial reality? **Trends in Food Science & Technology**, v. 16, p. 389 – 406, 2005.

ELAKKIYA, M.; PRABHAKARAN, D.; THIRUMARIMURUGAN, M. Methods of Cell Immobilization and Its Applications. **International Journal of Innovative Research in Science, Engineering and Technology**, v. 5, n. 4, p. 5429 – 5433, 2016.

EMBABY, A. M.; HUSSEIN, M. N.; HUSSEIN, A. Monascus orange and red pigments production by *Monascus purpureus* ATCC16436 through co-solid state fermentation of corn cob and glycerol: An eco-friendly environmental low cost approach. **PLoS ONE**, v. 13, n. 12, e0207755, 2018.

GMOSER, R. *et al.* Filamentous ascomycetes fungi as a source of natural pigments. **Fungal Biology and Biotechnology**, v. 4, n. 4, 2017.

GOMAH, N. H.; ABDEL-RAHEAM, H. E. F.; MOHAMED, T. H. Production of Natural Pigments from *Monascus ruber* by Solid State Fermentation of Broken Rice and its Application as Colorants of Some Dairy Products. **Journal of Food and Dairy Sciences**, v. 8, n. 1, p. 37- 43, 2017.

GRAND VIEW RESEARCH. Functional Foods Market Worth \$275.7 Billion By 2025 | CAGR: 7.9%. 2019. Disponível em: <https://www.grandviewresearch.com/press-release/global-functional-foods-market>. Acesso em: 6 abr. 2020.

GUNGORMUSLER-YILMAZ, M. *et al.* Cell immobilization for microbial production of 1,3-propanediol. **Critical Reviews in Biotechnology**, v. 36, n. 3, p. 482 – 494, 2016.

HAJJAJ, H. *et al.* Production and identification of N-glucosylrubropunctamine and N-glucosylmonascorubramine from *Monascus ruber* and the occurrence of electron donor-acceptor complexes in these red pigments. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 63, n. 7, p. 2671–2678, 1997.

HAMID, N. F.; SAID, F. M. Factorial Design Screening for the Red Pigment Production by *Monascus purpureus* FTC 5356. **Jurnal Teknologi**, v. 78, n. 11-2, p. 13 – 17, 2016.

HAMID, N. F.; SAID, F. M. Optimization of Red Pigment Production by *Monascus purpureus* FTC 5356 Using Response Surface Methodology. **IIUM Engineering Journal**, v. 19, n. 1, p. 34 – 47, 2018.

HÖLKER, U.; HÖFER, M.; LENZ, J. Biotechnological advantages of laboratory scale solid-state fermentation with fungi. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 64, p. 175–186, 2004.

HONG, J-L. *et al.* Comparative transcriptomic analysis reveals the regulatory effects of inorganic nitrogen on the biosynthesis of *Monascus* pigments and citrinin. **The Royal Society of Chemistry**, v. 10, p. 5268 - 5282, 2020.

HU, Y. *et al.* NAD<sup>+</sup>-dependent HDAC inhibitor stimulates *Monascus* pigment production but inhibit citrinin. **AMB Express**, v. 7, n. 166, 2017.

HUANG, T. *et al.* Changing oxidoreduction potential to improve water-soluble yellow pigment production with *Monascus ruber* CGMCC 10910. **Microbial Cell Factories**, v. 16, n. 208, 2017.

HUANG, T. *et al.* Efficient production of red *Monascus* pigments with single non-natural amine residue by in situ chemical modification. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, v. 35, n. 13, 2019.

HUAWEI, Z. *et al.* Determining a suitable carbon source for the production of intracellular pigments from *Monascus purpureus* HBSD 08. **Pigment & Resin Technology**, v. 48, n. 6, p. 547–554, 2019.

INDUMATHY, K.; KANNAN, K. P. Eco-benign fungal colorants: sources and applications in textiles. **The Journal of The Textile Institute**, v. 111, n. 1, 2020.

JIAN, W.; SUN, Y.; WU, J. Improving the water solubility of *Monascus* pigments under acidic conditions with gum arabic. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 97, n. 9, 2016.

JUNG, H., *et al.* Degradation patterns and stability predictions of the original reds and amino acid derivatives of *Monascus* pigments. **European Food Research and Technology**, v. 232, p. 621–629, 2011.

JUNG, H. *et al.* Colour characteristic of *Monascus* pigments derived by fermentation with various amino acids. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 51, p. 1302–1306, 2003.

JUZLOVÁ, P. *et al.* Ethanol as substrate for pigment production by the fungus *Monascus purpureus*. **Enzyme and Microbial Technology**, v. 16, n. 11, p. 996–1001, 1994.

KANG, B. *et al.* Production of citrinin-free *Monascus* pigments by submerged culture at low pH. **Enzyme and Microbial Technology**, v. 55, p. 50–57, 2014.

KETKAEAO, S. *et al.* Induction of mutation in *Monascus purpureus* isolated from Thai fermented food to develop low citrinin-producing strain for application in the red koji industry. **Journal of General and Applied Microbiology**, 2019.

KHAJURIA, R. Natural Pigments: An Alternative to Synthetic Food Colorants. In: SHARMA, H. K.; PANESAR, P. S. **Technologies in Food Processing**. Apple Academic Press, 2018, cap. 7, p. 155.

KIM, D.; KU, S. Beneficial Effects of *Monascus sp.* KCCM 10093 Pigments and Derivatives: A Mini Review. **Molecules**, v. 23, n. 98, 2018.

KOLI, S. H. *et al.* Prospective of *Monascus* Pigments as an Additive to Commercial Sunscreens. **Natural Product Communications**, v. 14, n. 12, 2019.

KONGBANGKERD, T. *et al.* Enhancement of antioxidant activity of monascol waxy corn by 2-step fermentation. **International Journal of Food Science and Technology**, v. 68, p. 209–230, 2014.

KUMAR, A. *et al.* Microbial pigments: production and their applications in various industries. **International Journal of Pharmaceutical, Chemical and Biological Sciences**, v. 5, n. 1, p. 203 – 212, 2015.

- LIAN, X. *et al.* Two new *Monascus* red pigments produced by Shandong Zhonghui Food Company in China. **European Food Research and Technology**, v. 240, p. 719 – 724, 2015.
- LIANG, B. *et al.* Investigation of citrinin and pigment biosynthesis mechanisms in *Monascus purpureus* by transcriptomic analysis. **Frontiers in Microbiology**, v. 9, n. 1374, 2018.
- LIN; Y.L. *et al.* Biologically active components and nutraceuticals in the *Monascus* fermented rice. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 77, p. 965–973, 2008.
- LIU, J. *et al.* Enhancement of *Monascus* pigment productivity via a simultaneous fermentation process and separation system using immobilized-cell fermentation. **Bioresource Technology**, v. 272, p. 552-560, 2019.
- LIU, J. *et al.* Identification and role analysis of an intermediate produced by a polygenic mutant of *Monascus* pigments cluster in *Monascus ruber* M7. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 100, p. 7037–7049, 2016.
- LIU, L. Diversifying of chemical structure of native *Monascus* pigments. **Frontiers in Microbiology**, v. 9, n. 3143, 2018.
- LIU, L. *et al.* Sulfonation of *Monascus* pigments to produce water-soluble yellow pigments. **Dyes and Pigments**, v. 173, 2020.
- MAGRO, M. *et al.* Avidin functionalized maghemite nanoparticles and their application for recombinant human biotinyl-SERCA purification. **Langmuir**, v. 28, p. 15392–15401, 2012.
- MAGRO, M. *et al.* Citrinin mycotoxin recognition and removal by naked magnetic nanoparticles. **Food Chemistry**, v. 203, p. 505–512, 2016.
- MANAN, M. A.; MOHAMAD, R.; ARIFF, A. *Monascus* spp.: A source of Natural Microbial Color through Fungal Biofermentation. **Journal of Microbiology & Experimentation**, v. 5, n. 3, 2017.
- MANAN, M. A.; WEBB, C. Design Aspects of Solid State Fermentation as Applied to Microbial Bioprocessing. **Journal of Applied Biotechnology & Bioengineering**, v. 4, n. 1, 2017.
- MARIAPPAN, A. K. *et al.* Hepato nephropathology associated with inclusion body hepatitis complicated with citrinin mycotoxicosis in a broiler farm. **Veterinary World**, v. 11, n. 2, p. 112 – 117, 2018.
- MATSUO, T. *et al.* Improvement of photobleaching of *Monascus* pigments using novel nanoencapsulation technology. **The Science Bulletin of the Faculty of Agriculture University of the Ryukyus**, v. 65, p. 83-89, 2018.
- MEINICKE, R. M. **Estudo da produção de pigmentos por *Monascus ruber* CCT 3802 utilizando glicerol como substrato em cultivo submerso.** 2008. Dissertação (Mestrado em Engenharia) - Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2008.

MEINICKE, R.M. *et al.* Potential use of glycerol as substrate for the production of red pigments by *Monascus ruber* in submerged fermentation. **Biocatalysis and Agricultural Biotechnology**, v. 1, p. 238–242, 2012.

MILIĆEVIĆ, D.R.; ŠKRINJAR, M.; BALTIĆ, T. Real and perceived risks for mycotoxin contamination in foods and feeds: challenges for food safety control. **Toxins**, v. 2, n. 4, p. 572–592, 2010.

MINISTÉRIO DA SAÚDE. **Depressão: causas, sintomas, tratamentos, diagnóstico e prevenção**. c2020. Disponível em: <https://saude.gov.br/saude-de-a-z/depressao>. Acesso em: 7 abr. 2020.

MISHRA, B.; VARJANI, S.; VARMA, G. K. S. Agro-Industrial By-Products in the Synthesis of Food Grade Microbial Pigments: An Eco-Friendly Alternative. *In*: PARAMESWARAN, B.; VARJANI, S.; RAVEENDRAN, S. **Green Bio-processes**. Springer, cap. 13, 2019, p. 245.

MOGHADAM, H. D. *et al.* Biological detoxification of *Monascus purpureus* pigments by heat-treated *Saccharomyces cerevisiae*. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 99, n. 9, p. 4439 – 4444, 2019.

MOHAMED, M.S. *et al.* Enhancement of red pigment production by *Monascus purpureus* FTC 5391 through retrofitting of Helical Ribbon Impeller in stirred-tank fermenter. **Food and Bioprocess Technology**, v. 1, p. 80–91, 2012.

MOSTAFA, M. E.; ABBADY, M. S. Secondary Metabolites and Bioactivity of the *Monascus* Pigments Review Article. **Global Journal of Biotechnology & Biochemistry**, v. 9, n. 1, p. 01 – 13, 2014.

NIGAM, P. S.; LUKE, J. S. Food additives: production of microbial pigments and their antioxidant properties. **Current Opinion in Food Science**, v. 7, p. 93 – 100, 2016.

NING, Z-Q. *et al.* Deleting the citrinin biosynthesis-related gene, *ctnE*, to greatly reduce citrinin production in *Monascus aurantiacus* Li AS3.4384. **International Journal of Food Microbiology**, v. 241, p. 325-330, 2017.

OPLATOWSKA-STACHOWIAK, M.; ELLIOTT, C.T. Food colours: existing and emerging food safety concerns. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 57, n. 3, p. 524–548, 2017.

PATAKOVA, P. *Monascus* secondary metabolites: production and biological activity. **Journal of Industrial Microbiology & Biotechnology**, v. 40, p. 169–181, 2013.

PATEL, S. Functional food red yeast rice (RYR) for metabolic syndrome amelioration: a review on pros and cons. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, v. 32, n. 87, 2016.

PATROVSKY, M. *et al.* Effect of initial pH, different nitrogen sources, and cultivation time on the production of yellow or orange *Monascus purpureus* pigments and the mycotoxin citrinin. **Food Science & Nutrition**, v. 7, p. 3494 – 3500, 2019.

- RADU, N. *et al.* Therapeutic effect of *Monascus* metabolites. *In: INTERNATIONAL SYMPOSIUM NEW RESEARCH IN BIOTECHNOLOGY*, 4., 2011, Bucharest. **Proceedings** [...]. Bucharest: USAMV, 2011. p. 148 – 155.
- RAO, M. P. N.; XIAO, M.; LI, W-J. Fungal and Bacterial Pigments: Secondary Metabolites with Wide Applications. **Frontiers in Microbiology**, v. 8, n. 1113, 2017.
- RAPP, G. Pigments and Colorants. *In: RAPP, G. Archaeomineralogy*. 2 ed. Berlin, Heidelberg: Springer, 2009, cap. 9, p. 201. (Natural Science in Archaeology).
- ROUF, A.; KANOJIA, V.; NAIK, H. R. Cell immobilization: An overview on techniques and its applications in food industry. **International Journal of Chemical Studies**, v. 5, n. 6, p. 1817-1824, 2017.
- SADH, P. K.; SUREKHA DUHAN, S.; DUHAN, J. S. Agro-industrial wastes and their utilization using solid state fermentation: a review. **Bioresources and Bioprocessing**, v. 4, n. 1, 2018.
- SEKOAI, P. T. *et al.* Microbial cell immobilization in biohydrogen production: a short overview. **Critical Reviews in Biotechnology**, v. 38, n. 2, p. 157 – 171, 2018.
- SEHRAWAT, R. *et al.* Biopigment produced by *Monascus purpureus* MTCC 369 in submerged and solid state fermentation: a comparative study. **Pigment & Resin Technology**, v. 46, n. 6, p. 425 – 432, 2017.
- SEN, T.; BARROW, C. J.; DESHMUKH, S. K. Microbial Pigments in the Food Industry—Challenges and the Way Forward. **Frontiers in Nutrition**, v. 6, n. 7, p. 1–14, 2019.
- SHANDONG ZHONGHUI FOOD CO., LTD. About Us. Disponível em: <http://zhonghuifood.globalchemmade.com/about/>. Acesso em: 31 mar. 2020.
- SIMÓ, G. *et al.* Research progress in coating techniques of alginate gel polymer for cell encapsulation. **Carbohydrate Polymers**, v. 170, p. 1-14, 2017.
- SINGGIH, M.; JULIANTI, E. Food Colorant from Microorganisms. *In: LIONG, M-T. Beneficial Microorganisms in Food and Nutraceuticals*. Springer, 2015, cap. 12, p. 265.
- SINGHANIA, R. R. *et al.* Solid-State Fermentation. *In: WITTMANN, C.; LIAO, J. C. Industrial Biotechnology: Products and Processes*. Wiley – VCH, 2017, cap. 6, p. 187.
- SOCCOL, C. R. *et al.* Recent developments and innovations in solid state fermentation. **Biotechnology Research and Innovation**, v. 1, n. 1, p. 52-71, 2017.
- SURAIYA, S. *et al.* Enhancement and characterization of natural pigments produced by *Monascus* spp. using *Saccharina japonica* as fermentation substrate. **Journal of Applied Phycology**, v. 30, n. 1, p. 729 -742, 2018.
- TERÁN HILARES, R. *et al.* Sugarcane bagasse hydrolysate as a potential feedstock for red pigment production by *Monascus ruber*. **Food Chemistry**, v. 245, p. 786-791, 2018.



TIANYI BIOTECH.,CO.LTD.DONGGUAN. About Us. Disponível em: <http://www.tybioeng.com/en/abouts.asp>. Acesso em: 31 mar. 2020.

TOCI, A. T.; ZANONI, M. V. B. Corantes alimentícios. *In*: ZANONI, M. V. B.; YAMANAKA, H. **Corantes**: caracterização química, toxicológica, métodos de detecção e tratamento. 1 ed. São Paulo: Cultura Acadêmica, 2016.

VELMURUGAN, P. *et al.* *Monascus* pigment production by solid-state fermentation with corn cob substrate. **Journal of Bioscience and Bioengineering**, v. 6, p. 590–594, 2011.

VENDRUSCOLO, F. *et al.* *Monascus*: a Reality on the Production and Application of Microbial Pigments. **Applied Biochemistry and Biotechnology**, v. 178, n. 2, p. 211–223, 2016.

VENDRUSCOLO, F. *et al.* Thermal stability of natural pigments produced by *Monascus ruber* in submerged fermentation. **Biocatalysis and Agricultural Biotechnology**, v. 2, p. 278–284, 2013.

WANG, C.; CHEN, D.; QI, J. Biochemistry and Molecular Mechanisms of *Monascus* Pigments. *In*: SINGH, O. V. **Bio-pigmentation and Biotechnological Implementations**. First Edition. John Wiley & Sons, Inc, 2017. cap. 8, p. 173 – 191.

WANG, M. *et al.* Production of water-soluble yellow pigments via high glucose stress fermentation of *Monascus ruber* CGMCC 10910. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 101, n. 108, p. 3121 – 3130, 2017.

WELLS, M.L. *et al.* Algae as nutritional and functional food sources: revisiting our understanding. **Journal of Applied Phycology**, v. 29, p. 949–982, 2017.

YULIANA, A. *et al.* Derivates of azaphilone *Monascus* pigments. **Biocatalysis and Agricultural Biotechnology**, v. 9, p. 183–194, 2017.

YUSUF, M.; SHABBIR, M.; MOHAMMAD, F. Natural Colorants: Historical, Processing and Sustainable Prospects. **Natural Products and Bioprospecting**, v. 7, p. 123–145, 2017.

ZENG, H. *et al.* Optimization of submerged and solid state culture conditions for *Monascus* pigment production and characterization of its composition and antioxidant activity. **Pigment & Resin Technology**, v. 48, n. 2, p. 108 – 118, 2019.

ZHEN, Z. *et al.* NaCl Inhibits Citrinin and Stimulates *Monascus* Pigments and Monacolin K Production. **Toxins**, v. 11, n. 118, 2019.

ZHU, B. *et al.* Red Yeast Rice: A Systematic Review of the Traditional Uses, Chemistry, Pharmacology, and Quality Control of an Important Chinese Folk Medicine. **Frontiers in Pharmacology**, v. 10, n. 1449, 2019.