



**UNIVERSIDADE CATÓLICA DE PERNAMBUCO  
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA, PÓS-GRADUAÇÃO E INOVAÇÃO  
COORDENAÇÃO DE PÓS-GRADUAÇÃO *STRICTO SENSU*  
MESTRADO EM DESENVOLVIMENTO DE PROCESSOS AMBIENTAIS**

**LUCAS ALBUQUERQUE ROSENDO DA SILVA**

**PRODUÇÃO ECOLÓGICA DE PRODIGIOSINA POR  
*SERRATIA MARCESCENS* UCP 1549 E APLICAÇÃO COMO  
CORANTE**

**Recife, 15 de novembro de 2021**

**Recife, PE**

**LUCAS ALBUQUERQUE ROSENDO DA SILVA**

**PRODUÇÃO ECOLÓGICA DE PRODIGIOSINA POR  
*SERRATIA MARCESCENS* UCP 1549 E APLICAÇÃO  
COMO CORANTE**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Desenvolvimento de Processos Ambientais da Universidade Católica de Pernambuco, como pré-requisito para obtenção do título de Mestre em Desenvolvimento de Processos Ambientais.

**Área de Concentração:** Desenvolvimento de Processos Ambientais

**Linha de Pesquisa:** Biotecnologia e Meio Ambiente

**Orientadora:** Profa. Dra. Galba Maria de Campos Takaki

**Co-orientadora:** Dra. Dayana Montero Rodríguez

**Recife, 16 de novembro de 2021**

## Ficha Catalográfica

- S586p      Silva, Lucas Albuquerque Rosendo da  
              Produção ecológica de prodigiosina por *Serratia marcescens* UCP 1549 e aplicação como corante/  
              Lucas Albuquerque Rosendo da Silva, 2021  
              78f.: il.
- Orientadora: Galba Maria de Campos Takaki  
              Coorientadora: Dayana Montero Rodríguez
- Mestrado (Dissertação) - Universidade Católica de Pernambuco. Programa de Pós-graduação em Desenvolvimento de Processos Ambientais. Mestrado em Desenvolvimento de Processos Ambientais, 2021.
1. Biotecnologia. 2. Corantes e tingimento. 3. Pigmentos. I. Título.

CDU 574.6

Luciana Vidal - CRB4/1338

# PRODUÇÃO ECOLÓGICA DE PRODIGIOSINA POR *SERRATIA MARCESCENS* UCP 1549 E APLICAÇÃO COMO CORANTE

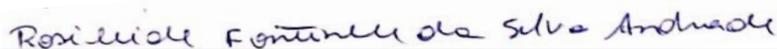
LUCAS ALBUQUERQUE ROSENDO DA SILVA

## Examinadores:

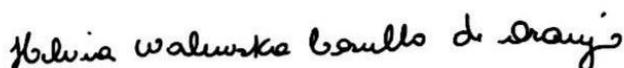


---

Profa. Dra. Galba Maria de Campos Takaki(Orientadora)  
Universidade Católica de Pernambuco - UNICAP



Profa. Dra. Rosileide Fontenele da Silva Andrade (Titular interno)  
Universidade Católica de Pernambuco - UNICAP



---

Profa. Dra. Hélvia Walewska Casullo de Araújo (Titular Externo)  
Universidade Estadual da Paraíba - UEPB

Defendida em:

Coordenadora: Profa. Dra. Galba Maria de Campos Takaki.

A você minha mãe,  
Severina Albuquerque de Santana Silva,  
dedico este trabalho,  
por ter lutado todas as batalhas comigo,  
pelo amor incondicional,  
pelas palavras de força, apoio e  
disponibilidade em todos os momentos.  
Com ela terei uma dívida eterna,  
porque parte do que sou hoje é resultado  
de tudo o que ela fez e faz por mim.

## AGRADECIMENTOS

A DEUS primeiramente, por Sua presença na minha vida em todos os momentos. Obrigado meu DEUS, por ter me permitido chegar até aqui. Obrigado por nunca ter me deixado sozinho nos momentos de dor e aflição, com a Tua poderosa mão me sustentando, não me deixando cair, desanimar ou desistir.

Aos meus familiares, em especial minhas tias e tios, tanto os que estão em vida e aqueles que já se foram, que deixaram em mim um pouco de si, contribuindo para a construção do meu primeiro grande sonho.

Obrigado família, por fazer parte da minha história.

Aos amigos que estiveram presentes durante todos os momentos da graduação, pela saudade que deixarão e que contribuiram muito para que esse momento fosse possível.

À minha Orientadora, a Profa. Dra. Galba Maria de Campos Takaki, bem como minha co-orientadora Dra. Dayana Montero Rodríguez, meus agradecimentos. São pessoas quem tenho grande admiração pelo trabalho e um grande apreço, como orientadoras, profissionais excepcionais na construção desse trabalho.

Ao Prof. Dr. Pe. Pedro Rubens Ferreira Oliveira, S.J., Reitor da Universidade Católica de Pernambuco, por todas as condições de trabalho e facilidades.

A todos os Professores e Professoras do Mestrado em Desenvolvimento de Processos Ambientais, pelos ensinamentos e apoio em todos os momentos.

Aos técnicos do NPCIAMB, Sr. Severino Humberto de Almeida e André Felipe Lima, pelas facilidades no Laboratório, bem como, a Sra. Sônia Maria de Souza, pelo apoio.

À CAPES pela bolsa para a realização do Mestrado, e aos órgãos de fomento à pesquisa FACEPE e CNPq, pelo apoio financeiro na realização da parte experimental desta Dissertação.

E, a todos que indiretamente contribuíram para a realização deste trabalho.

## SUMÁRIO

<b>AGRADECIMENTOS</b> .....	vi
<b>LISTA DE FIGURAS</b> .....	x
<b>LISTA DE TABELAS</b> .....	xi
<b>RESUMO</b> .....	11
<b>ABSTRACT</b> .....	12
<b>CAPÍTULO I</b> .....	13
<b>1 INTRODUÇÃO</b> .....	14
<b>2 OBJETIVOS</b> .....	16
<b>2.1 Objetivo Geral</b> .....	16
<b>2.2 Objetivos Específicos</b> .....	16
<b>3 REVISÃO DA LITERATURA</b> .....	17
<b>3.1 <i>Serratia marcescens</i>: características gerais</b> .....	17
<b>3.2 Família das prodigininas</b> .....	18
<b>3.2.1 Prodiginina</b> .....	19
<b>3.2.2 Funções biológicas da prodigiosina</b> .....	19
<b>3.2.3 Fatores que influenciam a produção de prodigiosina</b> .....	20
<b>3.2.4 Aplicações da prodigiosina</b> .....	21
<b>3.2.4.1 Prodigiosina como fonte de pigmentação</b> .....	21
<b>3.2.4.2 Prodigiosina na indústria farmacêutica</b> .....	22
<b>3.2.4.3 Prodigiosina como inseticida</b> .....	22
<b>3.2.4.4 Prodigiosina contra radiação ultravioleta</b> .....	23
<b>3.2.4.5 Atividade antimicrobiana</b> .....	23
<b>3.3 Utilização de substratos alternativos para a produção biotecnológica de prodigiosina</b> .....	24
<b>3.4 Mercado mundial de prodigiosina</b> .....	26
<b>REFERÊNCIAS</b> .....	27
<b>CAPÍTULO II</b> .....	38
<b>Resumo</b> .....	40
<b>Introdução</b> .....	41
<b>Material e Métodos</b> .....	41
<b>Resultados e Discussão</b> .....	43
<b>Conclusão</b> .....	47
<b>Agradecimentos</b> .....	48

<b>Referências</b> .....	48
<b>Material suplementar</b> .....	52
<b>CAPÍTULO III</b> .....	53
<b>CONSIDERAÇÕES FINAIS</b> .....	55
<b>ANEXOS</b> .....	56

## LISTA DE FIGURAS

### CAPÍTULO I

Figura 1 – <i>Serratia marcescens</i> UCP 1549 crescida no meio Luria Bertani sólido, mostrando a produção de prodigiosina após 24 horas de incubação a 28 °C.....	17
Figura 2 – Estrutura química do prodigioseno.....	18
Figura 3 – Membros da família das prodigininas: a) prodigiosina, b) undecilprodigiosina, c) cicloprodigiosina, d) metacicloprodigiosina, e) prodigiosina R1, f) estreptorubina B.....	18
Figura 4 – Estrutura química da prodigiosina.....	19

### CAPÍTULO II

Figura 1 – Teste presuntivo para prodigiosina do pigmento vermelho produzido por <i>S. marcescens</i> UCP 1549: Extrato etanólico do pigmento sem alteração (controle) (A), em condições ácidas (B) e alcalinas (C).....	45
Figura 2 – Espectro de absorbância do pigmento vermelho produzido por <i>S. marcescens</i> UCP 1549.....	45
Figura 3 – Estabilidade da prodigiosina produzida por <i>Serratia marcescens</i> UCP 1549 em diferentes valores de pH e salinidade.....	46
Figura 4 – Aplicação da prodigiosina produzida por <i>Serratia marcescens</i> UCP 1549 na coloração sabonete.....	47
Figura S1 – Espectro infravermelho do pigmento vermelho produzido por <i>Serratia marcescens</i> UCP 1549 em meio contendo farelo de milho.....	52

### CAPÍTULO III

Figura 1 –.....	
-----------------	--

## LISTA DE TABELAS

### CAPÍTULO I

Tabela 1 – Produção de prodigiosina por *Serratia marcescens* utilizando diferentes substratos alternativos.....24

### CAPÍTULO II

Tabela 1 – Comparação da produção de prodigiosina de *S. marcescens* UCP 1549 deste estudo e estudos anteriores utilizando substratos agroindustriais.....44

Tabela 2 – Comparação de bandas de absorção de FTIR de pigmento vermelho produzido por *S. marcescens* UCP 1549 com grupos funcionais de prodigiosina de estudos anteriores.....45

### CAPÍTULO III

Tabela 1 – .....56

## RESUMO

A prodigiosina é um pigmento vermelho produzido principalmente pela bactéria Gram-negativa *Serratia marcescens*, como metabólito secundário intracelular de ampla atividade, podendo ser empregado na agricultura, na química fina e na indústria farmacêutica e têxtil. Neste trabalho *Serratia marcescens* UCP 1549 demonstrou potencial biotecnológico de produzir prodigiosina convertendo o substrato renovável farelo de milho (1%) como única fonte de carbono, e solução de sais [ $\text{KH}_2\text{PO}_4$ ,  $\text{K}_2\text{HPO}_4$ ,  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  e  $\text{SO}_4(\text{NH}_4)_2$ ], após 72 h de incubação a 31°C e agitação orbital de 100 rpm. Após esse período, foi observado uma produção de biomassa de 7,24 g/L e pigmento vermelho de 1,68 g/L, identificado como prodigiosina através de absorvância a 535 nm,  $R_f$  de 0,9 em cromatografia em camada delgada (CCD) e grupos funcionais obtidos pelo Espectroscopia no infravermelho por transformada de Fourier (FTIR). A prodigiosina demonstrou estabilidade na cor frente a diferentes concentrações de NaCl e valores de pH (2-6), contudo, ocorreu redução da cor em pH 8,10 e 12, respectivamente. A aplicação do pigmento na coloração do sabonete foi eficiente, sugerindo seu potencial promissor como corante natural na indústria de cosméticos. A partir da produção ecológica da prodigiosina utilizando farelo de milho, foi investigado o efeito da concentração de substrato e do pH, no rendimento do pigmento comparando farelo de milho e amido solúvel como substratos, empregando planejamento fatorial completo 2<sup>2</sup>. Os resultados obtidos indicaram maior crescimento bacteriano e produção de prodigiosina nos ensaios do planejamento com farelo de milho, contudo, o maior rendimento de prodigiosina ocorreu no ponto central (1% de substrato e pH 7,5). O diagrama de Pareto demonstrou que, ambas as variáveis apresentaram influência significativa na produção de prodigiosina, evidenciando eficiência na conversão do substrato alternativo. O bioprocesso de produção de prodigiosina e o tingimento como corante natural em fibras de algodão e sintéticas, assim como sua propriedade antimicrobiana, fazem parte do registro no INPI de Registro de propriedade intelectual.

**Palavras-chave:** Pigmento natural. Substrato agroindustrial. Coloração de sabonete. Tingimento de fibras.

## ABSTRACT

Prodigiosin is a red pigment mainly produced by the Gram-negative bacterium *Serratia marcescens*, as an intracellular secondary metabolite with wide activity, which can be used in agriculture, fine chemistry and in the pharmaceutical and textile industry. In this work, *Serratia marcescens* UCP 1549 demonstrated biotechnological potential to produce prodigiosin by converting the renewable substrate corn bran (1%), as the only carbon source and salt solution [ $\text{KH}_2\text{PO}_4$ ,  $\text{K}_2\text{HPO}_4$ ,  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  and  $\text{SO}_4(\text{NH}_4)_2$ ], after 72 h of incubation at 31°C and orbital shaking at 100 rpm. After this period, it was observed a biomass production of 7.24 g/L and red pigment of 1.68 g/L, identified as prodigiosin, through absorbance at 535 nm,  $R_f$  of 0.9 in thin layer chromatography (TLC) and functional groups obtained by Fourier Transform Infrared Spectroscopy (FTIR). Prodigiosin showed color stability under different NaCl concentrations and pH values (2-6), however, there was a reduction in color at pH 8, 10 and 12, respectively. The application of the pigment in soap coloring was efficient, suggesting its promising potential as a natural dye in the cosmetic industry. From the ecological production of prodigiosin using corn bran, the effect of substrate concentration and pH on pigment yield was investigated by comparing corn bran and soluble starch as substrates, using a full-factorial design  $2^2$ . The results obtained indicated higher bacterial growth and production of prodigiosin in the design assays with corn bran, however, the highest yield of prodigiosin occurred at the central point (1% of substrate and pH 7.5). The Pareto diagram showed that both variables had a significant influence on the production of prodigiosin, showing efficiency in the conversion of the alternative substrate. The bioprocess to produce prodigiosin and the dyeing with natural dye in cotton and synthetic fibers are part of the registration with the INPI of Registration of intellectual property.

**Keywords:** Natural pigment. Agro-industrial substrate. Soap coloring. Fibers dyeing.

# CAPÍTULO I

## 1 INTRODUÇÃO

Os pigmentos estão presentes na humanidade há muito tempo, como um produto que sinaliza ou dar aspectos (visual) a pessoas e objetos, pois são utilizados em diversas áreas e em muitos contextos; sejam elas em produtos têxtil, alimentos, tingimentos de papel, cosméticos, urbanização etc (MUMTAZ et al., 2019). Em geral os pigmentos no mercado global apresentam demandas elevadas, considerando à sua ampla aplicabilidade em diversas indústrias como plásticos, construção, têxteis, tintas e revestimentos. Particularmente, tintas e revestimentos são os maiores consumidores de pigmentos, considerando o uso em acabamentos, propiciando a cor desejada à superfície em que são usados ( PAUL et al., 2020; WANG et al., 2020; METWALLY, 2021).

Por outro lado, os pigmentos também protegem contra condições climáticas extremas e corrosão. Desta forma, a demanda por pigmentos vem sendo acelerada também devido à crescente infraestrutura, urbanização, plásticos e materiais de construção entre outras. O mercado deverá enfrentar uma mudança em direção a produtos ecologicamente naturais, corretos e sustentáveis. Os consumidores estão mudando cada vez mais suas preferências e se tornando mais conscientes ambientalmente, portanto, estão escolhendo tons de cores alternativos e ecologicamente corretos, evitando o impacto ambiental [<https://www.globenewswire.com/en/news-release>].

Assim, particularmente, para pigmentos microbianos ( que também podem ser chamados de biopigmentos) a demanda mundial tem aumentado nos últimos anos devido ao enorme potencial de aplicação em diversos setores industriais, incluindo o têxtil. Além disso, quando comparados com as de origem sintética, estas biomoléculas apresentam propriedades vantajosas, tais como baixa toxicidade, elevada eficiência e biodegradabilidade, que resultam em propriedades atraentes para os consumidores (RAO et al., 2017; RAMESH et al., 2019; PAILLIÉ-JIMÉNEZ et al., 2020; VISHNUPRIYA et al., 2021).

Esses biopigmentos vêm sendo fonte de estudos para pesquisadores, com intuito de encontrar alternativas aos pigmentos sintéticos. Um pigmento com tal potencial é a prodigiosina, pigmento vermelho tipicamente produzido pela bactéria

Silva, L.A.R. Produção ecológica de prodigiosina por *Serratia marcescens* UCP 1549...

Gram-negativa *Serratia marcescens*, que possui fórmula molecular de  $C_{20}H_{25}N_{3}O$  e peso molecular de 323.44 Da, com três anéis, formando um esqueleto pirrolil pirrometano com um grupo metoxi no carbono 4, e absorvância máxima a 535 nm (ARAÚJO et al., 2010; FARAAG et al., 2017; YIP et al., 2019; LAPENDA et al., 2020).

A prodigiosina, sendo um metabólito secundário, vêm sendo extensivamente estudada devido às suas propriedades biológicas: antimicrobiana, antimalárica, antiviral, imunossupressora e citotóxica, dentre outras, que fazem dele um dos mais poderosos candidatos para uso promissor na indústria farmacêutica (YIP et al., 2019; LAPENDA et al., 2020; SURYAWANSHI et al., 2020; BERNING et al., 2021). Além disso, vários estudos têm demonstrado o potencial de aplicação da prodigiosina como corante natural de tecidos, papel, velas, e inclusive, como tinta biodegradável (VENIL et al., 2013; 2017; REN et al., 2017; 2021).

Contudo, apesar do elevado potencial biotecnológico do pigmento prodigiosina, a produção em larga escala é ainda limitada, devido ao elevado custo de produção, principalmente, devido aos substratos convencionais que apresentam elevado valor. Neste contexto, os substratos agroindustriais são alternativas biotecnológicas eficientes, dirigidas para a minimizar os custos de produção, além de garantir a sustentabilidade e produtividade do bioprocessamento (ARAÚJO et al., 2010; ARULDASS et al., 2014; MATHLOM et al., 2018; NGUYEN et al., 2021).

Outros aspectos biotecnológicos importantes na produção de prodigiosina por *S. marcescens* estão relacionados às condições de regulação metabólica, principalmente, através da indução dos fatores químicos e físicos, como temperatura e pH (ARULDAS et al., 2014; YIP et al., 2019). E ainda, os efeitos da temperatura e pH podem aumentar significativamente o rendimento do pigmento, possibilitando a redução do custo geral do bioprocessamento (METWALLY et al., 2017; SREEDHARAN et al., 2020).

Neste sentido, os estudos realizados com *S. marcescens* UCP 1549, isolada da região do semiárido (PE, Brasil), vêm possibilitar a ampliação das investigações previamente realizadas por Araújo et al., (2010); Lins et al., (2014); Montero-Rodriguez et al., (2016, 2018); dos Santos et al. (2021), visando o aumento do potencial biotecnológico na conversão de um novo substrato alternativo, além do uso de fatores físico-químicos na perspectiva de maximizar a produção de prodigiosina e aplicabilidade como corante natural.

## **2 OBJETIVOS**

### **2.1 Objetivo Geral**

Investigar o crescimento e produção de prodigiosina por *Serratia marcescens* UCP 1549 em meio alternativo e avaliar o seu potencial na atividade

Silva, L.A.R. Produção ecológica de prodigiosina por *Serratia marcescens* UCP 1549...

antimicrobiana, na coloração de sabonete e no tingimento de tecidos (algodão e sintéticos).

## 2.2 Objetivos Específicos

- Avaliar o potencial de *S. marcescens* UCP 1549 na conversão de meio alternativo contendo farelo de milho como única fonte nutricional para produção de prodigiosina;
- Investigar a influência da concentração de substrato e pH no processo de produção de prodigiosina, assim como avaliar o perfil de crescimento;
- Extrair, quantificar e caracterizar o pigmento produzido;
- Investigar a estabilidade da cor da prodigiosina;
- Avaliar a atividade antimicrobiana da prodigiosina;
- Avaliar o potencial de aplicação da prodigiosina como corante de sabonete e no tingimento de tecidos.

.

## 3 REVISÃO DA LITERATURA

### 3.1 *Serratia marcescens*: características gerais

*Serratia marcescens* é uma bactéria Gram-negativa pertencente à família Enterobacteriaceae, anaeróbia facultativa, em forma de bastonete e caracterizada pela habilidade em produzir um pigmento vermelho denominado prodigiosina (ARAÚJO et al., 2010; CANTALICE et al., 2014; RODRÍGUEZ, 2017) (Figura 1).

Figura 1 - *Serratia marcescens* UCP 1549 crescida no meio Luria Bertani sólido, mostrando a produção de prodigiosina após 24 horas de incubação a 28 °C.



**Fonte:** Autoria própria (2021)

A partir do século XXI, grande interesse ter sido despertado sobre *S. marcescens* considerada como patógeno oportunista, responsável por infecções hospitalares (SOTO-CERRATO et al., 2007; BAKKIYARAJ et al., 2012; IGUCHI et al., 2014). Contudo, entres os diferentes biótipos de *S. marcescens*, somente os não cromogênicos tem sido descrito como uma ameaça real no ambiente hospitalar (CARBONELL et al., 2000; ELKENAWY et al., 2017). As espécies cromogênicas normalmente são isoladas de diferentes ambientes, como água, solo, plantas ou insetos (DEORUKHKAR et al., 2007; KALIVODA et al., 2010; FUKUSHIMA & CAMPOS-TAKAKI, 2010; ARAÚJO, 2010; YIP et al., 2019).

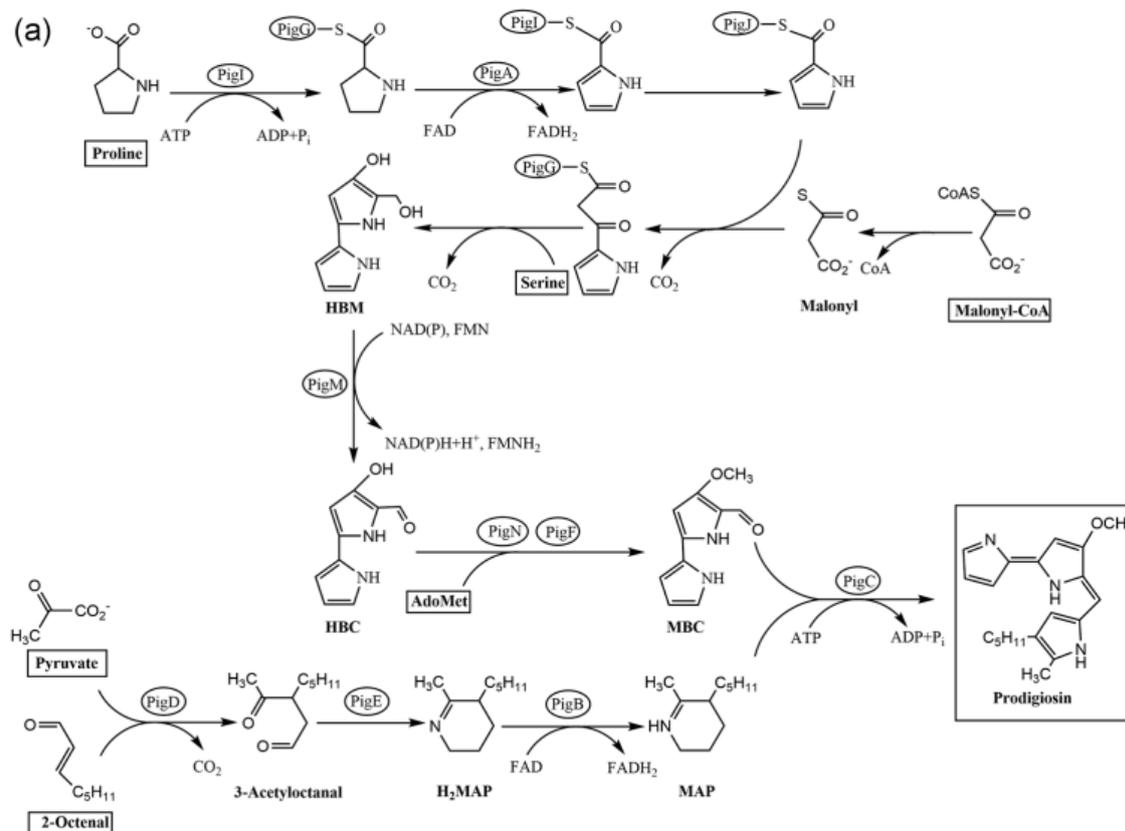
Além da prodigiosina, a bactéria também é produtora de serrawettina, um biossurfactante que lhe confere a propriedade de aderência no processo de colonização de superfícies (MONTANER et al., 2000; PEREZ-THOMAS et al., 2003; MATSUYAMA et al., 2011), além de enzimas como proteases, quitinases, lipases e L-asparaginase (HAMRE et al., 2015; THAKUR et al., 2016; SANAWER et al., 2017).

### 3.2. Via da síntese da prodigiosina

Com o desenvolvimento e novas demandas envolvendo prodigiosina, a necessidade do entendimento da biossíntese do pigmento se torna mais evidente. Assim como pela ampla aplicabilidade desse metabólito, justifica os conjuntos de análises e pesquisas que estão inclusos a detecção de homologia entre enzimas, reprimindo os genes para a detecção de suas funções, tanto quanto os mecanismos e vias reguladoras para sua biossíntese, entre outras (HARRIS et al., 2004; WILLIAMSON, et al., 2005).

Na figura 2 é mostrado dois intermediários chaves que são produzidos por via bifurcada, são: 2-metil-3-n-amilpirrol (MAP) e 4-metoxi-2,2'-bipirrol-5-carbaldeído (MBC). Tanto na *S. marcescens* quanto na *S. coelicolor*, a produção de MBC inicia com a ativação de L-prolina assim como tio éster, onde são transformados no anel pirrol A da prodigiosina.

Figura 2 – Via de biossíntese de prodigiosina por *Serratia marcescens*

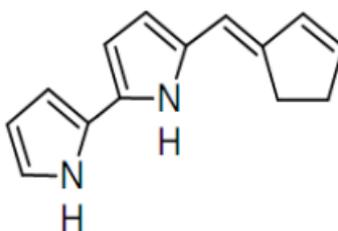


Fonte: HAN et al. (2021)

### 3.2. Família das prodigininas

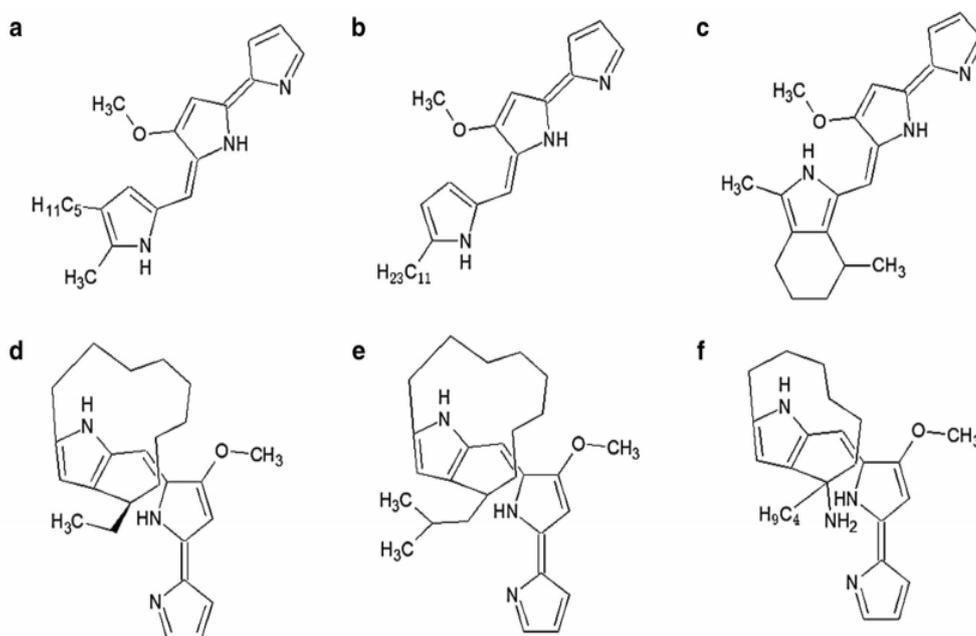
A família das prodigininas engloba um grupo de pigmentos que apresentam em sua estrutura química um esqueleto comum de três pirróis denominado de prodigioseno (Figura 3) (VAN HOUDT et al., 2007; YIP et al., 2021). Dentre elas, a prodigiosina e undecilprodigiosina pertencem a um grupo de tripirroles lineares, enquanto metacicloprodigiosina, prodigiosina R1 e estreptorubina B pertencem ao grupo das prodigininas cíclicas, como se mostra na Figura 4 (DARSHAN et al., 2015). O sistema conjugado com sete ligações duplas é responsável por sua pigmentação vermelho escuro cristais piramidais quadrados com reflexo verde (BENNETT & BENTLEY, 2000; FURSTNER, 2003).

Figura 3 - Estrutura química do prodigioseno.



**Fonte:** Darshan et al. (2015).

Figura 4 - Membros da família das prodigininas: a) prodigiosina, b) undecilprodigiosina, c) cicloprodigiosina, d) metacicloprodigiosina, e) prodigiosina R1, f) estreptorubina B.

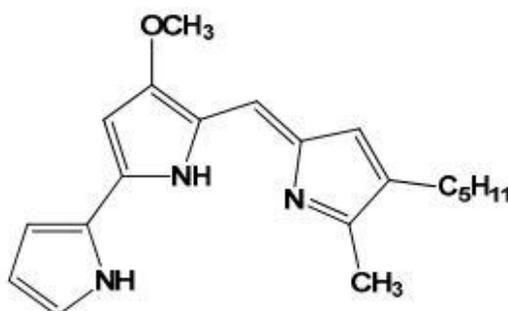


Fonte: Darshan et al. (2015).

### 3.2.1 Prodigiosina

A prodigiosina é definida como alcalóide tripirrol de cadeia linear (pirrol, 3-metoxipirrol, 2-metil-amilpirrol), com peso molecular de 323,44 Dalton e de fórmula estrutural C<sub>20</sub>H<sub>25</sub>N<sub>3</sub>O, de acordo com Chang et al. (2011) e Kalivoda et al. (2010).

Figura 5 - Estrutura química do prodigiosina



Fonte: Wanget al. (2020).

Caracteriza-se ainda por sua solubilidade em benzeno, clorofórmio, éter, acetona e éter de etila, pouco solúvel em álcool e insolúvel em água. Tem uma variabilidade em

Silva, L.A.R. Produção ecológica de prodigiosina por *Serratia marcescens* UCP 1549...

sua coloração referente a mudança de pH, sendo de cor vermelha quando produzido em meio ácido (YIP et al., 2021; RAVINDRAN et al., 2020; NAKASHIMA et al., 2005).

### 3.2.2 Funções biológicas da prodigiosina

Diversas funções ecofisiológicas têm sido sugeridas para a prodigiosina, que justificam sua produção pela *S. marcescens* e outros micro-organismos produtores. Dentre elas, destaca-se seu papel no bloqueio a radiação UV, onde esse tipo de onda eletromagnética afeta diretamente na célula podendo causar mutagênicos, resultando na intervenção do ciclo de vida celular por meio do desencadeamento da mutação. Assim, a prodigiosina mostra-se como um meio de proteção evitando um dano ao DNA (STANKOVIC et al., 2014; SAJJAD, 2018).

Estudos também investigam a da prodigiosina, quando apresenta um sistema pelo qual há uma função de proteção que tenta inibir a radiação ionizante, desequilibrando tanto de forma direta quanto indiretamente às principais células por síntese antioxidante para combater radicais de oxigênio (SAJJAD et al., 2018; SURYAWANSHI et al., 2015; SINGH et al., 2011).

Este pigmento também é indicado no combate a processos inflamatórios causados pela produção exacerbada de espécies reativas de oxigênio que estimula a produção pró-inflamatório de citocina e danifica à proteína celular onde interrompe o revestimento estomacal causando lesões na mucosa gástrica. A prodigiosina exerce um efeito gastroprotetor, diminuindo os mediadores inflamatórios e marcadores apoptóticos (AL-QURAI SHY, 2017; ABDEL FATTAH, 2019). Além de proteção contra outros micro-organismos, sinalização e/ou comunicação, entre outros (GERBER, 1975; HADDIX et al., 2008; SCHLOSS et al., 2010; ZHU et al., 2010; BORIC et al., 2011; STANKOVIC et al., 2012).

Então, nota-se ainda que as células pigmentadas utilizam membranas parcialmente purificadas onde há uma redução do consumo de oxigênio respiratório da célula. Outros relatos in vitro revelam que a prodigiosina atua como um simulador de H<sup>+</sup>/Cl<sup>-</sup>. Pesquisas recentes revelam que a prodigiosina reduz a produção de ATP sob condições de taxa máxima de crescimento, somando às suas funções, o pigmento funciona como um regulador negativo da produção de ATP respiratório, podendo

Silva, L.A.R. Produção ecológica de prodigiosina por *Serratia marcescens* UCP 1549...

envolver a dissipação da força motriz do próton transmembrana (HADDIX, 2018).

### **3.2.3 Fatores que influenciam a produção de prodigiosina**

Existem vários fatores nutricionais e físico-químicos que influenciam a produção de prodigiosina por *S. marcescens*. Os requisitos mínimos que necessita um meio de cultivo para que a bactéria sintetize o pigmento são: sais inorgânicos e glicerol como fonte de carbono, onde a quantidade influencia diretamente na produção, e sais de amônio como fonte de nitrogênio (NAKASHIMA et al., 2005; CHANG et al. 2011; SUMATHI et al., 2014; ARIVIZHICENDHAN, 2017).

A alteração do pH no meio mostra-se com elevada influência na produção de prodigiosina, diminuindo ou aumentando a eficiência da produtividade. A exposição do meio a um baixo pH ocasiona um declínio na síntese do pigmento estando diretamente relacionada ao consumo das fontes de carbono (SOLE, 1997; MONTERO-RODRÍGUEZ, 2018). Por outro lado, a temperatura, agitação, incidência de luz e concentração de oxigênio dissolvido são alguns dos parâmetros físico-químicos que também influenciam na síntese de prodigiosina e que são considerados na otimização do processo de produção (GONDIL et al., 2017).

Alguns reguladores globais, que também influenciam na produção de pigmento vermelho, são vistos como impulsionadores na síntese da prodigiosina, como; regulador global do metabolismo de carbono (*crp*), reguladores globais do metabolismo energético (*fnr*), proteínas nucleoides (*fis*, IHF), regulador de utilização de purinas (*pucR*) são os principais reguladores globais (RAVINDRAN, 2019).

### **3.2.4 Aplicações da prodigiosina**

#### **3.2.4.1 Prodigiosina como fonte de pigmentação**

Atualmente o mercado mundial mostra uma tendencia crescente à utilização de produtos de origem biológico, a fim de substituir os produtos sintéticos que comumente são utilizados, oriundos de fontes não renováveis, como o petróleo (PAUL et al., 2020). Também a toxicidade ambiental é levada em consideração, além da saúde humana tanto na fabricação quanto na utilização dos produtos. Entre os pigmentos biológicos os

Silva, L.A.R. Produção ecológica de prodigiosina por *Serratia marcescens* UCP 1549...

de origem microbiano demonstram um maior rendimento e menor volume de resíduos gerados, em comparação aos pigmentos obtidos de plantas e animais (MOHAMMED, 2020).

Nesse contexto, a prodigiosina é um pigmento bacteriano com um potencial a ser explorado, pois sua cor vermelha pode ser aplicada de diversas áreas industriais, incluindo a têxtil, farmacêutica, cosméticos etc. Estudos mostram a utilização da sua cor e uma boa aplicabilidade em tecidos diversos como: lã, algodão, seda, nylon, poliéster; demonstrando também uma boa estabilidade em diferentes pHs e temperaturas, além de demonstrar propriedades antibacterianas nos tecidos. Uma outra aplicação é em tingimento de velas, onde estudos demonstram uma similitude na coloração dos corantes sintéticos e tingidos com prodigiosina. A cor vermelha da prodigiosina pode ser explorado ainda no setor de cosméticos, onde precisa ser mais investigado (KUMAR et al., 2015; MEHTA et al., 2015; GUPTA et al., 2019; WANG et al., 2020; METWALLY, 2021).

#### **3.2.4.2 Prodigiosina na indústria farmacêutica**

A versatilidade da prodigiosina vem sendo ampliada cada vez mais, mostrando a eficácia em diversas áreas, incluindo na terapêutica aplicada pela indústria farmacêutica. Descoberta esta potencial aplicação da prodigiosina como droga clínica, inúmeros estudos têm sido realizados para criação de novos tratamentos envolvendo o pigmento, como antiproliferativas. Um outro tratamento é envolvendo atividade imunomoduladores da prodigiosina, que demonstra uma capacidade, direta ou indiretamente, de supressão na proliferação em diferentes vias de linfócito T, B e NK, que são células cruciais para defesa do corpo, ou seja, atuando com uma capacidade imunossupressora no organismo (SURYAWANSHI et al., 2014; CHOI et al., 2021).

Também é demonstrado que a prodigiosina tem um efeito anticancerígeno que atua na restauração da via de sinalização em células cancerosas e, conseqüentemente, induz a apoptose das mesmas, interrompendo a cadeia de mutação de células defeituosas. Então pode ser uma alternativa de tratamento para câncer. Assim como, foi demonstrado que a prodigiosina destrói seletivamente células cancerosas, deixando células saudáveis ilesas com uma concentração relativamente baixa (HONG et al. 2014; MUMTAZ, 2019; NGUYEN et al., 2020).

### 3.2.4.3 Prodigiosina como inseticida

A aplicabilidade da prodigiosina em inseticidas tem sido demonstrada pela sua capacidade de diminuição de larvas e insetos, sugerindo sua utilização como alternativa aos inseticidas sintéticos que agredem excessivamente o solo. A concentração e o tempo foram notados como influenciadores na mortalidade dos insetos. Com uma concentração entre 1,5 a 30 g/L de prodigiosina foi suficiente para redução ou até eliminação de larvas e insetos respectivamente podendo levar de 24 a 120 horas. Estudos apontam, também que a prodigiosina tem um inibitório ao agente causador da malária, *Plasmodium falciparum*, tanto *in vitro* quanto *in vivo*, comprovando mais uma vez seu potencial larvicida. Então o pigmento mostrou-se eficaz não apenas na fase pós infecção, mas também eliminando portadores desse parasita (WANG et al., 2012; PATIL et al., 2013; YIP et al., 2019; NGUYEN et al., 2020; HU et al., 2021).

### 3.2.4.4 Prodigiosina contra radiação ultravioleta

Além disso, sua ação protetora dos micro-organismos contra a radiação ultravioleta tem sugerido sua aplicação na área dos cosméticos, como novo aditivo nos protetores solares (SURYAWANSHI et al., 2015; BORIC et al., 2011). Recentemente, vários estudos tem sido realizados, visando à aplicação da prodigiosina como corante natural de tecidos, papel, velas, sabões, etc. (AHMAD et al., 2012; SHAH, 2015; MEHTA, 2015; REN et al. 2017; METWALLY et al., 2021).

### 3.2.4.5 Atividade antimicrobiana

As prodigiosinas possuem efeito antibacteriano não apenas como agentes antibióticos, mas indiretamente, impedindo a formação de biofilme bacteriano, como atividade anti-incrustante contra bactérias marinhas como *Alteromonas sp.*, *Gallionella sp.* e cianobactérias (PRIYA et al., 2013). A atividade antibacteriana do pigmento vermelho é atribuída à sua capacidade de passar através da membrana externa, inibindo assim enzimas, como DNA girase e topoisomerase IV envolvidas no crescimento celular (GONDIL, 2017; BHAGWAT, 2020; SREEDHARAN et al., 2020; YIP et al., 2021).

A prodigiosina apresenta atividade antimicrobiana, com valores de concentração mínima inibitória (CMI) quando comparados com os antibióticos convencionais tetraciclina, cloranfenicol e gentamicina frente a diversas espécies bacterianas como *Staphylococcus aureus* FDA 209P (3,1 µg/ml), *Streptococcus pyogenes* (1,56 µg/ml), *Micrococcus luteus* ATCC 9341 (3,1 µg/ml), *Bacillus subtilis* ATCC 6633 (12,5 µg/ml), *Escherichia coli* K12 (> 100 µg/ml), *Klebsiella pneumoniae* PCI 602 (> 100 µg/ml), *Salmonella typhimurium* IID 971 (25 µg/ml), *Serratia marcescens* IAM 1184 (> 100 µg/ml), *Pseudomonas aeruginosa* PAO 1 (> 100 µg/ml), *Proteus vulgaris* HX 19 (50 µg/ml) (NAKASHIMA et al., 2005). Foram descritas também sensibilidades a prodigiosina observadas pelo teste de difusão de disco em ágar, onde foram observados significativos halos de inibição do crescimento bacteriano para as espécies *Escherichia coli*, *E. aerogenes*, *S. aureus*, *B. subtilis*, *P. aeruginosa*, afirmando assim o seu uso como um potente antibiótico natural (KHANAFARI et al., 2006; ALIHOSSEINI et al., 2008; IBRAHIM et al., 2014; LAPENDA et al., 2015; HERRÁEZ et al., 2019; SORATHIYA, MANISHA, 2019).

### 3.3 Utilização de substratos alternativos para a produção biotecnológica de prodigiosina

Apesar das propriedades apresentadas, a prodigiosina ainda não é amplamente utilizada pelas indústrias, devido ao elevado custo de produção, associado à baixa produtividade e ao uso de substratos onerosos (PANESAR et al., 2015; MONTERO-RODRIGUEZ et al., 2018). Neste sentido, o aproveitamento de substratos alternativos constitui uma estratégia promissora que vem ganhando atenção dos pesquisadores (SHARMA, 2017).

Várias pesquisas visam à produção de pigmentos microbianos a partir de substratos agroindustriais como fonte de carbono e nitrogênio, o que torna o processo mais favorável em termos financeiro e ambiental. Porém, dentre delas, ainda são poucas as que se referem à produção de prodigiosina (PANESAR et al., 2015; HAQUE et al., 2016; LIU et al., 2021) (Tabela 1). Substratos alternativos como açúcar mascavo e sementes de sésamo trituradas têm sido utilizados para produzir prodigiosina por *S. marcescens* através de fermentação submersa, obtendo valores de rendimento do pigmento de 8,0 mg/mL e 16,68 mg/mL, respectivamente (GIRI et al., 2004; ARULDASS et al., 2014). Araújo et al. (2010) informaram a produção de prodigiosina (49,50 mg/mL)

em meio constituído por 6% manipueira, suplementado com 2% manitol. Naik et al. (2012) relataram o uso de diferentes tortas de sementes, resíduos gerados no processo de produção de óleos vegetais, e obtiveram uma produção máxima de prodigiosina (39,80 mg/mL) no meio contendo torta de óleo de amendoim.

Tabela 1. Produção de prodigiosina por *Serratia marcescens* utilizando diferentes substratos alternativos.

Micro-organismo	Substrato alternativo	Condições de produção	Rendimento de prodigiosina (g/L)	Referência
<i>S. marcescens</i>	Caldo de óleo de gergelim	Erlenmeyer 250 ml, 28°C, 180 rpm, 36 h	0,767	GIRI et al. (2004)
<i>S. marcescens</i> UCP 1549	Manipueira complementada com manitol	Erlenmeyer 250 ml, 28°C, 150 rpm, pH 7,0; 48 h	49,5	ARAÚJO et al. (2010)
<i>S. marcescens</i> CF-53	Torta de óleo de amendoim	Erlenmeyer 100 ml, 30°C, 200 rpm, pH 7,0; 48 h	18,2	NAIK et al. (2012)
<i>S. marcescens</i> UTM1	Açúcar mascavo	Biorreator 5 L; 25°C; 200 rpm; pH 7,0; 24 h	8,11	ARULDASS et al. (2014)
<i>S. marcescens</i> MO-1	Peptona de chifre de carneiro	Erlenmeyer 250 ml, 28°C, 200 rpm, pH 7,0; 48 h	0,227	KURBANO GLU et al. (2015)
<i>S. marcescens</i> BS 303 (ATCC 13,880)	Glicerol	Biorreator 1,5 L, 24°C, 400 rpm, 100 h	0,872	CHÁVEZ-CASTILLA et al. (2016)
<i>S. marcescens</i>	Resíduo de cozinha	Erlenmeyer 150 ml, 28°C, 150 rpm, pH 8,0; 36 h	0,890	XIA et al. (2018)
<i>S. marcescens</i> G10	Óleo de gergelim	Erlenmeyer 250 ml, 30°C, 150 rpm, pH 8,0; 48 h	2,87	MATHLOM et al. (2018)
<i>S. marcescens</i> FZSF02	Pó de amendoim	Erlenmeyer 250 ml, 26°C, 180 rpm, 72 h	15,42	LIN et al. (2019)
<i>S. nematodiphilia</i>	Farelo de trigo	Erlenmeyer 250 ml, 25°C, estático, pH 7,0; 96 h	0,0013	MAURYA et al. (2020)
<i>S. marcescens</i> TNU011	Quitina marinha	25°C, pH 6,15, 48 h	4,62	NGUYEN et al. (2020)

<i>S. marcescens</i> TNU01	Canetas de lula em pó	Biorreator 10 L, 25°C, pH 7,0; 12 h	3,45	NGUYEN et al. (2020)
<i>S. marcescens</i> TNU02	Pó de casca de caranguejo	Biorreator 15 L, 27°C, 150 rpm, pH 6,15; 8h	5,1	NGUYEN et al. (2020)
<i>S. marcescens</i> CC17	Processamento de peixes, pó de cabeça de camarão	Biorreator 12 L, 28°C, pH 7,0; 8h	6,310	NGUYEN et al. (2021)
<i>S. marcescens</i> BWL1001	Óleo de soja	Erlenmeyer 250 ml, 28°C, 200 rpm, pH 5,0; 36 h	27,65	LIU et al. (2021)

Fonte: Lucas A.R. Silva

Numerosos estudos revelam que a via biossintética da prodigiosina tem influência significativa de alguns aminoácidos, entre eles a prolina e metionina. Esses aminoácidos atuam como um agente essencial para a produção do pigmento. Então, a seleção de um substrato nutritivo contendo tais aminoácidos pode estimular o processo de produção (DARSHAN, 2015; HAN, 2021).

### 3.4 Mercado mundial de prodigiosina

O mercado mundial de pigmentos microbianos está sendo avaliado em US \$ 32,9 bilhões de dólares em 2020, com um crescimento anual de 5,1% no mercado global de tintas e pigmentos como promissores para novos tipos de produção, pois até 2028 esse mercado deve ser avaliado por US \$ 51,7 bilhões. Indústrias como a de construção civil, plásticos, tintas e revestimentos e têxtil devem impulsionar o crescimento deste mercado (<https://www.grandviewresearch.com/industry-analysis/dyes-and-pigments-market>).

Atualmente, consumidores de diversas partes do mundo passam a ter uma consciência ambiental mais ativa, tendo ciência dos efeitos nocivos de corantes sintéticos, tanto para a saúde, como maior toxicidade e um maiores riscos de alergias, quanto para o meio ambiente. Então, essa consciência maior dos corantes e tintas, tem operado uma pressão nas empresas a obterem alternativas mais sustentáveis, causando um aumento na demanda de pigmentos naturais frente os sintéticos. Portanto diversos pigmentos naturais estão disponíveis no mercado; dentre eles a prodigiosina (padrão químico) arrecada cerca de US \$ 5.000 × 10<sup>5</sup> por kg no mercado (SAINI et al., 2017; CHATRAGADDA et al., 2021). Atualmente 100 µg de prodigiosina na Merck tem o preço aproximado de US

Silva, L.A.R. Produção ecológica de prodigiosina por *Serratia marcescens* UCP 1549...

\$352,24(<https://www.sigmaaldrich.com/BR/pt/product/sigma/p0103> ); e pelas suas propriedades e sua ampla aplicabilidade os avanços científicos e tecnológicos tendem a ser mais frequentes, no sentido de produção, extração e aplicação da prodigiosina.

## REFERÊNCIAS

<https://www.globenewswire.com/en/news-release/2021/03/11/2191078/28124/en/Global-Pigment-Market-Growth-Outlook-to-2025-Rise-of-Urbanization-and-Increased-Infrastructure-Boosting-Demand.html>.  
November, 142021, 00:22h

ABDELFATTAH, M.S.; Elmallah, M.I.; Ebrahim, H.Y. et al. Prodigiosins from a marine sponge-associated actinomycete attenuate HCl/ethanol-induced gastric lesion via antioxidant and anti-inflammatory mechanisms. **PloS one**, v. 14, n. 6, p. 0216737, 2019.

ABRAHAM, J.; Chauhan, R. Profiling of red pigment produced by *Streptomyces* sp. JAR6 and its bioactivity. **3 Biotech**, v. 8, n. 1, p. 22, 2018.

AHMAD, W.A.; Ahmad, W.Y.W.; Zakaria, Z.A. et al. Isolation of pigment producing bacteria and characterization of the extracted pigments. **Springer Briefs in Molecular Science**, p. 25-44, 2012.

AKL, B.A.; Maha M.M.; El-Saadony, M.T. Biosynthesis of silver nanoparticles by *Serratia marcescens* ssp. *sakuensis* and its antibacterial application against some pathogenic bacteria. **Journal of Agricultural Chemistry and Biotechnology**, v. 11, n. 1, p. 1-8, 2020.

AL-QURAI SHY, S.; Othman, M. S.; Dkhil, M. A. et al. Olive (*Olea europaea*) leaf methanolic extract prevents HCl/ethanol-induced gastritis in rats by attenuating inflammation and augmenting antioxidant enzyme activities. **Biomedicine & Pharmacotherapy**, v. 91, p. 338-349, 2017.

ARAUJO, H. W.C.; Fukushima, K.; Takaki, G. M. C. Prodigiosin production by *Serratia marcescens* UCP 1549 using renewable-resources as a low-cost substrate. **Molecules**, v. 15, n. 10, p. 6931-6940, 2010.

ARIVIZHIVENDHAN, K.V.; Mahesh, M.; Boopathy, R. et al. Antioxidant and antimicrobial activity of bioactive prodigiosin produces from *Serratia marcescens* using agricultural waste as a substrate. **Journal of Food Science and Technology**, v. 55, n. 7, p. 2661-2670, 2018.

Silva, L.A.R. Produção ecológica de prodigiosina por *Serratia marcescens* UCP 1549...

ARULDASS, C.A.; Venil, C.K.; Zakaria, Z.A. et al. Brown sugar as a low-cost medium for the production of prodigiosin by locally isolated *Serratia marcescens* UTM1. **International Biodeterioration & Biodegradation**, v. 95, n.1, p. 19-24, 2014.

BAKKIYARAJ, D.; Sivasankar, C.; Pandian, S. K. Inhibition of quorum sensing regulated biofilm formation in *Serratia marcescens* causing nosocomial infections. **Bioorganic & medicinal chemistry letters**, v. 22, n. 9, p. 3089-3094, 2012.

BALASUBRAMANIAM, B.; Alexpandi, R.; Darjily, D.R. Exploration of the optimized parameters for bioactive prodigiosin mass production and its biomedical applications in vitro as well as in silico. **Biocatalysis and Agricultural Biotechnology**, v. 22, p. 101385, 2019.

BERNING, L.; Schlütermann, D.; Friedrich, A. et al. Prodigiosin sensitizes sensitive and resistant urothelial carcinoma cells to cisplatin treatment. **Molecules**, v. 26, n. 5, p.1294, 2021.

BHAGWAT, A.; Padalia, U. Optimization of prodigiosin biosynthesis by *Serratia marcescens* using unconventional bioresources. **Journal of Genetic Engineering and Biotechnology**, v. 18, n.1, p.1-9, 2020.

BRUMANO, L. P.; SOLER, M. F.; DA SILVA, S. S. Recent advances in sustainable production and application of biosurfactants in Brazil and Latin America. **Industrial Biotechnology**, v. 12, n. 1, p. 31-39. 2016.

CHANG, C.C.; Chen, W.C.; Ho, T.F. et al. Development of natural antitumor drugs by microorganisms. **Journal Bioscience Bioeng**, v.111, n.5, p. 501- 511, 2011.

CHÁVEZ-CASTILLA, L.R.; Aguilar, O. An integrated process for the in situ recovery of prodigiosin using micellar ATPS from a culture of *Serratia marcescens*. **Journal of Chemical Technology & Biotechnology**, v. 91, n. 11, p.2896-2903, 2016.

CHATRAGADDA, R.; DUFOSSÉ, L. Ecological and Biotechnological Aspects of Pigmented Microbes: A Way Forward in Development of Food and Pharmaceutical Grade Pigments. **Microorganisms**, v. 9, n. 3, p. 637, 2021.

CHOI, S.Y.; Lim, S.; Yoon, K.H. et al. Biotechnological activities and applications of bacterial pigments violacein and prodigiosin. **Journal of Biological Engineering**, v. 15, n. 1, pp.1-16, 2021.

Silva, L.A.R. Produção ecológica de prodigiosina por *Serratia marcescens* UCP 1549...

CHOKSI, J.; Vora, J.; Shrivastava, N. Bioactive pigments from isolated bacteria and its antibacterial, antioxidant and sun protective application useful for cosmetic products. **Indian Journal of Microbiology**, v. 60, n.1, p.379–382, 2020.

DA SILVA, F.M.; da Costa, P.R.; Ferraz, R.R.N. et al., Tecnologias Assistivas E Suas Aplicações: uma análise a partir de patentes. **Revista de Gestão em Sistemas de Saúde**, v. 7, n. 1, p.1-15, 2018.

DARSHAN, N.; Manonmani, H.K. Prodigiosin and its potential applications. **Journal of Food Science and Technology**, v. 52, n. 9, p 5393–5407, 2015.

DIAS, C.G.; Almeida, R.B.D. Produção científica e produção tecnológica: transformando um trabalho científico em pedidos de patente. **Einstein**, v. 11, p.1-10, 2013.

Doriya, K.; Jose, N.; Gowda, M. et al. Solid-state fermentation vs submerged fermentation for the production of L-asparaginase. **Advances in food and nutrition research**, v. 78, p. 115-135, 2016.

DOS SANTOS, R.A.; Rodríguez, D.M.; da Silva, L.A.R. et al. Enhanced production of prodigiosin by *Serratia marcescens* UCP 1549 using agrosubstrates in solid-state fermentation. **Archives of Microbiology**, pp.1-10, 2021.

ELKENAWY, N.M.; Yassin, A.S.; Elhifnawy, H.N. et al. Optimization of prodigiosin production by *Serratia marcescens* using crude glycerol and enhancing production using gamma radiation. **Biotechnology reports**, v. 14, n.1, p. 47-53, 2017.

FARAAG, A.H.; El-Batal, A.I.; El-Hendawy, H.H. Characterization of prodigiosin produced by *Serratia marcescens* strain isolated from irrigation water in Egypt. **Nature and Science**, v. 15, n. 5, p. 55-68, 2017.

GIRI, A.V.; Anandkumar, N.; Muthukumar, G. et al. A novel medium for the enhanced cell growth and production of prodigiosin from *Serratia marcescens* isolated from soil. **BMC Microbiology**, v. 4, n. 11, p. 11, 2004.

GONDIL, V.S., Asif, M.; Bhalla, T.C. Optimization of physicochemical parameters influencing the production of prodigiosin from *Serratia nematodiphila* RL2 and exploring its antibacterial activity. **3 Biotech**, v. 7, n. 5, p. 1-8, 2017.

Silva, L.A.R. Produção ecológica de prodigiosina por *Serratia marcescens* UCP 1549...

GUPTA, P.L.; Rajput, M.; Oza, T. et al. Eminence of microbial products in cosmetic industry. **Natural products and bioprospecting**, v. 9, n. 4, p.267-278, 2019.

HAGE-HÜLSMANN, J.; Grünberger, A.; Thies, S. et al. Natural biocide cocktails: Combinatorial antibiotic effects of prodigiosin and biosurfactants. *PloS one*, v. 13, n. 7,

HAN, R., Xiang, R., Li, J. et al. High-level production of microbial prodigiosin: A review. **Journal of Basic Microbiology**, v. 61, n. 6, p.506-523, 2021.

HARRIS, A. K., Williamson, N. R., Slater, H. et al. The *Serratia* gene cluster encoding biosynthesis of the red antibiotic, prodigiosin, shows species-and strain-dependent genome context variation. **Microbiology**, v. 150, n. 11, p. 3547-3560, 2004.

HONG, B.; Prabhu, V. V.; Zhang, S. et al., Prodigiosin rescues deficient p53 signaling and antitumor effects via upregulating p73 and disrupting its interaction with mutant p53. **Cancer research**, v. 74, n. 4, p. 1153-1165, 2014.

HU, W.; Zheng, R.; Liao, Y. et al. Evaluating the Biological Potential of Prodigiosin from *Serratia marcescens* KH-001 Against Asian Citrus Psyllid. **Journal of Economic Entomology**, v. 114, n. 3, p.1219-1225, 2021.

KALIVODA, E.J.; Stella, N.A.; Aston, M.A. et al. Cyclic AMP negatively regulates prodigiosin production by *Serratia marcescens*. **Research in Microbiology**, v. 161, n. 2, p. 158-167, 2010.

KAUR, S.; Panesar, P.S. Production of microbial pigments utilizing agro-industrial waste: a review. **Current Opinion in Food Science**, v. 1, n.1, p. 70-76, 2015.

KOUJAH, L.; Suryawanshi, R.K.; Shukla, D. Pathological processes activated by herpes simplex virus-1 (HSV-1) infection in the cornea. **Cellular and Molecular Life Sciences** v. 76, n. 3, p.405-419, 2018.

KUMAR, A.; Vishwakarma, H.S.; Singh, J. et al. Microbial pigments: production and their applications in various industries. **International Journal of Pharmaceutical, Chemical & Biological Sciences**, v. 5, n. 1, 2015.

KURBANOGLU, E.B.; Ozdal, M.; Ozdal, O.G. et al. Enhanced production of prodigiosin by *Serratia marcescens* MO-1 using ram horn peptone. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 46, p.631-637, 2015.

Silva, L.A.R. Produção ecológica de prodigiosina por *Serratia marcescens* UCP 1549...

LAPENDA, J. C. L.; Alves, V. P.; Adam, M. L. et al. Cytotoxic effect of prodigiosin, natural red pigment, isolated from *Serratia marcescens* UFPEDA 398. **Indian journal of microbiology**, v. 60, n. 2, p. 182, 2020.

LAPENDA, J.C.L.L.; Maciel, C.C.S.; Xavier, H.S. et al. Production and toxicological evaluation of prodigiosin from *Serratia marcescens* UCP/WFCC1549 on mannitol solid medium. **International Journal of Applied Research in Natural Products**, v. 7, n. 2, p. 32-38, 2014.

LI, D.; Liu, J., Wang, X., et al. Biological potential and mechanism of prodigiosin from *Serratia marcescens* subsp. lawsoniana in human choriocarcinoma and prostate cancer cell lines. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 19, n. 11, p. 3465, 2018.

LIN, C.; Jia, X.; Fang, Y. et al. Enhanced production of prodigiosin by *Serratia marcescens* FZSF02 in the form of pigment pellets. **Electronic Journal of Biotechnology**, v. 40, p.58-64, 2019.

LIN, P.B.; Shen, J.; Ou, P.Y. et al. Prodigiosin isolated from *Serratia marcescens* in the *Periplaneta americana* gut and its apoptosis-inducing activity in HeLa cells. **Oncology reports**, v. 41, n. 6, p. 3377-3385, 2019.

LIU, W.; Yang, J.; Tian, Y. et al. An in situ extractive fermentation strategy for enhancing prodigiosin production from *Serratia marcescens* BWL1001 and its application to inhibiting the growth of *Microcystis aeruginosa*. **Biochemical Engineering Journal**, v.166, p.107836, 2021.

LIZARDI-JIMÉNEZ, M. A.; HERNÁNDEZ-MARTÍNEZ, R. Solid state fermentation (SSF): diversity of applications to valorize waste and biomass. **3 Biotech**, v. 7, n. 1, p. 44, 2017.

MATHLOM, G. S.; Hayder, N. H.; & Mahmood, M. S. Synergistic effect of biosurfactant and prodigiosin produced by *Serratia marcescens* as antimicrobial agent. **Current Research in Microbiology and Biotechnology**, v. 6, p. 1601-1615, 2018.

MATHLOM, Mathlom, G. S.; Hayder, N. H.; Mahmood, M. S. Synergistic effect of biosurfactant and prodigiosin produced by *Serratia marcescens* as antimicrobial agent. **Current Research in Microbiology and Biotechnology**, v. 6, p. 1601-1615, 2018.

Silva, L.A.R. Produção ecológica de prodigiosina por *Serratia marcescens* UCP 1549...

MAURYA, K. K.; Tripathi, A. D.; Kumar, D. et al. Production, purification and characterization of prodigiosin by *Serratia nematodiphilia* (NCIM 5606) using solid-state fermentation with various substrate. **Annals of Phytomedicine**, v, 9, n. 2, p. 302-306, 2020.

MEENA, K. R.; Shamsheer S. K. Lipopeptides as the antifungal and antibacterial agents: applications in food safety and therapeutics. **BioMed research international** 2015.

MEHTA, M.; Shah, G. Extraction of pigment from *Serratia marcescens* and its application in candle industry. **Advances in Applied Research**, v.7. n.2, p.144-146, 2015.

METWALLY, R. A.; El-Sersy, N. A.; El Sikaily, A. et al. Statistical optimization and characterization of prodigiosin from a marine *Serratia rubidaea* RAM- Alex. **Journal of Pure and Applied Microbiology**, v. 11, n. 3, p. 1259-1266, 2017.

METWALLY, R.A.; El Sikaily, A.; El-Sersy, N.A. et al. Antimicrobial activity of textile fabrics dyed with prodigiosin pigment extracted from marine *Serratia rubidaea*RAM\_Alex bacteria. **The Egyptian Journal of Aquatic Research**, 2021.

MISHRA, S.; Mohanty, P.; Maiti, A. Bacterial mediated bio-decolourization of wastewater containing mixed reactive dyes using jack-fruit seed as co-substrate: Process optimization. **Journal of Cleaner Production**, v. 235, n.1, p. 21-33, 2019.

MITCHELL, D.A.; Krieger, N.; Stuart, D.M. et al. New developments in solid state fermentation. II. Rational approaches to the design, operation and scale-up of bioreactors. **Process Biochem**, v. 35, p. 1211-1225, 2000.

MOHAMMED, S.J.; Luti, K.J.K. A kinetic model for prodigiosin production by *Serratia marcescens* as a bio-colorant in bioreactor. **In AIP Conference Proceedings**, v. 2213, n. 1, p. 020027, 2020.

MONTERO-RODRÍGUEZ, D.; Andrade, R.F.S.; Rubio-Ribeaux, D. et al. Suitability of wheat bran as promising substrate for coproduction of prodigiosin and biosurfactant by *Serratia marcescens* UCP/WFCC 1549. **Exploring microorganisms: recent advances in applied microbiology**, p.149, 2018.

MUMTAZ, R.; Bashir, S.; Numan, M. et al. Pigments from soil bacteria and their therapeutic properties: A mini review. **Current microbiology**, v. 76, n. 6, p. 783-790, 2019.

Silva, L.A.R. Produção ecológica de prodigiosina por *Serratia marcescens* UCP 1549...

NAIK, C.; Srisevita, J. M.; Shushma, K. N. et al. Peanut oil cake: a novel substrate for enhanced cell growth and prodigiosin production from *Serratia marcescens* CF-53. **Journal of Biological Research**, v. 2, n. 6, p. 549-557, 2012.

NGUYEN, V. B., Nguyen, D. N., Nguyen, A. D. et al. Utilization of crab waste for cost-effective bioproduction of prodigiosin. **Marine Drugs**, v. 18, n. 11, p. 523, 2020.

NGUYEN, V. B., Wang, S. L., Nguyen, A. D. et al. Bioproduction of prodigiosin from fishery processing waste shrimp heads and evaluation of its potential bioactivities. **Fishes**, v. 6, n. 3, p. 30, 2021.

NGUYEN, V. B.; Chen, S. P.; Nguyen, T. H. et al. Novel efficient bioprocessing of marine chitins into active anticancer prodigiosin. **Marine drugs**, v. 18, n. 1, p. 15, 2020.

NGUYEN, V. B.; Nguyen, D. N.; Wang, S. L. Microbial reclamation of chitin and protein-containing marine by-products for the production of prodigiosin and the evaluation of its bioactivities. **Polymers**, v. 12, n. 6, p. 1328, 2020.

NGUYEN, V.B.; Wang, S.L.; Nguyen, A.D. et al. Bioproduction of prodigiosin from fishery processing waste shrimp heads and evaluation of its potential bioactivities. **Fishes**, v. 6, n. 3, p.30, 2021.

PAILLIÈ-JIMÉNEZ, M. E.; Stincone, P.; Brandelli, A. Natural pigments of microbial origin. **Frontiers in Sustainable Food Systems**, v. 4, p. 160, 2020.

PANDEY, A.;Soccol, C.R.; Nigam, P. et al. Biotechnological potential of coffee pulp and coffee husk for bioprocesses. **Biochemical Engineering Journal**, v. 6, n. 2, p. 153-162, 2000.

PANDEY, A. Solid-state fermentation. **Biochemical engineering journal**, v. 13, n. 2-3, p. 81-84, 2003.

PANESAR, R.; Kaur, S.; Panesar, P.S. Production of microbial pigments utilizing agro-industrial waste: a review. **Current Opinion in Food Science**, v. 1, p. 70-76, 2015.

PATIL, N. G., Kadam, M. S., Patil, V. R. et al. Insecticidal properties of water diffusible prodigiosin produced by *Serratia nematodiphila* 213C. **Current Trends in Biotechnology and Pharmacy**, v. 7, n. 3, p. 773-781, 2013.

Silva, L.A.R. Produção ecológica de prodigiosina por *Serratia marcescens* UCP 1549...

PAUL, T.; Bandyopadhyay, T.K.; Mondal, A. et al. A comprehensive review on recent trends in production, purification, and applications of prodigiosin. **Biomass Conversion and Biorefinery**, p.1-23, 2020.

PRZYBYŁEK, I.; Tomasz M. Karpiński, Antibacterial properties of propolis. **Molecules**, v. 24, n. 11, p. 2047, 2019.

QADRI, S.H.; Williams, R.P. Incorporation of methionine into prodigiosin. **Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-General Subjects**, v. 230, n. 1, p.181-184, 1971.

QARALLEH, H.; Khleifat, K. M.; Al-Limoun, M. O. et al. Antibacterial and synergistic effect of biosynthesized silver nanoparticles using the fungi *Tritirachiumoryzae* W5H with essential oil of *Centaurea damascena* to enhance conventional antibiotics activity. **Advances in Natural Sciences: Nanoscience and Nanotechnology**, v. 10, n.2 p. 025016, 2019.

RAMESH, C.; Vinithkumar, N. V.; Kirubakaran, R. et al. Multifaceted applications of microbial pigments: current knowledge, challenges and future directions for public health implications. **Microorganisms**, v. 7, n. 7, p. 186, 2019.

RAO, M. P. N.; Xiao, M.; Li, W. J. Fungal and bacterial pigments: secondary metabolites with wide applications. **Frontiers in microbiology**, v. 8, p. 1113, 2017.

RAVINDRAN, A.; Anishetty, S.; Pennathur, G. Molecular dynamics of the membrane interaction and localisation of prodigiosina. **Journal of Molecular Graphics and Modelling**, v. 98, p. 107614, 2020.

RAVINDRAN, R.; Jaiswal, A. K. Exploitation of food industry waste for high-value products. **Trends Biotechnol**, v. 34, n. 1, p. 58-69, 2016.

REN, Y.; Fu, R.; Fang, K. et al. Clean dyeing of acrylic fabric by sustainable red bacterial pigment based on nano-suspension system. **Journal of Cleaner Production**, v. 281, p.125295, 2021.

REN, Y.; Gong, J.; Fu, R. et al. Dyeing and antibacterial properties of cotton dyed with prodigiosinsnanomicelles produced by microbial fermentation. **Dyes and Pigments**, v. 138, n.1, p. 147-153, 2017.

Silva, L.A.R. Produção ecológica de prodigiosina por *Serratia marcescens* UCP 1549...

REPETTO, G. Aciclovir: nuevo antiviral. **ARS MEDICA Revista de Ciencias Médicas** v. 44, n. 1, p. 27-31, 2019.

SAINI, R.; Kumar; K.; Young-Soo. Progress in microbial carotenoids production. **Indian Journal of Microbiology**, v. 57, n. 1, p. 129-130, 2017.

SAJJAD, W., Ahmad, S., Aziz, I. et al. Antiproliferative, antioxidant and binding mechanism analysis of prodigiosin from newly isolated radio-resistant *Streptomyces* sp. strain WMA-LM31. **Molecular biology reports**, v.45, n.6, p.1787-1798, 2018.

SANAWAR, R., Dan, V. M. Anti câncer agents from microbes. In *Bioresources and Bioprocess in Biotechnology*. **Springer**, v. 2, p. 171-184, 2017.

SEHRAWAT, R., Panesar, P.S., Panesar, R. et al. Biopigment produced by *Monascus purpureus* MTCC 369 in submerged and solid state fermentation: a comparative study. **Pigment & Resin Technology**, 2017.

SHARMA, M.; Kumar Bajaj, B. Optimization of bioprocess variables for production of a thermostable and wide range pH stable *carboxymethyl cellulase* from *Bacillus subtilis* MS 54 under solid state fermentation. **Progresso Ambiental e Energia Sustentável**, v. 36, n. 4, p. 1123-1130, 2017.

Singhania, R.R., Sukumaran, R.K., Patel, A.K. et al. Advancement and comparative profiles in the production technologies using solid-state and submerged fermentation for microbial cellulases. **Enzyme and Microbial Technology**, v. 46, n. 7, p. 541-549, 2010.

SILVA, F. A. D. M.; Nunes, G. M.; Zanon, J. A., et al. Resíduo agroindustrial e lodo de esgoto como substrato para a produção de mudas de *Eucalyptus urograndis*. **Ciência Florestal**, v. 28, p. 827-835, 2018.

SILVER, L. L. Challenges of Antibacterial Discovery. **Clinical Microbiology Reviews**, V. 24, N. 1, P. 71–109, 2011.

SINGH, O. V.; Gabani, P. Extremophiles: radiation resistance microbial reserves and therapeutic implications. **Journal of applied microbiology**, v.110, n.4, p.851-861, 2011.

SOCCOL, C. R.; da Costa, E. S. F.; Letti, L. A. J. et al. Recent developments and innovations in solid state fermentation. **Biotechnology Research and Innovation**, v. 1, n. 1, p. 52-71, 2017.

Silva, L.A.R. Produção ecológica de prodigiosina por *Serratia marcescens* UCP 1549...

SOLE, M.; Francia, A.; Rius, N. et al. The role of pH in the 'glucose effect' on prodigiosin production by non-proliferating cells of *Serratia marcescens*. **Letters in applied microbiology**, v. 25, n. 2, p. 81-84, 1997.

SREEDHARAN, E. H.; Harilal, C. C.; Pradeep, S. Selvanesan. Response surface optimization of prodigiosin production by phthalate degrading *Achromobacter denitrificans* SP1 and exploring its antibacterial activity. **Preparative biochemistry & biotechnology**, v. 50, n. 6, p. 564-571, 2020.

SUMATHI, C.; Mohana, P. D.; Swarnalatha, S. et al. Production of Prodigiosin Using Tannery Fleshing and Evaluating Its Pharmacological Effects. **The Scientific World Journal**, v. 2014, n. 7 p. 8, 2014.

SURESH, S.; R. Ilakiya, G.; Kalaiyan, S. et al. Green synthesis of copper oxide nanostructures using *Cynodondactylon* and *Cyperus rotundus* grass extracts for antibacterial applications. **Ceramics International**, v. 46, n. 8, p. 12525-12537, 2020.

SURYAWANSHI, R. K.; Koujah, L.; Patil, C. D. et al. Bacterial pigment prodigiosin demonstrates a unique antiherpesvirus activity that is mediated through inhibition of prosurvival signal transducers. **Journal of virology**, v. 94, n. 13, p. e00251-20, 2020.

SURYAWANSHI, R.K.; Patil, C.D.; Borase, H.P. et al. Towards an understanding of bacterial metabolites prodigiosin and violacein and their potential for use in commercial sunscreens. **International Journal of Cosmetic Science**, v. 37, n. 1, p. 98-107, 2015.

THOMAS, L.; Larroche, C.; Pandey, A. Current developments in solid-state fermentation. **Biochemical Engineering Journal**, v. 81, p. 146-161, 2013.

VARJANI, S. J.; UPASANI, V. N. A new look on factors affecting microbial degradation of petroleum hydrocarbon pollutants. **International Biodeterioration & Biodegradation**, v. 120, n.1, p. 71-83, 2017.

VENIL, C. K., Wahidin, M. A. B., Aruldass, C. A. et al. Production of bacterial pigments in low-cost medium and formulation of biodegradable ink. **Indian Journal of Experimental Biology**, v. 55, n. 7. P. 441-447, 2017.

VENIL, C. K.; Yusof, N. Z. B.; Ahmad, W. A. Solid state fermentation utilizing agro-industrial waste for microbial pigment production. In **Sustainable Agriculture towards Food Security**, p. 375-381, 2017.

Silva, L.A.R. Produção ecológica de prodigiosina por *Serratia marcescens* UCP 1549...

VENIL, C.K.; Zakaria, Z.A.; Ahmad, W.A. Bacterial pigments and their applications. **Process Biochemistry**, v. 48, n. 7, p.1065-1079, 2013.

VISHNUPRIYA S.; Bhavaniramy S.; Baskaran D. et al. Microbial Pigments and Their Application. In: Vaishnav A., Choudhary D.K. (eds) Microbial Polymers. **Springer**, p. 193-214, 2021.

WANG, S. L.; Nguyen, V. B.; Doan, C. T. et al. Production and potential applications of bioconversion of chitin and protein-containing fishery byproducts into prodigiosin: A Review. **Molecules**, v. 25, n. 12, p.2744, 2020.

WANG, S. L.; Wang, C. Y.; Yen, Y. H. et al. Enhanced production of insecticidal prodigiosin from *Serratia marcescens* TKU011 in media containing squid pen. **Process Biochemistry**, v. 47, n.11, p. 1684-1690, 2012.

WANG, Y.J.; Wang, W.; You, Z.Y. et al. Observation of synergistic antibacterial properties of prodigiosin from *Serratia marcescens* jx-1 with metal ions in clinical isolates of *Staphylococcus aureus*. **Preparative Biochemistry & Biotechnology**, p.1-7, 2021.

WILLIAMSON, N. R., Simonsen, H. T., Ahmed, R. A. et al. Biosynthesis of the red antibiotic, prodigiosin, in *Serratia*: identification of a novel 2-methyl-3-n-amylopyrrole (MAP) assembly pathway, definition of the terminal condensing enzyme, and implications for undecylprodigiosin biosynthesis in *Streptomyces*. **Molecular microbiology**, v. 56, n. 4, p. 971-989, 2005.

XIA, A.; Jacob, A.; Tabassum, et.al. Production of hydrogen, ethanol and volatile fatty acids through co-fermentation of macro-and micro-algae. **Bioresource Technology**, v. 205, n.1, p. 118-125, 2016.

XIA, S.; Veony, E.; Yang, Q. Kitchen waste as a novel available substrate for prodigiosin production by *Serratia marcescens*. In **IOP Conference Series: Earth and Environmental Science**, v. 171, n. 1, p. 012037, 2018.

YIP, C. H.; Yarkoni, O.; Ajioka, J. et al. Recent advancements in high-level synthesis of the promising clinical drug, prodigiosin. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 103, n. 4, p. 1667-1680, 2019.

Silva, L.A.R. Produção ecológica de prodigiosina por *Serratia marcescens* UCP 1549...

YIP, C.H.; Mahalingam, S.; Wan, K.L. et al. Prodigiosin inhibits bacterial growth and virulence factors as a potential physiological response to interspecies competition. **PLOS ONE**, v.16, n. 6, p.e0253445 , 2021.

ZHOU, W.; Zeng, C.; Liu, R. et al. Antiviral activity and specific modes of action of bacterial prodigiosin against *Bombyx mori* nucleopolyhedrovirus in vitro. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 100, n. 9, p. 3979-3988, 2016.

## CAPÍTULO II

**Artigo submetido à revista International Journal of Microbiology (Qualis A3)**

## International Journal of Microbiology

### Produção econômica de prodigiosina estável por *Serratia marcescens* UCP 1549 e aplicação na coloração de sabonete

Lucas A. R. da Silva,<sup>1,2</sup> Renata A. dos Santos,<sup>1,2</sup> Rafael S. Mendonça,<sup>1,2</sup> Antônio V. Pinho,<sup>2,3</sup> Rosileide F. S. Andrade,<sup>2,4</sup> Dayana Montero-Rodríguez,<sup>2,5</sup> e Galba M. Campos-Takaki<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Programa de Pós-Graduação em Desenvolvimento de Processos Ambientais, Universidade Católica de Pernambuco, Recife 50500-900, Brasil.

<sup>2</sup> Núcleo de Pesquisa e Ciências Ambientais e Biotecnologia (NPCIAMB), Universidade Católica de Pernambuco, Recife 50050-900, Brasil.

<sup>3</sup> Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química Universidade Católica de Pernambuco, Recife 50500-900, Brasil.

<sup>4</sup> Centro de Ciências Biológicas e Saúde, Universidade Católica de Pernambuco, Recife 50500-900, Brasil.

<sup>5</sup> Programa Nacional de Pós-Doutorado (PNPD-CAPES), Programa de Pós-Graduação em Desenvolvimento de Processos Ambientais, Universidade Católica de Pernambuco, Recife 50500-900, Brasil.

A correspondência deve ser dirigida a Galba M. Campos-Takaki;

[galba\\_takaki@yahoo.com.br](mailto:galba_takaki@yahoo.com.br)

### Resumo

A prodigiosina é um pigmento microbiano vermelho, produzido principalmente pela bactéria *Serratia marcescens*, considerado um promissor composto antimicrobiano, imunossupressor e antiproliferativo. Contudo, sua comercialização industrial ainda é limitada devido ao alto custo de produção, causado principalmente pelo uso de substratos caros. Assim, este trabalho teve como objetivo a produção sustentável de prodigiosina por *S. marcescens* UCP 1549, utilizando farelo de milho como substrato alternativo e de baixo custo, e sua aplicação na coloração de sabonete. De acordo com os resultados, ocorreu crescimento bacteriano e produção de pigmento vermelho, atingindo 7,24 g/L de biomassa e 1,68 g/L de rendimento de pigmento, respectivamente. O resultado positivo no teste presuntivo indicou o pigmento vermelho como prodigiosina, o que foi confirmado por espectrofotometria UV-Visível (pico de absorbância máxima em 535 nm), TLC ( $R_f$  0,9) e os grupos funcionais identificados por espectroscopia FTIR. A prodigiosina apresentou estabilidade na cor em diferentes valores de pH e concentração de NaCl. A aplicação do pigmento na coloração do sabonete foi eficiente, sugerindo seu potencial promissor como corante natural na indústria cosmética. Os resultados mostraram o potencial biotecnológico de *S. marcescens* UCP 1549 na biotransformação do farelo de milho em prodigiosina, permitindo um bioprocessamento industrial mais econômico e competitivo.

## Introdução

A demanda mundial por pigmentos microbianos tem aumentado nos últimos anos devido a sua melhor biodegradabilidade e compatibilidade com o meio ambiente, além de menor toxicidade e reação alérgica, quando comparados aos de origem sintética [1, 2]. Portanto, sua produção biotecnológica tem crescido exponencialmente, visando o enorme potencial de aplicação em diversas áreas, como a indústria alimentícia, farmacêutica, cosmética e têxtil [3].

Nesse contexto, a prodigiosina é um pigmento vermelho natural, que pode ser produzido por diversas espécies bacterianas, destacando-se a *Serratia marcescens* como o principal micro-organismo produtor. É um metabólito secundário com estrutura tripirrol e fórmula química  $C_{20}H_{25}N_{30}$ , que exibe um amplo espectro de propriedades biológicas [4, 5]. A prodigiosina é bem conhecida como um agente terapêutico promissor devido às suas atividades antimicrobiana, antimalárica, imunossupressora e antitumoral [6, 7]. A propriedade antioxidante desse pigmento também foi demonstrada, bem como sua aplicação como componente bioativo em formulações de filtros solares [8, 9]. Além disso, a prodigiosina tem sido aplicada como corante natural de materiais têxteis, papel, velas e também, como tinta biodegradável [10, 11].

Apesar de suas aplicações promissoras, a produção em larga escala da prodigiosina permanece limitada devido ao alto custo de produção, causado principalmente pelo uso de substratos convencionais caros. Assim, várias pesquisas têm sido direcionadas para a obtenção de prodigiosina utilizando subprodutos e resíduos industriais, como fontes alternativas de carbono e nitrogênio, sendo uma estratégia promissora e de baixo custo [8, 12, 13].

Particularmente no Brasil, *S. marcescens* UCP 1549 isolado da região semiárida do estado de Pernambuco tem apresentado excelente potencial para produção de prodigiosina, conforme demonstrado na literatura [4, 14, 15]. Contudo, a busca por novos substratos se justifica, a fim de aumentar a produtividade e reduzir custos. Nesse contexto, o presente trabalho teve como objetivo a produção econômica de prodigiosina por *S. marcescens* UCP 1549 utilizando farelo de milho como único substrato. Além disso, sua aplicação como corante de sabonete foi abordada, uma vez que tem sido pouco estudada [10, 16].

## Materiais e Métodos

### *Micro-organismo e preparação de inóculo*

A bactéria *S. marcescens* UCP 1549, isolada de solo semiárido e identificada por Araújo et al. [17], gentilmente cedido pela Coleção de Culturas da UCP - Universidade Católica de Pernambuco (Recife-PE, Brasil), cadastrada na Federação Mundial de Coleções de Cultura (WFCC). Esta cepa foi mantida em meio Luria Bertani (LB) sólido (triptona 10 g/L, extrato de levedura 5 g/L, NaCl 10 g/L e ágar 15 g/L) a 5 ° C. A cultura armazenada de *S. marcescens* foi transferida primeiro para o meio LB sólido e incubada por 18 ha 28°C. Em seguida, uma colônia foi transferida para 50 ml de caldo LB e incubada por 18 ha 28°C e 150 rpm em agitador orbital. Uma vez que a densidade óptica em 600 nm atingiu 0,8-1,0, correspondendo a  $10^8$  UFC/ml, esta cultura foi usada como inóculo [15].

### *Substrato agroindustrial*

Neste estudo, o farelo de milho foi utilizado como substrato de baixo custo, previamente obtido em um mercado local na cidade de Recife (Pernambuco, Brasil). Foi tamisado em peneiras série Tyler - malha 16 e 32 - para obtenção de um pó fino e homogêneo, a fim de facilitar a dissolução no meio de cultura.

### *Produção de prodigiosina*

A fermentação foi realizada em frascos Erlenmeyer de 250 ml contendo 100 ml de solução salina ( $\text{KH}_2\text{PO}_4$  3 g/L,  $\text{K}_2\text{HPO}_4$  7 g/L,  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  0.2 g/L,  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  1 g/L) e farelo de milho 1%, com pH ajustado a 7. Os frascos foram esterilizados em autoclave a  $121^\circ\text{C}$  por 15 min, inoculados com 5% do pré-inóculo de *S. marcescens* cultivado em meio LB e incubados a  $31^\circ\text{C}$  e 100 rpm em um agitador orbital por 72h.

### *Determinação da produção de biomassa*

Após 72 h de cultivo, a fermentação foi centrifugada a 10.000 g por 15 min. O sobrenadante foi descartado e as células peletizadas foram lavadas duas vezes com água destilada por centrifugação a 10.000 g por 20 min. Em seguida, a biomassa foi congelada, liofilizada e quantificada como g/L.

### *Extração e quantificação de pigmento vermelho*

O pigmento vermelho produzido foi extraído da biomassa utilizando o sistema solvente clorofórmio: metanol, nas proporções 2:1, 1:1 e 1:2 (v/v), evaporado e quantificado por gravimetria [4, 15].

### *Purificação e identificação de pigmento vermelho*

A identificação preliminar do pigmento vermelho bruto foi realizada após sua solubilização em etanol 95%. A solução colorida foi dividida em duas porções: uma porção foi acidificada com uma gota de HCl concentrado e a outra foi alcalinizada com uma gota de solução concentrada de NaOH [18]. A cor vermelha ou rosa em condição ácida e a cor amarela ou marrom em condição alcalina confirmaram um teste presuntivo positivo para prodigiosina [19, 20].

Em seguida, o pigmento vermelho foi dissolvido em 3 ml de metanol e submetido à purificação por cromatografia de exclusão em coluna (coluna 22 x 1 cm) preenchida com Sephadex LH-20 ativado a  $800^\circ\text{C}$  por 1 h, como um absorvente. A eluição foi realizada pelo sistema solvente clorofórmio: metanol (1: 1, v/v) e posteriormente modificado para clorofórmio: metanol: acetona (4: 2: 3, v/v), visando a remoção máxima de impurezas [14]. A fração vermelha foi coletada e analisada por espectrofotometria UV-Vis, e a faixa de absorbância na faixa de 400-700 nm foi determinada. A produção de prodigiosina foi confirmada pela presença de um pico de absorbância máxima em 535 nm [4].

Além disso, a fração vermelha foi submetida a cromatografia em camada delgada (CCD), utilizando placas de alumínio revestidas com sílica gel, que após aplicação da amostra foi

Silva, L.A.R. Produção ecológica de prodigiosina por *Serratia marcescens* UCP 1549...

colocada em uma cuba de vidro contendo o sistema solvente clorofórmio: metanol: (9:1, v/v) [4, 21]. O fator de retenção ( $R_f$ ) foi calculado de acordo com a fórmula  $R_f$ : distância percorrida pelo composto/distância percorrida pela frente do solvente e, em seguida, foi comparado com a prodigiosina  $R_f$  padrão referida na literatura [14].

O pigmento vermelho purificado foi submetido à análise espectroscópica de infravermelho com transformada de Fourier (FT-IR) no equipamento Shimadzu, IR-TRACER 100, usando um acessório de reflexão total atenuada (ATR) consistindo de um cristal misto "diamante/ZnSe". Os picos obtidos foram comparados com a literatura para confirmação da presença de prodigiosina.

#### *Estabilidade da cor do pigmento*

A estabilidade da cor da prodigiosina produzida por *S. marcescens* foi investigada seguindo a metodologia proposta por Perumal et al. [22] e Velmurugan et al. [23], com modificações. Resumidamente, tubos de ensaio de vidro contendo 10 ml da prodigiosina purificada foram ajustados a pH 2, 4, 6, 8, 10, 12 e 14, homogeneizado por 10 min e a absorbância foi medida usando um espectrofotômetro UV-visível. Outro conjunto de tubos contendo 10 ml do extrato etanólico foi acrescentado com solução salina (NaCl) 0,1, 0,2, 0,5, 1 e 5% (v/v) e mantidos em repouso por 1 h para determinação da absorbância. A estabilidade relativa (% E) da cor foi calculada de acordo com a Equação 1.

$$\%E = (A_1 \times 100) / A_0 \quad (1)$$

onde  $A_0$  é a absorbância do pigmento antes do tratamento e  $A_1$  é a absorbância após o tratamento. A absorbância do pigmento foi medida por espectrofotometria a 535 nm.

#### *Aplicação de prodigiosina na coloração de sabonete*

O potencial de aplicação na coloração de sabonete do pigmento produzido por *S. marcescens* foi investigado. Para isso, 40 g de sabonete branco foram fracionados e derretidos em fogo baixo com 50 mL de água destilada em um recipiente. Quando totalmente derretido, 0,3 g do pigmento diluído em água foi adicionado por 3 min. Em seguida, a mistura foi colocada em um molde e deixada resfriar até a temperatura ambiente até solidificar [24]. O teste foi feito em triplicata.

## **Resultados e discussão**

#### *Produção de biomassa e pigmento*

Vários meios sintéticos têm sido amplamente utilizados para o crescimento de microorganismos produtores de prodigiosina [7, 25]. Porém, o alto custo dos substratos convencionais justifica a necessidade da formulação de um meio de produção de baixo custo que permita o crescimento bacteriano e a biossíntese desse pigmento útil. Nesse sentido, substratos de baixo custo como açúcar mascavo, manipueira e peptona de chifre de carneiro têm sido usados anteriormente [4, 26, 27].

Neste estudo, o uso do farelo de milho atingiu um rendimento de biomassa de 7,24 g/L, superior ao obtido pela mesma cepa em meio contendo milhocina (3,47 g/L) e manipueira (3,65 g/l) [4]. Além disso, o rendimento de pigmento foi de 1,68 g/L, resultado semelhante ou superior aos previamente obtidos por outras cepas de *S. marcescens* em diferentes meios de base agroindustrial (Tabela 1).

Tabela 1: Comparação da produção de prodigiosina de *S. marcescens* UCP 1549 deste estudo e estudos anteriores utilizando substratos agroindustriais.

Cepa	Substratos agroindustriais	Rendimento de prodigiosina [g/L]	Referência
<i>Serratia marcescens</i> UTM1	Açúcar mascavo	0,237	Aruldass et al. [26]
<i>S. marcescens</i> MO-1	Peptona de chifre de carneiro	0,278	Kurbanoglu et al. [27]
<i>S. marcescens</i>	Óleo de gergelim	0,767	Giri et al. [28]
	Semente de coco	1,940	
<i>S. marcescens</i> TKU011	Óleo de coco	1,420	Wang et al. [29]
	Amendoim ralado	1,168	
<i>S. marcescens</i>	Pó de caneta de lula	0,978	Xia et al. [30]
<i>S. marcescens</i> UCP 1549	Resíduo de cozinha	0,870	
	Farelo de milho	1,680	Presentetrahaho

#### Identificação do pigmento

O teste presuntivo de prodigiosina foi realizado para o pigmento vermelho produzido por *S. marcescens* UCP 1549 (Figura 1). Uma coloração rosa intensa foi detectada quando o pigmento foi submetido a pH ácido, enquanto uma coloração amarela foi observada em condições alcalinas, indicando um resultado positivo para a produção de prodigiosina [19, 20, 31, 32].

Além disso, a análise espectrofotométrica mostrou o pico de absorvância máxima em 535 nm (Figura 2), enquanto a TLC revelou um  $R_f = 0,9$ , correspondente à prodigiosina [4, 33, 34]. As principais bandas de absorção identificadas no espectro de FTIR (Figura S1) do pigmento vermelho estão resumidas na Tabela 2 e estão de acordo com os picos de prodigiosina relatados em estudos anteriores [35-40].

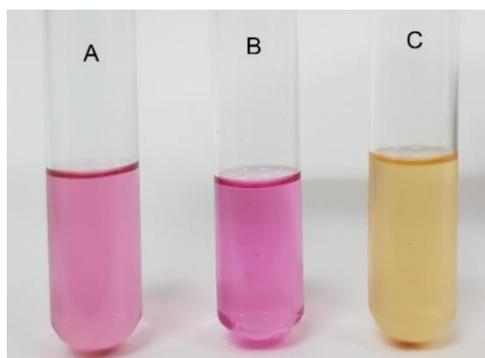


Figura 1: Teste presuntivo para prodigiosina do pigmento vermelho produzido por *S. marcescens* UCP 1549: Extrato etanólico do pigmento sem alteração (controle) (A), em condições ácidas (B) e alcalinas (C).

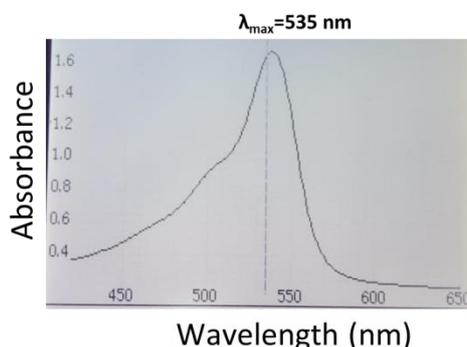


Figura 2: Espectro de absorção do pigmento vermelho produzido por *S. marcescens* UCP 1549.

Tabela 2: Comparação de bandas de absorção de FTIR de pigmento vermelho produzido por *S. marcescens* UCP 1549 com grupos funcionais de prodigiosina de estudos anteriores

Bandas de absorção identificadas no espectro FTIR[cm <sup>-1</sup> ]	Grupos funcionais	Atribuição aos grupos funcionais presentes na estrutura da prodigiosina	Referências
3282.845	N-H stretch	aminaheterocíclicas	Khanamand Chandra [35], Hernández-Velasco et al. [36]
2922.156	C-H stretch	metileno	Manas et al. [37]
2852.719	C-H stretch	metileno	Manas et al. [37], Sumathi et al. [38]
1652.995	C=C stretch	amina alifática	Hernández-Velasco et al. [36], Sumathi et al. [38]
1541.124	C=C stretch	estrutura do anel do pirrol	Ahmad et al. [39]
1456.256	C-H bend	grupos metila	Hernández-Velasco et al. [36], Zhao et al. [40]
1024.201	C-N bend	aminas	Zhao et al. [40]

### *Estabilidade relativa da cor da prodigiosina*

O potencial de aplicação de pigmentos naturais em vários campos industriais depende da estabilidade da cor frente a variáveis ou condições extremas. Nesse sentido, a prodigiosina produzida por *S. marcescens* UCP 1549 foi submetida a diversos tratamentos físico-químicos e os resultados são apresentados na Figura 3.

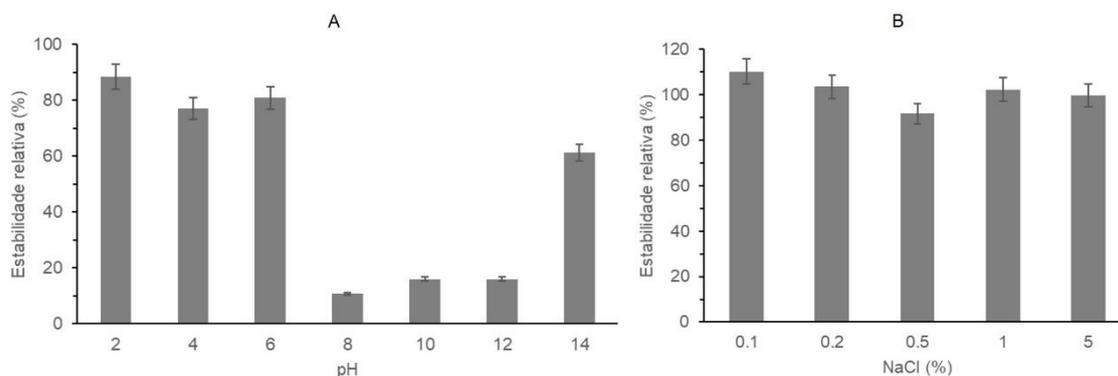


Figura 3: Estabilidade da cor da prodigiosina produzida por *Serratia marcescens* UCP 1549 em diferentes valores de pH e salinidade.

De todas as concentrações testadas, a prodigiosina apresentou excelente estabilidade da cor quando submetida a diferentes valores de salinidade (Figura 3B). Porém, no caso do pH, apresentou menor estabilidade em condições alcalinas (pH 8-12), onde houve mudança de cor de rosa para amarelo e, conseqüentemente, diminuição da absorbância em 535 nm (Figura 3A). Esses resultados corroboraram os obtidos anteriormente no teste presuntivo, onde em pH básico também houve mudança de cor do extrato etanólico do pigmento vermelho (Figura 1), confirmando a presença de prodigiosina. Yuan et al. [41] obtiveram resultados semelhantes ao verificar a estabilidade da prodigiosina produzida por *Pseudomonas sp.* após pH 2 e 5, enquanto o pigmento apresentou instabilidade em condições alcalinas.

A estabilidade de pigmentos de origem natural, como a prodigiosina produzida por *S. marcescens* UCP 1549, confirma seu potencial de aplicação como alternativa aos corantes sintéticos, em diversos processos industriais, onde geralmente são submetidos a condições adversas, como salinidade e pH ácido.

### *Aplicação de prodigiosina na coloração de sabonete*

É crescente o interesse pelo uso de corantes naturais em diversas áreas industriais devido à proibição do uso de alguns corantes sintéticos com comprovada carcinogenicidade do precursor ou produto, bem como do efeito tóxico de seus resíduos industriais nos ecossistemas. A menor toxicidade e reações alérgicas dos pigmentos naturais os tornam mais compatíveis com o uso humano, devido à redução da exposição a produtos químicos nocivos [1, 2].

Neste estudo, a prodigiosina produzida por *S. marcescens* UCP 1549 em meio de baixo custo contendo farelo de milho foi aplicada na coloração de sabonete, conforme Figura 4. A eficácia da coloração demonstra o potencial de aplicação deste pigmento como

corante natural na indústria cosmética. Anteriormente, Rodríguez [42] demonstrou a eficácia da prodigiosina produzida por esta cepa, no tingimento têxtil e na coloração de velas.



Figura 4: Aplicação da prodigiosina produzida por *Serratia marcescens* UCP 1549 na coloração sabonete.

## **Conclusão**

*Serratia marcescens* UCP 1549 demonstrou sua capacidade de usar farelo de milho como única fonte de carbono para a produção econômica de prodigiosina. O pigmento demonstrou estabilidade em diferentes valores de pH e concentrações de NaCl, bem como eficácia na coloração do sabonete, confirmando seu potencial de aplicação na indústria cosmética.

## **Disponibilidade de dados**

Os dados usados para apoiar as conclusões deste estudo estão incluídos no artigo.

## **Conflitos de interesse**

Os autores declaram não haver conflito de interesses quanto à publicação deste artigo.

## **Declaração de Financiamento**

Esta pesquisa foi financiada pela Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), CNPq (Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico) [processo no. 314422/2018-8] e FACEPE (Fundação de Amparo à Ciência e Tecnologia de Pernambuco) [processo no. APQ- 0291-2.12/15].

## **Agradecimentos**

Os autores agradecem ao NPCIAMB (Núcleo de Pesquisas em Ciências Ambientais e Biotecnologia) da Universidade Católica de Pernambuco pela utilização dos materiais e laboratórios para os experimentos. Agradecem também ao LABMAQ (Laboratório Multiusuário de Análises Químicas) do Departamento de Química da Universidade Federal Rural de Pernambuco, pela análise FTIR.

## Material Suplementar

Figura S1. Espectro infravermelho do pigmento vermelho produzido por *Serratia marcescens* UCP 1549 em meio contendo farelo de milho.

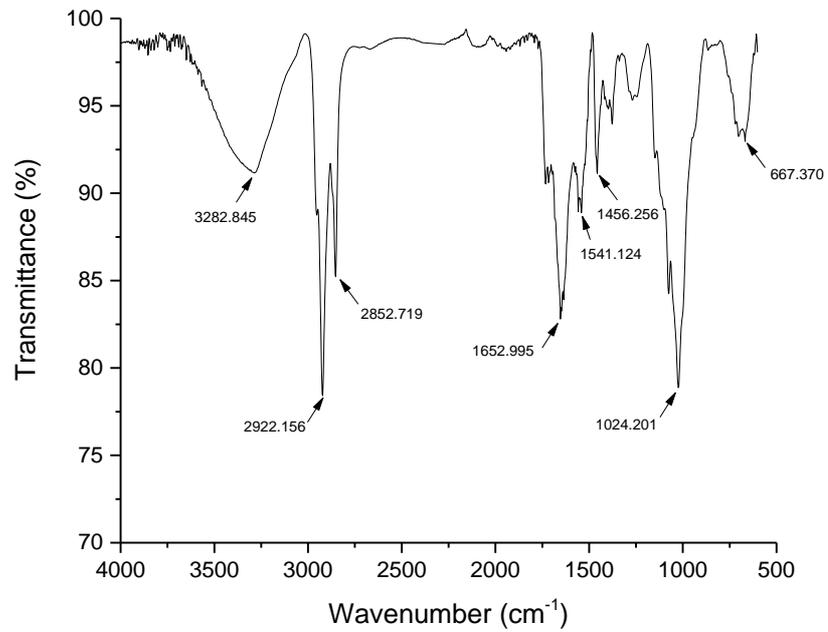
## Referências

- [1] C.K. Venil, L. Dufossé and D.P. Renuka, “Bacterial pigments: sustainable compounds with market potential for pharma and food industry,” *Frontiers in Sustainable Food Systems*, vol. 4, no. 100, 2020.
- [2] A. Nawaz, R. Chaudhary, A. Shah et al., “An overview on industrial and medical applications of bio-pigments synthesized by marine bacteria.” *Microorganisms*, vol. 9, no. 11, 2021.
- [3] S. Sánchez-Muñoz, G. Mariano-Silva, M.O. Leite et al., “Production of fungal and bacterial pigments and their applications.” *In Biotechnological production of bioactive compounds*, pp. 327-361, 2020.
- [4] H.W.C. Araújo, K. Fukushima and G.M. Campos-Takaki, “Prodigiosin production by *Serratia marcescens* UCP 1549 using renewable resources as a low-cost substrate.” *Molecules*, vol. 15, pp. 6931–6940, 2010.
- [5] W. Liu, J. Yang, Y. Tian et al., “An in situ extractive fermentation strategy for enhancing prodigiosin production from *Serratia marcescens* BWL1001 and its application to inhibiting the growth of *Microcystis aeruginosa*.” *Biochem. Eng. J.*, vol. 166, pp. 107836, 2021.
- [6] J.C. Lapenda, P.A. Silva, M.C. Vicalvi et al., “Antimicrobial activity of prodigiosin isolated from *Serratia marcescens* UCPEDA 398.” *World J. Microbiol. Biotechnol.* vol. 31, pp. 399-406, 2015.
- [7] C.H. Yip, O. Yarkoni, J. Ajioka et al., “Recent advancements in high-level synthesis of the promising clinical drug, prodigiosin.” *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, vol. 103, pp. 1667-1680, 2019.
- [8] K.V. Arivizhivendhan, M. Mahesh, R. Boopathy et al., “Antioxidant and antimicrobial activity of bioactive prodigiosin produced from *Serratia marcescens* using agricultural waste as a substrate.” *Food Sci. Technol.*, vol. 55, pp. 2661-2670, 2018.
- [9] R.K. Suryawanshi, C.D. Patil, H.P. Borase et al., “Towards an understanding of bacterial metabolites prodigiosin and violacein and their potential for use in commercial sunscreens.” *Int. J. Cosmet. Sci.*, vol. 37, pp. 98-107, 2015.
- [10] C.K. Venil, Z.A. Zakaria and W.A. Ahmad, “Bacterial pigments and their applications.” *Proc Biochem*, vol. 48, no. 7, pp. 1065-1079, 2013.
- [11] Y. Ren, R. Fu, K. Fang et al., “Clean dyeing of acrylic fabric by sustainable red bacterial pigment based on nano-suspension system. J.” *Clean. Prod.*, vol. 281, pp. 125295, 2021.
- [12] N.M. Elkenawy, A.S. Yassin, H.N. Elhifnawy et al., “Optimization of prodigiosin production by *Serratia marcescens* using crude glycerol and enhancing production using gamma radiation.” *Biotechnol Rep.*, vol. 14, pp. 47-53, 2017.
- [13] V.B. Nguyen, D.N. Nguyen, A.D. Nguyen et al., “Utilization of crab waste for cost-effective bioproduction of prodigiosin.” *Mar. Drugs*, vol. 18, pp. 523, 2020.

- [14] J.C.L. Lins, C.C.S. Maciel, H.S. Xavier et al., "Production and toxicological evaluation of prodigiosin from *Serratia marcescens* UCP/WFCC1549 on mannitol solid medium." *Int. J. Appl. Res. Nat. Prod.*, vol. 7, no. 2, pp. 32-38, 2014.
- [15] D. Montero-Rodríguez, R.F.S. Andrade, D. Rubio-Ribeaux et al., Suitability of wheat bran as promising substrate for coproduction of prodigiosin and biosurfactant by *Serratia marcescens* UCP/WFCC 1549, in: Méndez-Vilas, A. (Ed.), *Exploring Microorganisms: Recent Advances in Applied Microbiology*. *Brow-Walker Press.*, pp. 149-153, 2018.
- [16] W.A. Ahmad, W.Y.W. Ahmad, Z.A. Zakaria et al., "Application of Bacterial Pigments as Colorant: The Malaysian Perspective." *Springer-Verlag Berlin Heidelberg*, pp. 57-74, 2012.
- [17] H.W.C. Araújo, R.F. Andrade, D. Montero-Rodríguez et al., "Biochemical identification of molecular newly isolated pigmented bacterium, and improved production of biosurfactant." *Afr. J. Microbiol. Res.* vol. 11, pp. 945-954, 2017.
- [18] N.N. Gerber and M.P. Lechevalier, "Prodiginine (prodigiosin-like) pigments from *Streptomyces* and other aerobic Actinomycetes." *Can. J. Microbiol.* vol. 22, no. 5, pp. 658-667, 1976.
- [19] T. Sathishkumar and H. Aparna, "Anti-fouling activity of prodigiosin, a pigment extracted from *Serratia marcescens*." *Int J Curr Microbiol Appl Sci.* pp. 712-725, 2014.
- [20] M. Mansi and S.H. Gaurav. "Extraction of pigment from *Serratia marcescens* and its application in candle industry." *Adv. Appl. Res.*, vol. 7, pp. 1-4, 2015.
- [21] K.A. Priya, S. Satheesh, B. Ashokkumar et al., "Antifouling activity of prodigiosin from estuarine isolate of *Serratia marcescens* CMST 07." *Microbiological research in agroecosystem management*, pp. 11-21, 2013.
- [22] J. Perumal, T.H. Yoon, H.S. Jang et al., "Adhesion force measurement between the stamp and the resin in ultraviolet nanoimprint lithography-an investigative approach." *Nanotechnology*, vol. 20, no. 5, pp. 055704, 2009.
- [23] P. Velmurugan, H. Hur, V. Balachandar et al., "Monascus pigment production by solid-state fermentation with corn cob substrate." *J. Biosci. Bioeng.*, vol. 112, pp. 590-594, 2011.
- [24] N.R. Meenakshi and A. Chauhan, "Extraction and characterization of biocolors from bacterial isolates of *Pseudomonas* sp. M1 and MS2." *Phytomedicine*, vol. 7, pp. 63-68, 2018.
- [25] A. Bhagwat and U. Padalia, "Optimization of prodigiosin biosynthesis by *Serratia marcescens* using unconventional bioresources." *J Genet Eng Biotechnol*, vol. 18, no. 1, pp. 1-9, 2020.
- [26] C. A. Aruldass, C.K. Venil, Z.A. Zakaria et al., "Brown sugar as a low-cost medium for the production of prodigiosin by locally isolated *Serratia marcescens* UTM1." *Int. Biodeterior. Biodegradation*, vol. 95, pp. 19-24, 2014.
- [27] E, B. Kurbanoglu, M. Ozdal, O.G. Ozdal et al., "Enhanced production of prodigiosin by *Serratia marcescens* MO-1 using ram horn peptone." *Braz. J. Microbiol.*, vol. 46, pp. 631-637, 2015.
- [28] A. V. Giri, N. Anandkumar, G. Muthukumar et al., "A novel medium for the enhanced cell growth and production of prodigiosin from *Serratia marcescens* isolated from soil." *BMC Microbiol.*, vol. 1, no. 11, pp.1-10, 2004.

- [29] S. L. Wang, C.Y. Wang, Y.H. Yen et al., "Enhanced production of insecticidal prodigiosin from *Serratia marcescens* TKU011 in media containing squid pen." *Process. Biochemistry*, vol. 47, pp. 1684-1690, 2012.
- [30] S. Xia, E. Veony and Q. Yang, "Kitchen waste as a novel available substrate for prodigiosin production by *Serratia marcescens*. In IOP Conference Series: Earth and Environmental Science." *I.O.P. Publishing*, vol. 171, pp. 012037, 2018.
- [31] A. H. Faraag, A.I. El-Batal and H.H. El-Hendawy, "Characterization of prodigiosin produced by *Serratia marcescens* strain isolated from irrigation water in Egypt, *Nature and Science*, vol. 15, no. 5, pp. 55-68, 2017.
- [32] R.R. Rakh, S.M. Dalvi, B.B. Musle et al., "Production, Extraction and characterization of red pigment produced by *Serratia rubidaea* JCM 1240T isolated from soil." *Int. J. Curr. Microbiol. App. Sci*, vol. 6, pp. 143-154, 2017.
- [33] V.S. Gondil, M. Asif and T.C. Bhalla, "Optimization of physicochemical parameters influencing the production of prodigiosin from *Serratia nematodiphila* RL2 and exploring its antibacterial activity." *3 Biotech*, vol. 7, pp. 1-8, 2017.
- [34] D.D. Mandal, S. Majumdar, S. Dey et al., "Utilization of low-cost fatty acid sources by bacterial isolate for improved production of valuable prodigiosin". In: Ramkrishna D., Sengupta S., Dey Bandyopadhyay S., Ghosh A. (eds) *Advances in Bioprocess Engineering and Technology. Lecture Notes in Bioengineering. Springer Sci. Rev*, pp. 21-27, 2021.
- [35] B. Khanam and R. Chandra, "Comparative analysis of prodigiosin isolated from endophyte *Serratia marcescens*." *Lett. Appl. Microbiol*, vol. 66, pp. 194-201, 2018.
- [36] P. Hernández-Velasco, I. Morales-Atilano, M. Rodríguez-Delgado et al., "Photoelectric evaluation of dye-sensitized solar cells based on prodigiosin pigment derived from *Serratia marcescens* 11E." *Dyes Pigm*, vol. 177, pp. 108278, 2020.
- [37] N.H.A. Manas, L.Y. Chong, Y.M. Tesfamariam et al., "Effects of oil substrate supplementation on production of prodigiosin by *Serratia nematodiphila* for dye-sensitized solar cell." *J. Biotechnol*, vol. 317, pp. 16-26, 2020.
- [38] C. Sumathi, D. MohanaPriya, S. Swarnalatha et al., "Production of prodigiosin using tannery fleshing and evaluating its pharmacological effects." *Sci. World J.* 2014.
- [39] W.A. Ahmad, W.Y.W. Ahmad, Z.A. Zakaria et al., "Isolation of pigment-producing bacteria and characterization of the extracted pigments". In *Application of Bacterial Pigments as Colorant. Springer*, pp. 25-44, 2012.
- [40] Y. Zhao, Q. Cheng, Z. Shen et al., "Structure of prodigiosin from *Serratia marcescens* NJZT-1 and its cytotoxicity on TSC2-null cells." *Food Sci*, vol. 41, 2020.
- [41] B. Yuan, Q. Du, C. Cai et al., "Study on the extraction and stability of pigments from a marine bacterium *Pseudomonas* sp [J]." *Bull. Mar. Sci*, vol. 6, 2005.
- [42] Rodríguez, D. M. Aproveitamento de substratos agroindustriais na produção de prodigiosina e biossurfactante por *Serratia marcescens* UCP 1549. Doctoral thesis, Universidade Federal de Pernambuco, 2017.



**Material suplementar****Figura S1.** Espectro infravermelho do pigmento vermelho produzido por *Serratia marcescens* UCP 1549 em meio contendo farelo de milho.

# CAPÍTULO III

PATENTE DEPOSITADA: PROCESSO DE TINGIMENTO DE FIBRAS NATURAIS E SINTÉTICAS COM O BIOCORANTE PRODIGIOSINA



19/11/2021 870210106972  
11:52  
  
29409161943026032

## Pedido nacional de Invenção, Modelo de Utilidade, Certificado de Adição de Invenção e entrada na fase nacional do PCT

Número do Processo: BR 10 2021 023262 5

Dados do Depositante (71)

---

Depositante 1 de 1

Nome ou Razão Social: UNIVERSIDADE CATÓLICA DE PERNAMBUCO

Tipo de Pessoa: Pessoa Jurídica

CPF/CNPJ: 10847721000195

Nacionalidade: Brasileira

Qualificação Jurídica: Instituição de Ensino e Pesquisa

Endereço: Rua do Príncipe, 526 - Boa Vista

Cidade: Recife

Estado: PE

CEP: 50050-900

País: Brasil

Telefone: 81 21194088

Fax:

Email: [propesp@unicap.br](mailto:propesp@unicap.br)

## Dados do Pedido

---

Natureza Patente: 10 - Patente de Invenção (PI)

Título da Invenção ou Modelo de PROCESSO DE TINGIMENTO DE FIBRAS NATURAIS E

Utilidade (54): SINTÉTICAS COM O BIOCORANTE PRODIGIOSINA

Resumo: A presente invenção refere-se elevada produção ecológica de prodigiosina, pigmento de cor vermelha obtido a partir da bactéria do gênero *Serratia marcescens* UCP 1549 utilizando como única fonte de carbono e nitrogênio o substrato farelo de milho a 1%, em solução salina e pH 7,5. A prodigiosina foi extraída da biomassa bacteriana utilizando clorofórmio:metanol (1:1v/v) e evaporado até remover todo o solvente. O biocorante natural apresenta atividade antibacteriana (*Staphylococcus aureus* UCP1576, *Pseudomonas aeruginosa* UCP1562, *Escherichia coli* UCP1575, *Klebsiella pneumoniae* UCP1574 e *Bacillus subtilis* UCP1594), bem como, demonstra ser estável em relação a cor frente diferentes temperaturas, principalmente, 1000C. O tingimento foi realizado com uma solução em metanol:água (1:1 v/v) de prodigiosina, empregando como mordente solução de sulfato de alumínio e sulfato de cobre a 1%, na proporção biocorante:mordente de 1:20 (v/v), empregando três tratamentos pré-mordente, pós-mordente e simultâneo, por 30 minutos, à temperatura de 1000 C. Em seguida, as fibras naturais e sintéticas após tingimento foram lavadas com sabão líquido ecológico (de origem vegetal, sem derivado de petróleo). O biocorante natural demonstrou capacidade de tingir tecidos natural (algodão) e sintéticos (poliéster e TNT), produzindo diferentes colorações, com fixações e distribuições adequadas devido aos mordentes empregados, bem como, a facilidade do método para o aumento de escala na aplicação industrial.

Figura a publicar: 3

**Dados do Depositante (72)**

---

Depositante 1 de 3

Nome : LUCAS ALBUQUERQUE ROSENDO DA SILVA

CPF: 09953569479

Nacionalidade: Brasileira

Qualificação Física: Estudante de Pós Graduação Endereço:

Endereço: Rua Eugênio Cunha, 140-apto A- Cajá

Cidade: Vitória de Santo Antão

Estado: PE

CEP: 55610-210

País: Brasil

Telefone: (81) 997 125273

Fax:

Email: [lucas\\_albur\\_rosendo@hotmail.com](mailto:lucas_albur_rosendo@hotmail.com)

Depositante 2 de 3

Nome : DAYANA MONTERO RODRÍGUEZ

CPF: 70477838499

Nacionalidade: Brasileira

Qualificação Física: Pesquisador

Endereço: Rua Almir Azevedo 76 Bloco A Ap 101, Cidade

Universitária

Cidade: Recife

Estado: PE

CEP: 50740-610

País: Brasil

Telefone: (81) 995 012852

Fax:

Email: [dayanamontero87@gmail.com](mailto:dayanamontero87@gmail.com)

Depositante 3 de 3

Nome : GALBA MARIA DE CAMPOS TAKAKI

CPF: 00250155400

Nacionalidade: Brasileira

Qualificação Física: Pesquisador

Endereço: Rua Guerra de Holanda, 161-apto 201- Poço

Cidade: Recife

Estado: PE

CEP: 52061-015

País: Brasil

Telefone: (81) 988 574447

Fax:

Email: [lucas\\_albur\\_rosendo@hotmail.com](mailto:lucas_albur_rosendo@hotmail.com)

#### Documentos anexados

---

Tipo Anexo	Nome
Comprovante de pagamento de GRU 200	Boleto_pagoPATENTE-Prodigiosina.pdf
Reivindicação	1-REINVIDICAÇÕES-Prodigiosina-ok.pdf
Relatório Descritivo	02-RELATÓRIO DESCRITIVO patente - Prodigiosina-ok.pdf
Resumo	03-RESUMO Patente-Prodigiosina-ok.pdf
Desenho	4-DESENHOS-Prodigiosina-ok.pdf

#### Acesso ao Patrimônio Genético

---

- Declaração Negativa de Acesso - Declaro que o objeto do presente pedido de patente de invenção não foi obtido em decorrência de acesso à amostra de componente do Patrimônio Genético Brasileiro, o acesso foi realizado antes de 30 de junho de 2000, ou não se aplica.

#### Declaração de veracidade

---

- Declaro, sob as penas da lei, que todas as informações acima prestadas são completas e verdadeiras.

Silva, L.A.R. Produção ecológica de prodigiosina por *Serratia marcescens* UCP 1549...

18/11/2021 - BANCO DO BRASIL - 15:11:32  
489004890 0001

COMPROVANTE DE PAGAMENTO DE TITULOSCLIENTE:

GALBA MARIA TAKAKI  
AGENCIA: 4890-9 CONTA: 112.846-9  
=====

-----  
BANCO DO BRASIL

00190000090294091619643026032177388370000007000

BENEFICIARIO:  
INSTITUTO N P I - INPINOME

FANTASIA:

INSTITUTO NACIONAL DA PROPRIEDADE ICNPJ:  
42.521.088/0001-37

PAGADOR:  
UNIVERSIDADE CATOLICA DE PERNAMBUCO CNPJ:

10.847.721/0001-95

-----  
NR. DOCUMENTO 111.801  
NOSSO NUMERO 29409161943026032  
CONVENIO 02940916  
DATA DE VENCIMENTO 17/12/2021  
DATA DO PAGAMENTO 18/11/2021  
VALOR DO DOCUMENTO 70,00  
VALOR COBRADO 70,00  
=====

NR.AUTENTICACAO B.5C3.20D.F7F.832.A3F

-----  
Central de Atendimento BB  
4004 0001 Capitais e regioes metropolitanas  
0800 729 0001 Demais localidades.  
Consultas, informacoes e servicos transacionais.

SAC BB  
0800 729 0722  
Informacoes, reclamacoes, cancelamento de  
produtos e servicos.

Ouvidoria  
0800 729 5678

Reclamacoes nao solucionadas nos canais habituais  
agencia, SAC e demais canais de atendimento.

Atendimento a Deficientes Auditivos ou de Fala  
0800 729 0088

Informacoes, reclamacoes, cancelamento de cartao,  
outros produtos e servicos de Ouvidoria.

-----  
Previdencia privada nao e so para aposentadoria,  
mas tambem para outros projetos. Faca uma  
contribuicao extra no app, terminal ou bb.com.br

1 / 1

## REIVINDICAÇÕES

01. Processo de tingimento de fibras naturais e sintéticas com pigmento intracelular prodigiosina, extraído da bactéria *Serratia marcescens* UCP1549 por clorofórmio:metanol (1:1, v/v), evaporação até a secura, **caracterizado por** solubilização do biocorante em água:metanol (1:1, v/v).
02. Processo de acordo com a reivindicação 1:  
**Caracterizado por** tingir fibras naturais (algodão) e sintéticas (poliéster e TNT) com extrato do biocorante em água:metanol (1:1, v/v).
03. Processo de acordo com a reivindicação 1:  
**Caracterizado por** utilizar o extrato do biocorante em água:metanol (1:1, v/v) proveniente do pigmento intracelular prodigiosina da biomassa de *Serratia marcescens* UCP1549.
04. Processo de acordo com a reivindicação 1:  
**Caracterizado por** utilizar soluções mordentes antes, depois e simultâneo com no banho de tingimento.
05. Processo de acordo com a reivindicação 1:  
**Caracterizado por** não utilizar o uso de soluções fixadoras no tingimento.
06. Processo de acordo com a reivindicação 1:  
**Caracterizado por** utilizar Sulfato de Alumínio e Sulfato de Cobre como mordentes.
07. Processo de acordo com a reivindicação 1:  
**Caracterizado por** utilizar lavagem do final do processo com sabão ecológico, menos agressivos ao meio ambiente.
08. Processo de acordo com a reivindicação 1:  
**Caracterizado por** ser um método rápido, eficiente, sustentável e aplicável em escala industrial.

## PROCESSO DE TINGIMENTO DE FIBRAS NATURAIS E SINTÉTICAS COM O BIOCORANTE PRODIGIOSINA

### RELATÓRIO DESCRITIVO

#### Campo da invenção

[01] A presente invenção refere-se a um processo para produzir um corante vermelho natural, prodigiosina, e uma metodologia de tingimento utilizando o pigmento como corante.

[02] O processo de produção ecológica do pigmento natural vermelho prodigiosina, a partir da bactéria *Serratia marcescens* UCP1549, família Enterobacteriaceae, utilizando 1% de farelo de milho, como única fonte de carbono e nitrogênio, em solução salina e pH7,5. O pigmento foi extraído por clorofórmio:metanol 1:1 v/v, evaporado até peso constante e solubilizado em metanol:água destilada 1:1 v/v. O tingimento de fibras naturais e sintéticas foi associado aos tratamentos pré, pós e simultâneo com os mordentes sulfato de alumínio e sulfato de cobre a 1%, mantido à temperatura de 100<sup>0</sup> C, por 30 minutos, seguido de lavagem com sabão líquido ecológico, enxague com água corrente, com finalização em água deionizada e secagem por ventilação.

[03] O aspecto inovador no bioprocesso é o uso de farelo de milho como única fonte de carbono e nitrogênio, em solução salina e pH 7,5 para aumentar a biomassa microbiana o rendimento de pigmento intracelular, prodigiosina. O biocorante foi extraído utilizando clorofórmio:metanol, evaporado e solubilizado em metanol:água 1:1 v/v, com utilização direta no tingimento, sem a necessidade de purificação do biocorante com elevada estabilidade em diferentes temperaturas, podendo ser usado no tratamento pré, pós e simultâneo, com o auxílio de mordentes, além da lavagem com sabão líquido ecológico (livre de derivados de petróleo).

## 2 / 7

**Fundamentos da invenção**

[04] Os pigmentos microbianos são substâncias químicas que conferem cora materiais sobre o qual se fixam e devido a essa propriedade são usados nas indústrias têxteis, de cosméticos, papéis, alimentos, de plásticos, entre outras. E ainda, os pigmentos também protegem os materiais contra condições climáticas extremas e corrosão, além de surgir como uma alternativa para suprir a crescente demanda por pigmentos naturais e ambientalmente corretos.

[05] Na indústria têxtil a água é um dos elementos básicos para o processo de produção industrial em todas as etapas, chegando a consumir 93 trilhões de litros de água, o que significa 4% da captação mundial de água doce anual.

[06] Em grande parte dessa água utilizada parte está relacionada ao processo de tingimento, sendo contaminada por corantes sintéticos e produtos químicos, além de gerar grandes volumes de efluentes contaminados, altamente coloridos e tóxicos, sendo de difícil tratamento.

[07] Diante deste cenário, é de extrema importância a produção de pigmentos naturais, que contribuem para a redução dos danos que começam na matéria-prima escolhida, no sentido de evitar substratos menos agressivos, como uma alternativa de minimizar os impactos ambientais causados pelo processo de tingimento, tornando o setor têxtil mais sustentável e competitivo.

[08] O gênero *Serratia* é um grupo amplo e complexo de bacilos Gram negativo, da família Enterobacteriaceae, sendo a *S. marcescens* descrita como capaz de acumular um pigmento vermelho insolúvel em água, prodigiosina, que devido a este pigmento, as colônias desta cepa apresentam colônias vermelhas [CASULLO DE ARAÚJO, HW, FUKUSHIMA, K. and CAMPOSTAKAKI, GM. 2010. Prodigiosin production by *Serratia marcescens* UCP 1549 using renewable-resources as a low cost substrate. *Molecules*, v.15, n.10, p.6931-6940].

[09] As espécies do gênero *Serratia* são bacilos gram-negativo, anaeróbico

Silva, L.A.R. Produção ecológica de prodigiosina por *Serratia marcescens* UCP 1549...

facultativo, patógeno oportunista, que produzem uma grande quantidade de metabólitos secundários, diversificados em sua estrutura e atividades.

## 3 / 7

biológicas. Várias espécies são relatadas na literatura como produtora de biomoléculas com diversas aplicabilidades [CHENG, J.; ZHENG, L.J.; LIANG, Y.; YAN, R.; XU, X.; LIN, J. (2020). Expression and characterization of achitinase from *Serratia marcescens*. Protein Expression and Purification, v.171, p.105613].

[0010] Dentre os trabalhos mais recentes, quatro descrevem a produção do pigmento natural prodigiosina e aplicações em tingimento [GHOSH, C.; PATEL, S.; NAYAK, S. Antimicrobial And Dyeing Potential Of Prodigiosin Obtained From Multi-Drug Resistant *Serratia Nematodiphila* Exhibiting Low Toxicity. Journal of Advanced Scientific Research, v.12, s.2, p.78-85, 2021]; [VENIL, C.K.; DUFOSSÉ, L.; VELMURUGAN, P.; MALATHI, M. and LAKSHMANAPERUMALSAMY, P. Extraction and Application of Pigment from *Serratia marcescens* SB08, an Insect Enteric Gut Bacterium, for Textile Dyeing. Textiles v.1, n.1, p. 21-36, 2021]; [METWALLY, R.A.; SIKAILY, A.; EL-SERSY, N.; GHOZIAN, H.A.; SABRY, S.A. Antimicrobial activity of textile fabrics dyed with prodigiosin pigment extracted from marine *Serratia rubidaea* RAM\_Alex bacteria. The Egyptian Journal of Aquatic Research, v. 47, n.3, p.301-305, 2021] e [SHETE, P.; SONAWANE, S.; DHUNDHALE, V.; MULCHANDANI, S. Isolation of Prodigiosin Producing Bacteria from Marine Ecosystem and Exploration of its Fabric Dyeing Potential. International Journal of Aquatic Science, ol 12, Issue 02, p. 5010-5020, 2021].

[0011] O pigmento produzido de *Serratia marcescens*, foi extraído da biomassa (pigmento intracelular) com solventes orgânicos como clorofórmio:metanol. A presente invenção utiliza para o tingimento, pigmento intracelular, ou seja, o biocorante, que está impregnado na biomassa da bactéria e não foi liberado no caldo fermentado se tratando portando, de um aproveitamento maior no rendimento desses pigmentos que seriam desprezados como resíduos após a extração junto com a biomassa.

[0012] Os trabalhos anteriores também utilizam solventes orgânicos na extração, que podem causar danos ao meio ambiente se descartados de

## 4 / 7

maneira inadequada, diferentemente da presente invenção que utiliza apenas metanol:água 1:1 v/v, como solvente para a solubilização.

[0013] Os pigmentos obtidos nos trabalhos citados são secos e posteriormente dissolvidos em solventes orgânicos para utilização no banho de tingimento. No presente estudo o biocorante prodigiosina foi testado apenas em tecidos naturais e sintéticos, a partir do extrato metanol:água (1:1 v/v), proveniente da extração da biomassa com clorofórmio:metanol. Em seguida, foram realizados os tratamentos (pré, pós e simultâneo) com os mordentes e banho de tingimento a 100<sup>0</sup> C em fibras naturais (algodão), quanto em fibras sintéticas (Poliéster e TNT).

[0014] A Patente CN102493228B descreve a produção de pigmento bacteriano com aplicabilidade têxtil. O tingimento foi realizado com tecido de lã e corante bacteriano de prodigiosina, compreendendo as etapas de: (1), dissolver a prodigiosina usando acetato de etila ou N, N-dimetilformamida e, em seguida, adicionar a prodigiosina dissolvida em água para fazer a solução de tingimento. No presente estudo foi extraído prodigiosina com clorofórmio-metanol (1:1), seguido de secagem e solubilização em metanol:água, (1:1 v/v) e tratamentos: 1) Pré-mordente, seguido de tingimento; 2) Pós-mordente, tingimento seguido de tratamento com mordente, e 3) Simultâneo, mordente e biocorante prodigiosina ao mesmo tempo. Todos os banhos foram a 100<sup>0</sup>C por 30 minutos. Observou-se estabilidade de cor do biocorante prodigiosina em diferentes temperaturas, principalmente, à 100<sup>0</sup>C, promovendo diferentes tonalidades, com fixação segura, destacando-se o mordente sulfato de alumínio com maior diversidade de cores.

[0015] No presente estudo os tecidos foram submetidos a diversas combinações de mordentes, gerando diferentes tonalidades para cada combinação utilizada, seguido de lavagem com sabão líquido ecológico (não contém derivado de petróleo).

### Breve descrição dos desenhos

[0016] A Figura 1 apresenta o crescimento e demonstra a produção de prodigiosina por *Serratia marcescens* UCP 1549 em meio sólido ágar nutriente **(A)**. Em seguida, a prodigiosina extraída em clorofórmio:metanol (1:1 v/v) **(B)** que, após secura foi solubilizada em metanol:água (1:1 v/v) para ser usada no tingimento.

[0017] A Figura 2 apresenta a estabilidade na cor da prodigiosina frente diferentes temperaturas, e especificamente a 100<sup>0</sup> C, cuja temperatura foi utilizada no processo de tingimento.

[0018] A Figura 3 apresenta os resultados obtidos com diversas combinações de mordentes no tingimento dos tecidos (algodão, poliéster e TNT) com o extrato biocorante em metanol:água (1:1 v/v) de pigmento intracelular da biomassa de *Serratia marcescens*.

### Descrição da invenção

[0019] Na presente invenção, pigmento intracelular de *Serratia marcescens* UCP1549 é extraído da biomassa e aplicados em diferentes combinações no tingimento de diferentes tipos de tecidos, por meio de tratamento físico (temperatura) e químico (uso de mordentes e o próprio biocorante).

[0020] Antes do tingimento com extrato do biocorante em metanol:água (1:1 v/v) *Serratia marcescens* UCP 1549 foi avaliado o seu potencial em atividade antibiótica, demonstrando inibição de micro-organismos Gram positivos e Gram negativos, como: *Staphylococcus aureus* UCP1576, *Pseudomonas aeruginosa* UCP1562, *Escherichia coli* UCP1575, *Klebsiella pneumoniae* UCP1574 e *Bacillus subtilis* UCP1594.

[0021] Para realização do tingimento foram utilizadas amostras de tecidos naturais (algodão) e sintéticos (poliéster e TNT), na proporção de 1g de tecido

Silva, L.A.R. Produção ecológica de prodigiosina por *Serratia marcescens* UCP 1549...

para 20mL de extrato com o biocorante. O extrato foi obtido a partir da extração clorofórmio: metanol (1:1 v/v) da prodigiosina pigmento intracelular da bactéria *Serratia marcescens* UCP 1549.

[0022] Os processos utilizados atenderam a seguinte ordem: 1) Pré- tratamento- cada solução mordente (Suifato de alumínio e Sulfato de cobre a

## 6 / 7

1% em água) sobre a massa dos tecidos, por imersão em banho a 100°C, por 30 minutos, seguido de tingimento com o biocorante; 2) Iniciou com o tingimento com o biocorante prodigiosina, seguido de pós-tratamento com cada mordente, e 3) Tratamento simultâneo com cada mordente adicionado do biocorante prodigiosina, na proporção 1:20 e submetidos ao tingimento por 30min a 100°C. Em seguida, todos os tecidos foram lavados com sabão líquido ecológico (livre de derivado de Petróleo), removido o sabão com água corrente de torneira e seguido de água deionizada.

### Exemplos de concretizações da invenção

#### Exemplo 1

[0023] Tratamento pré-mordente. O tratamento pré-mordente com os tecidos (algodão, poliéster e TNT) com solução de Sulfato de alumínio e Sulfato de cobre a 1%, na proporção de 1% (m/m) sobre a massa do tecido, por imersão durante 30min em água quente (100°C), seguido de lavagem em água corrente por 5min. Em seguida, procedeu-se o tingimento com extrato do biocorante em metanol:água (1:1, v/v), a partir do pigmento intracelular de *Serratia marcescens* UCP1549, na proporção de 5% (m/v) sobre a massa dos tecidos, durante 30min a 100°C, seguido de lavagem com sabão ecológico, enxague em água corrente, finalização por 5 minutos, seguido de água deionizada e secagem por ventilação.

#### Exemplo 2

[0024] Tratamento simultâneo de mordente e extrato do biocorante prodigiosina em água:metanol. Tingimento simultâneo com extrato aquoso:metanol (1:1, v/v) biocorante prodigiosina (pigmento intracelular de *Serratia marcescens* UCP1549), na proporção de 5%(m/v) associado a cada solução mordente Sulfato de alumínio e ou Sulfato de cobre a 1%, na proporção de 1% (m/v), sobre a massa dos tecidos, durante 30min a 100°C, seguido de enxague em

Silva, L.A.R. Produção ecológica de prodigiosina por *Serratia marcescens* UCP 1549...

água corrente por 5 minutos, seguido de lavagem com água deionizada e secagem por ventilação.

Exemplo 3

[0025] Tingimento e pós-tratamento com mordente. Os tecidos (algodão, poliéster e TNT) foram tingidos com extrato biocorante prodigiosina água:metanol (1:1 e v/v), oriundo do pigmento intracelular de *Serratia marcescens* UCP1549, na proporção de 5%(m/v) sobre a massa dos tecidos, durante 30min a 100°C. Em seguida, foi realizada a lavagem em água corrente por 5min. Os tecidos tingidos foram tratados com cada mordente, solução de Sulfato de alumínio e ou Sulfato de cobre a 1%, na proporção de 1% (m/v), durante 30min a 100°C, seguido de lavagem com sabão ecológico, enxague em água corrente por 5 minutos, seguido de água deionizada e secagem por ventilação.

1 / 3

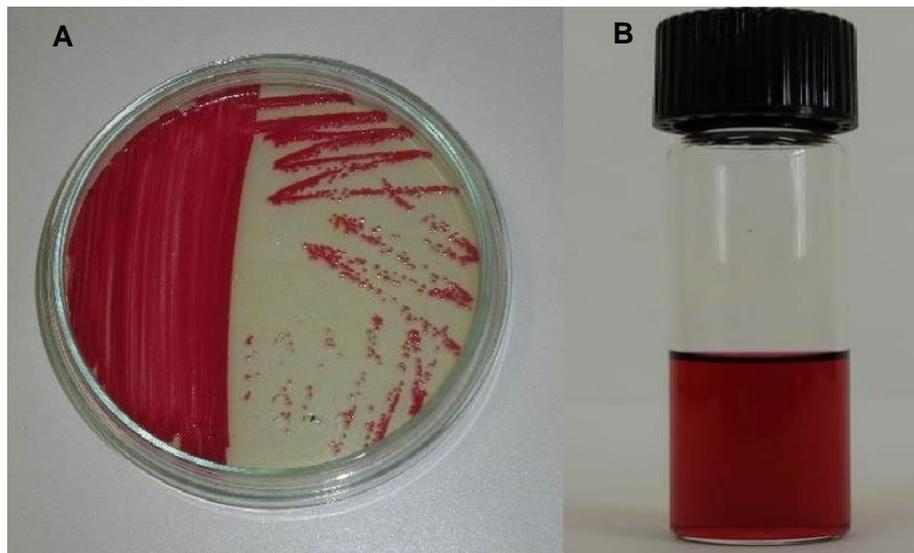
**DESENHOS**

Figura 1

2 / 3

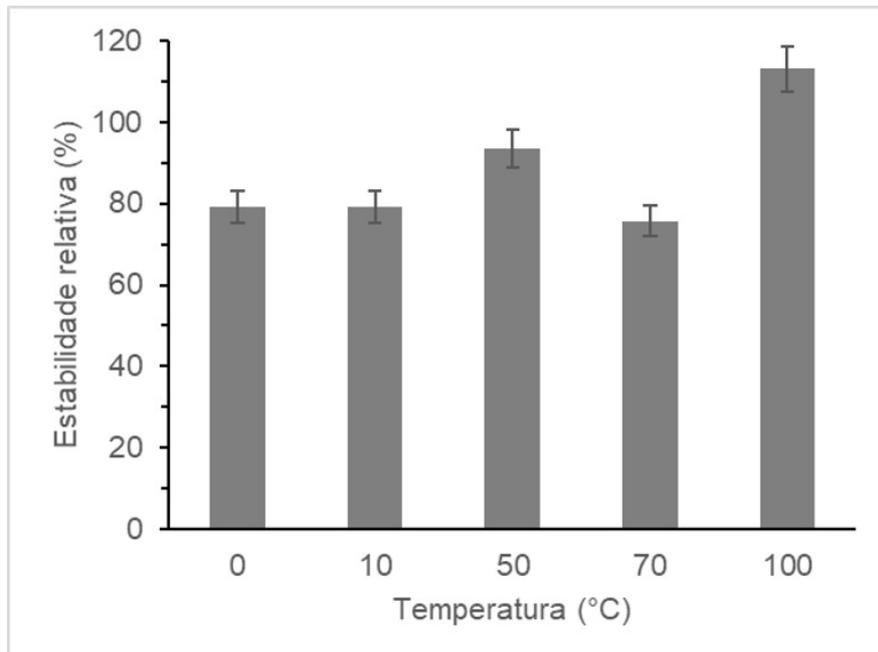


Figura 2

3 / 3

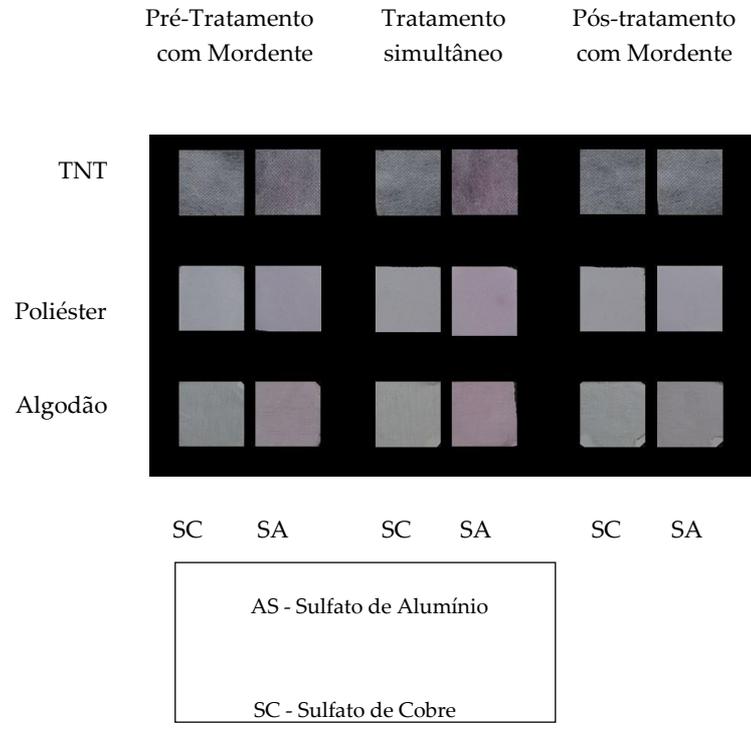


Figura 3

## CONSIDERAÇÕES FINAIS

- *Serratia marcescens* UCP 1549 demonstra habilidade para utilizar farelo de milho como substrato alternativo na produção de prodigiosina por fermentação submersa.
- O pigmento produzido corresponde a biomolécula prodigiosina, identificado por espectrofotometria UV-Vis, CCD e FT-IR.
- A prodigiosina apresenta estabilidade da cor em diferentes valores de pH ácido e alta concentração de NaCl, assim como efetividade na coloração de sabonete, comprovando seu potencial de aplicação na indústria de cosméticos.
- A utilização de farelo de milho, quando comparado com o amido solúvel, apresenta o maior rendimento em prodigiosina, confirmando a sua eficiência no caminho para a biossíntese do pigmento.
- O método de tingimento usando mordentes com ação pré, pós e simultânea sobre as fibras naturais e sintéticas, seguido de tingimento com prodigiosina demonstrou elevado poder tintorial, apresentando-se como alternativa sustentável no tingimento de tecidos, fazendo parte do depósito de Patente no INPI.

## ANEXOS

### ➤ Publicações e participação em eventos científicos no período do Mestrado

#### Artigos completos publicados em periódicos

MENDONÇA, R. S.; SA, A. V. P.; ROSENDO, L. A.; SANTOS, R. A.; MARQUES, N. S. A. A.; ADRIANA, F. S.; RODRÍGUEZ, D. M.; Campos-Takaki, G. M. Produção de biossurfactante e lipídeos por uma nova cepa de *Absidiacylindrospora* UCP 1301 isolada do solo da Caatinga usando subprodutos agroindustriais de baixo custo. Brazilian Journal of Development, v. 7, p. 8300-8313, 2021.

SANTOS, R. A.; MONTERO RODRÍGUEZ, D.; SILVA, L. A. R.; ALMEIDA, S. M.; CAMPOS-TAKAKI, G. M.; LIMA, M. A. B. Enhanced production of prodigiosin by *Serratia marcescens* UCP 1549 using agrosubstrates in solid-state fermentation. Archives of Microbiology, v. 203, p. 1456, 2021.

#### Participação em eventos científicos

RODRÍGUEZ, D. M.; MENDONÇA, R. S.; ADRIANA, F. S.; ANDRADE, R. F. S.; FERREIRA, I. N. S.; SANTOS, R. A.; SILVA, L. A. R.; Campos-Takaki, G. M. Solid-state fermentation for low-cost biosurfactant production by *Mucoralean* fungus. XXV Congresso Latinoamericano de Microbiologia. 2021.

MENDONÇA, R. S.; SILVA, L. A. R.; OLIVEIRA, V. B.; CANDIDO, T. R. S.; SOBRAL, D. M.; ANDRADE, R. F. S.; RODRÍGUEZ, D. M.; CAMPOS-TAKAKI, G. M. Decolorization of Orange II azo-dye by biomass of *Mucor* sp. produced in low-cost medium. XXV Congresso Latinoamericano de Microbiologia. 2021.

MONTERO-RODRÍGUEZ, D.; MENDONÇA, R. S.; SOUZA, A. F.; CÂNDIDO, T. R. S.; FERREIRA, I. N. S.; SILVA, L. A. R.; ANDRADE, R. F. S.; CAMPOS-TAKAKI, G. M. Production of biodispersant by *Rhizopus* sp. using renewable substrates. 31º Congresso Brasileiro de Microbiologia. 2021.

MENDONÇA, R. S.; CÂNDIDO, T. R. S.; SILVA, L. A. R.; ALVES, M. F.; ARAUJO, G. P.; MARQUES, N. S. A. A.; SOUZA, A. F.; MONTERO-RODRÍGUEZ, D.; CAMPOS-TAKAKI, G. M. Biotechnological potential of *Absidiacylindrospora* UCP 1301 for bioemulsifier production using agro-industrial by-products. 31º Congresso Brasileiro de Microbiologia. 2021.