

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS
DEPARTAMENTO DE ENGENHARIA QUÍMICA – DEQ
CURSO DE BACHARELADO EM BIOTECNOLOGIA

VITOR RIBEIRO DE ALMEIDA REIS

**ENGENHARIA GENÉTICA NA PRODUÇÃO DE BIOPIGMENTOS: AVANÇOS
E APLICAÇÕES SUSTENTÁVEIS NA INDÚSTRIA TÊXTIL**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao
Curso de Bacharelado em Biotecnologia da Universidade
Federal de São Carlos como requisito parcial para obtenção
do título de Bacharel em Biotecnologia.

Orientador: Adilson José da Silva

São Carlos – SP
2025

Lista de Figuras

Figura 1- Estrutura química da melanina	11
Figura 2 - Estrutura química da prodigiosina.....	12
Figura 3 - Estrutura química da Piocianina.	12
Figura 4 - Estruturas químicas do Indigo, pigmento natural da planta <i>Indigofera tinctoria</i> produzido majoritariamente de forma sintética e da Indigoidina, pigmento natural produzido por bactérias.	14
Figura 5 - Estrutura química da Violaceína	14
Figura 6 - Estrutura química da antraquinona	15
Figura 7 - Estrutura química do β -caroteno.....	16
Figura 8 - Estrutura química da ficoeritrina.	17
Figura 9 - Estrutura química da quercetina.	17
Figura 10 - Integração multiômica	32
Figura 11- Sistema de raceway ponds na Califórnia, EUA.	41
Figura 12 - Sistema de fotobioreator tubular.	42
Figura 13 - Sistema simplificado de cultivo de alga heterotrófica	43
Figura 14 - Sistema de cultivo em biofilme de micro algas da empresa francesa Inalve.	44
Figura 15 - Gráficos que representam a concentração de biomassa, substrato e volume ao longo do tempo..	46

Lista de Tabelas

Tabela 1- Exemplos de produção de biopigmentos por microrganismos engenheirados	18
Tabela 2 - Lista de itens proibidos da lista ZDHC MRS.	27

RESUMO

A indústria têxtil é uma das maiores consumidoras de corantes sintéticos, gerando impactos ambientais significativos devido ao uso intensivo de produtos químicos e água. Os biopigmentos, que podem ser produzidos por microrganismos geneticamente modificados, surgem como uma alternativa sustentável para a substituição desses corantes convencionais. Este trabalho analisa os avanços recentes na engenharia genética aplicada à produção de biopigmentos, destacando estratégias de modificação genética para otimização da biossíntese e fixação nos tecidos. Além disso, são abordadas as principais aplicações industriais, os desafios tecnológicos e a adoção dos biopigmentos no setor têxtil.

Palavras-chave: Biopigmentos, Engenharia Genética, Indústria Têxtil, Sustentabilidade, Biotecnologia.

The textile industry is one of the largest consumers of synthetic dyes, causing significant environmental impacts due to the intensive use of chemicals and water. Biopigments, produced by genetically modified microorganisms, emerge as a sustainable alternative to replace these conventional dyes. This study analyzes recent advances in genetic engineering applied to biopigment production, highlighting genetic modification strategies for optimizing biosynthesis and fabric fixation. Furthermore, it discusses major industrial applications, technological challenges, and the adopting of biopigments in the textile sector.

Keywords: Biopigments, Genetic Engineering, Textile Industry, Sustainability, Biotechnology.

Sumário

1	Introdução	6
2	Definições e tipos de Biopigmentos	9
	2.1 Melaninas	10
	2.2 Pirróis	11
	2.3 Fenazinas.....	12
	2.4 Indigoides	13
	2.5 Quinonas	15
	2.6 Carotenoides	15
	2.7 Ficobiliproteínas.....	16
	2.8 Flavonoides	17
3	Sustentabilidade e segurança à saúde e ao meio ambiente	20
	3.1 Ensaio de Fitotoxicidade	21
	3.2 Ensaio de Ecotoxicidade Aquática	22
	3.3 Ensaio de Toxicidade para a Saúde Humana	23
4	Regulação	25
5	Microrganismos como fábricas celulares para produção de biopigmentos ...	29
	5.1 Aplicações de técnicas de Biotecnologia e engenharia genética	30
	5.2 Edições de genes	33
	5.2.1 Engenharia de Vias Metabólicas	35
6	Metodologias de otimização industrial de produção	37
	6.1 Cultivo em Larga Escala	38
	6.1.1 Cultivo de Microalgas e Cianobactérias	38
	6.1.1.1. Sistemas de Lagoas Abertas (Open Ponds).....	40
	6.1.1.2. Fotobiorreatores (PBRs)	41
	6.1.1.3. Cultivo Heterotrófico	42
	6.1.1.4. Biofilmes.....	43
	6.1.2 Cultivo de Bactérias, Leveduras e Fungos	45
	6.1.2.1 Fermentação Submersa	45
	6.1.2.2 Fermentação em Estado Sólido.....	48
6. 2	Métodos de Separação e Extração	50
	6.2.1 Extração por Solvente Orgânico	50

6.2.2 Solventes Verdes e Líquidos Iônicos	51
6.2.3 Ultrafiltração	52
6.2.4 Cromatografia	53
7 A Indústria Têxtil: Um detalhamento de seus processos	54
7.1 Métodos de tingimentos por pigmentos na Indústria Têxtil	56
8. Aplicações sustentáveis e perspectivas na indústria têxtil de biopigmentos provenientes de organismos engenheirados	58
9. Conclusão	60

1 Introdução

A indústria têxtil, de grande importância econômica e social, é frequentemente associada a um significativo impacto ambiental negativo, particularmente em suas etapas de processamento úmido. Processos como o tingimento e o acabamento demandam grandes volumes de água, energia e, crucialmente, produtos químicos, incluindo corantes sintéticos (Khan; Malik, 2014).

Os efluentes dessas indústrias são motivo de grande preocupação devido às suas variadas consequências ambientais, sendo muitas de natureza mutagênica e carcinogênica (Grewal et al., 2022). A toxicidade desses compostos varia com sua diluição e dispersão no meio ambiente, afetando a diversidade dos organismos vivos (Yusuf, 2019). Em 2021, estudos conduzidos por Odubanjo et al. na Nigéria demonstraram que esses efluentes podem causar um desequilíbrio ecológico expressivo, causando a morte de microrganismos do solo e extinção local de espécies. No estudo, quando comparados os microbiomas de água doce impactados com um ambiente não poluído similar, constatou-se que os efluentes causaram o desaparecimento de quase 50 mil espécies de archaea, bactérias e fungos (Odubanjo; Oyetibo; Ilori, 2021).

Diante desses desafios ambientais, intensifica-se a busca por alternativas mais sustentáveis para a coloração de materiais têxteis. A necessidade de remediação e pré-tratamento dos efluentes industriais têxteis antes de seu descarte é uma questão evidente (Grewal et al., 2022); contudo, essa abordagem aborda apenas uma dimensão do problema, cuja causa primária reside na utilização de corantes sintéticos (Yusuf, 2019). Nesse sentido, os corantes e pigmentos naturais tornam-se uma alternativa necessária e têm atraído crescente interesse na pesquisa científica como uma solução mais abrangente e com significativo potencial mercadológico.

Os termos corante, pigmento, biopigmento e colorantes embora frequentemente empregados de forma intercambiável, possuem distinções cruciais baseadas em suas propriedades físicas e químicas.

Por definição, colorantes são substâncias que causam variação da cor ou da absorção da luz visível quando adicionadas a um substrato, englobando os corantes e

pigmentos, ou seja, qualquer composto usado para dar cor (Rajeshwar et al., 2008). Já o termo corante se refere a substâncias coloridas solúveis no meio em que são aplicadas, tipicamente em solução aquosa, podendo ser orgânicas ou inorgânicas. Possuem uma afinidade pelo substrato ao qual são adicionados, interagindo química ou fisicamente e sendo absorvidos para conferir cor. Estruturalmente, os corantes são geralmente compostos orgânicos caracterizados pela presença de cromóforos (grupos com múltiplas ligações responsáveis pela cor, como N=N-, C=O, NO₂, grupos quínoídeos) e auxocromos (grupos que intensificam a cor e conferem solubilidade em água, como OH, NH₂, SO₃H) (Kumar et al., 2021). Devido ao seu tamanho de partícula menor e à natureza de suas ligações conjugadas de elétrons, os corantes são frequentemente menos estáveis à luz UV e possuem uma vida útil mais curta em comparação com os pigmentos.

Em contrapartida, pigmentos são substâncias coloridas que são praticamente insolúveis no meio em que são incorporadas, existindo como pequenos grãos ou partículas. Eles modificam a cor da luz refletida ou transmitida por absorção seletiva ou espalhamento de comprimento de onda. As partículas de pigmentos são geralmente maiores que as dos corantes, o que contribui para sua maior estabilidade à luz UV e maior durabilidade (Kumar et al., 2021). Podem ser de origem orgânica ou inorgânica, dos quais, os pigmentos de origem inorgânica frequentemente contêm cátions metálicos.

A adição do prefixo “bio” em ambos os termos indica que as substâncias coloridas são de origem biológica ou natural, sendo produzidas por organismos vivos como plantas, animais ou microrganismos.

O mercado global de corantes e pigmentos apresenta um volume substancial. Em 2024 o mercado mundial de biopigmentos representou 31,29 bilhões de dólares, com expectativa de crescimento ano após ano de 4,5% até 2033 (Bio-based Pigments and Dyes Market 2025) Esse tamanho de mercado e sua expansão, aliados à crescente preocupação dos consumidores com a pegada ambiental das marcas de roupa, têm impulsionado a demanda por alternativas naturais seguras, não tóxicas e ecologicamente corretas, elevando sua aceitação no mercado (Hur; Faragher- Siddall, 2022).

Os pigmentos naturais podem ser obtidos de diversas fontes, incluindo plantas, animais e microrganismos. Contudo, os pigmentos derivados de plantas e animais apresentam limitações significativas, como baixa consistência, devido a variabilidade de cor entre lotes da mesma fonte, o que compromete a consistência tonal e dificulta a

padronização e rendimento (Alegbe; Uthman, 2024), dificuldade de escalonamento da produção e dependência de fatores sazonais. Nesse contexto, os pigmentos produzidos por microrganismos se destacam como uma alternativa particularmente promissora para suprir essa crescente demanda (Aman Mohammadi et al., 2022). Os biopigmentos microbianos oferecem diversas vantagens, incluindo: a produção independente de sazonalidade, a capacidade de mitigar os problemas de poluição ambiental associados à síntese química (Xu; Gao; An, 2023), e a produção de compostos com diversas propriedades benéficas adicionais, como atividades antioxidante, antimicrobiana e anticancerígena, agregando maior valor aos produtos (Dasgupta Mandal; Majumdar, 2023; Esatbeyoglu; Rimbach, 2017; Tiwari, 2022).

Embora os microrganismos representem uma plataforma promissora para a produção de biopigmentos, desafios consideráveis persistem. Uma das principais barreiras para a produção utilizando linhagens naturais (selvagens) reside no baixo rendimento ou produtividade em comparação com a crescente demanda do mercado (Srivastava et al., 2022). Frequentemente, essas cepas selvagens produzem concentrações relativamente baixas dos compostos desejados, resultando em suprimentos insuficientes para aplicações industriais e tornando-as menos atrativas devido aos elevados custos associados ao cultivo microbiano e aos processos de extração dispendiosos (Dasgupta Mandal; Majumdar, 2023).

Em resposta a esses desafios, a engenharia genética emerge como uma ferramenta promissora no contexto da produção de biopigmentos. Recentemente, avanços notáveis em biologia sintética e engenharia metabólica têm impulsionado a construção e otimização das rotas metabólicas responsáveis pela produção de pigmentos em fábricas celulares microbianas (Xu; Gao; An, 2023). Essas tecnologias possibilitam a modificação e a regulação precisa das vias de síntese, visando o aumento do rendimento e da eficiência na produção de diversos biopigmentos (Agarwal et al., 2023; Dasgupta Mandal; Majumdar, 2023; Srivastava et al., 2022)

A engenharia genética tem se demonstrado mais precisa, direcionada, eficiente e segura do que métodos tradicionais de mutagênese (Srivastava et al., 2022). Essa abordagem biotecnológica possibilita a criação de fábricas celulares com genomas editados para obter novas características e regular a expressão seletiva de genes, resultando em altos rendimentos do produto e até mesmo alternativas inovadoras como a criação de biomateriais auto-pigmentados (Walker et al., 2025). Dessa forma, a

engenharia genética demonstra um significativo potencial como alternativa sustentável para a produção de biopigmentos, impulsionando o desenvolvimento de processos mais eficientes e economicamente viáveis.

A construção dessas fábricas celulares microbianas para a síntese desses pigmentos naturais oferece vantagens significativas, incluindo o emprego de linhagens com histórico genético bem caracterizado e a viabilidade de cultivo celular em alta densidade e velocidade (Xu; Gao; An, 2023). No entanto, apesar do potencial promissor, desafios como o custo considerável de produção em escala industrial, os custos significativos do processamento *downstream* (que incluem etapas como separação, purificação e formulação), os baixos rendimentos em alguns processos e a possível coprodução de toxinas ainda são possíveis obstáculos para a ampla adoção dos biopigmentos em comparação com os pigmentos sintéticos (Aman Mohammadi et al., 2022; Fried et al., 2022; Sandybayeva et al., 2022).

Este trabalho tem como objetivo revisar os recentes avanços no campo da engenharia genética aplicada à produção de biopigmentos e explorar o potencial e as aplicações sustentáveis desses compostos na indústria têxtil. Serão abordadas as principais estratégias de engenharia de microrganismos para a produção de diferentes classes de biopigmentos, as vantagens de sua utilização em comparação com os pigmentos sintéticos, e exemplos de sua aplicação direta no tingimento de materiais têxteis, incluindo o desenvolvimento de materiais com multifuncionalidade agregada pelos biopigmentos (como atividade antimicrobiana). Adicionalmente, serão investigadas as questões de toxicidade e os quadros regulatórios vigentes, com foco na análise de ensaios toxicológicos e seus impactos na segurança ambiental e humana. É necessário consolidar o conhecimento nesta área de rápida evolução, a fim de destacar o papel crucial da engenharia genética na viabilização de uma indústria têxtil mais ecológica, sustentável e economicamente competitiva.

2 Definições e tipos de Biopigmentos

Diferentemente dos pigmentos sintéticos, que prevaleceram por décadas devido ao baixo custo e alta estabilidade (Rajendran; Somasundaram; Dufossé, 2023) apesar da natureza tóxica, não biodegradável e apresentar riscos à saúde humana e ao meio ambiente, os biopigmentos são colorantes naturais produzidos por organismos vivos. Em

relação à pigmentos produzidos por microrganismos, o termo "pigmento microbiano" é preferido em relação a "corante microbiano", referindo-se a qualquer metabólito biológico colorido (Fried et al., 2022).

Uma das fontes mais promissoras de biopigmentos são justamente os microrganismos, incluindo bactérias, fungos, leveduras e microalgas/cianobactérias (Saini; Pabbi; Shukla, 2018). Esses microrganismos sintetizam uma vasta gama de pigmentos coloridos como metabólitos secundários, os quais exercem diversas funções fisiológicas, como proteção contra a radiação UV ou participação em processos fotossintéticos (Agarwal et al., 2023). Com o avanço das técnicas biotecnológicas, os microrganismos têm se tornado as "fábricas celulares" preferenciais para a produção de biopigmentos naturais oriundos de outros organismos, como as plantas. Essa preferência se justifica por diversos fatores, incluindo a independência da sazonalidade, uma limitação comum na extração vegetal, e a capacidade de realizar a cultura microbiana de forma rápida e em alta densidade (Xu; Gao; An, 2023). Os biopigmentos podem ser divididos em diversas categorias, e as principais são descritas a seguir.

2.1 Melaninas

As melaninas, um grupo heterogêneo de pigmentos poliméricos conhecidos por sua ampla absorção de luz em todo o espectro visível, exibem uma gama de coloração que tipicamente varia do marrom ao preto, com a possibilidade de apresentar tonalidades amarelo-avermelhadas (Orlandi et al., 2022). Quimicamente, esses polímeros complexos são formados pela oxidação e polimerização de diversas unidades monoméricas, incluindo compostos fenólicos e indólicos, resultando em uma estrutura frequentemente descrita como indefinida (Glagoleva; Shoeva; Khlestkina, 2020). Notavelmente, as melaninas foram identificadas por sua aplicação no tingimento e estampagem de tecidos de lã, sugerindo seu potencial como uma fonte natural de corantes escuros e com potenciais propriedades de proteção UV para a indústria têxtil (Amal et al., 2011). A figura 1 representa a estrutura química da eumelanina, melanina responsável pelas cores escuras na pele, cabelo e olhos humanos onde é possível constatar a presença de anéis aromáticos e heterocíclicos.

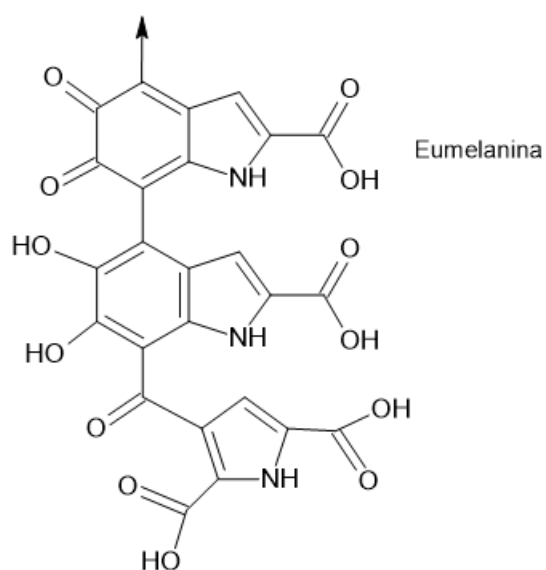


Figura 1- Estrutura química da melanina. Na imagem é representando o monômero.
 Fonte: Elaboração própria utilizando o software ChemSketch

2.2 Pirróis

Os pirróis constituem uma classe de pigmentos pertencentes aos compostos heterocíclicos nitrogenados, sendo a prodigiosina (PG) o biopigmento mais conhecido dentro deste grupo (Orlandi et al., 2022). Estes compostos conferem uma coloração vermelha característica, e sua estrutura química é definida por um esqueleto comum pirrolilpirrometeno (Tang et al., 2025). Na aplicação têxtil, extratos bacterianos contendo prodigiosina são frequentemente empregados no tingimento, demonstrando aplicabilidade em uma ampla gama de fibras, incluindo lã, nylon, acrílicos, seda, poliéster e algodão (Kumar et al., 2015). Adicionalmente, extratos bacterianos brutos têm sido utilizados como biocorantes têxteis, evidenciando o potencial direto destes pigmentos microbianos na coloração de materiais (Kramar et al., 2014). A figura 2 representa a estrutura química da prodigiosina.

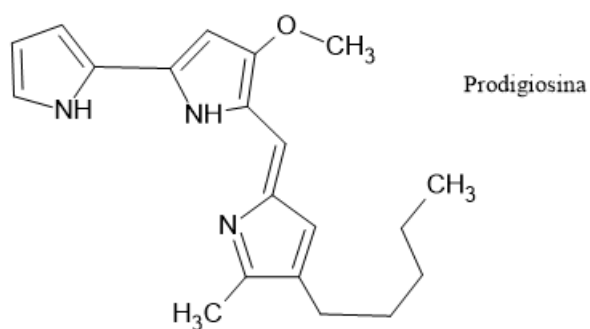


Figura 2 - Estrutura química da prodigiosina.
 Fonte: Elaboração própria utilizando o software ChemSketch

2.3 Fenazinas

As fenazinas representam um grupo de compostos heterocíclicos que contêm nitrogênio em sua estrutura. Quimicamente, as fenazinas são caracterizadas por uma estrutura de dois anéis benzênicos fundidos a um anel pirazínico central. A piocianina se destaca como o principal biopigmento desta classe. Em seu estado completamente oxidado, a Piocianina exibe uma coloração azul, tornando-se incolor quando reduzida. É reconhecida como um pigmento azul produzido por espécies de *Pseudomonas* (Orlandi et al., 2022). No contexto da aplicação têxtil, extratos bacterianos que contêm piocianina são utilizados no processo de tingimento, demonstrando o potencial destes biopigmentos microbianos para conferir coloração azul a tecidos (Sengupta; Bhowal, 2023). A Figura 3 representa a estrutura química da Piocianina.

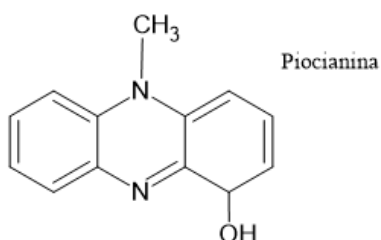


Figura 3 - Estrutura química da Piocianina.
 Fonte: Elaboração própria utilizando o software ChemSketch

2.4 Indigoides

Os Indigoides constituem uma classe proeminente de pigmentos e corantes, abrangendo tanto compostos de origem natural quanto análogos produzidos sinteticamente, sendo classificados primariamente com base na sua estrutura química heterocíclica (Fried et al., 2022). De modo geral, o representante mais reconhecido é o Índigo, um corante azul derivado do indol. Contudo, a classificação funcional da classe de indigoides inclui importantes biopigmentos microbianos com propriedades e aplicações têxteis análogas, mas com rotas biossintéticas distintas. É o caso da indigoidina, um pigmento azul de relevância crescente como substituto sustentável do Índigo, que, diferentemente dos indigoides clássicos, é sintetizado a partir do L-glutamato (Tang et al., 2025). Além desses pigmentos com colorações azuis, a classe estrutural mais ampla (estruturas químicas derivadas do indol) engloba pigmentos de diversas colorações, como a violaceína (púrpura/violeta, derivada do L-triptofano), evidenciando a diversidade cromática e funcional desta família de compostos de interesse biotecnológico (Fried et al., 2022).

No contexto da aplicação têxtil, o índigo possui um significado histórico como corante, predominantemente produzido sinteticamente para o tingimento de tecidos, como o jeans. No entanto, sua produção envolve o uso de químicos tóxicos, contribuindo para a severa poluição da água, o que destaca a necessidade de alternativas sustentáveis (Periyasamy; Periyasami, 2023). A indigoidina, por sua vez, emerge como um pigmento azul natural com um potencial promissor para aplicações de tingimento sustentável, alinhando-se com a crescente demanda por opções ecologicamente corretas na indústria. O desenvolvimento de bactérias metabolicamente modificadas, como *Corynebacterium glutamicum*, para a produção de alto nível de indigoidina demonstra a viabilidade de produzir este corante natural de forma sustentável, potencialmente reduzindo a dependência da síntese química tóxica e mitigando o impacto ambiental do tingimento têxtil (Ghiffary et al., 2021). A Figura 4 representa a estrutura química do índigo e da indigoidina.

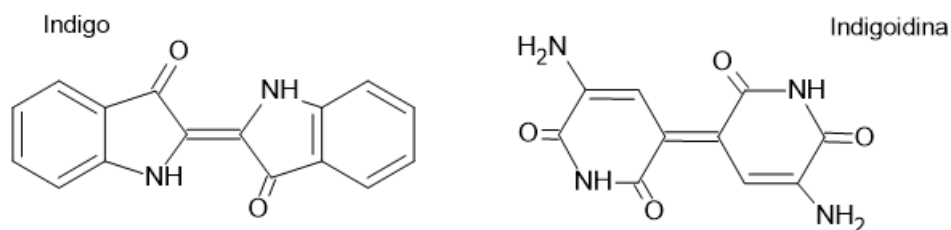


Figura 4 - Estruturas químicas do Indigo, pigmento natural da planta *Indigofera tinctoria* produzido majoritariamente de forma sintética e da Indigoidina, pigmento natural produzido por bactérias.
Fonte: Elaboração própria utilizando o software ChemSketch

A violaceína, é um biopigmento da família dos indigoides e é produzida por diversos tipos de bactérias, e ela assume um destaque particular devido à sua relevância na aplicação têxtil (Grewal et al., 2022).

Na indústria têxtil, a violaceína demonstra versatilidade como biopigmento, sendo extratos bacterianos contendo esse pigmento frequentemente utilizados no tingimento de uma variedade de fibras, incluindo algodão, seda, rayon, acrílico, poliéster e poliamida (Kramar; Kostic, 2022). Essa capacidade de aplicação em diferentes tipos de tecidos ressalta o potencial da violaceína para a obtenção de tons de violeta e azul, alinhando-se com a crescente busca por alternativas sustentáveis e cores diferenciadas no setor têxtil brasileiro e global. Além de sua função como corante, a violaceína também confere propriedades antimicrobianas aos tecidos, atuando contra fungos fitopatogênicos como *Rosellinia necatrix*, o que agrega valor funcional ao material (Durán et al., 2012). Contudo, a aplicação em larga escala deste pigmento ainda é incipiente, devido à persistência de desafios relacionados ao baixo rendimento de produção, aos custos elevados e à estabilidade cromática inferior quando comparada à dos corantes sintéticos estabelecidos (Dasgupta Mandal; Majumdar, 2023). A Figura 5 representa a estrutura química da violaceína.

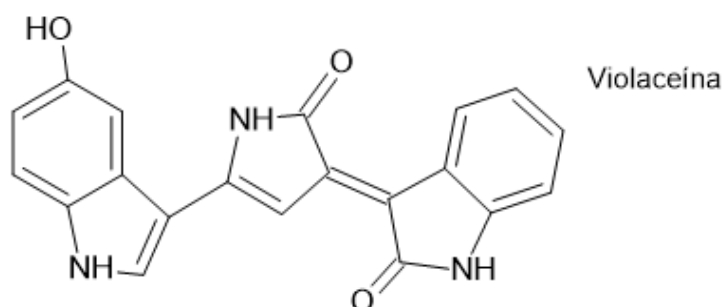


Figura 5 - Estrutura química da Violaceína
Fonte: Elaboração própria utilizando o software ChemSketch

2.5 Quinonas

As quinonas representam um grupo de pigmentos naturais amplamente distribuídos em plantas, animais e microrganismos, englobando biopigmentos significativos como antraquinonas, naftoquinonas e benzoquinonas (Yusuf; Shabbir; Mohammad, 2017). Esses pigmentos exibem uma gama diversificada de cores, variando do amarelo ao vermelho, e incluindo variações de tons de verde, marrom ou violeta, com as antraquinonas especificamente produzindo cores azuis, violetas e vermelhas. A estrutura química das quinonas é caracterizada por um grupo cromóforo quinóide – um anel de benzeno com um grupo carbonil adjacente. As antraquinonas, em particular, possuem um sistema de anel aromático fundido (Dulo et al., 2021).

Notavelmente, as antraquinonas naturais são utilizadas para tingimento de diversos tecidos, com potencial utilização no desenvolvimento de tecidos funcionais dotados de propriedades antimicrobianas e de proteção ultravioleta, contudo com desafios para aumento de escala de produção (Pizzicato et al., 2023). A Figura 6 representa a estrutura química da Antraquinona.

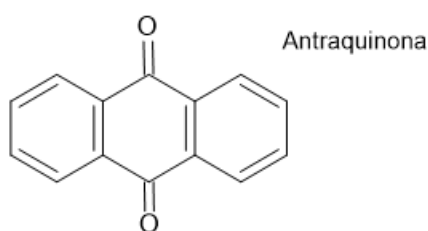


Figura 6 - Estrutura química da antraquinona
Fonte: Elaboração própria utilizando o software ChemSketch

2.6 Carotenoides

Carotenoides representam uma ampla e diversificada classe de produtos naturais que funcionam como pigmentos absorventes de luz na faixa visível e são derivados de unidades de isopreno (Grewal et al., 2022). Exibindo cores vibrantes que variam do

amarelo ao laranja e vermelho, os carotenoides são caracterizados por sua estrutura tetraterpenoide C₄₀, formada por oito unidades de isopreno. Os carotenoides são classificados em carotenos, que são hidrocarbonetos não oxigenados, e xantofilas, que são derivados oxigenados. Este grupo engloba biopigmentos como β -caroteno, astaxantina, luteína, zeaxantina, licopeno, cantaxantina e fucoxantina, sendo o β -caroteno particularmente utilizado na indústria de pigmentos (Brudzyńska; Sionkowska; Grisel, 2021). A Figura 7 representa a estrutura química do β -Caroteno.

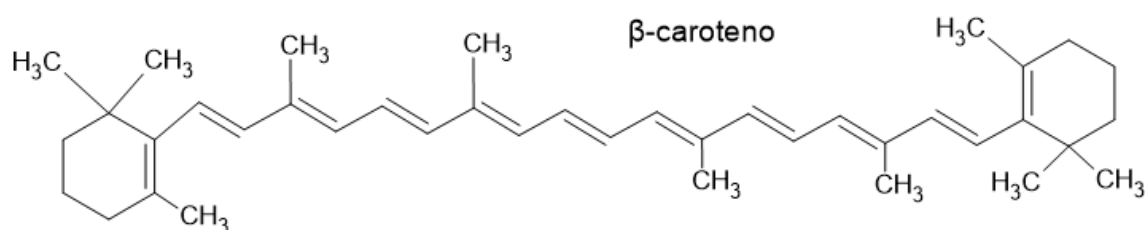


Figura 7 - Estrutura química do β -caroteno

Fonte: Elaboração própria utilizando o software ChemSketch

2.7 Ficobiliproteínas

As ficobiliproteínas, constituem um grupo de complexos pigmento-proteína fluorescentes e solúveis em água, encontrados em cianobactérias e algas vermelhas. Estes complexos desempenham um papel na captação adicional de luz para a fotossíntese. As principais biliproteínas incluem ficoeritrina, ficocianina e aloficocianina (Mandal; Chanu; Chaurasia, 2020). Em termos de coloração, a ficoeritrina é vermelha, a ficocianina é azul, a aloficocianina absorve a 650 nm, e a ficoeritrocianina é laranja. Quimicamente, as biliproteínas consistem em proteínas ligadas covalentemente a tetra-pirróis lineares denominados ficobilinas (Mandal; Chanu; Chaurasia, 2020). A ficocitrina apresenta um significativo potencial de aplicação, com tecidos de algodão tingidos demonstrando conformidade com os padrões europeus de solidez da cor à lavagem e à fricção (Moldovan; Ferrandiz; Bonet, 2017). A Figura 8 representa a estrutura química da Ficoeritrina.

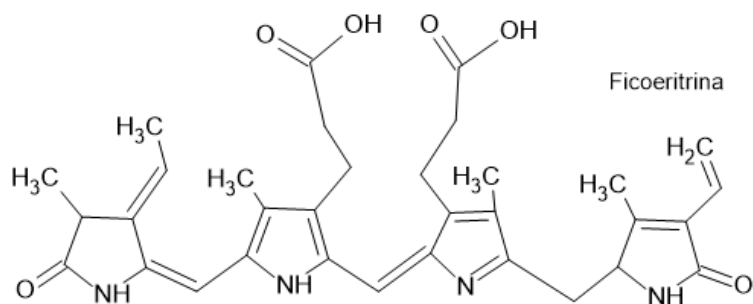


Figura 8 - Estrutura química da ficoeritrina.
 Fonte: Elaboração própria utilizando o software ChemSketch

2.8 Flavonoides

Flavonoides constituem uma classe de pigmentos hidrossolúveis encontrados principalmente em plantas. Quimicamente, os flavonoides são caracterizados por uma estrutura de esqueleto C6–C3–C6, compreendendo dois anéis de benzeno conectados por uma ponte de três carbonos. Este grupo engloba os flavonóis, antocianidinas, isoflavonas, chalconas, flavonas e auronas, com exemplos notáveis sendo a Quercetina e as Antocianinas (Deveoğlu; Karadağ, 2019). Estes pigmentos exibem uma gama de cores que varia do amarelo pálido ao amarelo profundo, laranja e tons de vermelho e azul, particularmente no caso das antocianidinas. Os flavonoides, enquanto uma classe de corantes naturais, exibem uma diversificada gama de aplicações, incluindo a indústria têxtil, dada a sua relevância e potenciais propriedades benéficas, como a ação antioxidante (Li et al., 2019). A Figura 9 representa a estrutura química da ficoeritrina

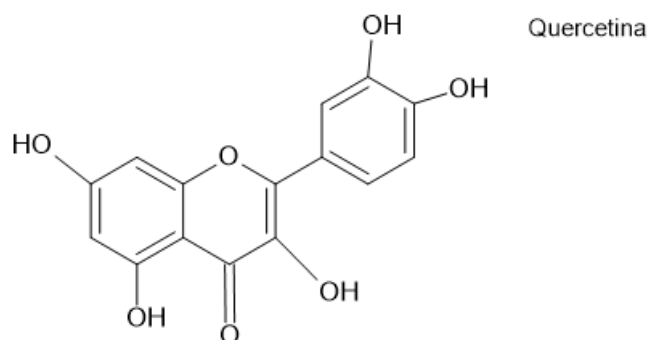


Figura 9 - Estrutura química da quercetina.
 Fonte: Elaboração própria utilizando o software ChemSketch

A diversidade dos biopigmentos, evidenciada por suas distintas classes químicas e múltiplas fontes naturais, consolida seu potencial como alternativas promissoras aos

pigmentos sintéticos (Orlandi et al., 2022). A tabela 1 fornece exemplos de produção de biopigmentos por microrganismos geneticamente modificados. A Tabela 1 representa alguns exemplos de uso desses microgarnismos para produzir biopigmentos.

Tabela 1- Exemplos de produção de biopigmentos por microrganismos engenheirados

Classe do Biopigmento	Biopigmento	Microorganismo	Concentração Atingida (mg/L)	Sistema/Estratégia de Cultivo	Referências
Carotenoides	Astaxantina	<i>Escherichia coli</i>	385,4	Fermentação Submersa	(Park et al., 2018)
Indigoides	Indigoidina	<i>Rhodospiridium toruloides</i>	86.300	Fermentação Submersa	(Wehrs et al., 2019)
Flavonoides	Cianidina	<i>Escherichia coli</i>	439	Fermentação Submersa	(Shrestha et al., 2019)
Violaceína	Violaceína	<i>Escherichia coli</i>	107	Fermentação Submersa	(Xu et al., 2022)
Prodigiosina	Prodigiosina	<i>Pseudomonas putida</i>	94	Fermentação Submersa	(Domröse et al., 2015)
Melaninas	Melanina	<i>Escherichia coli</i>	3220	Fermentação Submersa	(Chávez-Béjar et al., 2013)
Ficobiliproteínas	Ficocianina	<i>Escherichia coli</i>	13	Fermentação Submersa	(Ma et al., 2020)
Quinonas	Menaquinona (Vitamina K2)	<i>Bacillus subtilis</i>	310	Fermentação Submersa	(Cui et al., 2020)
Fenazinas	Piocianina	<i>Escherichia coli</i>	18,8	Fermentação Submersa	(Da Silva et al., 2021)

Esta diversidade confere-lhes uma ampla gama de aplicações, com particular relevância para a indústria têxtil, onde podem conferir não apenas coloração, mas também propriedades funcionais aos tecidos, agregando valor ao produto. Outra grande vantagem reside na sua segurança e sustentabilidade, uma vez que geralmente são biodegradáveis, devido sua produção por vias metabólicas naturais, não tóxicos e minimizam o impacto ambiental associado à produção e descarte de corantes convencionais (Dasgupta Mandal; Majumdar, 2023). Nesse contexto, a pesquisa e o desenvolvimento de biopigmentos representam um avanço crucial na busca por soluções mais ecologicamente corretas, seguras e sustentáveis.

Na indústria têxtil, a aplicação de biopigmentos microbianos é vista como um caminho crucial para a sustentabilidade (Fried et al., 2022). Eles podem ser utilizados para o tingimento de tecidos oferecendo uma alternativa ecológica aos corantes químicos (Kramar; Kostic, 2022). Entretanto, a produção em larga escala de biopigmentos encontra alguns desafios, devido a capacidade limitada de ligação com os substratos têxteis, a menor saturação de cor e a menor durabilidade do pigmento (Saxena; Raja, 2014). Por exemplo, as ficocianinas são sensíveis ao calor, enquanto a prodigiosina é sensível ao pH, luz e altas temperaturas, exigindo sistemas de entrega inovadores para sua estabilização (Orlandi et al., 2022). A baixa afinidade de muitos pigmentos naturais com as fibras têxteis, especialmente as sintéticas, é um obstáculo significativo. Mesmo em fibras naturais, a baixa captura do corante e a pobre solidez à cor são desafios (Pizzicato et al., 2023).

Diante desses desafios, existem procedimentos exitosos na obtenção de cores duráveis em materiais têxteis por meio do emprego de pigmentos bacterianos. Entre as estratégias adotadas, destaca-se o uso de mordentes, que atuam como agentes fixadores. Embora tradicionalmente compostos por sais metálicos potencialmente tóxicos, a pesquisa atual tem focado no desenvolvimento de versões naturais e sustentáveis que demonstram eficácia comparável (Rahman; Tajuddin; Tumin, 2013). Adicionalmente, a aplicação de nanoemulsões tem se mostrado um método promissor para otimizar a entrega e a ligação dos biopigmentos às fibras têxteis, aprimorando a eficiência do processo de tingimento (Chen; Stephen Inbaraj, 2019).

3 Sustentabilidade e segurança à saúde e ao meio ambiente

Atualmente a discussão sobre sustentabilidade na indústria de corantes e pigmentos é de suma importância, impulsionada pelas preocupações crescentes com o impacto ambiental e a toxicidade associados aos corantes sintéticos convencionais. O foco tem se deslocado para a busca e aplicação de alternativas mais seguras e ecologicamente corretas, como os biopigmentos.

A avaliação da segurança de pigmentos para diversas aplicações, notadamente na indústria têxtil, constitui um processo multifacetado e desafiador. Embora o produto final têxtil não se destine ao consumo direto por humanos, o que historicamente complexificou a legislação regulatória (Wakankar, 2013), a avaliação da toxicidade e biocompatibilidade desses corantes e pigmentos torna-se extremamente importante ao considerar o impacto dos efluentes dessas indústrias, que afetam diretamente comunidades humanas e ecossistemas inteiros (Dasgupta Mandal; Majumdar, 2023; Odubanjo; Oyetibo; Ilori, 2021).

Os efluentes da indústria têxtil são conhecidos por conter uma variedade de substâncias perigosas, incluindo metais pesados como níquel, cromo, cobre, zinco, cobalto e chumbo, que podem persistir no ambiente ao entrar na água e no solo (Khan et al., 2023). Estes metais pesados e os produtos de degradação de corantes podem acumular-se em culturas alimentares e ter efeitos tóxicos em microrganismos do solo e organismos aquáticos (Yusuf, 2019). Muitos corantes sintéticos, principalmente os corantes azoicos, que representam a maior parte dos corantes têxteis sintéticos, são motivo de preocupação devido à sua potencial mutagenicidade e carcinogenicidade, já que a degradação desses corantes pode liberar aminas aromáticas, que são conhecidas por causar câncer em humanos e animais (Imtiazuddin; Tiki, 2021).

A exposição a corantes e seus subprodutos, seja por contato direto com têxteis (onde podem ser lixiviados pela transpiração) ou pela exposição ambiental indireta (Khan; Malik, 2014; Yusuf, 2019), tem sido associada a problemas como dores de cabeça, irritação pulmonar, náuseas, problemas de pele, defeitos congênitos, e o desenvolvimento de cânceres e tumores (Yusuf, 2019). A baixa biodegradabilidade e a persistência dos corantes sintéticos nos efluentes ressaltam a importância de abordagens regulatórias

(Wakankar, 2013) e da busca por alternativas mais seguras, como pigmentos de origem microbiana. As regulamentações internacionais, locais (União Europeia e Estados Unidos principalmente) e os padrões da indústria, conforme evidenciado por Chen et al. (2017), são estabelecidos para restringir a presença de substâncias perigosas, como aminas aromáticas banidas e metais pesados, em produtos têxteis (Chen et al., 2017). Essa iniciativa reflete a necessidade de assegurar a segurança ao longo de toda a cadeia de produção e descarte desses materiais. No entanto, o panorama global de produção, caracterizado por uma economia capitalista globalizada, tem levado à realocação de muitas empresas e manufaturas têxteis para regiões onde a mão de obra é mais acessível e as regulamentações ambientais, bem como as proibições de pigmentos, são mais flexíveis (Stone et al., 2020). Este cenário configura um desafio significativo para a efetivação das normas de segurança e sustentabilidade no setor.

A avaliação da toxicidade de biopigmentos constitui uma etapa fundamental para assegurar sua aplicação segura e sustentável, englobando diversas metodologias de teste. Para determinar o perfil toxicológico desses compostos, as principais categorias de ensaios empregadas são: Ensaio de Fitotoxicidade, Ensaio de Ecotoxicidade Aquática, e Ensaio de Toxicidade para a Saúde.

3.1 Ensaio de Fitotoxicidade

Os testes de fitotoxicidade avaliam os efeitos tóxicos de compostos em plantas. Um método comum e detalhado envolve o uso da percentagem de germinação de sementes e da razão raiz-caule como indicadores (Rajan Mr, 2015). Esta técnica é descrita como rápida, confiável, simples e reproduzível para investigar os danos causados por compostos tóxicos em reservatórios de águas residuais poluídas. A fitotoxicidade de efluentes têxteis sintéticos, avaliada por bioensaios, pode servir como um teste eficiente de toxicidade e um monitor de contaminação ambiental. Estudos demonstram que plantas cultivadas em meios contaminados por corantes e efluentes, incluindo metais pesados e moléculas de corantes orgânicos, podem acumular estas substâncias (Islam et al., 2007; Itana F, 2002). A acumulação é frequentemente maior em partes comestíveis (brotos) do que nas raízes, apresentando um risco para a saúde humana através do consumo de vegetais afetados (Oguntade et al., 2018).

Por outro lado, biopigmentos de forma geral apresentam menor fitotoxicidade. Estudos conduzidos por Majumdar (Majumdar et al., 2020) demonstraram a não toxicidade do β -caroteno isolado de *Planococcus sp. TRC1* e da Prodigiosina de *Serratia marcescens* NITDPER1, utilizando o sistema modelo de planta *Vigna radiata*, no qual em concentrações de 10,000 $\mu\text{g/mL}$ dos compostos não foram observados riscos ou impactos negativos no comprimento radicular ou caulinar.

3.2 Ensaios de Ecotoxicidade Aquática

Os ensaios de ecotoxicidade aquática são cruciais para avaliar o impacto potencial de substâncias tóxicas em organismos que habitam ecossistemas aquáticos. A relevância desses testes é acentuada pelo conhecimento de que os efluentes da indústria têxtil, em particular, podem exercer efeitos deletérios sobre a biota aquática (Odubanjo; Oyetibo; Ilori, 2021).

Para a quantificação da toxicidade de substâncias, são empregadas diversas métricas padronizadas, tais como a Concentração Letal 50% (LC50), a Concentração Efetiva 50% (EC50) e a Concentração Efetiva para Redução da Taxa de Crescimento 50% (ErC50) (Fried et al., 2022). A aplicação dessas métricas varia conforme o organismo-teste e o tipo de efeito avaliado: a LC50 em peixes, tipicamente determinada após 96 horas de exposição, indica a concentração da substância que resulta na mortalidade de 50% da população testada. Já a EC50 em crustáceos, frequentemente avaliada após 48 horas de exposição, representa a concentração que induz um efeito subletal em 50% da população. Por sua vez, a ErC50 em algas, calculada após 72 horas de exposição, corresponde à concentração que provoca uma redução de 50% na taxa de crescimento da população algal. Adicionalmente, a IC50 (Concentração Inibitória 50%) aplicada a microrganismos refere-se à concentração (geralmente estipulada como $< 100 \text{ mg/L}$) que inibe o crescimento de 50% da população microbiana. (Fried et al., 2022).

Embora biopigmentos com propriedades bactericidas potencialmente, como a prodigiosina, possam apresentar altos valores de IC50 em testes de toxicidade, eles demonstram a vantagem de serem, de modo geral naturalmente decompostos em análogos menos tóxicos para os microrganismos, uma característica que os distingue

favoravelmente dos seus análogos sintéticos (Fried et al., 2022, 2022; Montaner; Pérez-Tomás, 2001).

Essa distinção é corroborada por estudos que revelaram que, dentre 3000 corantes sintéticos testados para LC50 em peixes, 30% foram classificados como de toxicidade aguda, em conformidade com as definições estabelecidas pela OCDE (Organização para a Cooperação e Desenvolvimento Econômico) (Clark M, 2011).

3.3 Ensaios de Toxicidade para a Saúde Humana

A avaliação da toxicidade de biopigmentos para a saúde humana é um componente crítico para sua aplicação segura e sustentável. Esta categoria de ensaios abrange diversas abordagens, desde a toxicidade aguda até a genotoxicidade e carcinogenicidade (Rajendran; Somasundaram; Dufossé, 2023).

A toxicidade aguda é avaliada por meio de estudos que consideram vias de exposição oral, inalatória e dérmica (Yusuf, 2019). Corantes reativos, por exemplo, são conhecidos por induzir sensibilização e irritação cutânea, manifestando-se como dermatite de contato e conjuntivite alérgica, além de desencadear problemas respiratórios como rinite e asma (Yusuf, 2019). O Sistema Globalmente Harmonizado de Classificação e Rotulagem de Produtos Químicos (GHS) estabelece critérios para a toxicidade aguda com base em resultados de testes de LD50 (dose letal 50%) em animais. Substâncias são classificadas como prejudiciais (categoria 4, com LD50 oral entre 300 e 2000 mg/kg) ou tóxicas (categorias 1 a 3, com LD50 oral abaixo de 300 mg/kg). Ensaios de citotoxicidade, utilizando linhagens celulares como a renal de rato NRK-52E, HEK-293 e glóbulos vermelhos humanos, são empregados para avaliar os efeitos diretos dos pigmentos sobre as células (Majumdar et al., 2020; Majumdar; Mandal; Dasgupta Mandal, 2022a).

A avaliação da genotoxicidade e carcinogenicidade é de particular importância, especialmente no contexto de corantes azoicos e à base de benzidina (Hessel et al., 2007). É amplamente reconhecido que efluentes da indústria têxtil podem apresentar caráter mutagênico e carcinogênico. Dessa forma, estudos de potencial genotóxico são essenciais para prever o impacto desses compostos em animais, vegetais e humanos (Kim et al., 2006). A Agência Internacional de Pesquisa sobre o Câncer (IARC) classificou diversos

corantes azoicos e seus intermediários como carcinogênicos conhecidos, prováveis ou possíveis para humanos (Grupos 1, 2A ou 2B, respectivamente) (Yusuf, 2019). Estudos epidemiológicos em trabalhadores da indústria de corantes têm demonstrado uma elevada incidência de câncer de bexiga, correlacionada à exposição a certas substâncias (Imtiazuddin; Tiki, 2021). Por exemplo, um dos teste padrão consiste na extração com solventes, seguida de separação e análise por cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC). Esse método é utilizado para quantificar a presença de aminas aromáticas, assegurando que os níveis estejam dentro dos limites estabelecidos pelas regulamentações europeias e japonesas (Dolez; Benaddi, 2018).

A toxicidade de pigmentos em produtos têxteis pode ser avaliada também por meio da avaliação de risco por exposição dérmica, que emprega modelos para estimar a absorção de substâncias em contato com a pele. Essa avaliação é realizada através de três cenários que simulam a lixiviação de corantes azoicos: esfregação a seco (simulando contato sem suor e desgaste do tecido), esfregação úmida (imitando contato com suor) e banho de suor (simulando imersão em solução que replica o suor) (Chen et al., 2017). Tais modelos estimam a absorção diária efetiva de aminas, considerando tanto exposições agudas quanto crônicas, e seu potencial de contribuição para o desenvolvimento de câncer (Chen et al., 2017).

De maneira geral, os biopigmentos demonstram um desempenho favorável nos ensaios de toxicidade. Por exemplo, estudos de citotoxicidade (Montaner; Pérez-Tomás, 2001) demonstraram que a prodigiosina é não-tóxica para a linhagem de células de rim de rato (NRK-52E) em concentrações de até 1600 nM (0,52 mg/L). De forma similar, outros estudos (Majumdar; Mandal; Dasgupta Mandal, 2022b) relataram a não toxicidade da prodigiosina e do β -caroteno bacteriano, ambos isolados de *Serratia marcescens* NITDPER1 e *Planococcus sp.* TRC1, respectivamente, em estudos conduzidos no sistema vegetal modelo *Vigna radiata*. O mesmo β -caroteno, quando avaliado em células da linhagem HEK-293 e em eritrócitos humanos, confirmou seu uso seguro, sem causar impactos tóxicos *in vitro* em sistemas animais sendo amplamente reconhecidos como uma alternativa promissora e intrinsecamente mais sustentável. Outro exemplo seria a melanina extraída de *Dietzia schimae*, a qual não foi tóxica para as células fibroblásticas humanas em concentrações de até 250 μ g/mL.

A caracterização como geralmente seguros, não tóxicos, não carcinogênicos, não alergênicos e biodegradáveis posiciona os biopigmentos como uma opção vantajosa em

comparação aos corantes sintéticos (Rajendran; Somasundaram; Dufossé, 2023). Essas características aumentam a aceitação por parte do consumidor e minimizam os riscos ocupacionais e ambientais. A biodegradabilidade predita e meia vida média para corantes de origem natural tendem a ser melhor do que a dos sintéticos (Fried et al., 2022).

4 Regulação

A indústria têxtil é regulamentada por legislações que restringem o uso de determinadas substâncias, motivadas por preocupações crescentes com a saúde humana e o impacto ambiental (Khan et al., 2023). Embora não exista uma proibição legal generalizada para todos os corantes e pigmentos sintéticos que representam um desafio potencial à sustentabilidade, é crucial ressaltar que diversas substâncias perigosas inerentes a esses produtos, ou liberadas durante as etapas de processamento e uso têxtil, são submetidas a rigorosas restrições ou proibições.

A complexidade da regulamentação no setor de pigmentos para a indústria têxtil reside em sua abordagem multifacetada, envolvendo diferentes níveis e tipos de controle. Autoridades governamentais em vários países e regiões estabelecem limites estritos através de suas próprias legislações. No cenário internacional, convenções como as de Basileia, Roterdã e Estocolmo fornecem ferramentas essenciais para controlar o comércio de substâncias tóxicas, com a Organização Mundial do Comércio (OMC) também influenciando as dinâmicas de regulação (Stone et al., 2020).

A União Europeia (UE) desempenha um papel central com regulamentos abrangentes como o REACH (Registration, Evaluation, Authorization and Restriction of Chemicals), que se aplica a substâncias em artigos têxteis (Yusuf, 2019). Além disso, a Comissão Europeia emite diretivas específicas, como aquelas que proíbem aminas aromáticas perigosas e as relacionadas ao Ecolabel da UE, bem como as diretrizes de Melhores Técnicas Disponíveis (BAT) do IPPC (Integrated Pollution Prevention and Control), que visam reduzir a poluição na indústria (Stone et al., 2020).

No contexto regulatório brasileiro, a legislação referente aos pigmentos empregados na indústria têxtil tem sido caracterizada por lacunas específicas. Contudo, avanços significativos têm sido observados recentemente em relação ao tema. Embora a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) seja a entidade responsável pela definição e regulamentação de substâncias em diversas categorias, como alimentos,

cosméticos e medicamentos, inexistem uma lei específica que estabeleça de forma abrangente quais substâncias colorantes podem ou não ser utilizadas na indústria têxtil.

Em um movimento colaborativo para preencher essas lacunas, em 2019, o Grupo de Estudos coordenado pela Associação Brasileira de Normas Técnicas (ABNT), com o apoio da Associação Brasileira da Indústria Têxtil e de Confecções (ABIT), da Associação Brasileira da Indústria Química (ABIQUIM) e de outras entidades, lançou a normativa ABNT NBR 16787:2019. Esta norma voluntária tem como objetivo auxiliar as empresas a entenderem e seguirem as normas técnicas e as boas práticas da indústria, contudo não possuiu valor legislativo. Dentro desta normativa, são destacados nove grupos de substâncias restritas que são relevantes para a segurança química em têxteis: Formaldeído; Alquilfenol e Nonilfenol; Corantes Azóicos; Corantes Dispersos Alergênicos; Ftalatos; Clorofenóis; Metais Pesados Totais, incluindo cádmio, chumbo, cromo, mercúrio e níquel; Flúor Carbonos (PFOS e PFOA) e Compostos Organoestânicos.

Adicionalmente, um avanço regulatório de grande impacto é a Lei nº 15.022, que entrou em vigor 13/11/2024. De forma resumida, essa lei estabelece um regime de controle rigoroso para a indústria química no Brasil. Ela exige que fabricantes e importadores registrem anualmente todas as substâncias que produzam ou importem acima de 1 tonelada, detalhando sua identidade, classificação de perigo e usos de acordo com o Sistema Globalmente Harmonizado de Classificação e Rotulagem de Produtos Químicos (GHS). A legislação também institui um sistema de avaliação e gerenciamento de riscos para substâncias perigosas, podendo restringir ou proibir seu uso. A responsabilidade é compartilhada por toda a cadeia, de fabricantes a usuários finais, com a fiscalização sendo aplicada em todos os níveis e, a fim de garantir maior segurança e supervisão.

Paralelamente às regulamentações governamentais, uma rede robusta de padrões e organizações voluntárias independentes contribui significativamente para o controle da indústria. A Oeko-Tex Standard 100, desenvolvida pela *International Association for Research and Testing in the Field of Textile and Leather Ecology* (<https://www.oeko-tex.com/en/>), é um padrão normativo de destaque para artigos têxteis acabados, que define limites de tolerância para substâncias restritas e muitas vezes excede os requisitos legais mínimos. Outros padrões internacionais incluem o Bluesign® (<https://www.bluesign.com/en/>), que abrange toda a cadeia de produção com foco em

questões ambientais, de saúde e segurança ocupacional, e o GOTS (*Global Organic Textile Standard*) (<https://global-standard.org>), que assegura o status orgânico de têxteis desde a matéria-prima até o produto final, incorporando critérios ambientais e sociais. Além disso, a influência de grandes varejistas globais tem um peso importante; devido ao seu poder de mercado, grandes marcas globais frequentemente estabelecem seus próprios padrões e listas de substâncias restritas, que seus fornecedores devem seguir (Wakankar, 2013).

As listas de substâncias restritas de varejistas e ecolabels são ainda mais extensas, incluindo uma vasta gama de produtos químicos devido a preocupações com toxicidade e ecotoxicidade. Isso abrange corantes alergênicos e cancerígenos, pesticidas, carreadores orgânicos clorados, retardantes de chamas, bifenilos halogenados, substâncias que destroem a camada de ozônio, ftalatos, dioxinas e furanos, isocianatos, organoestânicos, biocidas, hidrocarbonetos aromáticos policíclicos, solventes orgânicos, amianto, produtos catiônicos, Substâncias de Preocupação Muito Alta (SVHCs) sob o regulamento REACH, além de restrições a substâncias como o cloro em alvejantes e Etoxilatos de Alquilfenol. (Wakankar, 2013). Uma dessas listas é o padrão ZDHC MRS, lista que tem objetivo de padronizar substâncias químicas que não devem ser usadas em formulações químicas (como corantes, detergentes e agentes de acabamento) durante os processos de fabricação da cadeia de suprimentos. A Tabela 2 representa as substâncias da lista ZDHC MRS.

Tabela 2 - Lista de itens proibidos da lista ZDHC MRS.

Categoria Química	Substâncias Representativas Proibidas/Restritas	Usos Potenciais na Indústria (Proibidos)
1A. Alquilfenóis (AP) e Etoxilatos de Alquilfenol (APEOs)	Nonilfenol (NP), Etoxilatos de Nonilfenol (NPEO), Octilfenol (OP), Etoxilatos de Octilfenol (OPEO)	Detergentes, agentes de limpeza, umectantes, amaciantes, emulsificantes para corantes e auxiliares de impressão.
1B. Antimicrobianos e Biocidas	Dimetilfumarato (DMFu), Triclosan.	Preservativos em formulações, agentes de controle de odor ou repelentes de insetos em artigos.

1C. Parafinas Cloradas	Parafinas Cloradas de Cadeia Curta (SCCPs) (C10-C13), Parafinas Cloradas de Cadeia Média (MCCPs) (C14-C17)	Retardantes de chama, aditivos de PVC e agentes de engraxe no processamento de couro.
1D. Clorobenzenos e Clorotoluenos	1,2-Diclorobenzeno, outros isômeros de Clorobenzenos e Clorotoluenos.	Auxiliares de tingimento (carriers) para poliéster/lã, ou como solventes.
1E. Clorofenóis	Pentaclorofenol (PCP), Tetraclorofenol (TeCP) e várias formas de Monoclorofenóis e Diclorofenóis.	Usados historicamente como conservantes para prevenir mofo em couro e peles cruas (uso agora banido).
1F. Corantes – Corantes Dispersos Alergênicos	C.I. Disperse Blue 7, C.I. Disperse Red 1, C.I. Disperse Yellow 3, entre outros.	Corantes usados no tingimento de fibras sintéticas (ex: poliéster) que podem causar reações alérgicas.
1G. Corantes – Carcinogênicos ou de Preocupação Equivalente	C.I. Direct Black 38, C.I. Acid Red 26, C.I. Basic Green 4 (Verde Malaquita), entre outros.	Corantes regulamentados e banidos do uso em têxteis e couro devido ao potencial carcinogênico.
1H. Retardantes de Chama	É proibido o uso intencional de qualquer retardante de chama halogenado, incluindo DecaBDE, HBCDD, TCEP, TDCP, e outros compostos de bromo e fósforo listados.	Aplicados para atender padrões de inflamabilidade (uso não permitido em moda, esporte, vestuário externo ou têxteis para casa).
1I. Glicóis / Éteres de Glicol	2-Etoxietanol, 2-Metoxietanol, 2-Metoxipropanol, entre outros.	Solvente para acabamento/limpeza, agentes de impressão e diluição de graxas e óleos.

1J. Solventes Halogenados	1,2-Dicloroetano, Cloreto de Benzila, Tetracloretileno, Tricloroetileno, Cloreto de Metileno.	Agentes de limpeza/acabamento, para dissolver/diluir gorduras e adesivos (desengraxe).
1K. Solventes Orgânicos	Benzeno, Tolueno, Xileno, N,N-dimetilacetamida (DMAC), N,N-Dimetilformamida (DMFa), N-Metil-2-Pirrolidona (NMP).	Usados em revestimentos (coatings) e colas/adesivos (alguns exigem melhores práticas de controle de emissão).
1L. Compostos de Organoestanho (Organotins)	Dibutilestanho (DBT), Tributilestanho (TBT), Trifenilestanho (TPT), entre outros.	Biocidas, catalisadores na produção de plástico/cola e estabilizadores de calor.
1M. Outras/Produtos Químicos Diversos	Vários, incluindo substâncias como o Formaldeído e os Ftalatos.	O Formaldeído é um conservante e agente de acabamento (limite de formulação estrito). Ftalatos são plastificantes.

Destaca-se que a aplicação dessas leis e certificados muitas vezes é falha devido a desafios significativos em análise química, que exige alta precisão para detectar substâncias em baixas concentrações, a variabilidade dos processos de produção e a implementação inconsistente das regulamentações. Além disso, a complexidade das cadeias de suprimentos globais aumentam a dificuldade em garantir a conformidade em todas as etapas, apesar dos testes no produto final (Stone et al., 2020).

5 Microrganismos como fábricas celulares para produção de biopigmentos

A produção microbiana apresenta vantagens significativas: não é afetada pela sazonalidade como a extração de plantas, e a cultura microbiana pode ser realizada de

forma rápida, controlada e em alta densidade (Xu; Gao; An, 2023) . Além disso, a produção via fermentação ou biossíntese por microrganismos tende a gerar menor quantidade de resíduos prejudiciais em comparação aos processos químicos tradicionais (Durán et al., 2002). Exemplos de gêneros e espécies de microrganismos produtores de biopigmentos incluem *Serratia*, *Streptomyces*, *Monascus*, *Penicillium oxalicum*, *Ashbya gossypii* e cianobactérias como *Arthrospira platensis* (Aman Mohammadi et al., 2022; Grewal et al., 2022; Rajendran; Somasundaram; Dufossé, 2023). É importante destacar que muitos biopigmentos são produzidos por microrganismos que são patogênicos em suas linhagens selvagens, como *Serratia marcescens* (Rajendran; Somasundaram; Dufossé, 2023), o que pode representar um desafio maior para aprovações legais para produção do biopigmento em escalas industriais (Voeikova; Zhuravliova; Debabov, 2020). A vasta biodiversidade microbiana, especialmente de ambientes extremos, representa uma "paleta natural colorida" a ser explorada para a descoberta de novos pigmentos (Orlandi et al., 2022). Além de conferir cor, muitos pigmentos microbianos, como prodigiosina, violaceína e melanina, possuem propriedades bioativas desejáveis, incluindo atividades antimicrobianas, antioxidantes e anticancerígenas.

Na indústria têxtil, a aplicação de biopigmentos microbianos é vista como um caminho crucial para a sustentabilidade (Fried et al., 2022). Eles podem ser utilizados para o tingimento de tecidos oferecendo uma alternativa ecológica aos corantes químicos. Adicionalmente, a utilização de microrganismos, que são organismos geneticamente mais conhecidos e estruturalmente menos complexos que animais e plantas, oferece a possibilidade de otimização de sua produção. Essa otimização pode ser alcançada por meio da aplicação de diversas técnicas de biotecnologia e engenharia genética, aliada com otimizações de processos (Dasgupta Mandal; Majumdar, 2023).

5.1 Aplicações de técnicas de Biotecnologia e engenharia genética

Apesar das notáveis vantagens dos biopigmentos em relação aos corantes sintéticos, um dos principais obstáculos para sua ampla adoção industrial é a produção em larga escala a custos competitivos. As cepas microbianas selvagens frequentemente produzem pigmentos em quantidades insuficientes para atender à demanda (Yusuf; Shabbir; Mohammad, 2017). Superar essa limitação impulsionou significativamente o

desenvolvimento e a aplicação de estratégias biotecnológicas, com destaque para a engenharia genética e a engenharia metabólica. O aprimoramento de microrganismos para a superprodução de metabólitos de interesse industrial é uma prática comum em processos de fermentação comercial (Jung et al., 2022).

A modificação do metabolismo microbiano é uma abordagem central para aumentar a produção de biopigmentos. Isso envolve redirecionar o fluxo de carbono e energia para as vias biossintéticas dos pigmentos alvo (Cao et al., 2023). As técnicas de engenharia genética empregadas incluem a superexpressão de genes-chave envolvidos na biossíntese de pigmentos ou seus precursores, a deleção de genes que desviam o fluxo metabólico para produtos indesejados ou que regulam negativamente a produção, e a inserção de vias biossintéticas inteiras em microrganismos hospedeiros (Xu; Gao; An, 2023).

A abordagem de superexpressão de genes chave na via metabólica é uma abordagem potencialmente eficaz para desviar o fluxo e aumentar a produção de pigmentos. A introdução de hidroxilase (*crtZ*) e β -carotenóide cetolase (*crtW*) de *E. coli* em *Synechocystis*, por exemplo, resultou em um notável aumento de 500 vezes na síntese de astaxantina, um pigmento carotenóide (Diao et al., 2020). Similarmente, a superexpressão de genes relacionados à via dos aminoácidos aromáticos resultou no aumento da produção de triptofano e de seus precursores para a síntese de indirrubina, pigmento indol isômero do índigo azul (Du et al., 2018).

Outra estratégia metabólica para aumentar a produção de pigmentos é o redirecionamento do fluxo de precursores, como a redução da atividade da α -cetoglutarato desidrogenase por meio da superexpressão de seu inibidor OdhI, no trabalho conduzido por Ghiffary e colaboradores, (Ghiffary et al., 2021), onde essa modificação desviou o fluxo de α -cetoglutarato para a biossíntese de L-glutamato, resultando em um aumento significativo na produção do biopigmento azul indigoidina.

No entanto, a complexidade das interações metabólicas deve ser considerada. No mesmo estudo (Ghiffary et al., 2021), com o objetivo de aumentar a produção de L-glutamato, os autores fizeram a superexpressão do repressor transcricional de ácidos graxos (FasR), com a expectativa de induzir efeitos metabólicos análogos aos observados com a adição de Tween 40, que estimula a superprodução de L-glutamato em *C. glutamicum*. Contudo, essa modificação teve um impacto adverso, levando a uma redução

de 35% no rendimento de indigoidina e 23% na biomassa celular seca. Tais resultados ressaltam a necessidade de uma avaliação aprofundada das modificações genéticas e metabólicas para garantir a otimização da produção de biopigmentos de maneira eficiente e previsível.

Nesse sentido, as modificações genéticas e de vias metabólicas somente são possíveis com um trabalho prévio robusto de identificação de genes, construção de bibliotecas de promotores, terminadores e análise de vias metabólicas (Nielsen, 1998). A identificação de genes e vias relevantes é amplamente facilitada pelo avanço das tecnologias "ômicas", como genômica, transcriptômica, proteômica e metabolômica, que permitem uma compreensão mais profunda e a reconstrução de redes metabólicas (Cao et al., 2023). A integração dessas "ômicas" (representada pela Figura 10) auxilia na seleção precisa de alvos para modificação metabólica e no desenho racional de cepas produtoras de alto rendimento

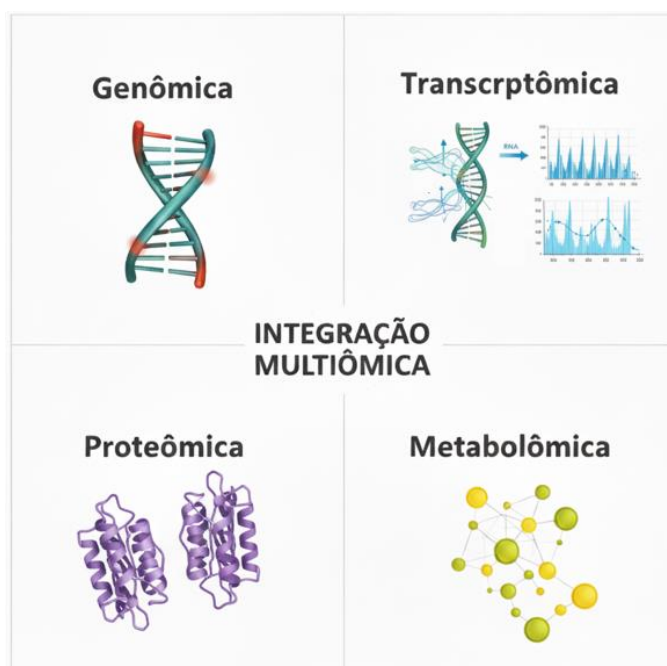


Figura 10 - integração multiômica é a análise conjunta dos dados de genômica, transcriptômica, proteômica e metabolômica para criar um panorama completo de como a informação flui do código genético até a função celular, permitindo entender de forma integrada como um sistema biológico funciona e responde a diferentes condições.

O desenho de estratégias eficazes de biotecnologia requer um conhecimento aprofundado das vias metabólicas do hospedeiro e da função de seus componentes genéticos constituintes, tais como promotores, sítios de ligação ao ribossomo (RBS), operadores, UTRs terminadores dentre outros, tanto de procariotos quanto eucariotos (Wu et al., 2014). Essa compreensão permite a montagem precisa de construções genéticas,

possibilitando o ajuste fino da expressão gênica e a implementação de novas rotas biossintéticas (Cao et al., 2023). Esse direcionamento preciso permite a otimização da produção de compostos de interesse.

Atualmente temos diversas técnicas que podem ser usadas para aumentar a produção de biopigmentos. De maneira geral, essas abordagens podem ser divididas em dois grandes blocos, de edição de genes e de modificações de vias metabólicas, sendo que muitas vezes a segunda depende da primeira.

5.2 Edições de genes

As edições de gene podem ser realizadas de diversas maneiras, desde a indução de mutações aleatórias e posterior seleção de cepas que apresentem características desejadas, a edições precisas, como o sistema CRISPR-Cas presente naturalmente em diversas espécies de bactérias que atualmente é o modelo, com suas diversas variantes, mais utilizado para edições genéticas (Dasgupta Mandal; Majumdar, 2023).

A edição via mutagênese aleatória é feita em cepas que naturalmente já produzem o composto de interesse, e é realizada por meio da aplicação de agentes mutagênicos físicos (como a irradiação ultravioleta) ou químicos (tais como a N-nitro-N-nitrosoguanidina - NTG, ou o etil metanossulfonato - EMS), com objetivo de gerar variantes com maior capacidade de produção de pigmentos (Srivastava et al., 2022). Existem trabalhos que demonstram o êxito no incremento da biossíntese de biopigmento por mutação induzida aleatoriamente como o aumento de astaxantina em *Haematococcus pluvialis* após tratamento com NTG (Fu et al., 2016), e na elevação da produção de β -caroteno em *Dunaliella bardawil*, *Scenedesmus* e *Chlorella* submetidos à irradiação UV (Choi et al., 2014; Liu et al., 2015).

Contudo, a mutagênese aleatória apresenta limitações significativas, incluindo o processo laborioso necessário para gerar e selecionar cepas efetivas, a incapacidade de identificar precisamente a mutação subjacente e o potencial de gerar mutações deletérias que comprometam o crescimento ou o metabolismo do organismo hospedeiro (Srivastava et al., 2022). Nesse sentido, atualmente é feito o uso em larga escala de métodos direcionados de edição genética, como o CRISPR-Cas.

O sistema CRISPR (*Clustered Regularly Interspaced Short Palindromic Repeats*), em associação com as proteínas Cas (*CRISPR-associated genes*), constitui um mecanismo de defesa adaptativo intrínseco a organismos procariontes, como bactérias e arqueias. Esse sistema imune molecular é caracterizado por sequências de DNA repetitivas e espaçadas que, em conjunto com os genes *cas*, capacitam os microrganismos a identificar e neutralizar elementos genéticos exógenos, como bacteriófagos e plasmídeos (Loenen; Raleigh, 2014).

A funcionalidade do sistema CRISPR/Cas assemelha-se a uma "tesoura molecular" com a capacidade de clivar sequências específicas de DNA ou RNA. Sua composição fundamental inclui duas partes principais: as proteínas Cas, que são endonucleases catalíticas, e o RNA guia (gRNA), que direciona a proteína Cas para a sequência nucleotídica alvo. A diversidade de proteínas Cas, como Cas9, Cas12 e Cas13, confere ao sistema a versatilidade de clivar DNA ou RNA, dependendo da especificidade do sistema empregado, geralmente se diferenciando na sequência que identifica para realizar o corte no DNA (Bhatia; Pooja; Yadav, 2023).

Dentre as diversas variantes do sistema CRISPR/Cas, o CRISPR-Cas9 é o mais amplamente reconhecido e aplicado na edição genômica. Neste sistema, a proteína Cas9, atuando sob a orientação de um gRNA complementar, é capaz de reconhecer e clivar sequências específicas de DNA. Essa capacidade de direcionamento preciso permite a edição genômica de alta fidelidade, possibilitando a inserção, exclusão ou modificação de genes no genoma de um organismo (Loenen; Raleigh, 2014).

Dessa forma é possível modificar o genoma de forma precisa. Isso inclui a capacidade de "desligar" (knock-out) genes específicos que possam desviar o fluxo metabólico ou limitar a produção de pigmentos. Por exemplo, a deleção do gene *ZEP1* em *Chlamydomonas reinhardtii* levou a um aumento significativo no teor de zeaxantina (Srivastava et al., 2022). O sistema CRISPR-Cas também pode ser usado para inserir genes de pigmentos em hospedeiros heterólogos e deletar sequências de DNA, transformando bactérias em fábricas celulares otimizadas (Aman Mohammadi et al., 2022). A tecnologia do CRISPR-Cas permite que múltiplos alvos sejam editados em um mesmo hospedeiro, como, por exemplo, a inclusão de 3 genes carotenogênicos (*CrtYB*, *CrtE* e *CrtI*) de *Xanthophyllomyces dendrorhous* integrados em *Saccharomyces cerevisiae* resultando em uma produção de 32 mg/g de β -caroteno (Xu; Gao; An, 2023).

5.2.1 Engenharia de Vias Metabólicas

A engenharia de vias metabólicas é uma área central na otimização da produção de biopigmentos em microrganismos, buscando modificar ou construir as rotas bioquímicas internas para maximizar a biossíntese do composto alvo por meio de diversas metodologias (Xu; Gao; An, 2023). Uma dessas técnicas é o aumento da disponibilidade de precursores, que consiste em redirecionar o fluxo de carbono e metabólitos para elevar a concentração dos blocos de construção essenciais à síntese do pigmento. Isso pode ser alcançado pela superexpressão de enzimas em vias primárias ou secundárias que conduzem a esses precursores, exemplificado no trabalho de Du et al., (2018) citado anteriormente, pelo aumento na produção de triptofano para violaceína ou indirrubina, ou pela elevação de Fosfoenolpiruvato (PEP) e eritrose-4-fosfato (E4P), precursores para intermediários aromáticos.

Outra estratégia utilizada é o bloqueio de vias concorrentes de metabólitos intermediários. Essa técnica é empregada para inativar genes ou reduzir a expressão de enzimas que desviam precursores para a síntese de outros metabólitos, liberando assim mais recursos para a produção do pigmento desejado. Um exemplo prático dessa metodologia é o bloqueio das vias que competem por precursores de carotenoides, como a via do esqualeno, onde há competição pelo precursor FPP (Farnesil Pirofosfato). Nesse contexto, a esqualeno sintase é a enzima-chave que catalisa a introdução do FPP na via de síntese de esqualeno; portanto, para otimizar a produção de caroteno, a desativação ou a atenuação da atividade dessa enzima pode ser uma estratégia eficaz, redirecionando o fluxo de FPP para a biossíntese do pigmento desejado (Tetali, 2019).

Ainda a remoção de inibição por feedback é também uma técnica promissora, que se baseia na modificação de enzimas para torná-las insensíveis à inibição pelo próprio pigmento ou por intermediários da via, permitindo que a síntese continue mesmo em altas concentrações. Exemplos incluem modificações nas enzimas AroG e TrpE da via do chiquimato para produção de aminoácidos aromáticos (Du et al., 2018).

Outra abordagem é a engenharia de cofatores, a qual é fundamental para otimizar a regeneração ou a disponibilidade de cofatores essenciais, como NADPH e ATP, que são frequentemente consumidos nas reações enzimáticas da via de síntese de pigmentos. Isso

pode ser alcançado pela introdução de vias de regeneração mais eficientes ou pelo aumento da expressão de enzimas envolvidas na regeneração (Xu; Gao; An, 2023).

Uma abordagem completa dessas estratégias é a metodologia "Push-Pull-Block", que combina o "empurrar" o fluxo para a via (aumentando precursores), o "puxar" o fluxo pela super expressão de enzimas-chave e o "bloquear" vias concorrentes (Lyu et al., 2022). Um exemplo claro da aplicação desse conceito foi o estudo de Lv et al em 2014 (Lv et al., 2014) com *S. cerevisiae*, no qual obteve-se um aumento de 782 vezes na produção de isopreno, o bloco construtor dos carotenoides. Para isso, os autores manipularam as vias da acetil-CoA e do mevalonato (MVA) de forma multifatorial. O impulso (push) na disponibilidade de precursores foi obtido com a superexpressão de 3-hidroxi-3-metilglutaril-CoA redutase (tHMG1). Simultaneamente, a tração (pull) do fluxo metabólico em direção ao isopreno foi intensificada pela superexpressão de isopentenil pirofosfato isomerase (IDI1), enquanto o bloqueio (block) de rotas metabólicas concorrentes foi realizado pela atenuação da expressão do gene da esqualeno sintase ERG20.

De forma inovadora existe também a possibilidade de engenheirar enzimas com objetivo de modificar as propriedades catalíticas (atividade, especificidade por substrato) ou regulatórias de enzimas específicas na via do pigmento. Isso pode ser realizado por meio de evolução direcionada, design racional ou semi-racional, ou por abordagens assistidas por aprendizado de máquina (Tatta et al., 2022).

Por fim, todas essas modificações de vias podem ser feitas ou passadas para hospedeiros heterólogos (fábricas celulares) com objetivo de expressar genes ou vias biossintéticas completas de um organismo produtor de pigmento em um microrganismo diferente, o hospedeiro heterólogo (Huo et al., 2019). Hospedeiros modelo como *Escherichia coli* e *Saccharomyces cerevisiae* são amplamente utilizados devido à sua facilidade de cultivo, abundância de ferramentas genéticas e genoma bem caracterizado. Outros hospedeiros, como *Corynebacterium glutamicum*, *Pseudomonas putida*, *Yarrowia lipolytica* e espécies de *Synechococcus*, também são empregados (Xu; Gao; An, 2023). Essa abordagem pode ter muitas vantagens. Primeiramente, muitos organismos nativos que produzem metabólitos de interesse são de difícil cultivo em larga escala, apresentam taxas de crescimento lentas ou requerem condições de cultivo complexas e caras (Huo et al., 2019). Ao transferir as vias biossintéticas para hospedeiros heterólogos robustos e amplamente conhecidos, como *Escherichia coli* ou *Saccharomyces cerevisiae*, que são

bem caracterizados, geneticamente maleáveis e cultiváveis em alta densidade celular em biorreatores, é possível otimizar significativamente os processos de produção (Liu; Zhang; Lu, 2018; Tripathi, 2009)

Em segundo lugar, a engenharia genética em hospedeiros heterólogos é geralmente mais simples e eficaz. Isso se deve ao vasto conjunto de ferramentas genéticas disponíveis para esses organismos modelo, facilitando a manipulação de genes, a introdução de múltiplas cópias de genes de interesse, a eliminação de vias concorrentes e a otimização de promotores e códons para expressão. Tal flexibilidade permite uma engenharia de vias metabólicas mais precisa e eficiente, superando as limitações genéticas e fisiológicas dos produtores naturais (Liu et al., 2022).

Além disso, a expressão heteróloga pode mitigar problemas associados à toxicidade do metabólito para o organismo produtor original, bem como a complexidade de purificação em misturas de metabólitos secundários, com a adição de sequências que codificam a secreção do pigmentos (Di Leandro et al., 2023). Por fim a bioprodução em hospedeiros heterólogos pode ser mais segura e eficiente, especialmente se o organismo natural for patogênico, com velocidade de crescimento baixa ou necessidade de condições complexas de cultivo (Liu; Garrigues; De Vries, 2023).

Para garantir a viabilidade e o rendimento em escala industrial das modificações genéticas em cepas naturais ou fábricas celulares, é necessário empregar técnicas de bioprocessos e biosseparações otimizadas em paralelo com a edição gênica e a engenharia metabólica. A integração dessas disciplinas é fundamental para otimizar o cultivo e as aplicações, maximizando a eficiência da produção.

6 Metodologias de otimização industrial de produção

Para que uma molécula de interesse, produzida por microrganismos geneticamente modificados, se torne um produto viável, é essencial que a otimização não se restrinja apenas às vias metabólicas ou às edições genéticas. A produção em larga escala, que abrange fatores como condições físicas e o processo de cultivo industrial e de extração, também necessita de otimização (Brouwer, 2023). Nesse contexto, o processo *upstream* refere-se à fase inicial da bioprodução, que inclui a preparação e o crescimento

do microrganismo produtor até que ele atinja a concentração e o estado metabólico ideais para gerar o bioproduto. Complementar a isso, a produção requer a otimização de grandes volumes e de métodos de extração, o que corresponde ao processo *downstream* (Brouwer, 2023). O processo de um produto ser produzido industrialmente até as prateleiras é extenso e laborioso.

Apesar do seu enorme potencial, a transição da produção de biopigmentos da escala laboratorial para a comercial e industrial apresenta desafios significativos. As principais barreiras incluem os altos custos de produção (particularmente de cultivo e purificação), a baixa estabilidade dos compostos isolados, a sensibilidade à contaminação microbiana, e as limitações no rendimento natural dos microrganismos (Novoveská et al., 2023; Sandybayeva et al., 2022). Para superar esses obstáculos e tornar os biopigmentos competitivos com seus análogos sintéticos, são essenciais a otimização dos métodos de cultivo em larga escala e o aprimoramento das estratégias de separação e extração.

6.1 Cultivo em Larga Escala

A produção em larga escala de biomassa microbiana para a extração de pigmentos é um fator crítico para a viabilidade econômica. A escolha do sistema de cultivo depende da espécie do microrganismo, do tipo de pigmento desejado e das considerações econômicas.

6.1.1 Cultivo de Microalgas e Cianobactérias

Microalgas e cianobactérias representam grupos de organismos com uma ampla diversidade biológica e bioquímica, possuindo um potencial significativo para uma vasta gama de aplicações industriais ainda pouco exploradas (Novoveská et al., 2023). Embora categoricamente distintas, as microalgas são organismos eucarióticos, enquanto as cianobactérias são procarióticas, ambas compartilham princípios de cultivo, desafios operacionais e rotas metabólicas semelhantes (Patel et al., 2023).

Esses microrganismos fotossintéticos utilizam a luz solar como fonte de energia para seu crescimento e para a produção de compostos de alto valor, e sua relevância reside

na sua capacidade de produzir uma ampla gama de compostos bioativos, com destaque para pigmentos de alto valor, como a astaxantina, β -caroteno, ficocianina e fucoxantina (Novoveská et al., 2023). A vasta diversidade de espécies, estimada em aproximadamente 44.000, e a variedade de sua composição bioquímica em resposta a fatores ambientais, como luz, temperatura, pH e salinidade, oferecem um vasto campo para a exploração comercial (Guiry, 2012). Além disso, a capacidade de algumas cianobactérias em fixar nitrogênio atmosférico simplifica seus requisitos nutricionais. Por outro lado, as microalgas eucarióticas, devido à sua maior complexidade genética, apresentam mecanismos diferentes, incluindo modificações pós-traducionais, o que as torna sistemas promissores para produção de biopigmentos complexos (Wijffels; Kruse; Hellingwerf, 2013).

Entretanto, a produção em larga escala de biopigmentos com cianobactérias e microalgas como produtores enfrenta barreiras significativas específicas. As principais limitações incluem a suscetibilidade à contaminação microbiana, um conhecimento ainda limitado sobre a maquinaria metabólica desses organismos, e o desafio de encontrar o equilíbrio ideal entre o acúmulo de bioprodutos e o crescimento celular (Srivastava et al., 2022).

A suscetibilidade à contaminação microbiana é um obstáculo importante. Sistemas de cultivo abertos, como os *raceway ponds*, são particularmente vulneráveis a contaminantes que comprometem o crescimento e a viabilidade da cultura. Mesmo em fotobiorreatores fechados, que oferecem maior controle, a manutenção da esterilidade continua a ser um desafio significativo (Wang et al., 2013). Por exemplo, a luteína e a astaxantina produzidas por *Haematococcus* são especialmente sensíveis à contaminação por outras microalgas e bactérias, exigindo o pré-tratamento dos meios de cultura com agentes esterilizantes antes da produção em larga escala (Anila et al., 2016). A recuperação da biomassa, que frequentemente envolve processos como centrifugação, sedimentação e filtração, também são processos que potencialmente podem introduzir contaminação nas culturas de microalgas (Srivastava et al., 2022).

A biossíntese de pigmentos é um processo complexo, e uma compreensão completa da rede metabólica é essencial para sua otimização. O conhecimento superficial de apenas uma rota metabólica já pode limitar a produção de bioprodutos de interesse (Sandybayeva et al., 2022). Por exemplo, o acúmulo excessivo de precursores pode

resultar em inibição por feedback, citotoxicidade e sobrecarga metabólica, o que restringe o aumento da produção de pigmentos (Cao et al., 2023).

Apesar de avanços em tecnologias de sequenciamento e modelos em escala genômica, ainda há uma lacuna na literatura especializada sobre a caracterização de "biobricks" (unidades genéticas padronizadas) e estruturas mais modularizadas na biologia sintética desses microrganismos (Rizwan et al., 2018). O desenvolvimento e a aplicação dessas ferramentas são cruciais para o redesenho e a otimização de rotas biossintéticas de forma mais eficiente e previsível.

A produção de biopigmentos em microalgas e cianobactérias enfrenta um dilema fundamental entre o acúmulo de pigmentos e o crescimento celular especialmente presente nesses cultivos (Hu et al., 2018). Muitos desses pigmentos são metabólitos secundários, cuja síntese é frequentemente induzida por condições de estresse. No entanto, essas mesmas condições que favorecem a produção de pigmentos podem inibir o crescimento celular e a produção de biomassa, além de causar toxicidade devido ao acúmulo excessivo de intermediários ou do próprio produto (Ram et al., 2020). Para superar essa limitação, são propostas estratégias para desacoplar o crescimento da produção (Xie, 2022). Isso inclui a engenharia metabólica e a biologia sintética que, por exemplo, são utilizadas para redesenhar vias para direcionar o fluxo de carbono para a produção do pigmento de interesse (Xu; Gao; An, 2023).

Para produção otimizada é essencial que o modelo de cultivo seja o ideal para o microrganismo em questão. Em relação a cianobactéria e microalgas existem diversos tipos, específicos de seres fotossintetizantes.

6.1.1.1. Sistemas de Lagoas Abertas (Open Ponds)

São sistemas tradicionais e de baixo custo, com as *raceway ponds* sendo seu principal representante, e utilizam a luz solar e o CO₂ atmosférico. A figura 11 representa um sistema desse tipo. Embora sejam adequados para o cultivo de organismos resistentes como *Spirulina* e *Chlorella*, sua principal limitação é a alta vulnerabilidade à contaminação microbiana e a baixa densidade celular alcançada (geralmente abaixo de 10 g/L), o que aumenta os custos de colheita. A mitigação da contaminação

frequentemente exige a manutenção de condições ambientais extremas, como alta salinidade ou pH, o que pode restringir a diversidade de espécies cultivadas.



Figura 11- Sistema de raceway ponds na Califórnia, EUA. Fonte: https://www.researchgate.net/publication/263160730_Plants_and_algae_species_Promising_renewable_energy_production_source

6.1.1.2. Fotobiorreatores (PBRs)

Os fotobiorreatores (PBRs) representam sistemas de cultivo que oferecem um ambiente rigorosamente controlado para a produção de microalgas e cianobactérias, utilizando iluminação natural ou artificial. Esses sistemas podem apresentar diferentes configurações, como tubulares, de placas planas ou em colunas, sendo projetados para

maximizar a captação de luz e otimizar as condições ambientais (Novoveská et al., 2023).

As principais vantagens dos PBRs incluem sua robustez, a capacidade de suportar altas densidades celulares e uma maior eficiência na captura de CO₂. Eles proporcionam um controle preciso sobre parâmetros cruciais do processo, como pH, temperatura, níveis de oxigênio e a fonte de carbono (Brennan; Owende, 2010). Ainda, o ambiente fechado minimiza significativamente o risco de contaminação externa. Essas características são fundamentais para a produção de compostos de alto valor, como biopigmentos que se beneficiam de culturas livres de contaminação (Novoveská et al., 2023)

Apesar de seus benefícios, os PBRs apresentam desvantagens. O custo de investimento inicial e os custos operacionais são significativamente mais elevados em

comparação com sistemas abertos (Rizwan et al., 2018). Desafios adicionais incluem a limitação da difusão da luz em culturas de alta densidade e a necessidade de sistemas complexos para aeração, mistura e controle de temperatura, o que aumenta a complexidade operacional (Davis; Aden; Pienkos, 2011; Pawar, 2016).

Entre os tipos de PBRs destacam-se os PBRs Tubulares, representados pela Figura 12, os quais podem ser configurados em arranjos verticais, horizontais ou inclinados. Exemplos de sua aplicação incluem o cultivo de *Synechocystis sp.* para a produção do polímero Poli-hidroxibutirato (PHB) em um sistema de 200 L com concentração máxima de 12,5% em peso seco de biomassa de PHB (Troschl et al., 2018).



Figura 12 - Sistema de fotobioreator tubular. Fonte <https://algaeliving.com/product/tubular-photobioreactor-1400l/>

6.1.1.3. Cultivo Heterotrófico

O cultivo heterotrófico de microalgas emerge como uma estratégia eficiente para a produção de biomassa e biopigmentos, operando de forma semelhante ao cultivo de bactérias. Esse método é feito na ausência de luz e utiliza fontes de carbono orgânico, como glicose ou acetato, para sustentar o crescimento. A viabilidade desse processo reside na capacidade metabólica de certas espécies de microalgas, que possuem tanto as vias enzimáticas quanto os transportadores necessários para a assimilação e o processamento

desses compostos, diferenciando-se das espécies fotossintetizantes obrigatórias (Hu et al., 2018).

O cultivo heterotrófico oferece diversas vantagens significativas em relação aos sistemas fototróficos. Ele supera a limitação da luz, um dos principais gargalos na produção em larga escala, e permite um controle preciso de parâmetros como pH e temperatura (Chen et al., 2011), conforme esquema representado pela Figura 13. Como resultado, é possível alcançar densidades celulares consideravelmente maiores e, conseqüentemente, uma produtividade superior. Por outro lado, o método tem seus desafios, o custo elevado das fontes de carbono orgânico e o risco de contaminação por bactérias heterotróficas (Hu et al., 2018).

Exemplos de aplicações desse método incluem as espécies *Chlorella zofingensis* que com cultivo heterotrófico com glicose como fonte de carbono resultou na produção do pigmento astaxantina em uma concentração de 10,29 mg/L (Gong; Bassi, 2016) e *Galdieria sulphuraria*, utilizada para produção de ficocianina a partir de resíduos alimentícios, resultando em uma produção de 22 mg/g (Sloth et al., 2017). A Figura 13 mostra um esquema simplificado de cultivo de alga heterotrófica.

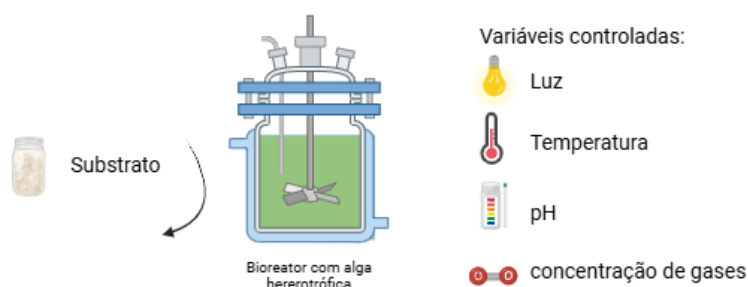


Figura 13 - Sistema simplificado de cultivo de alga heterotrófica
Fonte: Elaborado pelo autor utilizando o software Biorender

6.1.1.4. Biofilmes

Os sistemas de cultivo em biofilme representam uma abordagem promissora e eficiente para a produção em larga escala de biopigmentos a partir de microalgas e cianobactérias. Nesses sistemas, os microrganismos se fixam em superfícies submersas, formando comunidades complexas (Novoveská et al., 2023).

A principal vantagem desse método é a capacidade de atingir altas densidades celulares, com um teor de sólidos na biomassa que pode chegar a 20% após a colheita, o que reduz drasticamente os custos de desidratação, um dos maiores gargalos econômicos na produção de microalgas (Roostaei et al., 2018). Além disso, os biofilmes são mais resistentes a estresses ambientais e contaminação, e sua estrutura permite uma otimização na transferência de luz e CO₂, elementos essenciais para a fotossíntese (Novoveská et al., 2023). Contudo, a formação de culturas complexas com bactérias pode comprometer a pureza da biomassa e, conseqüentemente, a qualidade do produto final. Outro problema é a limitação da penetração de luz em camadas de biofilme muito espessas, o que pode afetar a eficiência fotossintética nas camadas internas (Schnurr; Allen, 2015).

Apesar desses desafios, a tecnologia já tem aplicações diretas, como na produção do pigmento peridinina pela microalga *Symbiodinium*: o método de cultivo em biofilme resultou em um rendimento de biomassa e produtividade de peridinina significativamente maiores quando comparados às culturas em suspensão (Benstein et al., 2014). A Figura 14 é uma imagem do sistema de cultivo em biofilme de microalgas da empresa francesa Inalve.



Figura 14 - Sistema de cultivo em biofilme de microalgas da empresa francesa Inalve.

Fonte: https://issuu.com/aquafeed.com/docs/hatchery_feed_and_management_vol_9_issue_1/s/11868978

6.1.2 Cultivo de Bactérias, Leveduras e Fungos

A produção de biopigmentos por meio de microrganismos como bactérias, leveduras e fungos é predominantemente realizada por processos de fermentação industrial. Essas técnicas representam abordagens essenciais e amplamente empregadas na biotecnologia. Dois métodos principais se destacam: a Fermentação Submersa e a Fermentação em Estado Sólido.

6.1.2.1 Fermentação Submersa

A fermentação submersa é uma estratégia biotecnológica consolidada e eficaz para a produção de biopigmentos, utilizando o crescimento de microrganismos em um meio de cultura líquido (Dasgupta Mandal; Majumdar, 2023). Este método é amplamente adotado devido ao controle preciso sobre as condições de processo, como pH, temperatura e aeração, o que permite otimizar a produção de metabólitos de interesse. Além disso, essa metodologia facilita a recuperação do produto, especialmente quando se trata de pigmentos produzidos por bactérias (Kumar et al., 2015).

As metodologias de fermentação em estado líquido são classificadas em três principais modos de operação, cada um com características distintas que impactam a produtividade e a eficiência do processo.

A fermentação em batelada (batch) é o método mais simples, onde todos os nutrientes são adicionados ao biorreator no início do processo (Xie, 2022). A fermentação ocorre em um sistema fechado, sem a adição de novos componentes ou a remoção de subprodutos, e é concluída quando o crescimento microbiano atinge seu pico ou quando o nutriente limitante se esgota. Este modelo é notável por sua simplicidade operacional e baixo risco de contaminação (Xie, 2022). Exemplo prático da aplicação de batelada é a produção de astaxantina por *Phaffia rhodozyma*, a qual foi cultivada em agitador orbital com glicose e NH₄Cl como fontes de carbono e nitrogênio, e atingiu 92,2 mg/L de astaxantina em 4,5 dias a 21 °C (Schewe et al., 2017).

Em contraste, a fermentação alimentada (fed-batch) mitiga parte das limitações do modo em batelada. Nessa modalidade, nutrientes são adicionados de forma gradual e controlada durante o processo, o que é crucial para manter a viabilidade celular e a taxa de produção de metabólitos em níveis ótimos. Essa estratégia evita tanto o esgotamento precoce de substratos quanto o acúmulo de subprodutos tóxicos, otimizando o desempenho do cultivo (Pobiega et al., 2024). Nesse modelo, células recombinantes de *E. coli* foram utilizadas em fermentação fed-batch para acumular licopeno em concentrações de até 220 mg/L (Ram et al., 2020).

Por fim, a fermentação contínua representa uma abordagem alternativa, caracterizada pela adição constante de meio de cultura e pela remoção simultânea do meio que contém o produto e as células. Esse sistema estabelece um estado de equilíbrio dinâmico que permite um ciclo de produção ininterrupto, resultando em uma maior produtividade a longo prazo e uma utilização mais eficiente dos recursos (Yu; Wu; Chen, 2019), a Figura 15 é uma representação gráfica dos modelos descrito de fermentação. Ademais, é possível aplicar formas mais complexas desse modelo como uso sistemas de fermentação contínua em dois estágios para desacoplamento de crescimento celular e da biossíntese do produto, projetado para otimizar a produção de metabólitos. Essa abordagem é particularmente vantajosa quando as condições ideais para a proliferação da biomassa diferem daquelas necessárias para a máxima produção do composto de interesse (Xie, 2022).

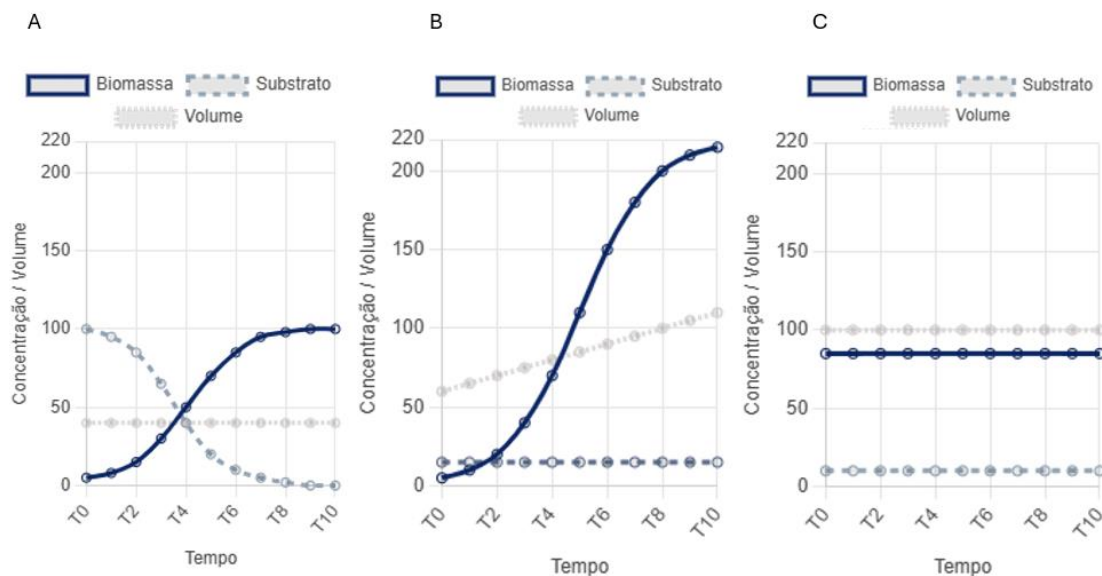


Figura 15 - gráficos que representam a concentração de biomassa, substrato e volume ao longo do tempo. O gráfico A representa o sistema de batelada, o gráfico B o sistema de batelada alimentada e o gráfico C o sistema contínuo.

Em um processo convencional de estágio único, o crescimento e a produção ocorrem simultaneamente, o que frequentemente resulta em um comprometimento de eficiência, pois as condições ótimas para a acumulação de biomassa podem não ser ideais para a síntese do produto, e vice-versa (Wu et al., 2014). Em um sistema de dois estágios, as células são inicialmente cultivadas até uma alta densidade no primeiro reator sob condições otimizadas para crescimento. Em seguida, essa biomassa é transferida para um segundo reator, onde o ambiente de cultivo é meticulosamente ajustado para maximizar a conversão de substratos em produtos, evitando a competição por nutrientes ou a inibição por subprodutos (Xie, 2022).

A fermentação submersa, como técnica de bioprocessamento, oferece diversas alternativas para a produção de biocompostos, caracterizadas por variados níveis de complexidade e controle. No entanto, essa abordagem é frequentemente associada a custos elevados de maquinário, operação e, por vezes, à necessidade de meios de cultura sintéticos (Ram et al., 2020). Os processos de fermentação submersa industrial, muitas vezes, exigem altos custos de esterilização e equipamentos complexos. A alta demanda de energia para a aeração intensiva de microrganismos aeróbicos, a dificuldade de controlar bioprocessos complexos e a necessidade de esterilização do meio e do ar são fatores que contribuem para esses custos. Além disso, a contaminação microbiana é um problema significativo, especialmente em operações contínuas e de longa duração, aumentando a necessidade de medidas rigorosas de controle e esterilização (Yu; Wu; Chen, 2019).

É possível mitigar essas desvantagens através de estratégias específicas. Uma abordagem viável e de grande importância é a substituição dos meios sintéticos por meios complexos, que em muitos casos podem ser obtidos a partir de subprodutos industriais (Pereira et al., 2025).

A utilização de resíduos agroindustriais como substratos de baixo custo é uma alternativa amplamente estudada e promissora para a produção de diversos biocompostos, incluindo pigmentos e carotenoides. Exemplos de tais resíduos incluem: hidrolisados de biomassa lignocelulósica, como bagaço de cana-de-açúcar e palha de arroz (Pereira et al., 2025); melaço; extratos de grãos de cevada gastos (Elazzazy et al., 2025) e resíduos líquidos de abacaxi, que, por exemplo foram utilizados para a produção de violaceína por *Chromobacterium violaceum* em biorreatores de 50 L, com um rendimento significativo e redução de custos (Aruldass et al., 2016).

6.1.2.2 *Fermentação em Estado Sólido*

A fermentação em estado sólido é uma metodologia de cultivo de microrganismos em substratos sólidos ou resíduos agroindustriais com baixo teor de umidade. Nesse processo, os microrganismos se desenvolvem na superfície ou na matriz porosa do substrato, resultando em um ciclo mais lento e prolongado em comparação com a fermentação líquida (Dasgupta Mandal; Majumdar, 2023). Essa abordagem tem se consolidado como uma alternativa economicamente viável e sustentável, pois, além de reduzir os custos com o meio de cultivo, potencialmente atua como uma ferramenta eficaz na gestão de resíduos, uma vez que pode-se utilizar subprodutos de indústrias, como subprodutos agroindustriais como fontes valiosas de nutrientes que promovem o crescimento microbiano e otimizam a produção de biopigmentos (Tuli et al., 2015).

Devido a sua baixa umidade do substrato, a fermentação em estado sólido é particularmente adequada para microrganismos como leveduras e fungos filamentosos. Embora a sua aplicação para a produção de pigmentos bacterianos também seja promissora, ela é considerada superior em alguns casos à fermentação em estado líquido para a biossíntese de pigmentos por fungos (Lyu et al., 2022). Para otimizar a produção, é crucial controlar fatores ambientais como a umidade, que é fundamental para o crescimento microbiano e a difusão de nutrientes, além da temperatura, do pH e da aeração (Tuli et al., 2015). Para produção de pigmentos por *Monascus*, por exemplo, a fermentação em estado sólido é uma alternativa promissora de alto rendimento e baixo custo (Aman Mohammadi et al., 2022; Kumar et al., 2015).

Os sistemas de fermentação sólida podem ser categorizados com base nos dispositivos empregados e na presença ou ausência de agitação e aeração. Em escala laboratorial, essa fermentação pode ser conduzida em suportes inertes como placas de Petri e frascos, adequados para o processamento de pequenas amostras e a otimização de parâmetros como a proporção inóculo-substrato e a temperatura (Krishna, 2005). Nesses sistemas, o controle de temperatura é frequentemente o único parâmetro regulado, sem aeração forçada ou agitação.

Em uma escala maior, os biorreatores de bandeja consistem em bandejas com material inerte dispostas em câmaras, onde a circulação de ar auxilia no controle da

temperatura e umidade. A aeração não é forçada, e a agitação pode ser aplicada de forma ocasional (Vandenberghe et al., 2021). Os biorreatores de colunas empacotadas utilizam colunas nas quais o substrato é compactado. A aeração é garantida pela passagem de ar pelo fundo, e a temperatura é controlada por dispositivos externos. Esses sistemas podem incorporar mistura intermitente e aeração forçada (Mattedi et al., 2023).

Para processos que exigem agitação, os biorreatores de tambor agitado são empregados. Neles, o material sólido é preenchido em um tambor no qual o ar é bombeado. A agitação é realizada por um tambor rotativo ou por pás internas, sem a necessidade de aeração forçada contínua (Mattedi et al., 2023). A operação pode ser contínua ou intermitente, sendo a escolha determinada pela sensibilidade dos microrganismos ao cisalhamento, bem como pelas propriedades do substrato (Singhania et al., 2017). Contudo esse método a extração do biopigmentos é um processo complexo e laborioso, onde, de modo geral, o substrato deve ser lixiviado com solventes para separação inicial do bioproduto de interesse (Singhania et al., 2017). A Figura 16 é uma imagem de um biorreator utilizado para fermentação em estado sólido em larga escala



Figura 16 - Imagem de um biorreator para fermentação em estado sólido em larga escala

6.2 Métodos de Separação e Extração

A recuperação de biopigmentos (processamento *downstream*) da biomassa microbiana é uma etapa fundamental após o cultivo, que influencia diretamente a pureza do produto, produtividade e nos custos gerais de fabricação (Buarque; Lemes; Coelho, 2025). A seleção do método de extração é predominantemente determinada pela localização do pigmento (intracelular ou extracelular), sua estabilidade e a aplicação final (Rajendran; Somasundaram; Dufossé, 2023).

A escolha da metodologia pode determinar o preço final e o uso dos pigmentos. Para produtos intracelulares, técnicas como homogeneização, ultrassom, moagem em moinhos de bolas, ou ruptura química e enzimática podem ser empregadas para romper as células e liberar o pigmento (Pereira et al., 2025). Para produtos secretados (extracelulares), métodos mais simples como filtração ou centrifugação são geralmente suficientes para a separação do caldo de fermentação (Pereira et al., 2025). Atualmente, diversas metodologias para extrair o produto de interesse têm sido exploradas, permitindo a otimização desse processo em termos de eficiência e sustentabilidade.

6.2.1 Extração por Solvente Orgânico

A extração por solventes é uma das abordagens mais convencionais e diretas para a recuperação de pigmentos bacterianos intracelulares. Esse método se baseia na utilização de solventes orgânicos como etanol, metanol, acetona e benzeno, que promovendo a ruptura da parede celular interagem com os pigmentos de acordo com suas polaridades, dissolvendo “semelhantes” (Sicaire et al., 2014). O rendimento e a eficiência do processo podem ser incrementados com o aumento da temperatura, tipicamente na faixa de 50 °C a 65 °C, visto que o calor fragiliza a parede celular bacteriana, tornando-a mais suscetível à lise. Contudo, é fundamental controlar a temperatura para evitar a degradação de pigmentos sensíveis, como os carotenoides, que podem se deteriorar em temperaturas superiores a 70 °C (Gong; Bassi, 2016).

Apesar de sua simplicidade, a extração por solventes apresenta desvantagens significativas. O uso de grandes volumes de solventes tóxicos representa um risco

ambiental considerável e um desafio na gestão de resíduos. Adicionalmente, a inflamabilidade de muitos desses solventes exige precauções de segurança rigorosas (Mussagy et al., 2021). Nesse contexto, a busca por alternativas mais sustentáveis e eficientes para a recuperação e que estejam em consonância com o caráter sustentável da produção microbiana, torna-se uma prioridade.

6.2.2 Solventes Verdes e Líquidos Iônicos

Devido às preocupações ambientais e sociais, há uma crescente demanda por tecnologias de extração mais ecológicas. Nesse contexto, solventes verdes e líquidos iônicos emergem como alternativas promissoras aos solventes petroquímicos tradicionais. Tais solventes possuem funcionamento semelhante aos solventes orgânicos, com base na polaridade (Mussagy et al., 2021).

Dentro da categoria de solventes verdes, os biossolventes se destacam por sua origem total ou parcial de fontes biológicas e renováveis, o que lhes confere um menor impacto ambiental. Sua sustentabilidade é reforçada pela capacidade de reciclagem e reutilização (Erythropel et al., 2018). Frequentemente, a utilização de misturas de biossolventes, como a combinação de etanol e água, mostra-se mais eficiente do que o uso de um único solvente. A água facilita a miscibilidade, enquanto o etanol contribui para a ruptura da parede celular e o ajuste da polaridade (Mussagy et al., 2021).

Outros biossolventes incluem o lactato de etila e o 2-metiltetraidrofurano. O acetato e o lactato de etila, por sua natureza hidrofóbica, são fundamentais para a dissolução de lipídios e carotenoides (Alder et al., 2016). O 2-metiltetraidrofurano, derivado da hemicelulose, é biodegradável e representa uma alternativa promissora ao n-hexano (solvente orgânico amplamente utilizado), apresentando maior ponto de ebulição, menor inflamabilidade e maior constante dielétrica, o que aprimora a segurança e a eficiência da extração (Sicaire et al., 2014). No entanto, sua maior viscosidade e ponto de ebulição podem acarretar maior consumo de energia na recuperação. Adicionalmente, pré-tratamentos, choque térmicos, podem otimizar o processo ao desintegrar as paredes celulares (Li; Zhu; Sun, 2018).

Os líquidos iônicos, por sua vez, representam uma classe distinta de solventes verdes. Compostos exclusivamente por cátions e ânions, eles exibem um ponto de fusão geralmente abaixo de 100 °C. Isso significa que são sais que permanecem no estado líquido em temperaturas relativamente baixas, diferentemente dos sais inorgânicos comuns que geralmente são sólidos cristalinos em temperatura ambiente (Lei et al., 2017). Suas propriedades físico-químicas, como densidade, viscosidade e solubilidade, podem ser ajustadas pela variação de sua composição iônica, conferindo-lhes uma modularidade para a dissolução seletiva de pigmentos. A baixa pressão de vapor desses sais contribui para sua segurança, minimizando a emissão de compostos tóxicos (Alder et al., 2016). Além disso, são não inflamáveis e termicamente estáveis, com boas propriedades de solvatação e a capacidade de serem reciclados e reutilizados. Atuam também como agentes desestabilizadores celulares, facilitando a liberação de compostos intracelulares (Kim et al., 2016). O uso de líquidos iônicos se mostrou eficiente para extração de carotenoides em *Rhodotorula glutini*, no qual o uso do líquido iônico resultou em uma extração de até seis vezes superior ao uso de DMSO, um solvente orgânico, e com a viabilização da reciclagem do líquido iônico (Mussagy et al., 2019).

Apesar das suas vantagens, os líquidos iônicos apresentam desafios, incluindo o alto custo de produção, a possível necessidade de produtos químicos não ecológicos em sua síntese e a toxicidade de alguns compostos. A complexidade e o custo do processo, somados literatura ainda incipiente sobre alguns líquidos iônicos, ainda limitam sua aplicação em larga escala (Pizzicato et al., 2023).

6.2.3 Ultrafiltração

A ultrafiltração é uma metodologia central no *downstream* de bioprodutos secretados, essencial para a separação e purificação de biomoléculas como pigmentos, enzimas e proteínas. Essa tecnologia se baseia no uso de membranas com poros extremamente pequenos, de 0,001 a 0,1 µm, que separam as substâncias por tamanho, sob pressão (Pobiega et al., 2024). Ela pode ser empregada para duas finalidades principais, para separar pigmentos de caldos de fermentação, e para concentrar proteínas e outros polissacarídeos, preparando o material para as etapas finais de purificação (Pereira et al., 2025).

Entre as principais vantagens estão sua seletividade, e as elevadas taxas de recuperação. A técnica também é suave com as biomoléculas, preservando sua estrutura e integridade (Brennan; Owende, 2010). No entanto, sua aplicação em grande escala é limitada pelas características do meio. Para meios altamente concentrados e viscosos a ultrafiltração enfrenta desafios significativos, como entupimento e obstrução da membrana, problemas que são agravados por essa característica do meio e dificultam o fluxo do líquido o que leva a um custo elevado de substituição das membranas e pelos gastos com bombeamento (Bukusoglu; Koku; Çulfaz-Emecen, 2020). Nesse sentido, para a extração de um biopigmento puro é comum o uso de ultrafiltração em conjunto à outras metodologias, por exemplo, um processo de 3 etapas para extração em larga escala de Ficocianina produzida por *Arthrospira maxima* fez o uso da ultrafiltração, seguida de cromatografia de troca iônica e, por fim, cromatografia de exclusão molecular resultando em um composto com 97,6% de pureza (Park et al., 2022).

6.2.4 Cromatografia

A cromatografia é uma metodologia fundamental no processamento de bioprodutos, atuando na separação e purificação de biomoléculas com base em sua interação diferencial com duas fases imiscíveis: uma fase estacionária (fixa) e uma fase móvel (fluida). À medida que a fase móvel se desloca através da fase estacionária, os componentes da amostra se separam, com aqueles que apresentam maior afinidade pela fase estacionária movendo-se mais lentamente do que os que interagem preferencialmente com a fase móvel (Drugkar et al., 2022). Essa característica é a base da separação e permite a purificação de biopigmentos, que são extraídos de matrizes celulares ou diretamente de caldos de cultura (Aman Mohammadi et al., 2022).

A seleção da técnica cromatográfica ideal é um passo estratégico que depende das propriedades físico-químicas do biopigmento a ser purificado e do grau de pureza necessário para sua aplicação final (Cao et al., 2023). A cromatografia líquida de alta performance (HPLC) destaca-se por sua capacidade de alta resolução e precisão, sendo amplamente utilizada para a identificação estrutural, perfil e quantificação de pigmentos complexos (Yuan; Qiao; Lian, 2012). Para análises preliminares e purificação em menor escala, a cromatografia em camada delgada é uma alternativa mais simples e econômica (Alegbe; Uthman, 2024). Já a cromatografia de troca iônica é empregada para separar moléculas com base em sua carga elétrica, sendo altamente eficaz na purificação de

ficobiliproteínas (Sandybayeva et al., 2022). Outras técnicas, como a cromatografia de exclusão molecular, separam as substâncias por tamanho, enquanto a cromatografia de adsorção tem se mostrado promissora na recuperação de biopigmentos em escala industrial, ao otimizar custos (Aman Mohammadi et al., 2022). Por exemplo, para produção de astaxatina com purezas superiores a 98% foi utilizada a cromatografia de Cromatografia de Contracorrente de Alto Desempenho (HPCCC), que se baseia em separação líquido-líquido sob forte força centrífuga, complementada por uma etapa final de purificação via Cromatografia Líquida de Alto Desempenho (HPLC) (Fábryová et al., 2020).

7 A Indústria Têxtil: Um detalhamento de seus processos

A indústria têxtil é um dos setores mais antigos e significativos da sociedade e possui uma escala global, abrangendo desde a produção de matérias-primas até o produto final. A cadeia industrial de produção pode ser sistematizada em quatro fases principais: a formação do fio, a formação do tecido, o processamento úmido e, por fim, a fabricação têxtil (Khan et al., 2023). Cada etapa desempenha um papel fundamental, mas o processamento úmido, em particular, destaca-se pelo seu elevado impacto ambiental e pela sua importância na agregação de valor ao produto (Madhav et al., 2018).

O processo inicia-se com a formação do fio, que envolve a preparação de fibras para a fiação. As fibras podem ser de origem natural, como algodão, lã, seda e cânhamo, ou sintéticas, como poliéster, nylon e acrílico, muitas das quais são derivadas de petroquímicos (Shabbir; Naim, 2019). Nesta fase, as fibras são acondicionadas e submetidas a tratamentos específicos, como a limpeza mecânica e química, para então serem convertidas em fios (Shabbir; Naim, 2019). Posteriormente, na etapa de formação do tecido, os fios são transformados em malhas ou tecidos por meio de técnicas como a tecelagem. A qualidade do material é avaliada por parâmetros como encolhimento, resistência mecânica, peso e densidade, assegurando que o produto atenda às especificações desejadas (De Oliveira et al., 2023).

Contudo, é na fase de processamento úmido que os tecidos ganham características de maior valor agregado, como a cor e o acabamento. Esta etapa é intensiva em recursos

como água, energia e produtos químicos, sendo a principal geradora de efluentes e poluentes (Khan et al., 2023). O processamento úmido é subdividido em pré-tratamento e tingimento.

O pré-tratamento busca eliminar impurezas naturais ou aquelas adquiridas em fases anteriores, preparando o tecido para os estágios subsequentes. A desengomagem, por exemplo, remove gomas e outras substâncias residuais, utilizando agentes como amido e álcool polivinílico (Mojsov, 2019). Já a purga e o alvejamento, frequentemente realizados com peróxido de hidrogênio, removem ceras, óleos e pigmentos, sendo que a geração de subprodutos orgânicos clorados é uma preocupação (Islam, Md Touhidul, et al., 2022). A mercerização, um tratamento específico com hidróxido de sódio, aumenta o brilho, a resistência e a afinidade da fibra por corantes, mas resulta em efluentes com altas concentrações de soda cáustica (Madhav et al., 2018).

Após o pré-tratamento do tecido ele passa pelo processo de tingimento, o qual tem o objetivo de conferir cor aos materiais têxteis. O tingimento pode ser realizado por diversas metodologias tradicionais, como o tingimento por batelada e o tingimento contínuo, sendo o método por esgotamento, no qual parâmetros como a relação, temperatura, tempo e pH são controlados, bastante utilizado (Khattab; Abdelrahman; Rehan, 2020). Além dos pigmentos, a etapa de tingimento emprega diversos produtos químicos auxiliares, como metais e sais que atuam como mordentes, surfactantes, álcalis e ácidos para ajuste de pH, além de agentes redutores ou oxidantes (Khan; Malik, 2014). Produtos como alquilfenóis e nonilfenol etoxilados são frequentemente utilizados como detergentes e amaciantes, mas são reconhecidos como desreguladores endócrinos prejudiciais ao ambiente aquático (Arputharaj; Raja; Saxena, 2016; Khan et al., 2023).

Por fim, a etapa de fabricação têxtil engloba os processos de corte, costura e montagem, transformando os tecidos tingidos e acabados em vestuário, artigos para o lar e outros produtos (Khan et al., 2023). Esta fase conclui a cadeia de produção, resultando nos bens prontos para o consumo.

7.1 Métodos de tingimentos por pigmentos na Indústria Têxtil

O processo de tingimento é, fundamentalmente, um complexo processo físico-químico de transferência de pigmentos de uma solução líquida para as fibras sólidas do tecido, onde são fixados de forma durável (Drumond Chequer et al., 2013). Essa fase é conhecida por seu alto consumo de água, energia e produtos químicos, o que a torna uma das mais impactantes ambientalmente na cadeia de produção (Buscio et al., 2019).

O tingimento se baseia em três etapas principais: adsorção, difusão e fixação. Na adsorção, as moléculas de pigmento do banho de tingimento se movem e se prendem à superfície das fibras, governadas por forças intermoleculares (Islam, Md Touhidul, et al, 2022). A adição de eletrólitos (sais) é comum para neutralizar a carga negativa da fibra, facilitando a aproximação das moléculas de pigmento. Em seguida, na difusão, os corantes penetram da superfície para o interior da fibra, alojando-se nas áreas amorfas de sua estrutura (Vassileva; Valcheva; Zheleva, 2008). Esta é a etapa mais lenta e é fortemente influenciada pela temperatura, que acelera o movimento das moléculas e causa o "inchamento" das fibras (Khattab; Abdelrahman; Rehan, 2020). Por fim, na fixação, o corante se fixa de modo durável na fibra. O mecanismo de fixação depende da classe do pigmento, podendo ser por ligação covalente entre as fibras e o pigmento, por interações mais fracas ou por aprisionamento mecânico. O aprisionamento mecânico de pigmentos é feito com pigmentos insolúveis que são quimicamente reduzidos para uma forma solúvel que penetra na fibra, e depois oxidados de volta para sua forma original insolúvel, que fica permanentemente aprisionada no tecido (Al-Duri; Mckay', 1991; Islam, Md Touhidul, et al, 2022; Patel, 2022).

A eficiência e a qualidade do tingimento dependem do controle rigoroso de diversos fatores, como a temperatura, que acelera a difusão e a fixação; o pH do banho, que afeta a solubilidade do corante e a carga da fibra (Zerin et al., 2020); o tempo de processo, essencial para a uniformidade da cor; a concentração de eletrólitos, que aumenta a absorção do corante; e a agitação, crucial para a homogeneidade (Burkinshaw; Salihu, 2019; Deng et al., 2013).

Além dos pigmentos e sais, uma gama de produtos químicos auxiliares é empregada para otimizar o processo, incluindo agentes umectantes, mordentes,

dispersantes, além de ácidos, álcalis e agentes sequestrantes para o controle das condições do banho (Khattab; Abdelrahman; Rehan, 2020).

Os métodos convencionais, podem ser divididos em dois tipos, de esgotamento e contínuos. Ambos consomem grandes volumes de água, energia e químicos. No tingimento por esgotamento, ou em batelada, o substrato têxtil é imerso por um período prolongado em um banho de tingimento diluído (Khattab; Abdelrahman; Rehan, 2020). O processo se baseia na afinidade do corante pela fibra, que, por meio de adsorção e difusão, migra da solução para o interior do material. Para otimizar essa transferência e superar a repulsão eletrostática, são adicionados grandes volumes de sais, como cloreto de sódio (Buscio et al., 2019). A temperatura é elevada, muitas vezes acima de 100 °C em equipamentos pressurizados, para acelerar a difusão, e o tempo de processo é longo para garantir o máximo esgotamento (Borisova, 2018). Esse método utiliza altos ciclos de lavagens pós tingimento, o que gera grandes volumes de efluentes coloridos e salinos, difíceis de tratar (Khattab; Abdelrahman; Rehan, 2020).

Já os processos contínuos são mais adequados para grandes volumes de produção. Neles, o tecido é impregnado com uma solução concentrada de corante por meio de um equipamento com rolos e, em seguida, a fixação é realizada rapidamente através de calor ou vapor (Khatri; Padhye; White, 2013). O processo é finalizado com lavagens contínuas para remover o excesso de corante. Embora mais rápido para grandes volumes, a solidez e durabilidade do tingimento pode ser inferior e o descarte de efluentes, ainda que potencialmente menor por unidade produzida, ainda é um grande problema (Burkinshaw; Salihu, 2019).

Em resposta aos impactos ambientais desses métodos, a indústria tem explorado diversas inovações sustentáveis. Entre elas, o processo de tingimento por dióxido de carbono supercrítico (scCO₂) representa um avanço notável por não usar água. Nessa tecnologia, o CO₂ é aquecido e pressurizado até atingir um estado supercrítico, no qual ele se comporta como um solvente líquido e, ao mesmo tempo, como um gás, permitindo a difusão eficiente de corantes hidrofóbicos (Banchero, 2013). O tecido é colocado em um reator de alta pressão, onde o CO₂ supercrítico, juntamente com o corante, penetra nas fibras. Após o tingimento, a pressão e a temperatura são reduzidas, e o CO₂ volta ao seu estado gasoso, sendo separado do corante não fixado e totalmente reciclado para o próximo ciclo (Banchero, 2013). A metodologia foi inicialmente feita em larga escala pela empresa dos países baixos DyeCoo e apresentou custos operacionais até 50% menores e

alta qualidade de cor, contudo sua principal limitação é a aplicação restrita a fibras sintéticas como poliéster, devida a pouca interação das moléculas de CO₂ com fibras hidrofílicas como o algodão (Mahmud; Kaiser, 2020).

A tecnologia AirDye, aplicada pioneiramente pela empresa japonesa AirDye® por sua vez, opera como um processo de impressão digital de transferência de calor pelo ar. Em vez de imergir o tecido em um banho de tingimento, os corantes são impressos em um papel de transferência (Abate; Tadesse, 2021). Este papel é então colocado em contato com o tecido e aquecido e pressurizado, fazendo com que o corante sublime, ou seja, passe diretamente do estado sólido para o gasoso, penetrando nas fibras e as tingindo (Mahmud; Kaiser, 2020; Babu; et al, 2025). Este método elimina a necessidade de água, economizando consumo hídrico e de energia em comparação com o tingimento tradicional. Embora a tecnologia original seja mais adequada para materiais sintéticos, empresas como a ColorZen® têm desenvolvido pré-tratamentos para fibras naturais, como o algodão, para que se tornem compatíveis com o processo (Davies, 2016). Apesar dos claros benefícios de sustentabilidade e eficiência, os altos custos iniciais de instalação e a necessidade de maior aceitação pela indústria ainda são obstáculos para a ampla adoção dessas tecnologias (Banchero, 2013).

8. Aplicações sustentáveis e perspectivas na indústria têxtil de biopigmentos provenientes de organismos engenheirados

Embora o uso de biopigmentos naturais provenientes de microrganismos geneticamente modificados ainda não seja uma prática padrão, sua adoção na indústria têxtil tem crescido significativamente. Essa tendência está diretamente alinhada a iniciativas de sustentabilidade, nas quais a busca por alternativas mais ecológicas e inovadoras para os corantes sintéticos se tornou uma prioridade (Ghiffary et al., 2021).

Nesse contexto já existem exemplos práticos de inovações e empresas que produzem biopigmentos. A empresa Colorifix, (<https://www.colorifix.com/>) por exemplo, manipulando geneticamente a bactéria *Escherichia coli* produz de forma eficiente biopigmentos, e aliada com sua metodologia de tingimento patenteado que coloca em contato o caldo de cultura diretamente no tecido, reduz custos de purificação do composto

e elimina a necessidade de mordentes, substâncias que funcionam como agentes de ligação entre o corante e a fibra, ou sais (Yadav et al., 2025). Esse método, economiza 50% de água e eletricidade e reduz pela metade as emissões de CO₂ (Melton, 2022). Essa abordagem representa uma alternativa sustentável e tem sido adotada por meio de parcerias por marcas globais como Stella McCartney, Pangaia e H&M.

A Pili (<https://www.pili.bio/en/homepage/>), uma empresa francesa, utiliza a engenharia genética para produzir um corante de índigo bacteriano com desempenho idêntico aos químicos. Esse processo inovador reduz o uso de substâncias tóxicas e pode diminuir as emissões de CO₂ em até 50% (Guerry; Diaz, 2025). Seus corantes são substitutos diretos, compatíveis com os equipamentos existentes, facilitando a transição na indústria (Cormier, 2025).

De forma similar, a Huue (<https://www.huue.bio/>), da Califórnia, também desenvolveu um corante de índigo biossintético para a indústria de *jeans*. A empresa investiu 14,6 milhões de dólares para chegar ao mercado e já fez parcerias com designers de moda (Drago, 2024). A visão da Huue é expandir a produção para outros tecidos, como o poliéster, e, a longo prazo, produzir todas as cores do arco-íris usando biotecnologia, atendendo de forma realista às demandas do mercado (Cormier, 2025).

Ainda, a Octarine (<https://www.octarinebio.com/>) é uma empresa dinamarquesa que desenvolveu um processo com leveduras engenheiradas, desenvolvimento de enzimas aprimoradas e de fermentação de precisão que permitem que sejam produzidos diversos biopigmentos com uma paleta ampla de cores (PurePalette™). Os pigmentos são produzidos para substituírem pigmentos sintéticos diretamente sem a necessidade de adaptações de processo ou maquinário de indústrias tradicionais.

No mercado brasileiro, existem também startups que investem e desenvolvem ativamente metodologias e aplicações de biopigmentos para a indústria têxtil. Uma delas é a AIPER (<https://aipер.com.br/>), uma startup paulista que utiliza microrganismos, como bactérias e fungos, e substratos derivados de resíduos agroindustriais para produzir biopigmentos, como o “Biovio”, um biopigmento para tecidos como seda e algodão.

Contudo o mercado de biopigmentos é um mercado pouco explorado e com muito potencial. Em 2024 o mercado mundial de biopigmentos representava 31,29 bilhões de dólares, com expectativa de crescimento ano após ano de 4,5% até 2033, e estudos de mercado indicam que o crescimento do mercado está acelerado, muito devido a

tendências globais de sustentabilidade (Bio-based Pigments and Dyes Market 2025), contudo sem valores especificados de biopigmentos produzidos por organismos geneticamente modificados. Embora dados específicos sobre o mercado de biopigmentos no Brasil sejam escassos, a indústria têxtil brasileira demonstrou um crescimento robusto. Em 2024, o setor alcançou um valor de mercado de R\$ 215 bilhões, com uma taxa de crescimento superior a 5%, conforme dados da Associação Brasileira da Indústria Têxtil e de Confecção de 2025.

O Brasil possui um cenário promissor para o desenvolvimento da indústria de biopigmentos. O país se destaca pela vasta biodiversidade, que oferece uma gama de espécies nativas passíveis de bioprospecção de genes para a produção de biopigmentos. Além disso, a presença de uma robusta indústria agrícola gera um volume significativo de resíduos agroindustriais, que podem ser utilizados como substratos de baixo custo para a fermentação microbiana (Aruldass et al., 2016; Portugal-Pereira et al., 2015).

A convergência desses fatores, somada a um mercado consumidor de têxteis aquecido, posiciona o Brasil de forma estratégica para liderar a produção sustentável de biopigmentos. Essa oportunidade não se limita a iniciativas governamentais, mas também impulsiona o empreendedorismo, com startups explorando essas sinergias para gerar soluções que promovam um impacto positivo na sustentabilidade de uma indústria tão relevante como a têxtil. O investimento nessa área representa um caminho para o Brasil se firmar como um polo de inovação e sustentabilidade.

9. Conclusão

Diante das evidências apresentadas, é possível observar os recentes e significativos avanços da engenharia genética e metabólica na otimização da produção de biopigmentos microbianos, consolidando-os como uma alternativa promissora e sustentável aos corantes sintéticos na indústria têxtil. A urgência por soluções ecologicamente viáveis é intensificada pois os pigmentos convencionais geram efluentes com persistência de subprodutos mutagênicos e carcinogênicos, causando um considerável impacto ambiental. Nesse contexto, a bioprodução por microrganismos (bactérias, leveduras, fungos e microalgas), quando comparada a outras fontes naturais, se destaca por superar as limitações de sazonalidade e de rendimento inerentes às fontes vegetais e animais. A engenharia genética, utilizando ferramentas como a superexpressão

de genes-chave, o bloqueio de vias metabólicas concorrentes e a edição de genoma mediada por CRISPR-Cas, tem sido eficaz em aumentar a eficiência da biossíntese, transformando microrganismos em fábricas celulares de alto rendimento. A aplicabilidade dos biopigmentos é abrangente, englobando diversas classes como carotenoides, indigoides e pirróis, e confere não apenas cor, mas também propriedades multifuncionais, como atividade antimicrobiana e proteção UV aos tecidos, o que agrega valor funcional ao produto final. Em suma, ainda é claro que os biopigmentos representam uma substituição com consideravelmente menor impacto ambiental quando comparados aos pigmentos convencionais, fator que impulsiona sua aceitação e relevância no mercado.

Apesar do inegável potencial e das inovações já empregadas por empresas no tingimento de tecidos (como a Colorifix e Pili), a transição da escala laboratorial para a industrial em larga escala ainda enfrenta desafios técnicos e econômicos. Tais desafios incluem o custo elevado do *downstream processing* (separação e purificação), que pode ser o fator limitante para a competitividade em relação aos corantes sintéticos. Além disso, a instabilidade inerente de alguns biopigmentos, sensíveis ao pH ou ao calor, e a dificuldade de obter pigmentos em alta concentração a baixo custo persistem como barreiras. A otimização dos bioprocessos e o aumento da produtividade são, portanto, imperativos para a viabilidade econômica, exigindo o desenvolvimento de metodologias de cultivo mais eficientes, assim como o aprimoramento das estratégias de separação, purificação e estabilidade das cores nos tecidos, garantindo a solidez da cor e a durabilidade exigidas pelo consumidor.

Em perspectiva, o futuro da indústria têxtil aponta para uma integração mais profunda entre a biotecnologia e a engenharia de materiais. A pesquisa deve se concentrar em aumentar a estabilidade e a durabilidade dos biopigmentos, especialmente em comparação com os sintéticos, e em desenvolver novas estratégias de fixação que dispensem o uso de químicos tóxicos, como o uso de nanoemulsões para otimizar a entrega às fibras e a busca por biomordentes sustentáveis. Adicionalmente, é necessário buscar inovações regulatórias que padronizem e facilitem a aceitação desses produtos no mercado global, seguindo a tendência de listas de substâncias restritas independentes e leis de controle de químicos. A convergência da vasta biodiversidade do Brasil, um país com uma cadeia agroindustrial robusta que gera subprodutos de baixo custo, com o mercado de consumo têxtil aquecido, posiciona-o como um polo estratégico para o desenvolvimento e liderança na produção sustentável de biopigmentos. Dessa forma,

conclui-se que o investimento contínuo na engenharia genética e na otimização de bioprocessos é o caminho crucial para viabilizar uma indústria têxtil mais competitiva, ecológica e em conformidade com as crescentes demandas por sustentabilidade.

REFERÊNCIAS

A., Sadasivan Nair; B., Prakash Kumar; J., Anu Geo. Microbial production of textile grade pigments. **African Journal of Microbiology Research**, v. 11, n. 42, p. 1532–1537, 14 nov. 2017.

ABATE, Molla Tadesse; TADESSE, Melkie Getnet. Airflow, Foam, and Supercritical Carbon Dioxide Dyeing Technologies. *In*: RATHER, Luqman Jameel; HAJI, Aminoddin; SHABBIR, Mohd (Orgs.). **Innovative and Emerging Technologies for Textile Dyeing and Finishing**. 1. ed. [S.l.]: Wiley, 2021. p. 137–164.

AGARWAL, Himani *et al.* Bacterial Pigments and Their Multifaceted Roles in Contemporary Biotechnology and Pharmacological Applications. **Microorganisms**, v. 11, n. 3, p. 614, 28 fev. 2023.

ALDER, Catherine M. *et al.* Updating and further expanding GSK's solvent sustainability guide. **Green Chemistry**, v. 18, n. 13, p. 3879–3890, 2016.

AL-DURI, B.; MCKAY, G. PREDICTION OF BINARY SYSTEM FOR KINETICS OF BATCH ADSORPTION USING BASIC DYES ONTO ACTIVATED CARBON. [S.d.].

ALEGBE, Emmanuel Ohifueme; UTHMAN, Taofik Olatunde. A review of history, properties, classification, applications and challenges of natural and synthetic dyes. **Heliyon**, v. 10, n. 13, p. e33646, jul. 2024.

AMAL, Ali M. *et al.* Selection of Pigment (Melanin) production in *Streptomyces* and their application in Printing and Dyeing of Wool Fabrics. v. 1, 2011.

AMAN MOHAMMADI, Masoud *et al.* Microbial pigments as an alternative to synthetic dyes and food additives: a brief review of recent studies. **Bioprocess and Biosystems Engineering**, v. 45, n. 1, p. 1–12, jan. 2022.

ANILA, N. *et al.* Metabolic engineering of *Dunaliella salina* for production of ketocarotenoids. **Photosynthesis Research**, v. 127, n. 3, p. 321–333, mar. 2016.

ARPUTHARAJ, A.; RAJA, A. S. M.; SAXENA, Sujata. Developments in Sustainable Chemical Processing of Textiles. *In*: MUTHU, Subramanian Senthilkannan; GARDETTI, Miguel Angel (Orgs.). **Green Fashion**. Environmental Footprints and

Eco-design of Products and Processes. Singapore: Springer Singapore, 2016. p. 217–252.

ARULDASS, Clair Arul *et al.* Utilization of agro-industrial waste for the production of yellowish-orange pigment from *Chryseobacterium artocarpi* CECT 8497.

International Biodeterioration & Biodegradation, v. 113, p. 342–349, set. 2016.

BANCHERO, Mauro. Supercritical fluid dyeing of synthetic and natural textiles – a review. **Coloration Technology**, v. 129, n. 1, p. 2–17, fev. 2013.

BENSTEIN, Ruben Maximilian *et al.* Immobilized Growth of the Peridinin-Producing Marine Dinoflagellate *Symbiodinium* in a Simple Biofilm Photobioreactor. **Marine Biotechnology**, v. 16, n. 6, p. 621–628, dez. 2014.

BHATIA, Simran; POOJA; YADAV, Sudesh Kumar. CRISPR-Cas for genome editing: Classification, mechanism, designing and applications. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 238, p. 124054, maio 2023.

BORISOVA, Anna. One-Bath Dyeing Technology for Cotton Blended Fabric - Part 1: Elaboration of a Dyebath Content. **Key Engineering Materials**, v. 762, p. 385–389, fev. 2018.

BRENNAN, Liam; OWENDE, Philip. Biofuels from microalgae—A review of technologies for production, processing, and extractions of biofuels and co-products. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 14, n. 2, p. 557–577, fev. 2010.

BROUWER, Gijs J. A. Successful Scale-Up Support for Start-Ups in Industrial Biotechnology: A Multiple Case Study on Scale-Up Support Ecosystems. [*S.d.*].

BRUDZYŃSKA, Patrycja; SIONKOWSKA, Alina; GRISEL, Michel. Plant-Derived Colorants for Food, Cosmetic and Textile Industries: A Review. **Materials**, v. 14, n. 13, p. 3484, 23 jun. 2021.

BUARQUE, Filipe Smith; LEMES, Ailton Cesar; COELHO, Maria Alice Zarur. Advances in Industrial Biotechnology: Bioprocess and Bioseparation. **Processes**, v. 13, n. 4, p. 1101, 7 abr. 2025.

BUKUSOGLU, Emre; KOKU, Harun; ÇULFAZ-EMECEN, Pınar Zeynep. Addressing challenges in the ultrafiltration of biomolecules from complex aqueous environments. **Current Opinion in Colloid & Interface Science**, v. 46, p. 52–64, abr. 2020.

BURKINSHAW, Stephen M.; SALIHU, George. The role of auxiliaries in the immersion dyeing of textile fibres: Part 5 practical aspects of the role of inorganic electrolytes in dyeing cellulosic fibres with direct dyes. **Dyes and Pigments**, v. 161, p. 581–594, fev. 2019.

BUSCIO, V. *et al.* Reducing the environmental impact of textile industry by reusing residual salts and water: ECUVal system. **Chemical Engineering Journal**, v. 373, p. 161–170, out. 2019.

CAO, Kai *et al.* Metabolic engineering and synthetic biology strategies for producing high-value natural pigments in Microalgae. **Biotechnology Advances**, v. 68, p. 108236, nov. 2023.

CHÁVEZ-BÉJAR, María I. *et al.* Metabolic engineering of *Escherichia coli* to optimize melanin synthesis from glucose. **Microbial Cell Factories**, v. 12, n. 1, p. 108, dez. 2013.

CHEN, Bing-Huei; STEPHEN INBARAJ, Baskaran. Nanoemulsion and Nanoliposome Based Strategies for Improving Anthocyanin Stability and Bioavailability. **Nutrients**, v. 11, n. 5, p. 1052, 10 maio 2019.

CHEN, Chun-Yen *et al.* Cultivation, photobioreactor design and harvesting of microalgae for biodiesel production: A critical review. **Bioresource Technology**, v. 102, n. 1, p. 71–81, jan. 2011.

CHEN, Xuezhong *et al.* A new approach for risk assessment of aggregate dermal exposure to banned azo dyes in textiles. **Regulatory Toxicology and Pharmacology**, v. 91, p. 173–178, dez. 2017.

CHOI, Jong-il *et al.* Development of microalga *Scenedesmus dimorphus* mutant with higher lipid content by radiation breeding. **Bioprocess and Biosystems Engineering**, v. 37, n. 12, p. 2437–2444, dez. 2014.

CUI, Shixiu *et al.* Cell Membrane and Electron Transfer Engineering for Improved Synthesis of Menaquinone-7 in *Bacillus subtilis*. **iScience**, v. 23, n. 3, p. 100918, mar. 2020.

DA SILVA, Adilson José *et al.* Metabolic engineering of *E. coli* for pyocyanin production. **Metabolic Engineering**, v. 64, p. 15–25, mar. 2021.

DASGUPTA MANDAL, Dalia; MAJUMDAR, Subhasree. Bacteria as biofactory of pigments: Evolution beyond therapeutics and biotechnological advancements. **Journal of Bioscience and Bioengineering**, v. 135, n. 5, p. 349–358, maio 2023.

DAVIES, Nicola. The Sustainability of Waterless Dyeing. **AATCC Review**, v. 16, n. 1, p. 36–41, 1 jan. 2016.

DAVIS, Ryan; ADEN, Andy; PIENKOS, Philip T. Techno-economic analysis of autotrophic microalgae for fuel production. **Applied Energy**, v. 88, n. 10, p. 3524–3531, out. 2011.

DE OLIVEIRA, Carlos Rafael Silva *et al.* A Comprehensive Guide to Textile Process Laboratories: Risks, Hazards, Preservation Care, and Safety Protocol.

Laboratories, v. 1, n. 1, p. 1–33, 8 dez. 2023.

DENG, Yong *et al.* Dyeing method and properties of polymaleic acid dyes on cotton. **Coloration Technology**, v. 129, n. 2, p. 144–149, abr. 2013.

DEPARTMENT OF TEXTILE ENGINEERING, MAWLANA BHASHANI SCIENCE AND TECHNOLOGY UNIVERSITY, TANGAIL, BANGLADESH *et al.* Synthetic Dyes for Textile Colouration: Process, Factors and Environmental Impact. **Textile & Leather Review**, v. 5, p. 327–373, 8 ago. 2022.

DEVEOĞLU, Ozan; KARADAĞ, Recep. A Review on the Flavonoids – A Dye Source. **International Journal of Advances in Engineering and Pure Sciences**, v. 31, n. 3, p. 188–200, 1 set. 2019.

DI LEANDRO, Luana *et al.* Hosts and Heterologous Expression Strategies of Recombinant Toxins for Therapeutic Purposes. **Toxins**, v. 15, n. 12, p. 699, 13 dez. 2023.

DIAO, Jinjin *et al.* Tailoring cyanobacteria as a new platform for highly efficient synthesis of astaxanthin. **Metabolic Engineering**, v. 61, p. 275–287, set. 2020.

DOLEZ, P. I.; BENADDI, H. Toxicity testing of textiles. *In*: **Advanced Characterization and Testing of Textiles**. [S.l.]: Elsevier, 2018. p. 151–188.

DOMRÖSE, Andreas *et al.* Efficient recombinant production of prodigiosin in *Pseudomonas putida*. **Frontiers in Microbiology**, v. 6, 15 set. 2015.

DRAGO, Elisabeth Berry. BOLD: Color from Test Tube to Textile. **Chemistry International**, v. 46, n. 2, p. 6–15, 1 abr. 2024.

DRUGKAR, Kanchan *et al.* Advanced separation strategies for up-gradation of bio-oil into value-added chemicals: A comprehensive review. **Separation and Purification Technology**, v. 283, p. 120149, jan. 2022.

DRUMOND CHEQUER, Farah Maria *et al.* Textile Dyes: Dyeing Process and Environmental Impact. *In*: GUNAY, Melih (Org.). **Eco-Friendly Textile Dyeing and Finishing**. [S.l.]: InTech, 2013.

DU, Jikun *et al.* Metabolic engineering of *Escherichia coli* for the production of indirubin from glucose. **Journal of Biotechnology**, v. 267, p. 19–28, fev. 2018.

DULO, Benson *et al.* Natural Quinone Dyes: A Review on Structure, Extraction Techniques, Analysis and Application Potential. **Waste and Biomass Valorization**, v. 12, n. 12, p. 6339–6374, dez. 2021.

- DURÁN, Marcela *et al.* Potential applications of violacein: a microbial pigment. **Medicinal Chemistry Research**, v. 21, n. 7, p. 1524–1532, jul. 2012.
- DURÁN, Nelson *et al.* Ecological-Friendly Pigments From Fungi. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 42, n. 1, p. 53–66, jan. 2002.
- ELAZZAZY, Ahmed M. *et al.* Where Biology Meets Engineering: Scaling Up Microbial Nutraceuticals to Bridge Nutrition, Therapeutics, and Global Impact. **Microorganisms**, v. 13, n. 3, p. 566, 2 mar. 2025.
- ERYTHROPEL, Hanno C. *et al.* The Green ChemisTREE: 20 years after taking root with the 12 principles. **Green Chemistry**, v. 20, n. 9, p. 1929–1961, 2018.
- ESATBEYOGLU, Tuba; RIMBACH, Gerald. Canthaxanthin: From molecule to function. **Molecular Nutrition & Food Research**, v. 61, n. 6, p. 1600469, jun. 2017.
- FÁBRYOVÁ, Tereza *et al.* Isolation of astaxanthin monoesters from the microalgae *Haematococcus pluvialis* by high performance countercurrent chromatography (HPLCCC) combined with high performance liquid chromatography (HPLC). **Algal Research**, v. 49, p. 101947, ago. 2020.
- FRIED, Richard *et al.* Biogenic colourants in the textile industry – a promising and sustainable alternative to synthetic dyes. **Green Chemistry**, v. 24, n. 1, p. 13–35, 2022.
- FU, Weiqi *et al.* Algal Cell Factories: Approaches, Applications, and Potentials. **Marine Drugs**, v. 14, n. 12, p. 225, 13 dez. 2016.
- GHIFFARY, Mohammad Rifqi *et al.* High-Level Production of the Natural Blue Pigment Indigoidine from Metabolically Engineered *Corynebacterium glutamicum* for Sustainable Fabric Dyes. **ACS Sustainable Chemistry & Engineering**, v. 9, n. 19, p. 6613–6622, 17 maio 2021.
- GLAGOLEVA, Anastasiia Y.; SHOEVA, Olesya Y.; KHLESTKINA, Elena K. Melanin Pigment in Plants: Current Knowledge and Future Perspectives. **Frontiers in Plant Science**, v. 11, p. 770, 23 jun. 2020.
- GONG, Mengyue; BASSI, Amarjeet. Carotenoids from microalgae: A review of recent developments. **Biotechnology Advances**, v. 34, n. 8, p. 1396–1412, dez. 2016.
- GREWAL, Jasneet *et al.* Colorful Treasure From Agro-Industrial Wastes: A Sustainable Chassis for Microbial Pigment Production. **Frontiers in Microbiology**, v. 13, p. 832918, 31 jan. 2022.

GUERRY, Estelle; DIAZ, Léa. Colorants biosources pour une industrie de la couleur textile plus verte : cas de la synthèse enzymatique PILI©. **Technologie et innovation**, v. 10, n. 1, 2025.

GUIRY, Michael D. HOW MANY SPECIES OF ALGAE ARE THERE? **Journal of Phycology**, v. 48, n. 5, p. 1057–1063, out. 2012.

HESSEL, C. *et al.* Guidelines and legislation for dye house effluents. **Journal of Environmental Management**, v. 83, n. 2, p. 171–180, abr. 2007.

HU, Jianjun *et al.* Heterotrophic cultivation of microalgae for pigment production: A review. **Biotechnology Advances**, v. 36, n. 1, p. 54–67, jan. 2018.

HUO, Liujie *et al.* Heterologous expression of bacterial natural product biosynthetic pathways. **Natural Product Reports**, v. 36, n. 10, p. 1412–1436, 2019.

HUR, Eunsuk; FARAGHER- SIDDALL, Eleanor. Young Consumer Perspectives on Government Policy Interventions for Sustainable Fashion Consumption in the UK. **Fashion Practice**, v. 14, n. 3, p. 405–427, 2 set. 2022.

IMTIAZUDDIN, S. M.; TIKI, Anwer. Textile Azo Dyes; Significance, Ecological, Health, and Safety issues. **Pakistan Journal of Chemistry**, v. 10, n. (1-4), p. 35, 7 jun. 2021.

ISLAM, Ejaz Ul *et al.* Assessing potential dietary toxicity of heavy metals in selected vegetables and food crops. **Journal of Zhejiang University SCIENCE B**, v. 8, n. 1, p. 1–13, jan. 2007.

JUNG, Jin-Young *et al.* Reduction of Ethyl Carbamate in an Alcoholic Beverage by CRISPR/Cas9-Based Genome Editing of the Wild Yeast. **Foods**, v. 12, n. 1, p. 102, 25 dez. 2022.

KHAN, Sana; MALIK, Abdul. Environmental and Health Effects of Textile Industry Wastewater. *In*: MALIK, Abdul; GROHMANN, Elisabeth; AKHTAR, Rais (Orgs.). **Environmental Deterioration and Human Health**. Dordrecht: Springer Netherlands, 2014. p. 55–71.

KHAN, Waseem Ullah *et al.* A critical review of hazardous waste generation from textile industries and associated ecological impacts. **Journal of the Indian Chemical Society**, v. 100, n. 1, p. 100829, jan. 2023.

KHATRI, Awais; PADHYE, Rajiv; WHITE, Max. The use of trisodium nitrilo triacetate in the pad–steam dyeing of cotton with reactive dyes. **Coloration Technology**, v. 129, n. 1, p. 76–81, fev. 2013.

KHATTAB, Tawfik A.; ABDELRAHMAN, Meram S.; REHAN, Mohamed. Textile dyeing industry: environmental impacts and remediation. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 27, n. 4, p. 3803–3818, fev. 2020.

KIM, Dong-Yeon *et al.* Cell-wall disruption and lipid/astaxanthin extraction from microalgae: Chlorella and Haematococcus. **Bioresource Technology**, v. 199, p. 300–310, jan. 2016.

KIM, Hyun-Ju *et al.* Effect of textile wastewaters on *Saccharomyces cerevisiae* using DNA microarray as a tool for genome-wide transcriptomics analysis. **Water Research**, v. 40, n. 9, p. 1773–1782, maio 2006.

KRAMAR, Ana *et al.* Crude bacterial extracts of two new *Streptomyces* sp. isolates as bio-colorants for textile dyeing. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, v. 30, n. 8, p. 2231–2240, ago. 2014.

KRAMAR, Ana; KOSTIC, Mirjana M. Bacterial Secondary Metabolites as Biopigments for Textile Dyeing. **Textiles**, v. 2, n. 2, p. 252–264, 19 abr. 2022.

KRISHNA, Chundakkadu. Solid-State Fermentation Systems—An Overview. **Critical Reviews in Biotechnology**, v. 25, n. 1–2, p. 1–30, jan. 2005.

KUMAR, Abhishek *et al.* MICROBIAL PIGMENTS: PRODUCTION AND THEIR APPLICATIONS IN VARIOUS INDUSTRIES. 2015.

KUMAR, Ashok *et al.* Structure and Properties of Dyes and Pigments. *In*: PAPADAKIS, Raffaello (Org.). **Dyes and Pigments - Novel Applications and Waste Treatment**. [S.l.]: IntechOpen, 2021.

LEI, Zhigang *et al.* Introduction: Ionic Liquids. **Chemical Reviews**, v. 117, n. 10, p. 6633–6635, 24 maio 2017.

LI, Dongmei; ZHU, Zhiwei; SUN, Da-Wen. Effects of freezing on cell structure of fresh cellular food materials: A review. **Trends in Food Science & Technology**, v. 75, p. 46–55, maio 2018.

LI, Ya-Dong *et al.* Application of Natural Flavonoids to Impart Antioxidant and Antibacterial Activities to Polyamide Fiber for Health Care Applications. **Antioxidants**, v. 8, n. 8, p. 301, 12 ago. 2019.

LIU, Dujuan; GARRIGUES, Sandra; DE VRIES, Ronald P. Heterologous protein production in filamentous fungi. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 107, n. 16, p. 5019–5033, ago. 2023.

LIU, Jiaqi *et al.* Microbial chassis engineering drives heterologous production of complex secondary metabolites. **Biotechnology Advances**, v. 59, p. 107966, out. 2022.

- LIU, Shuyu *et al.* Improving Cell Growth and Lipid Accumulation in Green Microalgae *Chlorella* sp. via UV Irradiation. **Applied Biochemistry and Biotechnology**, v. 175, n. 7, p. 3507–3518, abr. 2015.
- LIU, Ting; ZHANG, Chuanbo; LU, Wenyu. Heterologous production of levopimaric acid in *Saccharomyces cerevisiae*. **Microbial Cell Factories**, v. 17, n. 1, p. 114, dez. 2018.
- LOENEN, Wil A. M.; RALEIGH, Elisabeth A. The other face of restriction: modification-dependent enzymes. **Nucleic Acids Research**, v. 42, n. 1, p. 56–69, 1 jan. 2014.
- LV, Xiaomei *et al.* Enhanced isoprene biosynthesis in *Saccharomyces cerevisiae* by engineering of the native acetyl-CoA and mevalonic acid pathways with a push-pull-restrain strategy. **Journal of Biotechnology**, v. 186, p. 128–136, set. 2014.
- LYU, Xiaomei *et al.* Biotechnological advances for improving natural pigment production: a state-of-the-art review. **Bioresources and Bioprocessing**, v. 9, n. 1, p. 8, dez. 2022.
- MA, Chengbo *et al.* Biosynthesis of phycocyanobilin in recombinant *Escherichia coli*. **Journal of Oceanology and Limnology**, v. 38, n. 2, p. 529–538, mar. 2020.
- MADHAV, Sugghosh *et al.* A review of textile industry: Wet processing, environmental impacts, and effluent treatment methods. **Environmental Quality Management**, v. 27, n. 3, p. 31–41, mar. 2018.
- MAHMUD, Iqbal; KAISER, Shantanu. Recent Progress in Waterless Textile Dyeing. v. 10, 2020.
- MAJUMDAR, Subhasree *et al.* Biotransformation of paper mill sludge by *Serratia marcescens* NITDPER1 for prodigiosin and cellulose nanocrystals: A strategic valorization approach. **Biochemical Engineering Journal**, v. 164, p. 107766, dez. 2020.
- MAJUMDAR, Subhasree; MANDAL, Tamal; DASGUPTA MANDAL, Dalia. Comparative performance evaluation of chitosan based polymeric microspheres and nanoparticles as delivery system for bacterial β -carotene derived from *Planococcus* sp. TRC1. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 195, p. 384–397, jan. 2022a.
- MAJUMDAR, Subhasree; MANDAL, Tamal; DASGUPTA MANDAL, Dalia. Comparative performance evaluation of chitosan based polymeric microspheres and nanoparticles as delivery system for bacterial β -carotene derived from *Planococcus* sp. TRC1. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 195, p. 384–397, jan. 2022b.

- MANDAL, Madan Kumar; CHANU, Ng. Kunjarani; CHAURASIA, Neha. Cyanobacterial pigments and their fluorescence characteristics: applications in research and industry. *In: Advances in Cyanobacterial Biology*. [S.l.]: Elsevier, 2020. p. 55–72.
- MATTEDI, Alessandro *et al.* Solid-State Fermentation: Applications and Future Perspectives for Biostimulant and Biopesticides Production. **Microorganisms**, v. 11, n. 6, p. 1408, 26 maio 2023.
- MELTON, Lisa. Fashion’s microbial dyeing machines. **Nature Biotechnology**, v. 40, n. 2, p. 143–143, fev. 2022.
- MOJSOV, Kiro. Enzymatic desizing, bioscouring and enzymatic bleaching of cotton fabric with glucose oxidase. **The Journal of The Textile Institute**, v. 110, n. 7, p. 1032–1041, 3 jul. 2019.
- MOLDOVAN, SIMONA; FERRANDIZ, MARCELA; BONET, M^a ANGELES. NATURAL COTTON PRINTING WITH RED MACROALGAE BIOMASS OF GRACILARIA GRACILIS AND GRACILARIA CORNEA. [S.d.].
- MONTANER, Beatriz; PÉREZ-TOMÁS, Ricardo. Prodigiosin-induced apoptosis in human colon cancer cells. **Life Sciences**, v. 68, n. 17, p. 2025–2036, mar. 2001.
- MSC MICROBIOLOGY STUDENT, BHAGWAN MAHAVIR COLLEGE OF BASIC AND APPLIED SCIENCES; TIWARI, Kirti. A Potential Application of Microbial Pigment: An Alternative to Synthetic Dye & Colourants. **International Journal of Current Science Research and Review**, v. 05, n. 09, 5 set. 2022.
- MUSSAGY, Cassamo U. *et al.* Protic Ionic Liquids as Cell-Disrupting Agents for the Recovery of Intracellular Carotenoids from Yeast *Rhodotorula glutinis* CCT-2186. **ACS Sustainable Chemistry & Engineering**, v. 7, n. 19, p. 16765–16776, 7 out. 2019.
- MUSSAGY, Cassamo U. *et al.* Selective recovery and purification of carotenoids and fatty acids from *Rhodotorula glutinis* using mixtures of biosolvents. **Separation and Purification Technology**, v. 266, p. 118548, jul. 2021.
- MUTHU, Subramanian Senthilkannan; GARDETTI, Miguel Angel (ORGS.). **Sustainability in the Textile and Apparel Industries: Production Process Sustainability**. Cham: Springer International Publishing, 2020.
- NIELSEN, Jens. Metabolic engineering: Techniques for analysis of targets for genetic manipulations. **Biotechnology and Bioengineering**, v. 58, n. 2–3, p. 125–132, 20 abr. 1998.

NOVOVESKÁ, Lucie *et al.* Overview and Challenges of Large-Scale Cultivation of Photosynthetic Microalgae and Cyanobacteria. **Marine Drugs**, v. 21, n. 8, p. 445, 10 ago. 2023.

ODUBANJO, Grace Olunike; OYETIBO, Ganiyu Oladunjoye; ILORI, Matthew Olusoji. Ecological Risks of Heavy Metals and Microbiome Taxonomic Profile of a Freshwater Stream Receiving Wastewater of Textile Industry. **Frontiers in Environmental Science**, v. 9, p. 554490, 10 maio 2021.

OGUNTADE, Oladele A. *et al.* Growth, dry matter and heavy metal uptake of potted *Amaranthus cruentus* L. as influenced by dye-laden wastewater. [S.d.].

ORLANDI, Viviana Teresa *et al.* Bacterial pigments: A colorful palette reservoir for biotechnological applications. **Biotechnology and Applied Biochemistry**, v. 69, n. 3, p. 981–1001, jun. 2022.

PARK, Jihae *et al.* Commercial Potential of the Cyanobacterium *Arthrospira maxima*: Physiological and Biochemical Traits and the Purification of Phycocyanin. **Biology**, v. 11, n. 5, p. 628, 20 abr. 2022.

PARK, Seon Young *et al.* Metabolic engineering of *Escherichia coli* for high-level astaxanthin production with high productivity. **Metabolic Engineering**, v. 49, p. 105–115, set. 2018.

PATEL, Paresh S.; PATEL, Dharmishtha H.; PATEL, Keshav C. Synthesis of Some Heteropolyfunctional Reactive Dyes and Their Application on Silk, Wool, and Cotton Fibers. **Fibers and Polymers**, v. 23, n. 1, p. 86–97, jan. 2022.

PATEL, Vikas Kumar *et al.* Recent progress and challenges in CRISPR-Cas9 engineered algae and cyanobacteria. **Algal Research**, v. 71, p. 103068, abr. 2023.

PAWAR, Sanjay. Effectiveness mapping of open raceway pond and tubular photobioreactors for sustainable production of microalgae biofuel. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 62, p. 640–653, set. 2016.

PEREIRA, Alzira Aparecida *et al.* Precision fermentation in the realm of microbial protein production: State-of-the-art and future insights. **Food Research International**, v. 200, p. 115527, jan. 2025.

PERIYASAMY, Aravin Prince; PERIYASAMI, Saravanan. Critical Review on Sustainability in Denim: A Step toward Sustainable Production and Consumption of Denim. **ACS Omega**, v. 8, n. 5, p. 4472–4490, 7 fev. 2023.

PIZZICATO, Barbara *et al.* Advancements in Sustainable Natural Dyes for Textile Applications: A Review. **Molecules**, v. 28, n. 16, p. 5954, 8 ago. 2023.

- POBIEGA, Katarzyna *et al.* Fungal Proteins: Sources, Production and Purification Methods, Industrial Applications, and Future Perspectives. **Applied Sciences**, v. 14, n. 14, p. 6259, 18 jul. 2024.
- PORTUGAL-PEREIRA, Joana *et al.* Agricultural and agro-industrial residues-to-energy: Techno-economic and environmental assessment in Brazil. **Biomass and Bioenergy**, v. 81, p. 521–533, out. 2015.
- RAHMAN, N. A. Abdul; TAJUDDIN, R.; TUMIN, S. M. Optimization of Natural Dyeing Using Ultrasonic Method and Biomordant. **International Journal of Chemical Engineering and Applications**, p. 161–164, 2013.
- RAJAN MR, David Noel S. Phytotoxic Effect of Dyeing Industry Effluent on Seed Germination and Early Growth of Lady's Finger. **Journal of Pollution Effects & Control**, v. 03, n. 02, 2015.
- RAJENDRAN, Poorniammal; SOMASUNDARAM, Prabhu; DUFOSSÉ, Laurent. Microbial pigments: Eco-friendly extraction techniques and some industrial applications. **Journal of Molecular Structure**, v. 1290, p. 135958, out. 2023.
- RAJESHWAR, K. *et al.* Heterogeneous photocatalytic treatment of organic dyes in air and aqueous media. **Journal of Photochemistry and Photobiology C: Photochemistry Reviews**, v. 9, n. 4, p. 171–192, dez. 2008.
- RAM, Shristi *et al.* Bacteria as an alternate biofactory for carotenoid production: A review of its applications, opportunities and challenges. **Journal of Functional Foods**, v. 67, p. 103867, abr. 2020.
- RIZWAN, Muhammad *et al.* Exploring the potential of microalgae for new biotechnology applications and beyond: A review. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 92, p. 394–404, set. 2018.
- ROOSTAEI, Javad *et al.* Mixotrophic Microalgae Biofilm: A Novel Algae Cultivation Strategy for Improved Productivity and Cost-efficiency of Biofuel Feedstock Production. **Scientific Reports**, v. 8, n. 1, p. 12528, 21 ago. 2018.
- SAINI, Dinesh Kumar; PABBI, Sunil; SHUKLA, Pratyosh. Cyanobacterial pigments: Perspectives and biotechnological approaches. **Food and Chemical Toxicology**, v. 120, p. 616–624, out. 2018.
- SANDYBAYEVA, Sandugash K. *et al.* Prospects of cyanobacterial pigment production: Biotechnological potential and optimization strategies. **Biochemical Engineering Journal**, v. 187, p. 108640, nov. 2022.
- SAXENA, Sujata; RAJA, A. S. M. Natural Dyes: Sources, Chemistry, Application and Sustainability Issues. *In*: MUTHU, Subramanian Senthilkannan (Org.). **Roadmap to**

Sustainable Textiles and Clothing. Textile Science and Clothing Technology. Singapore: Springer Singapore, 2014. p. 37–80.

SCHEWE, Hendrik *et al.* High concentrations of biotechnologically produced astaxanthin by lowering pH in a *Phaffia rhodozyma* bioprocess. **Biotechnology and Bioprocess Engineering**, v. 22, n. 3, p. 319–326, jun. 2017.

SCHNURR, Peter J.; ALLEN, D. Grant. Factors affecting algae biofilm growth and lipid production: A review. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 52, p. 418–429, dez. 2015.

SENGUPTA, Sucharita; BHOWAL, Jayati. Characterization of a blue-green pigment extracted from *Pseudomonas aeruginosa* and its application in textile and paper dyeing. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 30, n. 11, p. 30343–30357, 1 mar. 2023.

SHABBIR, Mohd; NAIM, Masoom. Introduction to Textiles and the Environment. *In*: SHABBIR, Mohd (Org.). **Textiles and Clothing**. 1. ed. [S.l.]: Wiley, 2019. p. 1–9.

SHRESTHA, Biplav *et al.* Combinatorial approach for improved cyanidin 3-O-glucoside production in *Escherichia coli*. **Microbial Cell Factories**, v. 18, n. 1, p. 7, dez. 2019.

SICAIRE, Anne-Gaëlle *et al.* 2-Methyltetrahydrofuran: Main Properties, Production Processes, and Application in Extraction of Natural Products. *In*: CHEMAT, Farid; VIAN, Maryline Abert (Orgs.). **Alternative Solvents for Natural Products Extraction**. Green Chemistry and Sustainable Technology. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg, 2014. p. 253–268.

SINGHANIA, Reeta Rani *et al.* Solid-State Fermentation. *In*: WITTMANN, Christoph; LIAO, James C. (Orgs.). **Industrial Biotechnology**. 1. ed. [S.l.]: Wiley, 2017. p. 187–204.

SLOTH, Jenni Katrine *et al.* Growth and phycocyanin synthesis in the heterotrophic microalga *Galdieria sulphuraria* on substrates made of food waste from restaurants and bakeries. **Bioresource Technology**, v. 238, p. 296–305, ago. 2017.

SRIVASTAVA, Amit *et al.* Biosynthesis and biotechnological interventions for commercial production of microalgal pigments: A review. **Bioresource Technology**, v. 352, p. 127071, maio 2022.

STONE, Catherine *et al.* Natural or synthetic – how global trends in textile usage threaten freshwater environments. **Science of The Total Environment**, v. 718, p. 134689, maio 2020.

- TANG, Qian *et al.* Natural pigments derived from plants and microorganisms: classification, biosynthesis, and applications. **Plant Biotechnology Journal**, v. 23, n. 2, p. 592–614, fev. 2025.
- TETALI, Sarada D. Terpenes and isoprenoids: a wealth of compounds for global use. **Planta**, v. 249, n. 1, p. 1–8, jan. 2019.
- TRIPATHI, N. High Yield Production of Heterologous Proteins with *Escherichia coli*. **Defence Science Journal**, v. 59, n. 2, p. 137–146, 29 mar. 2009.
- TROSCHL, Clemens *et al.* Pilot-scale production of poly- β -hydroxybutyrate with the cyanobacterium *Synechocystis* sp. CCALA192 in a non-sterile tubular photobioreactor. **Algal Research**, v. 34, p. 116–125, set. 2018.
- TULI, Hardeep S. *et al.* Microbial pigments as natural color sources: current trends and future perspectives. **Journal of Food Science and Technology**, v. 52, n. 8, p. 4669–4678, ago. 2015.
- VANDENBERGHE, Luciana P. S. *et al.* Solid-state fermentation technology and innovation for the production of agricultural and animal feed bioproducts. **Systems Microbiology and Biomanufacturing**, v. 1, n. 2, p. 142–165, abr. 2021.
- VASSILEVA, V.; VALCHEVA, E.; ZHELEVA, Z. THE KINETIC MODEL OF REACTIVE DYE FIXATION ON COTTON FIBERS. 2008.
- VOEIKOVA, T. A.; ZHURAVLIOVA, O. A.; DEBABOV, V. G. Comparative Analysis of Legal Regulation of Industrial Use of Genetic-Engineering-Modified Microorganisms in the United States, European Union, and Russian Federation. **Molecular Genetics, Microbiology and Virology**, v. 35, n. 2, p. 69–77, abr. 2020.
- WAKANKAR, D. M. Regulations relating to the use of textile dyes and chemicals. *In*: **Advances in the Dyeing and Finishing of Technical Textiles**. [S.l.]: Elsevier, 2013. p. 105–132.
- WALKER, Kenneth T. *et al.* Self-pigmenting textiles grown from cellulose-producing bacteria with engineered tyrosinase expression. **Nature Biotechnology**, v. 43, n. 3, p. 345–354, mar. 2025.
- WANG, Hui *et al.* The contamination and control of biological pollutants in mass cultivation of microalgae. **Bioresource Technology**, v. 128, p. 745–750, jan. 2013.
- WEHRS, Maren *et al.* Sustainable bioproduction of the blue pigment indigoidine: Expanding the range of heterologous products in *R. toruloides* to include non-ribosomal peptides. **Green Chemistry**, v. 21, n. 12, p. 3394–3406, 2019.

WIJFFELS, René H.; KRUSE, Olaf; HELLINGWERF, Klaas J. Potential of industrial biotechnology with cyanobacteria and eukaryotic microalgae. **Current Opinion in Biotechnology**, v. 24, n. 3, p. 405–413, jun. 2013.

WU, Junjun *et al.* Systems metabolic engineering of microorganisms to achieve large-scale production of flavonoid scaffolds. **Journal of Biotechnology**, v. 188, p. 72–80, out. 2014.

XIE, Dongming. Continuous biomanufacturing with microbes — upstream progresses and challenges. **Current Opinion in Biotechnology**, v. 78, p. 102793, dez. 2022.

XU, Shumin; GAO, Song; AN, Yingfeng. Research progress of engineering microbial cell factories for pigment production. **Biotechnology Advances**, v. 65, p. 108150, jul. 2023.

YADAV, Shailendra *et al.* Innovations in natural dye production: bridging tradition and modern technology. **Frontiers in Plant Science**, v. 16, p. 1568094, 15 ago. 2025.

YU, Lin-Ping; WU, Fu-Qing; CHEN, Guo-Qiang. Next-Generation Industrial Biotechnology-Transforming the Current Industrial Biotechnology into Competitive Processes. **Biotechnology Journal**, v. 14, n. 9, p. 1800437, set. 2019.

YUAN, N.; QIAO, J. Q.; LIAN, H. Z. Simultaneous Determination of Nine Related Substances in p-Phthalic Acid Residue by RP-HPLC. **Journal of Chromatographic Science**, v. 50, n. 5, p. 410–413, 1 maio 2012.

YUSUF, Mohd. Synthetic Dyes: A Threat to the Environment and Water Ecosystem. *In*: SHABBIR, Mohd (Org.). **Textiles and Clothing**. 1. ed. [S.l.]: Wiley, 2019. p. 11–26.

YUSUF, Mohd; SHABBIR, Mohd; MOHAMMAD, Faqeer. Natural Colorants: Historical, Processing and Sustainable Prospects. **Natural Products and Bioprospecting**, v. 7, n. 1, p. 123–145, fev. 2017.

ZERIN, Israt *et al.* Potentials of Natural Dyes for Textile Applications. *In*: **Encyclopedia of Renewable and Sustainable Materials**. [S.l.]: Elsevier, 2020. p. 873–883.