

Avaliação da produção de pigmentos naturais por *Monascus sp.* por fermentação submersa e em estado sólido

Assessment of Natural Pigment Production by *Monascus sp.* in Submerged and Solid-State Fermentation

Enrique Luiz Val e Vasconcelos¹, Gabriel Nobre Garcia¹, Nicolas Yan Silva¹, Yasmim G. Costa¹, Danilo Henrique Donato Rocha²ⁱ, Haroldo Yukio Kawaguti²ⁱⁱ, Larissa Alves Correa², Livia de Carvalho Fontes Matsumoto^{2iv}, Luciano Zane Filho^{2v}

RESUMO

Os pigmentos produzidos por *Monascus sp.* são de grande interesse para as indústrias alimentícia, farmacêutica e cosmética devido às suas propriedades bioativas e sustentabilidade em comparação aos corantes sintéticos. Este trabalho teve como objetivo investigar a produção de pigmentos naturais pelo fungo *Monascus sp.* por meio de fermentação submersa e sólida, utilizando resíduos agroindustriais, como cascas de mandioca, como substrato alternativo. Foram realizados ensaios para avaliar a influência de diferentes condições de cultivo, como pH, temperatura, tipo de substrato e incidência luminosa, no crescimento do microrganismo e na produção de pigmentos. Os resultados preliminares indicaram que o uso de cascas de mandioca como substrato é viável, destacando-se como uma alternativa econômica e sustentável. Além disso, a partir da avaliação das condições de cultivo verificou-se potencial para aumentar o rendimento e a estabilidade dos pigmentos.

Palavras-chave: *Monascus sp.*, pigmentos naturais, fermentação, resíduos agroindustriais, sustentabilidade.

¹ Técnico em Biotecnologia pela Escola SENAI "Dr. Celso Charuri" Bom Retiro (SENAI Biotecnologia).

² Instrutor de Formação Profissional III na Escola SENAI "Dr. Celso Charuri" Bom Retiro (SENAI Biotecnologia).

ABSTRACT

The pigments produced by *Monascus* sp. are of great interest to the food, pharmaceutical, and cosmetic industries due to their bioactive properties and sustainability compared to synthetic dyes. This study aimed to investigate the production of natural pigments by the fungus *Monascus* sp. through submerged and solid-state fermentation, using agro-industrial wastes, such as cassava peels, as an alternative substrate. Assays were conducted to evaluate the influence of different cultivation conditions, such as pH, temperature, substrate type, and light exposure, on microbial growth and pigment production. Preliminary results indicated that the use of cassava peels as a substrate is viable, standing out as an economical and sustainable alternative. Furthermore, the evaluation of cultivation conditions revealed potential for increasing pigment yield and stability.

Keywords: *Monascus* sp., natural pigments, fermentation, agro-industrial wastes, sustainability.

1 INTRODUÇÃO

O fungo *Monascus* sp. é um microrganismo filamentosamente reconhecido por suas propriedades fermentativas, sendo considerado essencial em diversas culturas asiáticas, especialmente na produção de alimentos como o arroz vermelho fermentado. A importância deste fungo no contexto da biotecnologia e da indústria alimentícia aumenta a cada dia, devido às suas potencialidades em melhorar a qualidade nutricional dos alimentos e na produção de compostos bioativos.

A crescente demanda por corantes naturais nas indústrias alimentícia, farmacêutica e cosmética tem incentivado a busca por alternativas mais seguras e sustentáveis aos corantes sintéticos, muitos dos quais apresentam riscos à saúde e ao meio ambiente. Nesse contexto, o uso de microrganismos como o *Monascus* sp. tem se destacado pela sua capacidade de produzir pigmentos naturais com propriedades bioativas, como atividade antioxidante e antimicrobiana.

Além de proporcionar colorações naturais, o *Monascus* sp. é conhecido por sua capacidade de sintetizar uma variedade de outros metabolitos secundários, com destaque para a Monacolina K, que possui propriedades anti-hiperlipidêmicos e

podem contribuir para a redução dos níveis de colesterol no sangue. Com a crescente demanda por produtos alimentícios saudáveis e funcionais, o estudo das características, aplicações e benefícios do *Monascus* sp. torna-se não apenas relevante, mas necessário.

2 REVISÃO DE LITERATURA

A produção de pigmentos por fungos do gênero *Monascus* representa uma alternativa promissora aos corantes sintéticos, especialmente em um contexto de demanda crescente por aditivos naturais e funcionais. Esses pigmentos, que incluem compostos de coloração amarela, laranja e vermelha, são metabólitos secundários produzidos por meio de rotas biossintéticas que dependem diretamente da disponibilidade de nutrientes no meio de cultivo (DIKSHIT e TALLAPRAGADA, 2011).

A composição do substrato, especialmente a presença de fontes de carbono, nitrogênio, lipídios e micronutrientes, exerce influência significativa sobre o rendimento, a cor predominante e o perfil químico dos pigmentos gerados. O carbono, por açúcares simples como glicose ou maltose, é essencial para o crescimento fúngico e a formação do esqueleto policetídeo via condensação de acetato e malonato no citosol, catalisada pela policetídeo sintase. Ácidos graxos de cadeia média, como o ácido octanóico — derivados da via dos ácidos graxos — são igualmente importantes, pois participam de reações de transesterificação que resultam na formação de pigmentos laranja como a monascorubrina ($C_{23}H_{26}O_5$) e a rubropunctatina ($C_{21}H_{22}O_5$) (NIMNOI e LUMYONG, 2011).

As fontes de nitrogênio, incluindo compostos com grupos amino ou amônio, são determinantes para a conversão desses pigmentos em suas formas vermelhas, como a monascorubramina e a rubropunctamina. Além de seu papel como corantes alimentares naturais, os pigmentos de *Monascus* têm despertado interesse por suas potenciais propriedades bioativas, como atividade antioxidante, antimicrobiana e hipocolesterolêmica. Essa multifuncionalidade amplia sua aplicabilidade nas indústrias alimentícia, farmacêutica e cosmética, tornando fundamental o estudo das condições nutricionais ideais para maximizar a produção e a estabilidade desses compostos.

3 METODOLOGIA

O fungo *Monascus sp.* foi isolado a partir do arroz fermentado Hong Qu, comprado em mercado oriental na cidade de São Paulo, SP.

Foram preparadas duas diferentes variações de meios de cultivo, sendo elas:

- Arroz (100g de arroz foi pesado e levemente umedecido antes da esterilização em autoclave)
- Caldo Batata Dextrose, que foi preparado em concentração recomendada pelas instruções do fabricante (KASVI).

Para identificação microscópica, foi realizado o micro cultivo, segundo (Vendruscolo et al. 2013).

Ensaio fermentativos foram realizados, a fim de definir qual tipo de fermentação e substrato apresentariam a melhor produção de pigmentos, avaliados visualmente. Foram utilizados arroz branco polido para fermentação em estado sólido, e caldo batata dextrose para fermentação submersa, os meios foram inoculados pela transferência para os meios de blocos de ágar batata dextrose (PDA) colonizados pelo fungo.

A fermentação em meio de cultivo líquido foi submetida a diferentes tratamentos, visando avaliar alterações na produção de pigmentos. As variáveis estudadas foram, pH e temperatura. Os valores de pH avaliados foram 2.7, 3.6, 4.4, 5.0, e 6.0, sendo ajustados no meio utilizando solução tampão citrato-fosfato. As temperaturas avaliadas foram 21°C e 37°C.

A influência da incidência de luz, em diferentes comprimentos de onda foi avaliada realizando-se o cultivo do fungo *Monascus sp.* em placas de petri, que foram inoculadas e cobertas com papel celofane de diferentes cores, sendo expostas a fonte de iluminação contínua. As cores testadas foram vermelho, laranja, azul e amarelo.

A extração de pigmentos produzidos no ensaio de fermentação em estado sólido, realizado no arroz, foi realizada, a partir da adição de álcool etílico 70 ° G.L. na proporção de 3 mL por grama de material fermentado, sendo incubadas à 30 °C por 2 horas sob agitação constante, para extração. Após a extração, foi realizada filtração em papel filtro (VENDRUSCOLO et al., 2016).

A separação dos pigmentos produzidos nos ensaios de fermentação submersa foi realizada pela mistura em uma proporção de 1:1 de meio líquido fermentado e acetato de etila, realizando o ajuste do pH para 3,0 com solução de HCl 2 M. A mistura foi adicionada ao funil de separação até a observação da separação

completa de duas fases, sendo que os pigmentos serão coletados juntamente com a fase orgânica.

Os pigmentos amarelo e vermelho contidos na fase orgânica foram separados pela evaporação do solvente orgânico, de forma que o precipitado seco foi dissolvido em água destilada. Acetona gelada foi adicionada a mistura, que foi mantida a 4 °C por 30 minutos. Posteriormente, em um funil de separação coletou-se a acetona, contendo o pigmento vermelho, e submeteu-a à filtração e evaporada para obter-se um precipitado de pigmento vermelho.

Para avaliar a atividade antimicrobiana dos pigmentos, realizou-se um cocultivo de *Monascus sp.* com *Bacillus subtilis*. O ensaio foi feito dispondo o *Monascus sp.* nas extremidades das placas (DENNIS; WEBSTER, 1971) e mantendo-a na estufa em temperatura de 30°C durante uma semana, devido ao baixo crescimento em comparação ao *B. subtilis* no meio de cultura, após isto o *B. subtilis* foi inoculado nas placas que foram levadas novamente à estufa em temperatura de 30°C durante uma semana a fim de analisar a atividade antibacteriana.

4 RESULTADOS E DISCUSSÕES

Em relação a avaliação da influência do pH, foi observada maior produção de pigmento amarelo em amostras dos pH's 2.7 e 3.6, o pigmento laranja teve sua produção mais aparente nas amostras de pH 4.4 e 5.0, e o pigmento vermelho teve sua produção mais evidente em amostras de pH's 5.0 e 6.0.

Ao avaliar a influência da temperatura, foi observada a produção mais relevante de pigmentos laranja e amarelo na fermentação conduzida a temperatura de 37°C, e foi notado no ensaio em temperatura de 28°C, houve uma tendência maior na produção do pigmento vermelho em comparação as amostras de 37°C.

Na avaliação da influência da incidência luminosa sobre a produção de pigmentos observou-se que houve um crescimento mais expressivo do fungo quando exposto à luz branca, com a maior taxa de expansão das colônias e maior espessura de micélio. Já as condições de luz azul apresentaram um crescimento moderado, enquanto a luz vermelha, amarela e laranja resultaram em um crescimento mais lento e com colônias menores.

Em relação a atividade antimicrobiana, verificou-se que após 1 semana, o inóculo de *B. Subtilis* teve seu crescimento parcialmente inibido pela cultura de

Monascus, demonstrando que seus metabólitos possuem atividade antimicrobiana, como reportado por Vendruscolo et al.(2013).

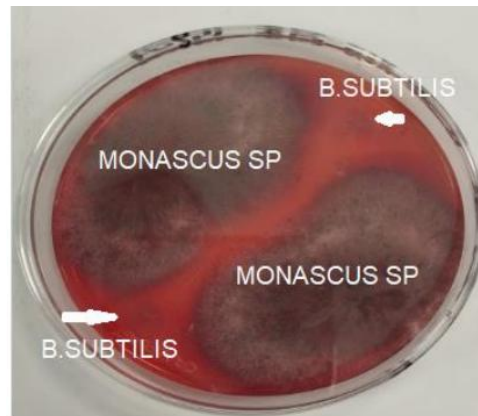


Figura 1. Cocultivo de *Monascus sp.* e *Bacillus subtilis* em placa de Petri, evidenciando a inibição bacteriana pelo fungo.

5 CONCLUSÃO

Os resultados obtidos evidenciam que o *Monascus sp.* apresenta elevado potencial para a produção de pigmentos naturais, especialmente quando cultivado em condições otimizadas de pH, temperatura e incidência luminosa, utilizando resíduos agroindustriais como substrato. além disso, a atividade antimicrobiana observada reforça seu valor biotecnológico e amplia as perspectivas de aplicação nas indústrias alimentícia, farmacêutica e cosmética.

REFERÊNCIAS

- DENNIS; WEBSTER, 1971. Transactions of the British Mycological Society. Volume 57, Issue 3, December 1971, Pages 363-369, IN1-IN2.
- DIKSHIT, Rashmi; TALLAPRAGADA, Padmavathi. *Monascus purpureus*: A potential source for natural pigment production. *Journal of Microbiology and Biotechnology Research*, v. 1, n. 4, p. 164-174, 2011. Disponível em: <https://www.researchgate.net/publication/236605019>.
- NIMNOI, P.; LUMYONG, S. Improving Solid-State Fermentation of *Monascus purpureus* on Agricultural Products for Pigment Production. *Food and Bioprocess Technology*, v. 4, p. 1384-1390, 2011. DOI: <https://doi.org/10.1007/s11947-009-0233-8>.
- VENDRUSCOLO, F.; MULLER, B. L.; MORITZ, D. E.; OLIVEIRA, D.; SCHMIDELL, W.; NINOW, J. L. Thermal stability of natural pigments produced by *Monascus ruber* in submerged fermentation. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, v. 2, n. 6, p. 278- 284, 2013.
- VENDRUSCOLO, F.; SCHMIDELL, W.; MORITZ, D. E.; ROSE, M. M. B.; OLIVEIRA, D.; NINOW, J. L. Isoelectric point of amino acid: Importance for *Monascus* pigment production. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, v. 5, n. 3, p. 179-185, 2016.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem à Escola SENAI Biotecnologia (São Paulo - Bom Retiro) pela infraestrutura e materiais disponibilizados para a condução do trabalho.

SOBRE O(S)AUTOR(ES)

i Danilo Henrique Donato Rocha



Doutor em Engenharia Hidráulica e Saneamento na Universidade de São Paulo (2023). Mestre em Engenharia Mecânica pela Universidade Federal de Itajubá (2019). Engenheiro Ambiental pela Universidade Federal de Itajubá (2016). Atua como Instrutor de Formação Profissional III na Escola SENAI Biotecnologia.

ii Haroldo Yukio Kawaguti



Doutor em Ciência de Alimentos na Universidade Estadual de Campinas (2007). Mestre em Ciência de Alimentos pela Universidade Estadual de Campinas (2003). Engenheiro de Alimentos pela Universidade Estadual de Campinas (2000). Atua como Instrutor de Formação Profissional III na Escola SENAI Biotecnologia.

iii Larissa Alves Correa



Mestre em Química Orgânica pela Universidade Federal de Minas Gerais (2017). Bacharel em Química pela Universidade Federal de Minas Gerais (2015). Atua como Instrutora de Formação Profissional III na Escola SENAI Biotecnologia.

iv Livia de Carvalho Fontes Matsumoto



Doutora em Microbiologia pela Universidade de São Paulo (2016). Mestre em Microbiologia pela Universidade de São Paulo (2012). Especialista em Microbiologia pela Universidade Federal de Minas Gerais (2008). Graduada em Ciências Biológicas pela Escola Superior em Meio Ambiente (2005). Atua como Instrutora de Formação Profissional III na Escola SENAI Biotecnologia.

v Luciano Zane Filho



Doutor em Biotecnologia pela Universidade de São Paulo (2023). Bacharel em Biotecnologia pela Universidade Federal de São Carlos (2017). Atua como Instrutor de Formação Profissional III na Escola SENAI Biotecnologia.