



UNIVERSIDADE
ESTADUAL DE LONDRINA

AILTON PEREIRA

**PRODUÇÃO DE VIOLACEÍNA POR *Janthinobacterium
lividum* E AVALIAÇÃO DA SUA APLICAÇÃO NO
TINGIMENTO TÊXTIL**

Londrina
2022

AILTON PEREIRA

**PRODUÇÃO DE VIOLACEÍNA POR *Janthinobacterium*
lividum E AVALIAÇÃO DA SUA APLICAÇÃO NO
TINGIMENTO TÊXTIL**

Dissertação apresentada ao programa de Pós-graduação em Biotecnologia da Universidade Estadual de Londrina, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Biotecnologia.

Orientadora: Prof^a Dra. Elisete Pains Rodrigues

Coorientadora: Prof^a Dra. Daniele Sartori

Londrina
2022

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor, através do Programa de Geração Automática do Sistema de Bibliotecas da UEL

P436 Pereira, Ailton.
Produção de violaceína por *janthinobacterium lividum* e avaliação da sua aplicação no tingimento têxtil / Ailton Pereira. - Londrina, 2022.
70 f.

Orientador: Elisete Pains Rodrigues.
Coorientador: Daniele Sartori.
Dissertação (Mestrado em Biotecnologia) - Universidade Estadual de Londrina, Centro de Ciências Exatas, Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia, 2022.
Inclui bibliografia.

1. Biopigmento microbiano - Tese. 2. Fonte renovável - Tese. 3. Resíduo agroindustrial - Tese. 4. Violaceína - Tese. I. Pains Rodrigues, Elisete. II. Sartori, Daniele. III. Universidade Estadual de Londrina. Centro de Ciências Exatas. Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia. IV. Título.

CDU 66

AILTON PEREIRA

PRODUÇÃO DE VIOLACEÍNA POR *Janthinobacterium lividum* E AVALIAÇÃO DA SUA APLICAÇÃO NO TINGIMENTO TÊXTIL

Dissertação apresentada ao programa de Pós-graduação em Biotecnologia da Universidade Estadual de Londrina, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Biotecnologia.

BANCA EXAMINADORA

Coorientadora Prof^a. Dra. Daniele Sartori
Universidade Estadual de Londrina – UEL

Prof^a. Dra. Suzana Mali de Oliveira
Universidade Estadual de Londrina – UEL

Prof. Dr. Guilherme Biz
Universidade Estadual de Londrina – UEL

Londrina, 18 de março de 2022.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente a Deus.

A minha mãe, Leoni, por todo amor, preocupação e dedicação dada durante toda minha vida acadêmica. A minha irmã Luciane que sempre me incentivou a buscar o conhecimento e acompanhou toda a minha trajetória durante a pesquisa.

A Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pelo apoio financeiro da bolsa de estudos.

Ao programa de Pós-graduação em Biotecnologia da Universidade Estadual de Londrina, pela oportunidade e por contribuir para minha formação acadêmica.

Aos meus professores, por me apresentarem as disciplinas e me auxiliarem durante o desenvolvimento deste trabalho. Em especial ao Prof. Dr. Guilherme Biz pelo auxílio na definição dos métodos estatísticos, a Prof^a. Dra. Fabiana Guillen M. Gasparin por me apresentar os processos fermentativos, a Prof^a. Dr^a. Maria Inês Rezende que sempre me deu apoio e suporte na resolução de algumas solicitações, a Prof^a. Dr^a. Elisete Pains Rodrigues pela orientação da pesquisa e a Prof^a. Dr^a. Daniele Sartori pelo apoio com os trâmites finais do trabalho.

Aos membros da banca examinadora, Prof^a. Dra. Suzana Mali de Oliveira e Prof. Dr. Guilherme Biz, por aceitarem contribuir com a melhoria deste trabalho e disponibilidade.

Ao meu amigo Antônio Wanderson Teixeira de Oliveira, por ouvir meus desabafos, aconselhar e tornar os momentos difíceis mais leves. Obrigado por sua amizade.

A todos, que direta ou indiretamente, contribuíram para realização deste trabalho.

Muito obrigado!

PEREIRA, Ailton. **Produção de Violaceína por *Janthinobacterium Lividum* e Avaliação da sua Aplicação no Tingimento Têxtil**. 2022. 70 f. Dissertação (Mestrado em Biotecnologia) – Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2022.

RESUMO

Biopigmentos são moléculas produzidas por microrganismos. Dentre os biopigmentos mais importantes destaca-se a violaceína produzida pela bactéria gram-negativa *Janthinobacterium lividum*. Estes chamam a atenção devido a sua não toxicidade, alta biodegradabilidade e excelentes atividades biológicas, podendo ser bons substitutos aos corantes sintéticos de origem química. Ainda que apresentem grande potencial de aplicação, existem poucos processos de produção devido ao alto custo do meio de cultura e desafios encontrados no escalonamento. Deste modo, o presente trabalho teve como objetivo estabelecer parâmetros de fermentação para a produção de violaceína por *J. lividum* e avaliar seu uso no tingimento têxtil do tecido de seda. Nos cultivos realizados com diferentes concentrações, a combinação de componentes que proporcionou a maior produção de violaceína incluiu altos níveis de triptona, L-triptofano, soja, cevada, whey protein e K₂HPO₄ e baixo nível de extrato de levedura. As condições otimizadas de cultivo resultaram na melhoria da produção do biopigmento alcançando uma absorvância de 9,00 em 72 horas de cultivo. Após o processo de liofilização, foi obtido 9,88 g/L de extrato bruto de violaceína representando um aumento de aproximadamente 2,7x em relação ao meio controle Trypticase Glucose Levedura (TGY) referenciado na literatura. Nos estudos sobre a influência dos componentes do meio de cultura, foi identificado que a concentração de cada item, influenciam significativamente na biossíntese do biopigmento. O método de tingimento têxtil com a cultura após o cultivo mostrou o melhor resultado de fixação, pois manteve a coloração original e distribuição igual no tecido sem a presença de manchas em 1 hora de tingimento. Os resultados obtidos indicam que a produção de biopigmentos por cultivo submerso com nutrientes derivados da agroindústria é uma metodologia promissora para viabilizar a produção de violaceína para aplicação no tingimento têxtil.

Palavras-chave: biopigmento microbiano; fonte renovável; resíduo agroindustrial.

PEREIRA, Ailton. **Production of Violacein by Janthinobacterium Lividum and Evaluation of its Application in Textile Dyeing**. 2022. 70 p. Dissertation (Master's Degree in Biotechnology) – Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2022.

ABSTRACT

Biopigments are molecules produced by microorganisms. Among the most important biopigments, violacein produced by the gram-negative bacterium *Janthinobacterium lividum* stands out. These draw attention due to their non-toxicity, high biodegradability and excellent biological activities, and can be good substitutes for synthetic dyes of chemical origin. Although they have great application potential, there are few production processes due to the high cost of the culture medium and challenges encountered in scheduling. Thus, the present work aimed to establish fermentation parameters for the production of violacein by *J. lividum* and to evaluate its use in textile dyeing of silk fabric. In cultures performed with different concentrations, the combination of components that provided the highest production of violacein included high levels of tryptone, L-tryptophan, soy, barley, whey protein and K₂HPO₄ and low levels of yeast extract. The optimized cultivation conditions resulted in improved biopigment production, reaching an absorbance of 9.00 in 72 hours of cultivation. After the lyophilization process, 9.88 g/L of crude violacein extract was obtained, representing an increase of approximately 2.7x in relation to the control medium Trypticase Glucose Yeast (TGY) referenced in the literature. In studies on the influence of the components of the culture medium, it was identified that the concentration of each item significantly influences the biosynthesis of the biopigment. The textile dyeing method with the culture after cultivation showed the best fixation result, as it maintained the original color and equal distribution on the fabric without the presence of stains in 1 hour of dyeing. The results obtained indicate that the production of biopigments by submerged cultivation with nutrients derived from the agroindustry is a promising methodology to enable the production of violacein for application in textile dyeing.

Keywords: microbial biopigment; renewable source; agro-industrial waste.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 – Principais destinos das exportações de produtos têxteis e confeccionados no Brasil (US\$ milhões).....	10
Figura 2 – Gráfico das principais origens das importações de produtos têxteis e confeccionados para o Brasil (US\$ milhões)	11
Figura 3 – Estrutura de produção da cadeia têxtil	13
Figura 4 – Os impactos negativos da indústria têxtil estão aumentando drasticamente até 2050	16
Figura 5 – Fluxograma com o uso de água pelos processos têxteis.....	17
Figura 6 – Gráfico do abastecimento médio de água para diferentes processos têxteis (L kg ⁻¹)	19
Figura 7 – Fluxograma da economia circular	21
Figura 8 – Etapa de tingimento na Indústria Têxtil	22
Figura 9 – Principais estruturas químicas dos corantes	23
Figura 10 – Principais biopigmentos e sua estrutura molecular (continua)	27
Figura 10 – Principais biopigmentos e sua estrutura molecular (conclusão).....	28
Figura 11 – Extrato de violaceína em microtubo	31
Figura 12 – Estrutura molecular da violaceína	31
Figura 13 – <i>J.lividum</i> cultivada em placa de petri com meio TGY por 48h em 25 °C	32
Figura 14 – Via de biossíntese da violaceína em microrganismos.....	34
Figura 15 – Acúmulo de biomassa e produção de violaceína por <i>Janthinobacterium lividum</i> em 72h.....	48
Figura 16 – Métodos de tingimento 1, 2 e 3	51

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Os dez principais exportadores de vestuário e têxteis do mundo em 2018 (US\$ bilhões)	8
Tabela 2 – Análise demonstrativa da produção de violaceína utilizando diferentes componentes como substrato no meio de cultura	38
Tabela 3 – Fatores determinantes para as condições de cultivo (continua).....	40
Tabela 4 – Resultados do experimento de otimização com 15 fatores em 48h..	45
Tabela 5 – Estimativa dos parâmetros do modelo selecionado para a variável resposta para produção de violaceína por <i>J. lividum</i> utilizando os 15 fatores	46
Tabela 6 – 7 fatores escolhidos para o processo de otimização	47
Tabela 7 – Matriz Plackett Burman com as variáveis estudadas e respectivas respostas da produção de violaceína por <i>J. lividum</i>	47
Tabela 8 – Estimativa dos parâmetros do modelo selecionado para a variável resposta para produção de violaceína por <i>J. lividum</i> utilizando os 7 fatores em 72h	49

LISTA DE QUADROS

Quadro 1 – Processos de beneficiamento têxtil	14
Quadro 2 – Principais métodos de tingimento e suas aplicações	24
Quadro 3 – Aplicação de violaceína para uso final biologicamente assistido	36

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	4
2	OBJETIVOS	7
2.1	OBJETIVO GERAL	7
2.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	7
3	REVISÃO DA LITERATURA	8
3.1	A INDÚSTRIA E CADEIA TÊXTIL	8
3.1.1	A Importância Econômica da Indústria Têxtil no Mundo.....	8
3.1.2	A Importância Econômica da Indústria Têxtil e de Confecção Brasileira.....	9
3.1.2.1	A Estrutura Organizacional da Cadeia Têxtil	12
3.2	IMPACTOS AMBIENTAIS DA INDÚSTRIA TÊXTIL	15
3.3	O TINGIMENTO TÊXTIL	22
3.3.1	Pigmentos e Corantes	22
3.3.2	Corantes Sintéticos x Naturais	24
3.3.3	Desenvolvimento de Processos de Produção e Extração de Corantes Naturais.....	25
3.4	BIOPIGMENTOS E SUAS APLICAÇÕES.....	26
3.4.1	Bactérias Produtoras de Biopigmentos	30
3.4.1.1	<i>Janthinobacterium lividum</i> e a produção de violaceína	32
3.4.1.2	Aplicações biotecnológicas da violaceína	35
3.4.2	Processos Fermentativos para a Produção de Biopigmentos	37
4	MATERIAL E MÉTODOS	39
4.1	MATERIAL BIOLÓGICO	39
4.2	ETAPA DE PREPARAÇÃO DO PRÉ-INÓCULO.....	39
4.3	ETAPA DE PREPARAÇÃO DOS RESÍDUOS	39
4.4	ETAPA DE SELEÇÃO DE VARIÁVEIS E OTIMIZAÇÃO DO MEIO DE CULTURA.....	40
4.4.1	Otimização da Produção de Violaceína por <i>Janthinobacterium lividum</i>	41
4.5	PRODUÇÃO DE VIOLACEÍNA POR <i>J. LIVIDUM</i>	42

4.5.1	Etapa de Extração de Violaceína	42
4.5.2	Etapa de Quantificação de Violaceína.....	42
4.5.3	Etapa de Secagem da Violaceína	43
4.6	TINGIMENTO DO TECIDO DE SEDA.....	43
4.6.1	Métodos de Tingimento do Tecido de Seda	43
4.6.2	Fixação do Biopigmento Pós-Tingimento	44
5	RESULTADOS E DISCUSSÃO	45
5.1	SELEÇÃO E OTIMIZAÇÃO DAS VARIÁVEIS DE PRODUÇÃO DE VIOLACEÍNA.....	45
5.2	OBTENÇÃO DO BIOPIGMENTO SECO	49
5.3	TESTES DE TINGIMENTO DO TECIDO DE SEDA.....	50
6	CONCLUSÃO	52
	REFERÊNCIAS	53
	ANEXOS	58
	ANEXO 1 – Esquema com Fotos dos Resultados da Pesquisa	58
	ANEXO 2 – Protocolo de Pedido de Depósito de Patente	59

1 INTRODUÇÃO

A indústria têxtil possui grande importância para o mundo e abrange os contextos sociais, culturais, políticos e econômicos. A última revisão estatística mundial do comércio em 2019, desenvolvida pela Organização Mundial do Comércio (OMC), contabilizou que o valor das exportações mundiais de têxteis e vestuário totalizaram US\$ 315 bilhões e US\$ 505 bilhões em 2018, respectivamente (LU, 2019). A indústria têxtil brasileira tem uma participação histórica e decisiva no processo do desenvolvimento industrial do país (LANGE, 2004). De acordo com os dados da ABIT – Associação Brasileira da Indústria Têxtil e de Confecção (2019), no período de janeiro a setembro de 2018, o saldo de exportações brasileiras de têxteis chegou a US\$ 717 milhões.

Anualmente, bilhões de peças de vestuário são produzidas. As matérias-primas e até mesmo os processos industriais que dão suporte à sua produção, podem causar danos significativos ao meio ambiente. A indústria têxtil é uma das maiores consumidoras de água do mundo, principalmente na etapa de tingimento. Juntamente com a produção de corantes petroquímicos e uma série de produtos químicos tóxicos e altamente poluentes, é extremamente importante buscarmos alternativas sustentáveis para minimizar os impactos que o atual processo de tingimento causa no meio ambiente (KHAN; MALIK, 2013; SIVARAM *et al.*, 2019).

Por meio da Biotecnologia, é possível desenvolver biopigmentos naturais a partir dos microrganismos. Eles são uma opção biodegradável, não apresentam sazonalidade e mostram grande produtividade, além de possuir ativos antimicrobianos. Isso pode ser feito sem agredir o meio ambiente, comprometer a qualidade ou confiar na disponibilidade da cadeia de suprimentos. Utilizando uma abordagem biotecnológica, esse processo eliminaria completamente o uso de químicos tóxicos, algo que também leva a enormes reduções no consumo de água, enquanto atende aos principais padrões da indústria (KASHYAP *et al.*, 2016 apud GURSES, 2019; MENDONÇA, 2011 apud VELOSO, 2012).

A importância dos biopigmentos microbianos foi enfatizada em diferentes aplicações, como cosméticos, alimentos e produtos farmacêuticos. Esses compostos também são conhecidos por exibir atividades antioxidantes, antimicrobianas, antimaláricas, anticancerígenas e outras (RAMESH *et al.*, 2019). Devido ao alto valor agregado, esse produto poderia encontrar seu lugar no mercado internacional atuando

de forma a minimizar gastos durante a produção. Consequentemente, por meio de alternativas como um meio de cultura mais barato, seu custo final seria mais competitivo no mercado. Os benefícios são inúmeros e podem atingir grande parte da cadeia têxtil, assim como outras áreas da indústria contribuindo para a movimentação da economia brasileira (YUSUF *et al.*, 2017 apud KANELLI *et al.*, 2018).

A bactéria *Janthinobacterium lividum* é uma bactéria Gram-negativa em forma de bastonete que produz biopigmentos de cor violeta. Ela pertence ao filo *Proteobacteria* e família *Oxalobacteraceae*. É comumente isolada de solos florestais, geleiras da Antártica e águas de lagos e rios. A *J. lividum* está entre as grandes produtoras do biopigmento violaceína, que não possui caráter citotóxico. A produção ocorre no metabolismo secundário e dá-se de acordo com as pequenas alterações no meio de cultura, temperatura, pH e fonte de energia. Essas alterações são possíveis sem grau de dificuldade elevado tornando o processo eficaz (OH *et al.*, 2019; VALDES *et al.*, 2015; WU *et al.*, 2017 apud KANELLI *et al.*, 2018).

A violaceína é produzida por cepas bacterianas de vários gêneros, incluindo *Janthinobacterium*, *Duganella*, *Collimonas* e *Pseudoalteromonas* (OH *et al.*, 2019). Ela pode ser uma alternativa aos corantes sintéticos para a indústria têxtil por meio de um processo livre de produtos químicos, contribuindo para uma menor degradação do meio ambiente. O uso desse tipo de tingimento contribui para o desenvolvimento de produtos ecologicamente corretos, atraindo consumidores conscientes por meio da utilização de inovações promissoras nesta área de constante expansão. O consumidor de hoje não quer apenas produtos que satisfaçam suas necessidades, mas também que contribuam para a qualidade de vida em longo prazo. Não basta um bom produto com preço justo, é preciso haver preocupações ecológicas, sociais e éticas (FILHO, 2008; KANELLI *et al.* 2018; LAATSCH *et al.*, 1984; RODRIGUES *et al.*, 2012; RAHUL *et al.*, 2015; YADA *et al.*, 2008).

As proteínas da seda representam uma família única de biopolímeros devido às suas propriedades estruturais e biológicas. Sua produção anual é de cerca de 80.000 toneladas, sendo o Japão, o principal consumidor mundial seguido da Itália e França. Do ponto de vista da ciência dos materiais, as sedas fiadas pelos bichos-da-seda (*Bombyx mori*) representam as fibras naturais mais fortes e resistentes conhecidas. Elas oferecem propriedades ilimitadas de funcionalidades, processamento e integração biológica com outros materiais. O processo de tingimento com o uso de biopigmentos extraídos de microrganismos pode ser aplicado na seda.

Esse tecido possui benefícios para a saúde da pele e cabelos, é respirável, hipoalergênico, absorve umidade, durável e possui um toque muito suave. A seda também é biodegradável podendo ser de grande relevância para atuar na integração com biopigmentos microbianos, assim como atender as necessidades do mercado (ARAMWIT, 2016; BASTIAN, 2009; TAO *et al.*, 2012).

De acordo com os dados apresentados pode-se compreender a importância da indústria têxtil para o mundo, assim como as problemáticas causadas pelo setor. Por meio da Biotecnologia pode-se desenvolver alternativas viáveis, com o uso de biopigmentos microbianos, a fim de contribuir para um processo mais ecológico de tingimento têxtil da seda com o uso da violaceína. As perspectivas para esse trabalho abrangem benefícios em todos os setores sugeridos. Para a pesquisa científica, os estudos podem contribuir grandemente para entender o funcionamento; métodos e condições de cultura e a produção e extração dos biopigmentos. Tais dados poderão ser utilizados em testes para aplicações futuras em outros microrganismos. Para o meio ambiente, seria uma alternativa viável aos corantes sintéticos, contribuindo para uma menor taxa de poluição no ar, assim como na redução do consumo de água e menores índices de efluentes tóxicos. Além disso, tais ações trariam mais benefícios à saúde humana, com produtos inovadores para o mercado. Além de contribuir para o meio ambiente, produtos com menos processos químicos contribuem para menores problemas de saúde aos trabalhadores e riscos de doenças para os usuários finais. Uma nova perspectiva para a sociedade e para a economia seria gerada (FEMA, 2017). A interdisciplinaridade está cada vez mais presente nas diversas áreas do conhecimento. Com a integração do setor têxtil e da moda com as áreas da Biotecnologia, há grande contribuição para o crescimento desse setor no mercado mundial. Com a utilização de biopigmentos microbianos no tingimento têxtil, têm-se uma alternativa de fonte renovável para a aplicação na indústria.

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Estabelecer parâmetros de fermentação para a produção de violaceína por *J. lividum* e avaliar seu uso no tingimento têxtil do tecido de seda.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Avaliar os parâmetros de fermentação por *J. lividum* para a produção de violaceína;
- Otimizar a produção de violaceína produzida por *J. lividum*;
- Testar métodos de tingimento têxtil com o extrato de violaceína produzida por *J. lividum*.

3 REVISÃO DA LITERATURA

3.1 A INDÚSTRIA E CADEIA TÊXTIL

3.1.1 A Importância Econômica da Indústria Têxtil no Mundo

De acordo com a Organização Mundial do Comércio (OMC), na última revisão estatística de 2019, o valor das exportações mundiais de têxteis e vestuário apresentou o total de US\$ 315 bilhões e US\$ 505 bilhões em 2018, respectivamente – um aumento de 6,4% e 11,1% quando comparado ao ano anterior. As análises indicam que foi o crescimento mais rápido em seis anos (LU, 2019). Segundo os dados da United Nations Industrial Development Organization (Unido), em 2020 a área têxtil do Brasil ocupou o 16º lugar na indústria mundial de transformação e 13º lugar no ranking mundial na área têxtil (TEXTÍLIA, 2021).

Tabela 1 – Os dez principais exportadores de vestuário e têxteis do mundo em 2018 (US\$ bilhões).

Vestuário			Têxteis		
Classificação	Exportadores	Valor das exportações	Classificação	Exportadores	Valor das exportações
1	China	\$157,8	1	China	\$118,15
2	UE	\$143,5	2	UE	\$74,0
3	Bangladesh	\$32,5	3	Índia	\$18,1
4	Vietnã	\$31,5	4	EUA	\$13,8
5	Índia	\$16,6	5	Turquia	\$11,9
6	Turquia	\$15,7	6	Coreia do Sul	\$9,8
7	Hong Kong	\$13,9	7	Taiwan	\$9,2
8	Indonésia	\$8,9	8	Vietnã	\$8,3
9	Camboja	\$8,2	9	Paquistão	\$8,0
10	EUA	\$6,0	10	Hong Kong	\$7,4

Fonte: OMC (2019).

Com relação ao vestuário, a Tabela 1 mostra que China, União Europeia (UE), Bangladesh e Vietnã foram os quatro maiores exportadores mundiais de vestuário em 2018, representando 72,3% da participação no mercado mundial. Isso sugere mais

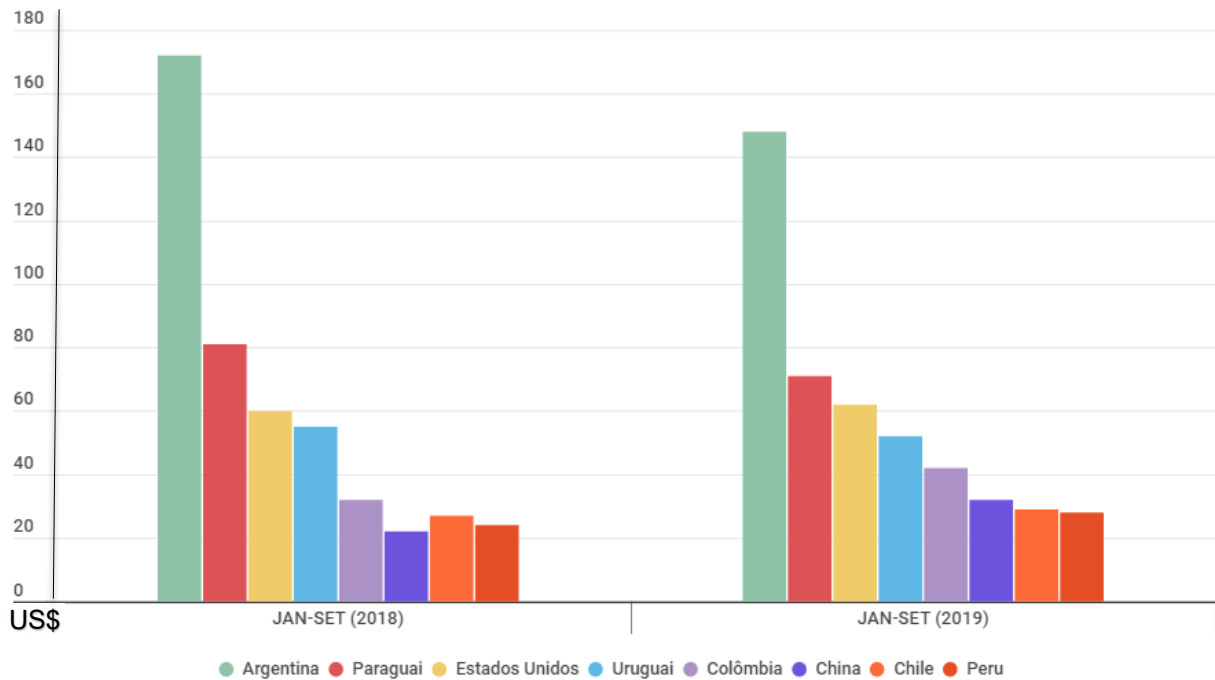
uma vez que, devido aos limites de capacidade na produção, nenhum país surgiu para se tornar a "próxima China". A China, a UE e a Índia continuaram sendo os três principais exportadores mundiais de têxteis em 2018. Juntos, eles representaram 66,9% das exportações mundiais de têxteis, um novo recorde desde 2011. China e a UE também teve um crescimento das exportações acima da média mundial, 7,9% e 6,9%, respectivamente. Os Estados Unidos continuam sendo o quarto maior exportador de têxteis do mundo em 2018, representando 4,4% da participação total, um pouco abaixo dos 4,6% em 2017 (LU, 2019).

3.1.2 A Importância Econômica da Indústria Têxtil e de Confecção Brasileira

Segundo Lange (2004), "a indústria têxtil brasileira tem uma participação histórica e decisiva no processo do desenvolvimento industrial do país. Foi um dos primeiros setores industriais a ser implantado, remontando aos tempos do Império". Segundo Fujita e Jorente (2015), o setor têxtil possui grande importância na economia brasileira, por ser um forte gerador de empregos, com grande volume de produção e exportações crescentes. De acordo com os dados de 2019 da Tex Brasil (2020), o faturamento da cadeia têxtil e de confecção foi de US\$ 48,3 bilhões. No mesmo ano, a exportação alcançou cerca de US\$3,6 bilhões e a importação com aproximadamente US\$ 5,3 bilhões nos têxteis de fibras naturais, incluindo rami, lã, juta, linho, seda e outros; os de fibra sintética incluindo o poliéster, polipropileno, poliamida, acrílico, viscose e acetato; sem incluir as fibras de algodão. A produção média de confecção foi mais de 9,4 bilhões de peças e a têxtil com 2,4 milhão de toneladas de tecidos, incluindo os mesmos citados acima.

Os principais destinos das exportações dos produtos têxteis e de vestuário concentram-se nos países da América do Sul, conforme aponta a Figura 1.

Figura 1 – Principais destinos das exportações de produtos têxteis e confeccionados no Brasil (US\$ milhões).

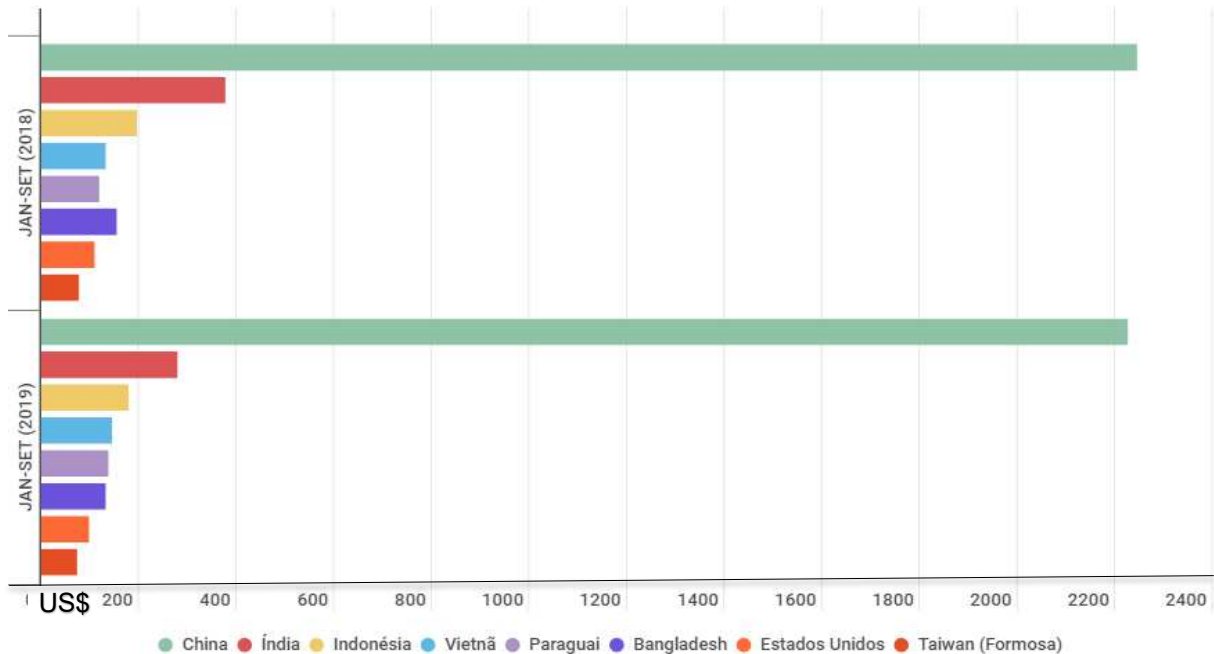


Fonte: Adaptado de ABIT (2019).

Apesar da queda de cerca de 14% devido à crise econômica – entre 2018 e 2019 – a Argentina se destaca em relação aos outros países como principal destino de exportação dos produtos nacionais nessa categoria. Pode-se notar que há um crescimento notável de exportações para países como Colômbia e China, com um aumento de 25% e 45%, respectivamente, no mesmo período.

Na Figura 2, pode-se observar as principais origens das importações da categoria para o Brasil, onde a China é a grande líder do setor com mais de US\$ 2 milhões em produtos importados no ano de 2019. Grande parte do valor expressivo se dá com as compras online em sites chineses devido aos preços extremamente baixos. A ABIT destaca que em 2019, houve um crescimento elevado na importação de tecidos com crescimento de quase 8% e a exportação com decréscimo de 7%. As importações vindas de países como Índia, Indonésia, Bangladesh, Estados Unidos e Taiwan mantiveram-se estáveis apesar de apresentarem uma pequena queda. Por outro lado, nota-se um crescimento considerável no Vietnã e Paraguai, com 10% e 16% de aumento, respectivamente.

Figura 2 – Gráfico das principais origens das importações de produtos têxteis e confeccionados para o Brasil (US\$ milhões).



Fonte: Adaptado de ABIT (2019).

Em 2020, a produção têxtil e de confecção pode crescer em torno de 2% a 2,5%, com exportações tendo um aumento de aproximadamente 2,5 percentuais e as importações, um incremento de 4,1%. (DIVITIIS, 2019). No entanto, Gandra (2020) afirma que esses dados deverão sofrer algumas alterações devido a pandemia de Covid-19. Uma pesquisa realizada pelo SENAI Cetiqt entre os dias 24 e 30 de março de 2020 com 62 representantes da cadeia produtiva do setor de moda, têxtil e de confecção, revelou que a maior participação da cadeia foi a do setor de confecção. Cerca de 70% das empresas disseram que não estavam preparadas financeiramente para situações como a pandemia de Coronavírus. De acordo com a consultora do Instituto Senai de Tecnologia Têxtil e de Confecção, 20% das empresas do setor não souberam informar como será seu modelo produtivo depois da pandemia. As restantes apostam na valorização dos produtos nacionais e na compra em mercados locais, além da automação da produção e implementação de tecnologias 4.0 para conseguir trabalhar remotamente.

A fibra de algodão ainda é a principal matéria-prima utilizada, com produção, importação e exportação significativas. A média da década foi a produção de mais de

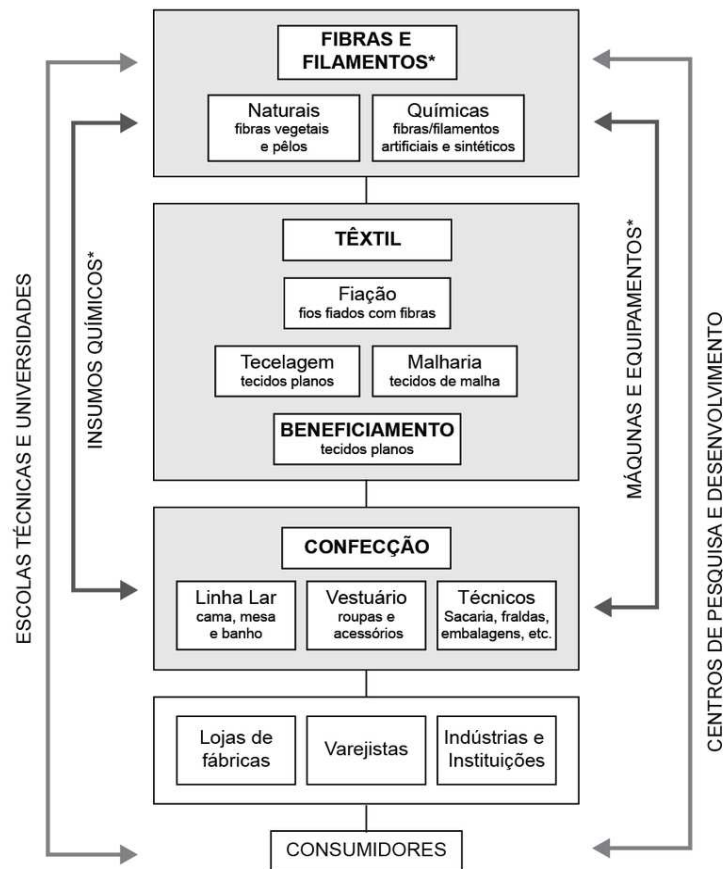
um bilhão duzentos e setenta mil toneladas de algodão. Como há produtos de altíssima qualidade, uma parte dessas fibras é exportada atingindo cerca de 330 mil toneladas. O consumo pelas indústrias nacionais chega a 900 mil toneladas, necessitando que cerca de 100 mil toneladas sejam importadas para suprir o consumo nacional. Até metade da década passada, os números mais expressivos em fibras artificiais e sintéticas foram: produção de 418 mil toneladas; importação de 218 mil toneladas e exportação de 58,9 mil toneladas (SANFINS, 2021).

De acordo com Sanfins (2021), a indústria têxtil brasileira possui quase 200 anos de história; é especialista em moda praia, confecção de jeans e artigos domésticos, com crescimento também dos segmentos de roupas íntimas e de ginástica; é uma das maiores do país e representa grande parcela do PIB; é a maior cadeia têxtil completa e o maior produtor de tecidos do Ocidente; é o quarto maior produtor de tecidos do mundo e também ocupa as posições de quarto maior do mundo em produção de malhas e denim; são mais de 27 mil empresas em todo o país (formais); os principais polos têxteis estão concentrados no vale do Itajaí, agreste pernambucano, Ceará e Americana e o setor representa 16,7% dos empregos no país.

3.1.2.1 A Estrutura Organizacional da Cadeia Têxtil

De acordo com Valh *et al.* (2011), a cadeia têxtil começa com a produção ou colheita de fibra bruta e termina com a compra dos consumidores. As etapas básicas dessa cadeia são representadas esquematicamente na Figura 3.

Figura 3 – Estrutura de produção da cadeia têxtil.



Fonte: MACEDO (2015).

A cadeia têxtil é dividida em várias etapas, e para compreender a fase de tingimento, inicialmente é necessário entendê-la de uma forma geral. De acordo com Bastian (2009), a cadeia têxtil pode ser dividida com os seguintes processos:

- Fiação:** etapa de obtenção do fio a partir das fibras têxteis que pode ser enviado para o beneficiamento ou diretamente para tecelagens e malharias;
- Beneficiamento:** etapa de preparação dos fios para seu uso final ou não, envolvendo tingimento, engomagem, retorção (linhas, barbantes, fios especiais etc.) e tratamento especiais;
- Tecelagem e/ou Malharia:** etapas de elaboração de tecido plano, tecidos de malha circular ou retilínea, a partir dos fios têxteis;
- Enobrecimento:** etapa de preparação, tingimento, estamparia e acabamento de tecidos, malhas ou artigos confeccionados;

E) Confeções: nesta etapa o setor tem aplicação diversificada de tecnologias para os produtos têxteis, acrescida de acessórios incorporados nas peças.

Na etapa B, que envolve a etapa foco da pesquisa, alguns processos de beneficiamento podem ser vistos no Quadro 1, com enfoque no processo de tingimento têxtil, que será abordado de forma detalhada a frente.

Quadro 1 – Processos de beneficiamento têxtil.

PRINCIPAIS PROCESSOS	FINALIDADE BÁSICA
Chamuscagem	Eliminar fibrilas da superfície do material têxtil, por meio de queima
Purga ou Limpeza	Remover materiais oleosos (graxos ou não) e impurezas através de reações de saponificação, emulsão e solvência para proporcionar hidrofiliidade ao substrato. Produtos químicos poderão ser adicionados: agentes oxidantes, enzimas e ácidos.
Alvejamento	Remover coloração amarelada (natural) do material têxtil.
Mercerização e Caustificação (operações individuais)	Tratamento alcalino do material têxtil com objetivo de melhorar propriedades físico-químicas da fibra (brilho, aumento da afinidade por corante, estabilidade dimensional etc.). Nota: a diferença básica entre a mercerização e caustificação é que a primeira trabalha com maior concentração de álcali, sob tensão e em equipamento específico (mercerizadeira).
Tingimento	Conferir coloração ao material têxtil.
Estamparia	Conferir coloração ao material têxtil de forma localizada.
Secagem	Retirar umidade do material, através de energia térmica.
Compactação	Proporcionar encolhimento do material (através de ação física), a fim de evitar encolhimento posterior da peça confeccionada, quando submetida à lavagem.
Calandragem	Eliminar vincos e conferir brilho (mais utilizada em tecido de malha).
Felpagem	Conferir aspecto de felpa à superfície do material podendo atuar como isolante térmico (utilizado em moletons, malhas soft etc.) ou apenas alterar o aspecto (felpado).
Amaciamento	Conferir toque agradável ao material.

Fonte: BASTIAN e ONISHI (2009).

3.2 IMPACTOS AMBIENTAIS DA INDÚSTRIA TÊXTIL

O processo de fabricação têxtil é caracterizado pelo alto consumo de diferentes recursos: água, combustível e uma variedade de produtos químicos em um processo demorado que gera uma quantidade significativa de resíduos. Os principais problemas ambientais são tipicamente aqueles associados à poluição da água causada pela descarga de efluentes não tratados (UNEP, 1994 apud VALH *et al.*, 2011).

De acordo com Chequer *et al.*, (2013), ao mesmo tempo que esse setor possui grandes benefícios econômicos e sociais, convém-nos abordar sobre os problemas que ele causa ao meio ambiente. As águas residuais da indústria têxtil são o principal problema enfrentado. Elas são extremamente alcalinas e contêm alta concentração ou demanda biológica de oxigênio, demanda química de oxigênio e sólidos totais dissolvidos. Este efluente leva a complicações ambientais se não for tratado adequadamente antes de seu descarte.

De acordo com os processos e a definição das águas residuais do setor têxtil, elas são compostas por água de limpeza, água de processo, água de resfriamento sem contato e água de chuva. A quantidade e a composição das águas residuais variam e dependem de diferentes fatores, incluindo a natureza do tecido processado, tintura aplicada ou acabamento especial; o tipo de processo; o equipamento utilizado; e a filosofia de gestão prevalecente em relação ao uso da água. A limpeza, tingimento, estampagem, acabamento e lavagem geram a maior parte das águas residuais têxteis. Os resíduos de grande volume incluem água de lavagem da preparação e tingimento contínuo, água residual alcalina da preparação e água residual do corante em lote contendo grandes quantidades de corante, sais, ácidos ou álcalis e outros aditivos tóxicos em quantidades menores (VALH *et al.*, 2011).

De acordo com a Figura 4, os impactos negativos da indústria têxtil estão aumentando drasticamente. Segundo Chequer *et al* (2013), os métodos de tingimento não mudaram muito com o tempo. Basicamente, a água é usada para limpar, tingir e aplicar produtos químicos auxiliares nos tecidos e para enxaguar as fibras ou tecidos tratados. Segundo dados da FEMA - Fundação Ellen MacArthur (2017), se a indústria continuar utilizando seus métodos tradicionais na fabricação de têxteis, em 2050, a taxa de dióxido de carbono poderá aumentar em 26%. O consumo de recursos não renováveis da indústria têxtil, incluindo óleo para produzir fibras sintéticas, fertilizantes

para cultivar algodão e produtos químicos para produzir, tingir e finalizar fibras e têxteis, podem chegar a 300 milhões de toneladas. Além disso, na tendência atual, a quantidade de microfibras plásticas entrando no oceano entre 2015 e 2050 podem acumular um excesso de 22 milhões de toneladas - cerca de dois terços das fibras de plástico usadas atualmente para produzir peças de vestuário anualmente.

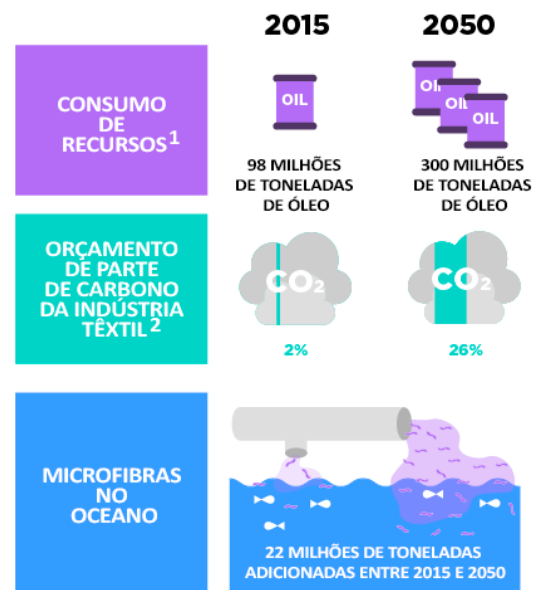
Figura 4 – Os impactos negativos da indústria têxtil estão aumentando drasticamente

Os impactos negativos da indústria têxtil estão aumentando drasticamente até 2050

1 Consumo de recursos não renováveis da indústria têxtil, incluindo petróleo para produzir fibras sintéticas, fertilizantes para cultivar algodão e produtos químicos para produzir, tingir e dar acabamento a fibras e têxteis.

2 O orçamento de carbono baseia-se no cenário de 2 graus.

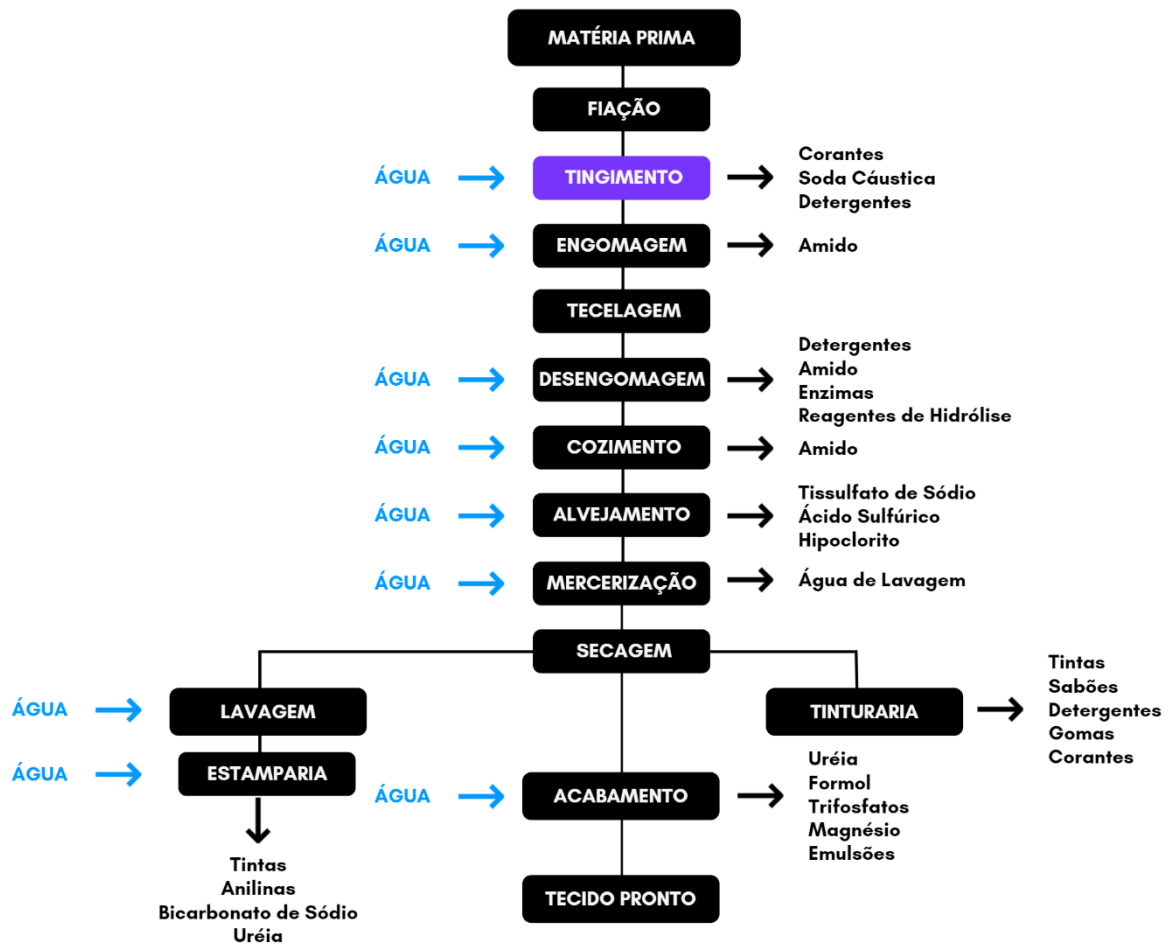
tiny.cc/fibres
até 2050.



Fonte: FUNDAÇÃO ELLEN MACARTHUR (2017, p.21).

Na Figura 5, é mostrado um fluxograma geral sobre os processos que utilizam água (BISSCHOPS e SPANJERS, 2003 apud VALH *et al.*, 2011). De acordo com Chequer *et al.* (2013), o processo de tingimento, ao qual é o enfoque desta pesquisa, envolve três etapas: preparação, tingimento e acabamento.

Figura 5 – Fluxograma com o uso de água pelos processos têxteis.



Fonte: Adaptado de BARBOSA e ROCHA (2014, p. 10).

A preparação é a etapa em que as impurezas indesejadas são removidas dos tecidos antes do tingimento. Isso pode ser realizado limpando-o com substâncias alcalinas e detergentes aquosos ou aplicando enzimas. Muitos tecidos são branqueados com peróxido de hidrogênio ou compostos que contêm cloro, a fim de remover sua cor natural e, se o tecido for vendido branco e não tingido, são adicionados agentes de brilho óptico (CHEQUER *et al.*, 2013).

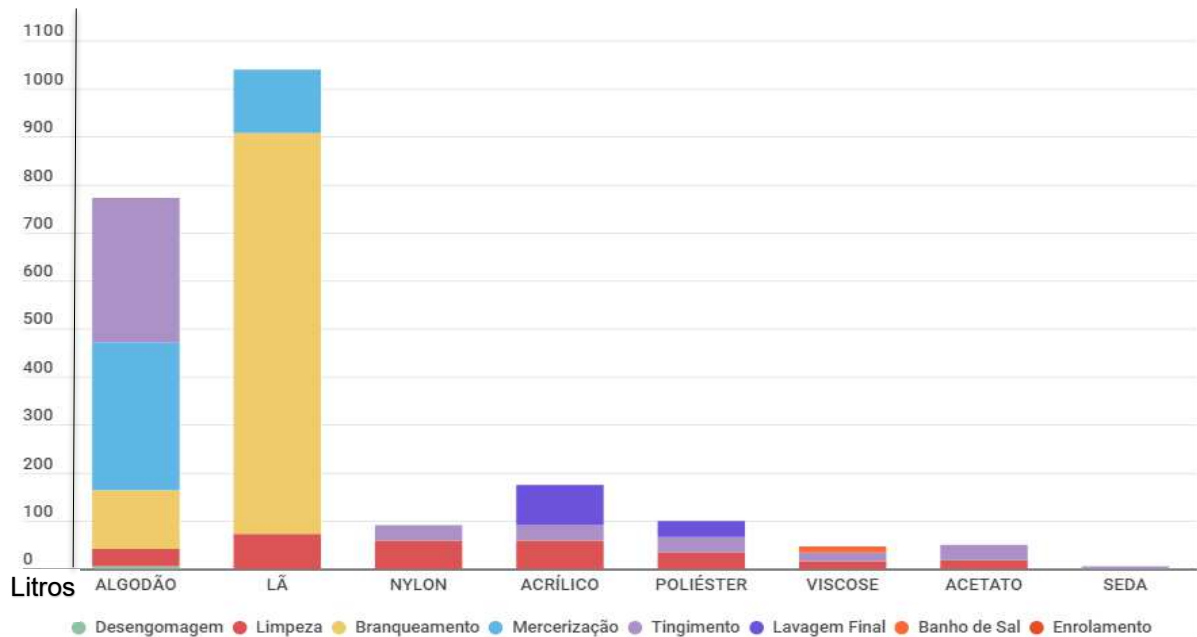
O tingimento é a aplicação aquosa de cor nos substratos têxteis, principalmente usando corantes orgânicos sintéticos e frequentemente, sob a temperaturas e pressões elevadas em algumas das etapas. É importante ressaltar que não há corante que tinja todas as fibras existentes e nenhuma fibra que possa ser tingida por todos os corantes conhecidos. Durante esta etapa, os corantes e auxiliares químicos, como

surfactantes, ácidos, bases alcalinas, eletrólitos, transportadores, agentes de nivelamento, agentes promotores, agentes quelantes, óleos emulsificantes, amaciadores etc., são aplicados ao tecido para obter uma profundidade uniforme da cor com as propriedades de solidez da cor adequadas para a utilização final do tecido. Esse processo inclui a difusão do corante na fase líquida, seguida de adsorção na superfície externa das fibras e, finalmente, difusão e adsorção na superfície interna. O tingimento também pode ser realizado aplicando pigmentos (os pigmentos diferem dos corantes por não mostrarem afinidade química ou física pela água, tornando-os hidrofóbicos) juntamente com ligantes - composto por acrilatos, butadieno ou poliuretano - que polimeriza sob a ação do calor formando uma película invisível que fixa os pigmentos à fibra. O ligante confere ao substrato têxtil o toque e os níveis de solidez à fricção (CHEQUER *et al.*, 2013).

Por fim, o acabamento envolve tratamentos com compostos químicos destinados a melhorar a qualidade do tecido. Tratamentos de prensagem permanentes, impermeabilização, amolecimento, proteção antiestática, resistência do solo, liberação de manchas e proteção microbiana/fúngica são exemplos de tratamentos de tecido aplicados no processo de acabamento (SCHINDLER e HAUSER, 2004).

Na Figura 6, pode-se observar que a lã e o algodão lideram o ranking com maior quantidade de água consumida por quilo de tecido produzido, com um gasto em torno de mais de 1000 e 700 L, respectivamente. O tecido de seda não necessita da grande maioria dos processos de tratamento pré e pós tingimento, visto que possui características singulares em sua composição e torna o processo mais simplificado. O gasto de água durante o processo de tingimento desse tipo de tecido alcança cerca de 10 L para cada quilo produzido. Essa água possui uma vasta quantidade de produtos químicos que auxiliam no processo de tingimento.

Figura 6 – Gráfico do abastecimento médio de água para diferentes processos têxteis (L kg⁻¹).



Fonte: Adaptado de CHEN *et al.*, (2020); VALH *et al.* (2011).

Segundo Chequer *et al.* (2013), muitos estudos têm sido realizados com o objetivo de desenvolver novas tecnologias capazes de minimizar o volume e a toxicidade dos efluentes industriais. Infelizmente, a aplicabilidade desses tipos de sistema está sujeita ao desenvolvimento de procedimentos modificados e ao estabelecimento de sistemas de reciclagem de efluentes, atividades que implicam tecnologias evolutivas e que ainda não estão universalmente disponíveis. De acordo com o tratamento das águas residuais, Valh afirma que:

As águas residuais têxteis podem ser tratadas por métodos físicos, químicos ou biológicos. Para a descoloração e degradação de águas residuais têxteis, muitas tecnologias de tratamento foram desenvolvidas, mas todas as tecnologias existentes apresentam limitações - vantagens e desvantagens. As águas residuais têxteis são muito complexas, por isso o uso de um tratamento universal de águas residuais parece ser impossível. As tecnologias de tratamento de águas residuais utilizadas dependerão das características das águas residuais (tipo, concentração de corante e auxiliares e pH). É evidente que um único sistema de tratamento de águas residuais é incapaz de superar todos os problemas por si só para fornecer um tratamento eficiente de efluentes e ao mesmo tempo ter uma boa relação custo-benefício (VALH *et al.*, 2011).

Devido ao seu perigo considerável, vários autores tentaram encontrar novas formas de tratamento para reduzir os graves riscos ambientais e toxicológicos. Entre os muitos casos relatados estão aqueles baseados no uso de microrganismos

específicos e degradação usando processos avançados de oxidação como o uso de fenton, foto-fenton e fotocatalise heterogênea na biorremediação (CHEQUER *et al.*, 2013). Para mudar o cenário atual, algumas medidas estão sendo adotadas.

O desenvolvimento de tecnologias adequadas para tratamento de efluentes tem sido objetivo de grande interesse nos últimos tempos devido ao aumento da conscientização e rigidez das leis ambientais. As principais técnicas para o descoloramento das águas no rejeito envolvem principalmente processos de adsorção, precipitação, degradação química, fotoquímica e biodegradação.

Em sua conclusão, Correia (1995 apud TWARDOKUS, 2004) diz que devido os efluentes têxteis terem um alto volume e uma composição química muito variada que podem incluir desde corantes não biodegradáveis á substâncias tóxicas, é difícil determinar qual seria o tratamento ideal para ser aplicado, porém é claramente possível se aplicar técnicas de tratamento em água de efluentes individualmente nos processos geradores de efluentes líquidos. Ele conclui ainda que técnicas de tratamento de efluentes apropriadas somente serão empregadas onde as descargas de efluentes forem severamente exigidas e ou o tratamento de efluentes tiver algum valor agregado.

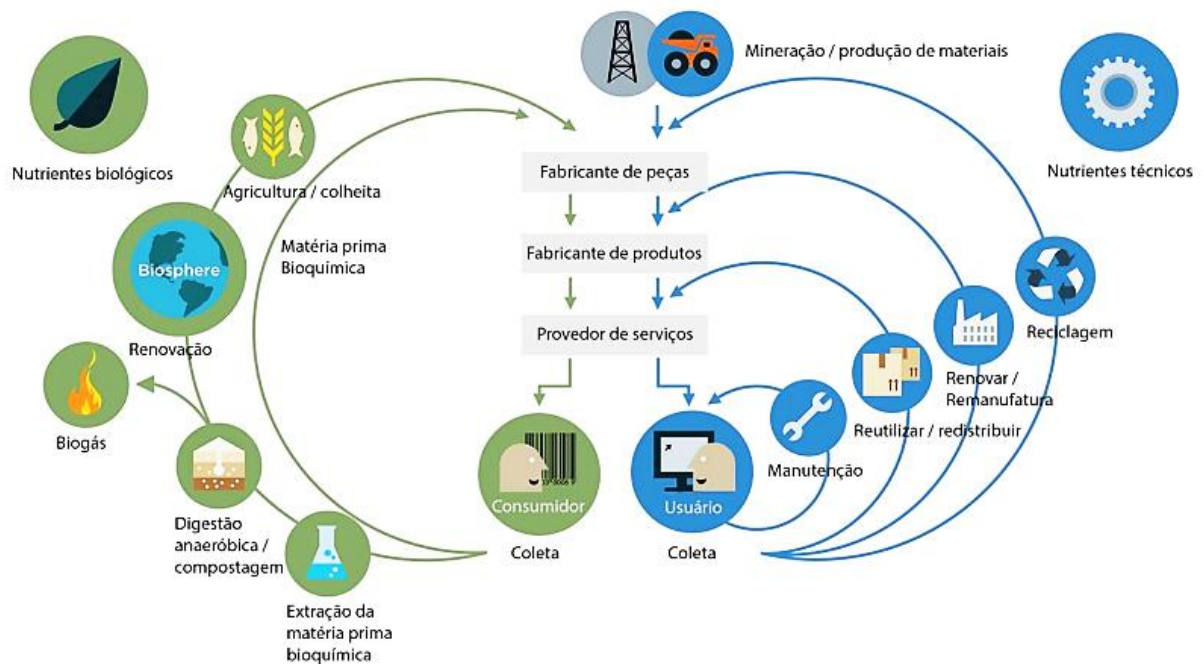
Forgacs *et al.* (2004 apud TWARDOKUS, 2004) apresentam em seu trabalho os vários métodos de remoção dos corantes sintéticos de efluentes têxteis. Segundo eles os corantes sintéticos apresentam uma diversidade estrutural considerável, a classe química de corantes sintéticos mais frequentemente empregada nas plantas industriais são os do tipo Azo, considerados proibidos em alguns países. Por este motivo os tratamentos de efluentes tradicionais provaram ser notadamente ineficazes na remoção dos corantes sintéticos dos efluentes líquidos, devido à estabilidade química destes poluentes. Para o autor, algumas tendências como a aplicação da microbiologia têm papel decisivo nas tecnologias futuras. A combinação de técnicas que utilizam decomposição de microbiologia e substâncias químicas ou tratamentos físicos para aumentar a eficácia da decomposição microbiológica pode ser esperada no futuro.

Segundo a Fundação Ellen MacArthur (2017), o mercado necessita de uma nova economia têxtil, que teria como resultado benefícios substanciais. Ela denomina

esse novo modelo como ‘economia circular’, conforme mostra o esquema da Figura 7. Esse sistema vai contra o uso e descarte de roupas como é realizado atualmente. Os benefícios comerciais desse tipo de sistema são bem compreendidos e explorados em países de alta renda per capita (especialmente na Europa), assim como para economias emergentes. Além de oferecer benefícios para os negócios e a economia, a moda circular é benéfica para a sociedade e regenera o meio ambiente. De acordo com o objetivo da economia circular, se conclui que:

A economia circular se refere a uma economia industrial que é restauradora intencionalmente; visa contar com energia renovável; minimiza, rastreia e, com sorte, elimina o uso de produtos químicos tóxicos; e erradica o desperdício por meio de um projeto cuidadoso. O termo vai além da mecânica de produção e consumo de bens e serviços, nas áreas que busca redefinir (exemplos incluem a reconstrução do capital social e natural e a passagem do consumidor ao usuário). O conceito de economia circular está alicerçado no estudo de sistemas não lineares, principalmente vivos (Fundação Ellen MacArthur, 2017, p. 05).

Figura 7 – Fluxograma da economia circular.



Fonte: FEMA (2017).

3.3 O TINGIMENTO TÊXTIL

O processo de tingimento desempenha um papel de agregar valor a diversas demandas da indústria têxtil, ou seja, um gargalo entre os processos de toda a cadeia, devido a sua importância no beneficiamento dos tecidos. Ele é um dos fatores-chave no sucesso do comércio de produtos têxteis e são realizados em grandes indústrias como mostra a Figura 8. Além do design e da cor, o consumidor geralmente procura algumas características básicas do produto, como boa fixação da cor em relação à luz, transpiração e lavagem. Para garantir essas propriedades, as substâncias (pigmentos e corantes) que dão cor à fibra devem apresentar alta afinidade, cor uniforme, resistência ao desbotamento e ser economicamente viável (CHEQUER *et al.*, 2013).

Figura 8 - Etapa de tingimento na Indústria Têxtil.



Fonte: Disponível em: <<http://www.sriraghavendratextiles.com/>> Acesso em: 24 Nov 2020.

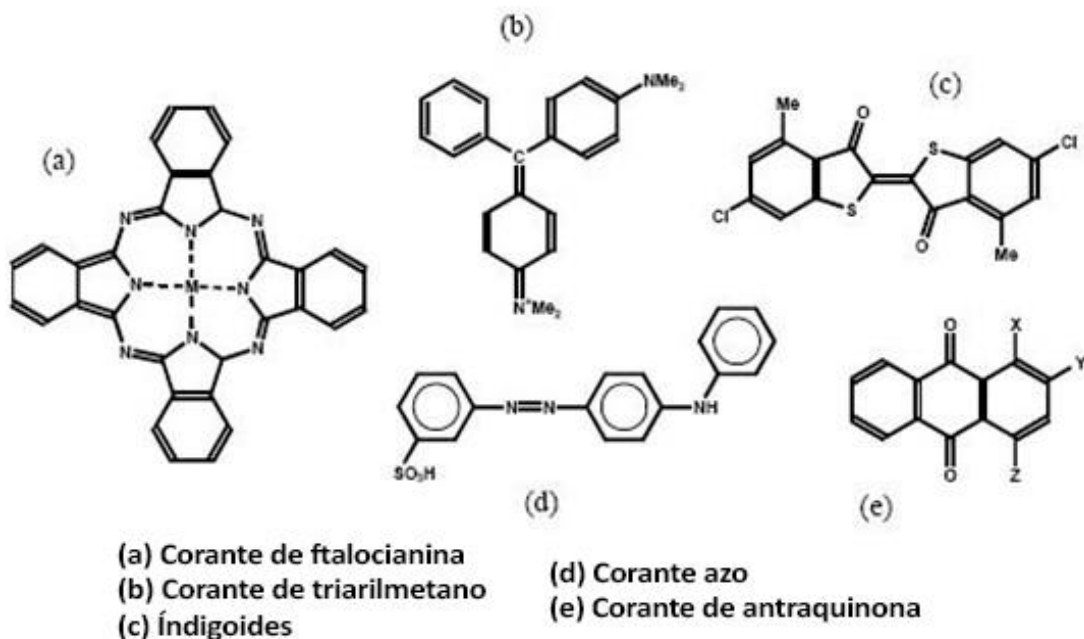
3.3.1 Pigmentos e Corantes

Segundo Saron e Felisberti (2006 apud VELOSO, 2012), a diferença básica entre pigmentos e corantes está no tamanho de partícula e na solubilidade no meio em que está inserido. Diferentemente dos corantes, os pigmentos não são hidrossolúveis. Os autores afirmam ainda que a “solubilidade de um determinado corante pode ser determinada pela presença de certos grupos químicos na estrutura do composto, os quais podem ocasionar as diferenciações entre pigmentos e

corantes”. Outro diferencial entre os dois produtos diz respeito à cobertura: quando se usa o pigmento ele promove simultaneamente a cobertura, a opacidade, o tingimento e a cor; o corante só promove o tingimento, sem proporcionar cobertura. Desta forma, o corante mantém a transparência do objeto tingido; já o pigmento dá cor e tira a transparência.

De acordo com Bastian (2009), considerando a divisão produtiva da cadeia têxtil não se pode deixar de mencionar a importância dos corantes utilizados nos processos de acabamento, incluindo as lavanderias acopladas às atividades produtivas. Existem várias maneiras para se classificar os corantes, por exemplo, de acordo com a sua constituição química (Figura 9), sua aplicação, solidez em geral, tipo de excitação eletrônica, quando exposto à luz etc.

Figura 9 – Principais estruturas químicas dos corantes.



Fonte: Adaptado de: <http://wiki.zero-emissions.at/images/c/cd/Overview-Organic_dyes_%26_pigments1.jpg> Acesso em: 09 Nov 2021.

A classificação apresentada no Quadro 2 segue o padrão adotado pelo Colour Index, publicado pela The Society of Dyers and Colourists, em conjunto com a Association of Textile Chemists na Colorists. Pode-se observar a classificação dos corantes pelo método de tingimento, substrato, classe química e solubilidade na água. Os corantes reativos e diretos são os mais comuns para os tingimentos em fibras de origem naturais como algodão e celulose. Já para as fibras artificiais, como poliéster, os mais comuns são os dispersivos e catiônicos.

Quadro 2 – Principais métodos de tingimento e suas aplicações.

Método de tingimento	Substrato preferido/ Aplicação típica	Principal classe química	Solubilidade na água
Corantes reativos	Algodão	Azo, Azo metalizado, ftalocianina, antraquinona	Solúvel
Corantes dispersivos	Poliéster	Não iônico	Insolúvel
Corantes diretos	Algodão, Celulose regenerada	Aniônico, poli-azo	Solúvel
Corantes à tina (vat)	Fibras de celulose	Antraquinona, indigóides	Insolúvel, Sais de leuco solúveis
Corantes sulfúricos	Algodão	Sulfúricos	Solúvel
Corantes catiônicos ou básicos	Papel, poliacrilonitrila, poliéster	Triarilmetano	Solúvel
Corantes ácidos	Nylon, lã, seda, couro, papel, impressão em jatos	Catiônico	Solúvel
Corantes solventes	Plástico, gasolina, óleo, certas	Azo, antraquinona	Insolúvel

Fonte: Adaptado de: <http://wiki.zero-emissions.at/images/d/df/Overview-Organic_dyes_%26_pigments2.jpg> Acesso em: 09 Nov 2021.

3.3.2 Corantes Sintéticos x Naturais

Os corantes sintéticos são constantemente alvo de investigações quanto a sua relação com reações adversas que possam surgir nos consumidores. A relação de corantes sintéticos de uso permitido varia em larga escala de acordo com a legislação de cada país. A maioria dos corantes sintéticos apresenta alta estabilidade (luz, oxigênio, calor e pH), uniformidade na cor conferida, alto poder tintorial, isenção de contaminação microbiológica e custo de produção relativamente baixo (GODOY; PRADO, 2003 apud VELOSO, 2012).

Segundo os dados da Fema (2017) anualmente, 43 milhões de toneladas de produtos químicos são usados para produzir têxteis. O mercado de produtos químicos têxteis estava avaliado em US\$ 21 bilhões em 2015 - cerca de um sexto das vendas

totais da indústria de vestuário - e deve chegar a US\$ 29 bilhões até 2024. No que tange a respeito dos corantes que são altamente prejudiciais, pode-se concluir que:

[...] alguns corantes azo podem apresentar efeitos tóxicos, especialmente eventos carcinogênicos e mutagênicos. Os efeitos tóxicos dos corantes azo podem ser decorrentes da ação direta do próprio agente ou dos derivados arilamina gerados durante a biotransformação reductiva da ligação azo. Os corantes azo que entram no corpo por ingestão podem ser metabolizados em aminas aromáticas pelas azoredutases de microrganismos intestinais. Se os corantes forem nitro, eles podem ser metabolizados pelas nitroreductases produzidas pelos mesmos microrganismos. As enzimas hepáticas de mamíferos e outras organizações também podem catalisar a clivagem reductiva da ligação azo e a nitro-redução do grupo nitro. Em ambos os casos, se N-hidroxilaminas são formadas, esses compostos são capazes de causar danos ao DNA (CHEQUER *et al.*, 2013, p.153).

Existem cinco grupos principais de corantes naturais: os compostos heterocíclicos com estrutura tetrapirrólica; os compostos de estrutura isoprenóide; os compostos heterocíclicos contendo oxigênio; as betalaínas (compostos nitrogenados) e as antraquinonas (VELOSO, 2012).

Entre as principais fontes para obtenção de corantes naturais estão as plantas (folhas, flores e frutos), animais (insetos) e microrganismos (fungos e bactérias) (MENDONÇA, 2011 apud VELOSO, 2012). Os solventes e veículos de emprego autorizado na elaboração e processamento dos corantes naturais são: água, açúcares, álcool etílico, amidos, cloreto de sódio, dextrina, gelatina, glicerol, óleos e gorduras comestíveis (BRASIL, 1977 apud VELOSO, 2012).

3.3.3 Desenvolvimento de Processos de Produção e Extração de Corantes Naturais

O futuro das cores depende estritamente das fontes naturais de corantes. Hoje, a tradição de tingir por meio de corantes naturais sobreviveu apenas em certas partes do mundo. Recentemente, a conscientização ambiental voltou a despertar o interesse por corantes naturais, principalmente entre pessoas ambientalmente conscientes. Eles podem ser usados em quase qualquer tipo de tingimento de fibra natural e são considerados materiais ecológicos, renováveis e biodegradáveis, assim como materiais não patológicos para a pele humana (KASHYAP *et al.*, 2016 apud GURSES, 2019).

Pesquisas recentes mostraram que corantes naturais também podem ser usados para tingir algumas fibras sintéticas. Além das aplicações comuns em têxteis, os corantes naturais também são usados no processamento de couro, bem como na

coloração de alimentos, medicamentos, artesanato e brinquedos. Os corantes naturais podem ser abordados no contexto de suas fontes potenciais, química e classificações, bem como sua extração e aplicações funcionais (GURSES, 2019).

Segundo o autor:

Como os corantes naturais são biodegradáveis, e auxiliares químicos complexos e condições extremas de pH não são usados no processo de tingimento, os efluentes formados por seu uso são facilmente manuseados e não requerem as estações de tratamento de efluentes de alto custo necessárias para corantes sintéticos (RAJA e THILAGAVATHI, 2008 apud GURSES, 2019, p.44).

O Brasil carece de empresas que produzem pigmentos de origem natural. Infelizmente não se têm nenhuma empresa com produção de biopigmentos de origem microbiana. No entanto, a empresa Química Inteligente de Curitiba oferece quatro opções de corantes de origem vegetal, sendo eles: clorofila extraído de plantas como a alfafa; urucum, obtido da semente da própria planta (57% da produção com 12 mil toneladas sendo produzidas anualmente no Brasil); cúrcuma, obtida de rizomas de cúrcuma (Infelizmente, o Brasil possui apenas 1% da produção mundial, sendo a Índia a maior produtora com cerca de 90% com uma produção anual de 90 mil toneladas); e o carmim, de origem a partir da espécie de inseto *Dactylopius Coccus* (Peru abrangendo cerca de 85% do mercado mundial e uma produção de 2,5 mil toneladas por ano) (QUÍMICA INTELIGENTE, 2021).

3.4 BIOPIGMENTOS E SUAS APLICAÇÕES

Os biopigmentos são substâncias de cor natural produzidas por microrganismos, especialmente fungos e bactérias. Os microrganismos produzem uma variedade de biopigmentos através do processo de fermentação, com maior rendimento de biopigmentos e menor produção de resíduos em comparação com as fontes vegetais e animais (DURAN *et al.* 2012 apud TIRUMALE *et al.*, 2018).

Vários biopigmentos microbianos podem ser antioxidantes poderosos porque seus sistemas conjugados são suscetíveis ao ataque eletrofílico. Os carotenóides e xantofilas, são mais eficientes do que o ácido ascórbico ou hidroxitolueno butilado (BHT) como antioxidantes. Além disso os biopigmentos também podem atuar como protetor solar, protegendo a célula ao absorver a radiação ultravioleta. Microrganismos fotossintéticos, como cianobactérias e microalgas, dependem de biopigmentos como

clorofilas e ficobilinas para transferir energia luminosa para elétrons que são utilizados no processo de fotossíntese. Alguns biopigmentos, como ficobilinas, clorofila e prodigiosina, também podem atuar como reserva de nitrogênio. A utilização de microrganismos capazes de sintetizar biopigmentos específicos, tem como vantagens a consistência, alta concentração e qualidade. Além dessas vantagens, os microrganismos podem ser selecionados ou modificados geneticamente em busca de aditivos de cor e produção adequados de acordo com a necessidade (CARVALHO, 2013).

“Hoje em dia, os corantes naturais não são usados para o processamento têxtil convencional e apenas cerca de 1% do total dos têxteis produzidos são tingidos com o uso de corantes naturais” (GURSES, 2019, p.44). Eles podem ser aplicados em diversas áreas como a farmacêutica, cosmética, têxtil ou até mesmo usados como corantes alimentares. Dentre os principais, destacam-se: cantaxantina, astaxantina, prodigiosina, ficocianina, violaceína, riboflavina, beta-caroteno, melanina e licopeno, conforme mostra a Figura 10 (SEN *et al.*, 2019).

Figura 10 – Principais biopigmentos e sua estrutura molecular (continua).

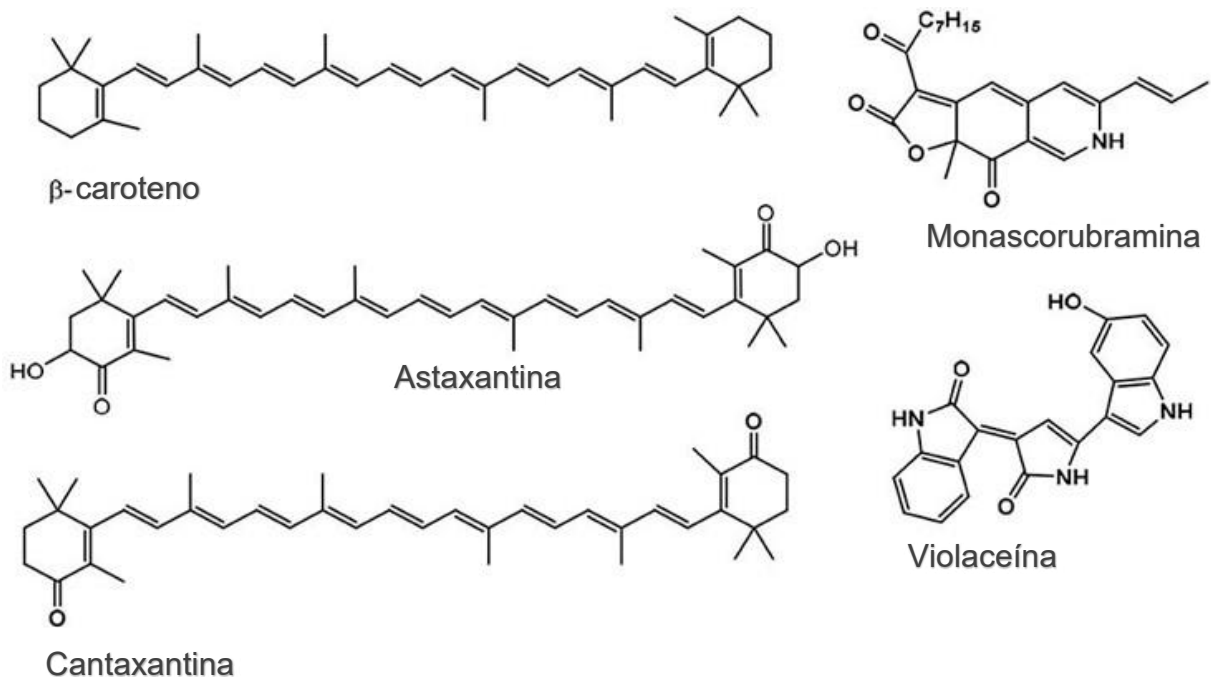
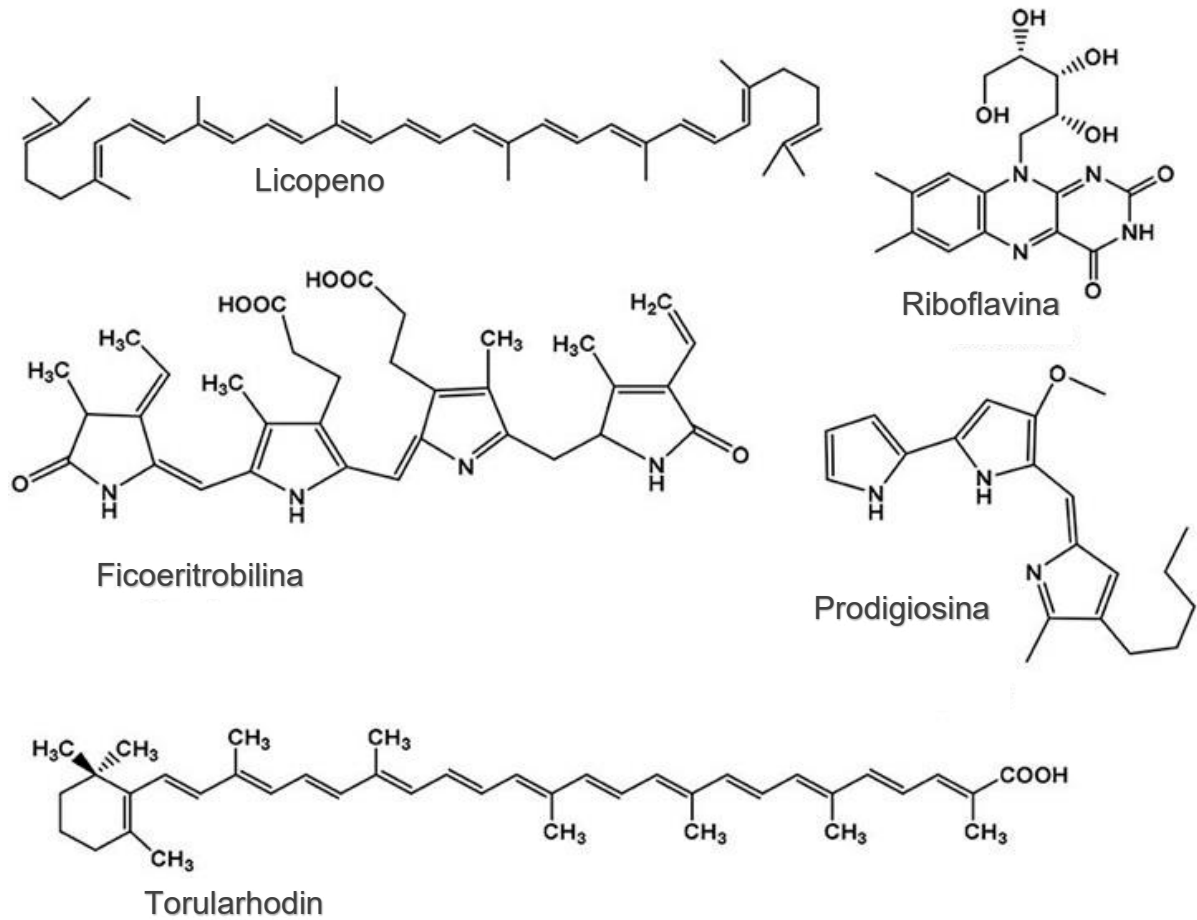


Figura 10 – Principais biopigmentos e sua estrutura molecular (conclusão).



Fonte: Disponível em: <https://www.frontiersin.org/files/Articles/418288/fnut-06-00007-HTML/image_m/fnut-06-00007-g002.jpg> Acesso em: 20 Nov 2020 (Adaptado).

Pode-se analisar as suas principais características, de acordo com Sen (2019):

- Cantaxantina - é um carotenoide de cor laranja a rosa profundo, solúvel em lipídios e um potente antioxidante. É isolado do *Bradyrhizobium* sp., é um biopigmento trans caroteno e é aprovado como corante alimentar e usado em uma variedade de alimentos, bem como ração para salmão e aves;
- Astaxantina - é um biopigmento vermelho-alaranjado, encontrado naturalmente na levedura basidiomicetos, microalgas, salmão e crustáceos, camarões vermelhos, lagostim, penas de algumas aves, e é solúvel em lipídeos. É um corante aprovado, usado em peixes e alimentos de origem animal;

- Prodigiosina - Muitas cepas de *Serratia marcescens*, produzem um biopigmento vermelho, que mostra atividade antibacteriana, antimalárica, antibiótica e antineoplásica. Tem sido aplicado com sucesso como agentes corantes em iogurte, leite e bebidas carbonatadas;
- Ficocianina - é um biopigmento azul produzido pela clorofila A contendo cianobactérias. *Aphanizomenon flos-aquae* e *Spirulina* produzem ficocianina que está sendo usada na indústria de alimentos e bebidas como o agente corante natural '*Lina Blue*' e é encontrada em doces e sorvetes;
- Violaceína - *Chromobacterium violaceum* é um dos produtores mais proeminentes deste biopigmento violeta; outras espécies bacterianas também produzem o biopigmento e a maioria tem uma tonalidade roxa. Ele exibe propriedades antifúngicas, antibióticas, antitumorais e antibacterianas. A violaceína tem demonstrado uso potencial nas indústrias alimentícia, cosmética e têxtil;
- Riboflavina - Vitamina B2 solúvel em água, é um biopigmento de cor amarela e produzida por vários microrganismos. É usado em itens diários, cereais matinais, alimentos para bebês, molhos, sucos de frutas e bebidas energéticas;
- Beta-caroteno - Um biopigmento orgânico de cor vermelho-laranja, extraído principalmente das algas ricas em beta-caroteno, *Dunaliella salina*. A produção de β -caroteno pela fermentação de *Blakeslea trispora* produz um biopigmento equivalente aos biopigmentos produzidos por um processo químico e é um corante aceitável. Ele é usado em uma variedade de itens alimentares que variam de cor vermelha a amarela;
- Melanina - as melaninas são biopigmentos naturais presentes em animais, plantas e em muitos microrganismos. Eles são amplamente utilizados em óculos, cosméticos, itens alimentícios, cremes de proteção solar, produtos farmacêuticos e alimentos;
- Licopeno - amplamente presente e consumido no tomate, um biopigmento vermelho brilhante que consiste em carotenóide. Ele foi isolado de microrganismos como *Fusarium*, *Sporotrichioides* e *Blakeslea trispora* e tem o potencial de atenuar doenças persistentes, como alguns

tipos de câncer e doenças coronárias. É utilizado na coloração de carnes em países como EUA, Austrália e Nova Zelândia.

3.4.1 Bactérias Produtoras de Biopigmentos

Existem diversos biopigmentos bacterianos estudados na literatura, mas devido a suas atividades antimicrobianas e eventual tóxicas, ainda não foram incorporados totalmente no mercado. No entanto, eles podem ser usados para evitar a proliferação de fungos na superfície de produtos de carne ou usos não alimentares, como aplicação em tingimento de têxteis. As prodigiosinas são uma classe de biopigmentos antibióticos produzidos por diversos microrganismos, como *Serratia marcescens* e *Hahella chejuensis* (WILLIAMSON *et al.*, 2006 apud CARVALHO *et al.*, 2013; GULANI *et al.*, 2012) com envolvimento potencial na redução da proliferação de algas (KWON *et al.*, 2010 apud CARVALHO *et al.*, 2013).

Também pode-se destacar o biopigmento fenazina azul piocianina, produzido por *Pseudomonas aeruginosa*. A piocianina é um metabólito altamente reativo que, sendo tóxico para células de mamíferos, não pode ser usado em alimentos; no entanto, é possível estabilizá-lo permitindo seu uso como biopigmento têxtil. *Paracoccus carotinifaciens* é uma bactéria que acumula uma mistura de carotenóides (CARVALHO *et al.*, 2013).

A violaceína é um biopigmento violeta (Figura 11) natural produzido por várias bactérias Gram-negativas, como *Chromobacterium violaceum* e *Janthinobacterium lividum*. Ela possui uma variedade de atividades biológicas, incluindo: antibacteriano, antiviral, anti-inflamatório, antitumoral, antileucêmico, assim como antifúngico, antiparasitário, antiprotozoário, antioxidante e antiulcerogênico. Essa ampla gama de atividades biológicas tem despertado interesse em entender seu mecanismo de ação com o objetivo de encontrar uma aplicação potencial como agente terapêutico (VENEGAS *et al.*, 2019).

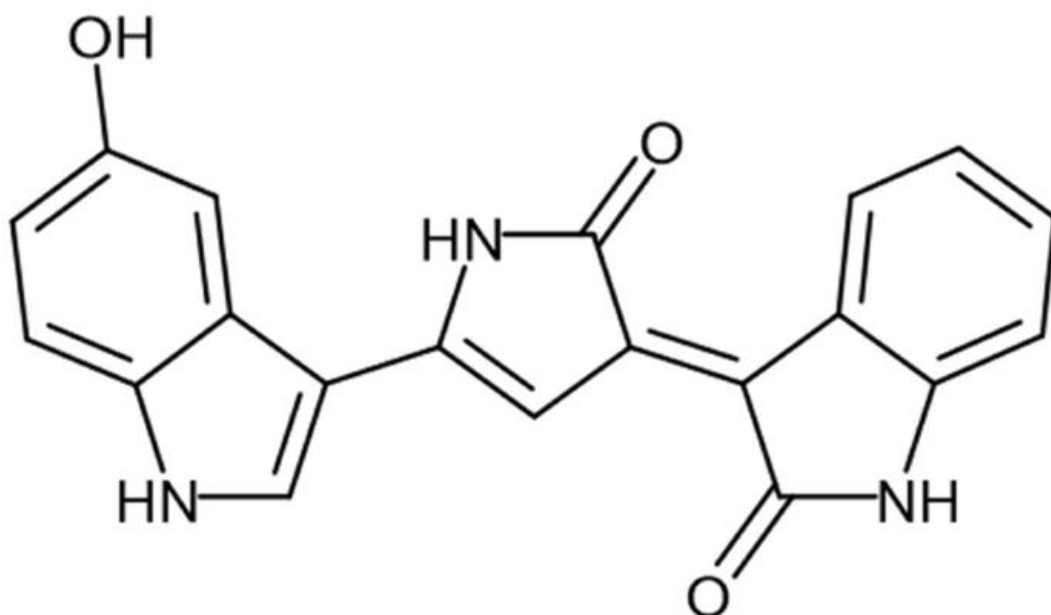
Figura 11 – Extrato de violaceína em microtubo.



Fonte: Disponível em: <<https://clara-davis.com/albums/bacteria-dyes/>> Acesso em: 15 Jun 2020.

Segundo Venegas *et al.*, (2019) este metabólito secundário é um alcalóide formado por três unidades estruturais, conforme mostra a Figura 12: um 5-hidroxiindol, um oxindol e um 2-pirrolidona.

Figura 12 – Estrutura molecular da violaceína.

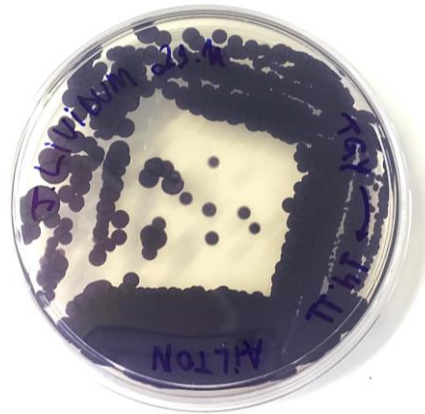


Fonte: VENEGAS *et al.* (2019).

3.4.1.1 *Janthinobacterium lividum* e a produção de violaceína

A *J. lividum* (Figura 13) é uma bactéria aeróbica, em forma de bastonete, gram-negativa, móvel e comumente isolada do solo e da água de regiões frias, como montanhas ou geleiras. É uma bactéria heterotrófica com uma faixa de temperatura de crescimento entre 4 e 30°C, com um crescimento ideal em torno de 25°C. Após vários dias de cultivo em meio nutriente sólido, a maioria das cepas formam colônias de 'borracha' de cor violeta devido à produção de violaceína (VALDES *et al.*, 2015).

Figura 13 – *J.lividum* cultivada em placa de petri com meio TGY por 48h em 25 °C.



Fonte: O autor (2020).

Recentemente, o esboço da sequência do genoma de duas linhagens de *J. lividum* foi publicado, revelando a biossíntese e regulação da produção de violaceína (WU *et al.*, 2017 apud KANELLI *et al.*, 2018). Dependendo da cepa, do meio de cultura e das condições de crescimento, uma alternativa diferente é seguida para a produção de violaceína. A produção desse biopigmento violeta em microrganismos possivelmente representa uma resposta a questões ambientais, e contribui para a defesa do microrganismo contra perigos externos (PANTANELLA *et al.*, 2007 apud KANELLI *et al.*, 2018).

De acordo com Menck (2001), Reilly e Pyne foram os primeiros a estudar detalhadamente a estrutura química da violaceína, em 1927. Segundo o autor:

Ballantine e colaboradores deduziram, em 1958, através de estudos de degradação e síntese, a estrutura correta dela. Estes pesquisadores também propuseram corretamente a estrutura do biopigmento produzido em menor proporção: a deoxiviolaceína. A única diferença entre essa última e a violaceína é que a deoxiviolaceína não possui o grupo hidroxila. Os dados

obtidos por Ballantine e seus colaboradores foram confirmados, posteriormente, por espectroscopia por Laatsch e Thomson, em 1984 (DURAN; MENCK, 2001; RETTORI, 1996).

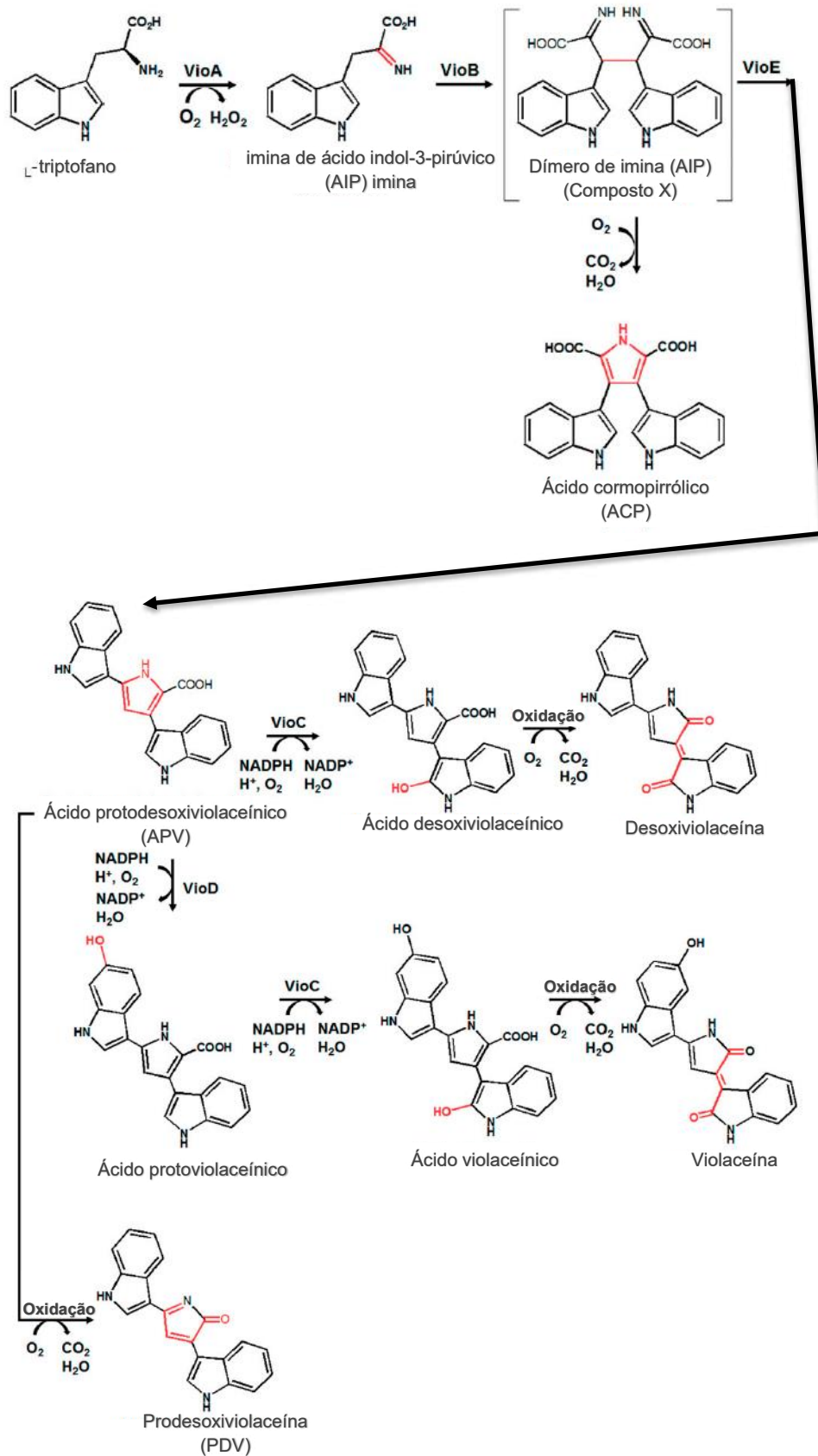
A síntese de violaceína é induzida por lactonas acetiladas N-homoserinas, que são descritas como reguladores genéticos em várias bactérias Gram (-), por meio de *quórum sensing*. A produção de violaceína é induzida especificamente pela N-hexanoil-homoserinalactona. (BLOSSER, 2000; CHERNIN *et al.*, 1998). A violaceína é um biopigmento com origem no metabólito secundário que pode ser utilizada para a aplicação no tingimento têxtil (BROMBERG; DURAN, 2001).

Sobre a biossíntese de violaceína de forma detalhada (Figura 14), Park *et al.*, (2021) destaca que:

A síntese de violaceína dependente de Vio-operon pode resultar na síntese de vários metabólitos dependendo das vias de reação. A primeira enzima do vio-operon é a VioA, que catalisa a oxidação do L-triptofano em imina do ácido indol-3-pirúvico (IPA) pela redução do cofator FAD. O IPA é ainda convertido em um dímero de imina de IPA (composto X) por VioB (2-imino-3-(indol-3-il)propanoato dimerase). O composto X é transformado espontaneamente em ácido cromopirrólico (CPA) ou convertido em ácido protodesoxiviolacênico (PVA) por VioE. O PVA é submetido a três vias opcionais dependendo da ação das enzimas. VioC e a oxidação espontânea do PVA levam à geração de desoxiviolaceína via ácido desoxiviolaceína. Subsequentemente, o PVA é ainda convertido em violaceína por VioD, VioC ou reações de oxidação espontânea ou a oxidação espontânea do PVA resulta na formação de prodesoxiviolaceína (PDV). As estruturas cristalinas de VioD e VioE foram resolvidas recentemente. As informações sobre os principais resíduos foram reveladas por meio de estudos de mutação em VioE, que é a enzima mais crítica na síntese de violaceína. Uma vez que o vio-operon é induzido por moléculas quorum-sensing de acil-homoserina lactona (AHL) em células produtoras de violaceína, vários estudos de regulação do gene vio identificaram fatores-chave que poderiam aumentar a produção de violaceína em hospedeiros do tipo selvagem e heterogênicos (PARK *et al.*, 2021, p.02).

Como o L-triptofano é o precursor primário na síntese de violaceína, um maior fluxo da fonte de carbono para L-triptofano leva a uma maior produção de violaceína, e organismos hospedeiros projetados para produzir quantidades excessivas de L-triptofano são utilizados para a produção de violaceína. A engenharia metabólica, como bloquear a via de passagem e controlar a regulação da transcrição para obter maior fluxo para L-triptofano, também foi tentada. Além disso, vários estudos que tentam explorar as atividades fisiológicas/biológicas da violaceína nas áreas de têxteis e polímeros de engenharia têm sido relatados (PARK *et al.*, 2021).

Figura 14 – Via de biossíntese da violaceína em microrganismos.



Fonte: Adaptado de PARK et al (2021, p.02).

O desenvolvimento de têxteis durante o processo de criação de uma coleção é ignorado pela maioria dos designers, que costumam se preocupar apenas com a escolha da matéria-prima que já disponível no mercado. “No entanto, avaliar esse processo pelo viés do *biodesign* pode levar a uma nova forma de pensar a produção de tecidos”. (ABREU, 2015, p.45)

Os biopigmentos podem ser aplicados no tingimento têxtil, que pode ser feito em qualquer estágio da fabricação de fibra, fio, tecido ou um produto têxtil acabado (KHAN e ISLAM, 2015 apud GÜRSES, 2019). A qualidade da solidez da cor depende de dois fatores, como a seleção do corante adequado de acordo com o material têxtil a ser tingido e o método de tingimento (DABERAO *et al.*, 2016 apud GÜRSES, 2019).

Sobre um processo de tingimento sustentável o autor define que:

Durante o tingimento, a fixação do corante, a proporção da quantidade de água e a necessidade de aquecimento são críticos durante esse processo. Um ideal de sustentabilidade seria usar um corante que requeresse menor quantidade de água, alta fixação, diminuindo a quantidade de químicos auxiliares no processo de tingimento e a ausência de aquecimento, minimizando a energia gasta no processo (ABREU, 2015, p.45).

Por essas e outras razões, o estudo integrado da biotecnologia e a indústria têxtil com foco em inovação, pode fomentar alternativas viáveis para o desenvolvimento de matérias-primas que se beneficiam das propriedades da natureza como o tingimento da seda com biopigmento bacteriano. Dessa forma, pode-se contribuir para o desenvolvimento de roupas que criem vínculo e instiguem o usuário a refletir sobre as novas relações entre a moda e o homem.

3.4.1.2 Aplicações biotecnológicas da violaceína

De acordo com Park *et al.* (2021), a violaceína é um biopigmento com função antibiótica típica que pode exercer efeitos citotóxicos contra o hospedeiro produtor. Para garantir um alto nível de produtividade, uma estratégia de melhoria na via biossintética pode ser implementada. Assim, estudos sobre a introdução de um sistema transportador de membrana ou a introdução de um mecanismo de resistência em um hospedeiro de produção são necessários. Como a violaceína está localizada na membrana celular de *C. violaceum* para proteger contra o estresse oxidativo, a introdução de um sistema de transporte em células nativas ou sistemas heterólogos

na membrana do hospedeiro ajudaria a diminuir a toxicidade da célula hospedeira e aumentar a produção de violaceína. Curiosamente, o uso combinado de violaceína com antibióticos comerciais é eficaz. A violaceína atua em sinergia com os antibióticos comerciais e pode ser usada como medicamento em combinação com outros agentes antimicrobianos.

As patentes internacionais relacionadas à violaceína depositadas nos Estados Unidos e na Europa concentraram-se principalmente na identificação e desenvolvimento de cepas produtoras de violaceína, construção de cepas recombinantes para produção em massa e desenho de processos. Recentemente, o uso da violaceína como biopolímero biológico e funcional tem aumentado. Além disso, as aplicações médicas, como o tratamento direcionado de doenças e infecções inflamatórias da pele e intestinais e a aplicação de biossensores à base de violaceína, são de interesse significativo (PARK *et al.*, 2021). No Quadro 3, pode-se observar algumas aplicações práticas de uso.

Quadro 3 – Aplicação de violaceína para uso final biologicamente assistido.

Fonte	Uso
<i>Chromobacterium violaceum</i>	Dissolver a violaceína em meio aquoso micelar usando líquidos iônicos tensoativos
<i>Chromobacterium violaceum</i>	Processos regulados por detecção de quórum
<i>Chromobacterium violaceum</i>	Nanopartículas de violaceína de ácido L-ascórbico antitumoral-PLGA
<i>Chromobacterium violaceum</i>	Nanopartículas antitumorais de PLGA-violaceína
<i>Chromobacterium violaceum</i>	Liberação controlada de microesferas de violaceína
<i>Chromobacterium violaceum</i>	Atividade antibacteriana sinérgica
Violaceína comercial	Compósitos de seda funcionais com violaceína para atividades antimicrobianas
<i>Janthinobacterium lividum</i>	Tecido funcional para atividades antimicrobianas e antifúngicas
<i>Escherichia coli</i> Top10 pVIO1-2	Cromóforo resistente ao fotobranqueamento para imagem bacteriana optoacústica e atividade antitumoral

Fonte: Adaptado de PARK *et al* (2021, p.18).

3.4.2 Processos Fermentativos para a Produção de Biopigmentos

A produção de biopigmentos a partir de microrganismos é independente das condições climáticas. Alternativas de fonte de biopigmentos incluem plantas que são altamente influenciadas pelas condições climáticas, enquanto o crescimento microbiano pode ser convenientemente controlado pela regulação das condições fisiológicas e nutritivas. A produção de biopigmentos de fontes microbianas é, portanto, vantajosa em relação aos biopigmentos à base de plantas (VENIL e LAKSHMANAPERUMALSAMY, 2009 apud SHARMA, 2018).

Sanchez (2018) afirma que a produção fermentativa de biopigmentos é um objetivo importante da biotecnologia moderna. Por meio da fermentação, os microrganismos que crescem com fontes baratas de carbono e nitrogênio podem produzir uma ampla gama de produtos valiosos, incluindo biopigmentos de origem microbiana. O desempenho da fermentação - como qualquer outro processo de fermentação - é avaliado pelo rendimento do produto, parâmetros de produtividade e título, enquanto normalmente parâmetros como substrato, utilidades de nutrientes e custos de processamento a jusante, respectivamente, impulsionam a economia do processo, e devem ser observados. Um dos principais objetivos da produção por meio da rota fermentativa é reduzir o custo dos substratos e melhorar a produtividade. Para alcançar esses objetivos são necessários a utilização de métodos no planejamento dos experimentos a fim de efetuar a otimização dos parâmetros pesquisados.

Vários autores têm produzido biopigmentos com origem microbiana. A cepa de *M. purpureus* FTC5357 foi utilizada na produção de monascrubramina com óleo de folha de palmeira como substrato (DAUD *et al.*, 2020). Um procedimento para a produção, extração e purificação de violaceína foi desenvolvido utilizando *Janthinobacterium* sp. cepa UV13 em meio TSB (Tryptona, digestão papaica de farinha de soja, glicose, cloreto de sódio e fosfato dipotássico) e glicose em biorreator de 5 L. Após 56 horas os autores obtiveram uma produção de 2,92 g/L com absorvância de 2,56 a 575 nm (ALEM *et al.*, 2020). Um procedimento para a produção de violaceína foi desenvolvido utilizando *Janthinobacterium lividum* 1522 em meio NB com adição de ampicilina e Glicose em biorreator de 2 L. Após 144h os autores obtiveram uma produção de 1,80 g/L (KANELLI *et al.*, 2018). A produção de violaceína por outros autores está apresentada na Tabela 2.

Tabela 2 – Análise demonstrativa da produção de violaceína utilizando diferentes componentes como substrato no meio de cultura.

CEPA	MEIO DE CULTURA	VIOLACEÍNA (g/L)	REFERÊNCIA
<i>C. violaceum</i> MTCC2656	Grãos de soja	1,504	Gohil <i>et al.</i> (2021)
<i>Iodobacter</i> sp. 7MAnt	TSA + Triptofano	0,108	Atalah <i>et al.</i> (2019)
<i>C. violaceum</i> UTM5	Resíduos de abacaxi líquido	0,367	Aruldass <i>et al.</i> (2015)
<i>C. violaceum</i>	Bagaço da cana-de-açúcar	0,820	Ahmad <i>et al.</i> (2012)

Fonte: Adaptado de GOHIL *et al.* (2021).

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 MATERIAL BIOLÓGICO

O microrganismo utilizado para obtenção da violaceína foi a bactéria *Janthinobacterium lividum* NRRL B-4320 equivalente a estirpe ATCC 12473™, fornecida pela ARS Culture Collection/NRRL (Illinois, Estados Unidos da América). Esta estirpe foi isolada de amostras de água do rio Illinois, Peoria-USA. A bactéria foi cultivada em meio TGY sólido complexo contendo 0,5% de triptona; 0,5% de extrato de levedura; 0,1% de K₂HPO₄; 0,1% de glicose; 1,5% ágar. A cultura foi preservada sob refrigeração em microtubos com solução salina 0,85% (4 °C) e em solução de glicerol 20% v/v (-20 °C).

4.2 ETAPA DE PREPARAÇÃO DO PRÉ-INÓCULO

Antes do preparo do pré-inóculo, 5 alçadas contendo colônias de *J. lividum* foram retiradas do microtubo e riscadas por esgotamento em placas de Petri contendo meio TGY sólido (conforme descrito no item 4.1) e incubadas por 24h em 25 °C. Após esse período, 5 alçadas contendo colônias de *J. lividum* foram retiradas da placa de Petri e inseridas em frascos Erlenmeyer de 125 mL contendo 20 mL de meio de cultura líquido TGY (0,5% de triptona; 0,5% de extrato de levedura; 0,1% de K₂HPO₄; 0,1% de glicose) e, em seguida, a cultura foi homogeneizada utilizando a alça de inoculação para desprender e homogeneizar as colônias no meio de cultura. O crescimento ocorreu sob agitação de 150 rpm em um agitador orbital (Forma Scientific) por 24h em temperatura de 25 °C. A cultura obtida após este período foi usada para inoculação.

4.3 ETAPA DE PREPARAÇÃO DOS RESÍDUOS

Para utilização dos resíduos de extrato de soja, extrato de cevada e extrato de casca de aveia como componentes no meio de cultivo, os resíduos foram secos em estufa com circulação de ar forçada e, em seguida, foram moídas em moinho industrial para que as partículas sejam quebradas em tamanhos menores. A farinha obtida foi peneirada em peneira com abertura mesh 60 (250 µm) para obtenção do pó. Este pó foi usado como componente do meio de cultivo.

4.4 ETAPA DE SELEÇÃO DE VARIÁVEIS E OTIMIZAÇÃO DO MEIO DE CULTURA

O meio líquido de cultivo para produção de biopigmento em fermentação submersa passou pela etapa de seleção de variáveis onde continha resíduos agroindustriais, matérias-primas de baixo custo, aminoácidos precursores biossintéticos, e outras fontes de carbono e nitrogênio, sendo eles: resíduo de extrato de cevada (0,5 - 2 g/L); levedura de cerveja (1 - 4 g/L); resíduo de farelo de aveia (0,1 - 4 g/L); sacarose (1 - 4 g/L); amido solúvel (1 - 4 g/L); resíduo de farelo de soja (0,5 - 2 g/L); soro de leite em pó (1 - 4 g/L); triptona (1 - 4 g/L); extrato de levedura (1 - 4 g/L); glicose (0,5 - 2 g/L); resíduo de extrato de malte (0,5 - 2 g/L); glicerol (0,5 - 2 g/L); L-triptofano (0,2 - 0,8 g/L); whey protein (0,5 - 2 g/L); K₂HPO₄ (2 - 8 g/L).

Com os 15 fatores citados, foi realizado um experimento considerando o delineamento Plackett Burman com 16 ensaios e 3 repetições no ponto central, para selecionar os fatores que apresentaram efeito significativo para a produção. Os níveis dos fatores utilizados são apresentados na Tabela 3, assim como a unidade e a codificação para a análise estatística.

Os frascos Erlenmeyer de 250 mL contendo 50 mL de meio de cultura ficaram incubados no período entre 48h e 72h sob agitação de 200 rpm em um agitador orbital (Forma Scientific) por 24h em temperatura de 25 °C. A produção do biopigmento foi analisada em um espectrofotômetro (Spectrum SP 2000-UV) a 575 nm (KOTHARI *et al.*, 2017). Os dados coletados foram analisados no software R (R Core Team, 2021).

Tabela 3 – Fatores determinantes para as condições de cultivo (continua).

	Variável	Sigla	Unidade	Codificação		
				-1	0	+1
1	Triptona	TRI	g/L	1	2,5	4
2	Extrato de Levedura	ELV	g/L	1	2,5	4
3	Glicose	GLC	g/L	0,5	1,25	2
4	K ₂ HPO ₄	KHP	g/L	2	5	8
5	Glicerol	GLY	g/L	0,5	1,25	2
6	Resíduo de Extrato de Malte	EMT	g/L	0,5	1,25	2
7	Sacarose	SAC	g/L	1	2,5	4
8	Resíduo de Farelo de Aveia	FLA	g/L	1	2,5	4

Tabela 3 – Fatores determinantes para as condições de cultivo (conclusão).

	Variável	Sigla	Unidade	Codificação		
				-1	0	+1
9	L-Triptofano	TRF	g/L	0,2	0,5	0,8
10	Levedura de Cerveja	LVC	g/L	0,5	1,25	2
11	Resíduo de Farelo de Soja	ESJ	g/L	0,5	1,25	2
12	Resíduo de Extrato de Cevada	ECV	g/L	0,5	1,25	2
13	Whey Protein	WHP	g/L	0,5	1,25	2
14	Soro de Leite em Pó	SOL	g/L	1	2,5	4
15	Amido Solúvel	AMD	g/L	1	2,5	4

Fonte: O autor (2020).

4.4.1 Otimização da Produção de Violaceína por *Janthinobacterium lividum*

A produção de violaceína foi avaliada em meio de cultura líquido TGY sob diferentes condições nutricionais e de crescimento. Para isso, a bactéria foi cultivada em 100 mL do meio TGY (0,5% de triptona; 0,5% de extrato de levedura; 0,1% de K₂HPO₄; 0,1% de glicose), por 24-48h a 25-30 °C sob agitação de 150-200 rpm. A densidade ótica (DO) foi avaliada por espectrofotometria a 600 nm, e a densidade celular da pré-cultura foi ajustada para 1.0. A pré-cultura foi inoculada em frascos Erlenmeyer de 250 mL contendo 100 mL de meio TGY.

As bactérias foram cultivadas em frascos Erlenmeyer de 100 mL com 40 mL de meio TGY conforme estabelecido no delineamento, utilizando como condições gerais em todos os tratamentos o pH 7.0 e a concentração do pré-inóculo de 5%. As condições de crescimento e a formulação do meio de cultivo de cada tratamento foram estabelecidas e o tratamento controle realizado em meio TGY, com três repetições. Amostras da cultura foram coletadas durante o período de crescimento e utilizadas para determinação da densidade ótica a 600 nm, biomassa, pH e concentração de violaceína.

Os fatores significativos para a produção de biopigmentos foram avaliados posteriormente para identificar os níveis ótimos destes fatores e a interação entre eles. No programa R (R Core Team, 2021), a matriz do delineamento Plackett Burman foi elaborada, utilizando o pacote FrF2 (GROEMPING, 2014), e os resultados analisados, utilizando o pacote rsm (LENTH, 2009).

4.5 PRODUÇÃO DE VIOLACEÍNA POR *J. lividum*

Frascos Erlenmeyer de 250 mL contendo 50 mL de meio de cultura (1 a 4 g/L de triptona; 1 a 4 g/L de extrato de levedura; 2 a 8 g/L de fosfato dipotássico; 0,2 a 0,8 g/L de L-triptofano; 0,5 a 2 g/L de farelo de soja; 0,5 a 2 g/L de extrato de cevada e 0,5 a 2 g/L de whey protein), foram inoculados com 1% (v/v) de células bacterianas de *J. lividum* NRRL B-4320 retiradas dos frascos Erlenmeyer de pré-inóculo, preparado como descrito anteriormente. As culturas foram incubadas em um agitador orbital (Forma Scientific), nas condições descritas acima. Para aumentar a produção de biopigmento, os frascos Erlenmeyer foram cultivados no meio de cultura com pH corrigido entre 5 a 9, sendo o pH ótimo de 7,0 a 8,0, e a temperatura ótima entre 20 e 25 °C. A agitação da cultura foi mantida entre 100 a 200 rpm. A cultura foi incubada por um período de 24h a 72h. A cultura assim obtida foi utilizada na extração e quantificação do biopigmento.

4.5.1 Etapa De Extração De Violaceína

Para extrair o biopigmento, 1 mL de cultura foi transferido do frasco Erlenmeyer e inserido em tubo Falcon de 15 mL. Foram inseridos de 2 a 10 mL de álcool etílico 96% e o extrato foi homogeneizada e, em seguida, foi sonicada (temperatura de 80 a 120 °C; frequência de 10 a 37 kHz; potência de 100 a 200 W) em um Sonicador (Elmasonic P) por 10 a 30min. Em seguida, a cultura foi homogeneizada por 5min a 10min em um agitador vórtex (Marconi MA 162/1) para liberar o biopigmento celular na solução de extração. Após estes procedimentos, o extrato obtido foi centrifugado (8.000 e 10.000 \times g; 5 a 10min; 15 a 25 °C) em uma ultracentrífuga (Megafuge 8R, Thermo Scientific). Após centrifugação, o sobrenadante contendo o biopigmento na cor violeta foi coletado e as células de tons branco-acinzentados foram sedimentadas no fundo do tubo.

4.5.2 Etapa De Quantificação De Violaceína

A concentração do biopigmento foi determinada por espectrofotometria em um espectrofotômetro (Spectrum SP 2000-UV) de acordo com o padrão 575 nm ($\epsilon_{575} = 2,97 \pm 0,09 \times 10^{-2}$ ml/ μ g por cm) de acordo com Rettori (2000). Para leitura da absorbância, o extrato contendo o biopigmento extraído foi diluído e homogeneizado com 2 mL de água destilada.

4.5.3 Etapa De Secagem da Violaceína

Após o processo fermentativo em frasco Erlenmeyer e quantificação da violaceína, o biopigmento foi seco em processo de liofilização no Laboratório de Análise de Materiais e Moléculas (LAMM/UEL) pela Técnica de Laboratório Cristina Aparecida Lopes. As amostras foram liofilizadas em tubos falcon de 50 mL, reunidas (10 tubos x 50 mL) e pesadas.

4.6 TINGIMENTO DO TECIDO DE SEDA

Amostras de tecido (5 cm x 5 cm) de composição 100% seda foram concedidas por fornecedores comerciais. Estas foram lavadas em água destilada com 1% de sabão neutro por 1h a 70 °C para remover a sujeira e resíduos de graxa e óleo e, em seguida, foram lavadas em água corrente. Após esse procedimento, o tecido foi tratado com 1 g de alúmen (Quimidrol® - FT-120/CAS N°: 7784-24-9) dissolvido em cerca de 7,5 mL de água e em 0,3 mL de água fervente, em 2,5 mL de glicerina por 45min a 70 °C. Posteriormente foi lavado com água corrente e deixado secar.

4.6.1 Métodos de Tingimento do Tecido de Seda

Para estabelecimento das condições mais apropriadas ao tingimento da seda foram testadas três abordagens de tingimento distintas: (1) tingimento com o biopigmento extraído; (2) tingimento após cultivo; (3) tingimento em co-cultivo. As amostras de tecido foram cortadas em pedaços de 5 cm x 5 cm e pesadas para utilização no tingimento.

No método 1, o extrato de violaceína foi dissolvido em etanol. As amostras de tecido (1 g) foram imersas em 20 mL de solução aquosa contendo extrato de violaceína. As concentrações de biopigmento e o tempo de tingimento foram testados para estabelecer as condições mais eficientes no processo, sendo elas 30min, 1h e 1h30min. Após o tingimento, o tecido foi lavado com Triton X-100 a 0,4% por 1h a 80 °C e, finalmente, com água destilada e seco em temperatura ambiente à sombra.

No método 2, a cultura de células (20 mL) foi fervida por 10min para liberação do biopigmento e, em seguida, amostras de tecido (1 g) foram imersas e submetidas por mais 20min à fervura. Após o tingimento, o tecido foi autoclavado e lavado com

Triton X-100 a 0,4% por 1 h a 80 °C e, finalmente, com água destilada. A secagem foi em temperatura ambiente à sombra.

No método 3, amostras de tecido (1 g) foram esterilizadas em autoclave, adicionadas aos frascos Erlenmeyer de 50 mL contendo 20 mL de meio inoculado com *J. lividum*. As condições de cultivo foram as mesmas descritas no item 4.5 acima. Após incubação, as amostras de tecido tingido foram autoclavadas e lavadas com Triton X-100 a 0,4% por 1h a 80 °C e, finalmente, com água destilada e secas à sombra.

4.6.2 Fixação do Biopigmento Pós-Tingimento

Após o tingimento, para fixação da cor e resistência à luz, os pedaços de tecido de seda foram imersos em uma solução saturada de tioureia a 1% ~ (1: 300) por cerca de 3min à temperatura ambiente, escorridos e lavados com água morna (deionizada a 40 °C) por 2min e secos à sombra.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 SELEÇÃO E OTIMIZAÇÃO DAS VARIÁVEIS DE PRODUÇÃO DE VIOLACEÍNA

O estudo mostra a potencialidade do farelo de soja com suplementação com L-triptofano como um possível substituto para meios de crescimento complexos comerciais para a produção de violaceína por *J. lividum*.

Em seguida, foi realizado o experimento denominado de Bloco 1 com 19 ensaios englobando os 15 fatores analisados, sendo três deles com as mesmas quantidades médias (1, 10 e 19), denominados pontos centrais. Os resultados do experimento estão indicados na Tabela 4 a seguir:

Tabela 4 – Resultados do experimento de otimização com 15 fatores em 48h.

Ensaio	Violaceína (575 nm)		DO (750 nm)	
	Bloco 1	Bloco 2	Bloco 1	Bloco 2
1	5,03	6,79	3,360	4,230
2	2,32	3,55	3,951	5,208
3	1,91	3,03	1,422	1,698
4	3,67	3,70	2,448	3,135
5	5,45	N/A	3,318	N/A
6	5,44	6,55	4,197	3,825
7	2,26	2,54	3,708	4,704
8	2,97	4,32	3,024	4,161
9	2,92	3,73	2,733	3,570
10	4,13	6,92	2,727	4,200
11	2,11	5,84	2,994	4,326
12	2,09	3,23	2,565	3,585
13	2,95	4,61	3,480	4,914
14	8,15	8,38	2,490	3,675
15	5,70	6,06	2,085	1,581
16	3,60	4,60	3,099	4,350
17	3,87	3,81	3,120	4,404
18	5,95	6,79	2,928	4,566
19	4,66	7,21	2,406	4,197

Fonte: O autor (2020).

Conforme apresentado na Tabela 4, a DO foi alterada para 750 nm devido a influência da cor do biopigmento na leitura do experimento. O frasco 14 apresentou a maior produção de violaceína indicando uma absorbância de 8,15. Uma repetição do mesmo experimento para confirmação dos dados foi realizada com os mesmos

parâmetros, denominado Bloco 2. Após os experimentos, foi confirmado que o ensaio 14 manteve a maior produção de biopigmento com uma absorvância de 8,38. O ensaio 5 foi danificado durante o experimento e, portanto, está definido como observação faltante. Na Tabela 5 são apresentadas as estimativas dos parâmetros do modelo completo, considerando todos os fatores, e o teste t, indicando os fatores significativos. Para a seleção dos fatores foi utilizado o critério de informação de Akaike (AKAIKE, 1981).

Tabela 5 – Estimativa dos parâmetros do modelo selecionado para a variável resposta para produção de violaceína por *J. lividum* utilizando os 15 fatores.

Fatores	Estimado	Erro padrão	Valor-t	Valor-p
Intercepto	3.956842	0.225466	17.5496	1.289e-13*
TRI ^a	-0.242880	0.179315	-1.3545	0.190686
ELV ^b	-0.658370	0.179315	-3.6716	0.001514*
GLC ^c	0.201495	0.179315	1.1237	0.274451
KHP ^d	-0.433505	0.179315	-2.4176	0.025295*
GLY ^e	-0.177745	0.179315	-0.9912	0.333409
EMT ^f	-0.145380	0.179315	-0.8108	0.427051
SAC ^g	0.041630	0.179315	-0.2322	0.818771
FLA ^h	-0.012745	0.179315	-0.0711	0.944044
TRF ⁱ	1.125870	0.179315	6.2787	3.948e-06*
LVC ^j	-0.035870	0.179315	-0.2000	0.843471
ESJ ^k	-0.473995	0.179315	-2.6434	0.015590*
ECV ^l	-0.528505	0.179315	-2.9474	0.007964*
WHP ^m	0.288370	0.179315	1.6082	0.123470
SOL ⁿ	-0.140870	0.179315	-0.7856	0.441310
AMD ^o	-0.223995	0.179315	-1.2492	0.226026

* $p < 0,05$. ^aTriptona. ^bExtrato de levedura. ^cGlicose. ^dK₂HPO₄. ^eGlicerol. ^fResíduo de extrato de malte. ^gSacarose. ^hResíduo de farelo de aveia. ⁱL-Triptofano. ^jLevedura de cerveja. ^kResíduo de farelo de soja. ^lResíduo de extrato de cevada. ^mWhey protein. ⁿSoro de leite em pó. ^oAmido solúvel.

Fonte: O autor (2021).

Os fatores que apresentaram efeito significativo (p -valor $< 0,05$) foram o ELV, KHP, TRF, ESJ e ECV, sendo eles extrato de levedura, K₂HPO₄, L-triptofano, resíduo de farelo de soja, resíduo de extrato de cevada respectivamente conforme mostra a Tabela 6. Os fatores TRI e WHP, sendo triptona e whey protein, também foram selecionados utilizando o critério de informação de Akaike (AKAIKE, 1981). Os níveis, de cada um dos fatores, utilizados no novo experimento estão apresentados na Tabela 6.

Tabela 6 – 7 fatores escolhidos para o processo de otimização.

Variável	Sigla	Unidade	Codificação		
			-1	0	+1
Triptona	TRI	g/L	1	2,5	4
Extrato de Levedura	ELV	g/L	1	2,5	4
K ₂ HPO ₄	KHP	g/L	2	5	8
L-Triptofano	TRF	g/L	0,2	0,5	0,8
Resíduo de Farelo de Soja	ESJ	g/L	0,5	1,25	2
Resíduo de Extrato de Cevada	ECV	g/L	0,5	1,25	2
Whey Protein	WHP	g/L	0,5	1,25	2

Fonte: O autor (2020).

Uma nova matriz do delineamento Plackett Burman com 8 ensaios e 3 repetições no ponto central foi realizada e as respostas analisadas em dois blocos sendo 48h e 72h respectivamente, conforme mostra a Tabela 7.

Tabela 7 – Matriz Plackett Burman com as variáveis estudadas e respectivas respostas da produção de violaceína por *J. lividum*.

Ensaio	TRI ^a	ELV ^b	KHP ^c	TRF ^d	ESJ ^e	ECV ^f	WHP ^g	RESP ^h	
								48h	72h
1	2,5	2,5	5	0,5	1,25	1,25	1,25	6,56	6,25
2	4	1	8	0,8	2	2	2	8,70	9,00
3	1	1	8	0,2	0,5	2	0,5	2,95	2,81
4	1	1	2	0,2	2	0,5	2	3,23	3,44
5	1	4	2	0,8	2	2	0,5	4,88	5,05
6	2,5	2,5	5	0,5	1,25	1,25	1,25	5,80	5,54
7	4	1	2	0,8	0,5	0,5	0,5	5,75	6,15
8	4	4	8	0,2	2	0,5	0,5	3,28	3,08
9	1	4	8	0,8	0,5	0,5	2	6,00	6,15
10	4	4	2	0,2	0,5	2	2	4,51	4,70
11	2,5	2,5	5	0,5	1,25	1,25	1,25	5,73	5,75

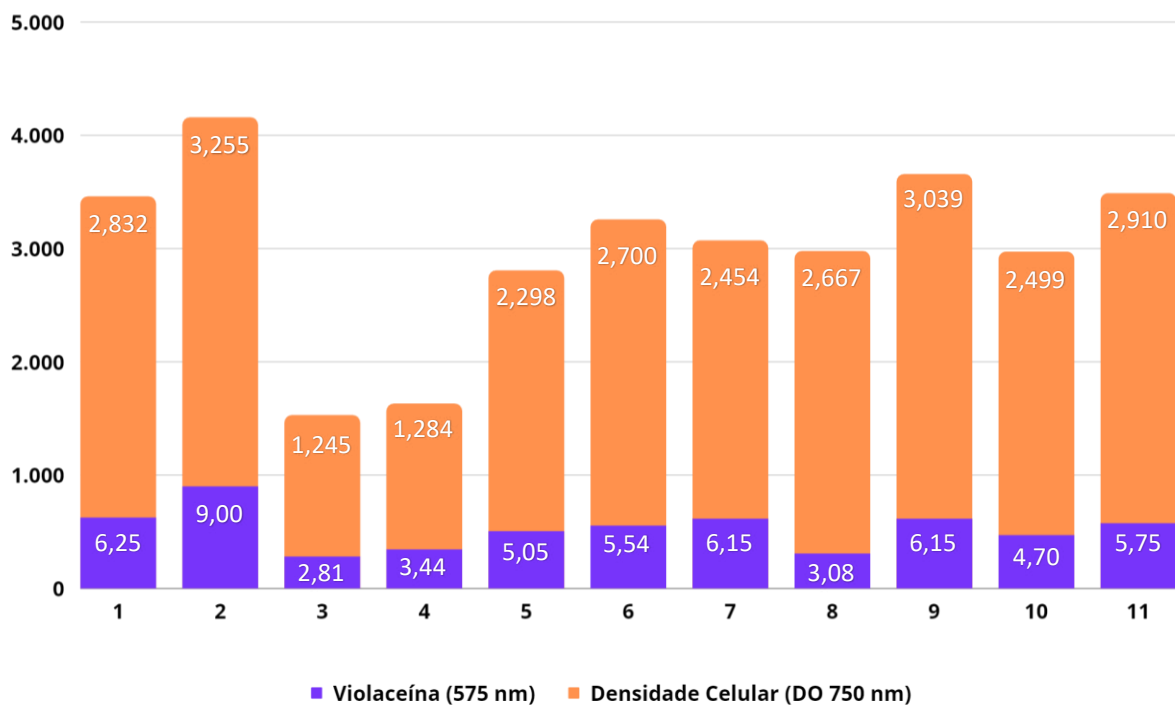
^aTriptona. ^bExtrato de levedura. ^cK₂HPO₄. ^dL-Triptofano. ^eResíduo de farelo de soja. ^fResíduo de extrato de cevada. ^gWhey protein. ^hResposta em DO 575nm.

Fonte: O autor (2020).

Os resultados mostram que o ensaio 2 apresenta a maior absorvância em 48h e 72h. A produção do biopigmento violaceína no ensaio 2 possui resultado parecido com o ensaio 14 apresentado na Tabela 4, sendo 8,70 A e 8,38 A respectivamente. O Erlenmeyer controle de 250 mL (meio TGY) apresentou uma absorvância de 3,18. Há um aumento considerável de aproximadamente 2,7x na produção de biopigmento utilizando os resíduos agroindustriais no processo otimizado. A relação entre o valor de DO difere-se do valor da produção de violaceína conforme apresentado nas imagens do Anexo 1.

Analisando a produção de biopigmento nas condições estabelecidas neste processo, a maior produção foi observada nas condições de cultivo presentes no ensaio 2 com uma absorvância de 9,00 em 72h (Figura 15). O frasco Erlenmeyer controle de 250 mL contendo 50 mL do meio TGY, teve uma absorvância de 3,86, ou seja, um aumento de cerca de 2,4x.

Figura 15 – Acúmulo de biomassa e produção de violaceína por *Janthinobacterium lividum* em 72h.



Fonte: O autor (2022).

Tabela 8 – Estimativa dos parâmetros do modelo selecionado para a variável resposta para produção de violaceína por *J. lividum* utilizando os 7 fatores em 72h.

Fatores	Estimado	Erro padrão	Valor-t	Valor-p
Intercepto	6.108239	0.298052	20.4939	0.000254 ***
TRI ^a	0.685000	0.211394	3.2404	0.047836 *
ELV ^b	-0.302500	0.211394	-1.4310	0.247821
KHP ^c	0.212500	0.211394	1.0052	0.388844
TRF ^d	1.540000	0.211394	7.2850	0.005339 **
ESJ ^e	0.026746	0.094795	0.2821	0.796176
ECV ^f	-0.098654	0.094795	-1.0407	0.374511
WHP ^g	-0.317787	0.094795	-3.3524	0.043982 *

* $p < 0,05$. ^aTriptona. ^bExtrato de levedura. ^cK₂HPO₄. ^dL-Triptofano. ^eResíduo de farelo de soja. ^fResíduo de extrato de cevada. ^gWhey protein.

Fonte: O autor (2022).

As condições de crescimento e produção de biopigmento estabelecidas no ensaio 2, nas mesmas concentrações do ensaio de 48h, possibilitaram o melhor crescimento, estimado pela densidade celular e a maior produção de biopigmento. A composição do meio de cultivo e a quantidade destes componentes foram determinantes para a maior produção observada no ensaio 2. Conforme mostra a Tabela 8, os fatores mais significativos foram a triptona, triptofano e whey protein.

5.2 OBTENÇÃO DO BIOPIGMENTO SECO

Após o processo de liofilização da cultura desta pesquisa alcançou uma estimativa de 9,88 g/L de extrato de violaceína com um desvio padrão de 0,68 g/L. A suplementação estratégica de L-triptofano ao meio mostrou excelente competência na produção de violaceína. Juntamente com o extrato de levedura que é conhecido por auxiliar no aumento da massa celular, contribuiu-se para a elevação da violaceína neste estudo (DEMOSS e HAPPEL, 1959 apud MENDES *et al.*, 2001). No entanto, uma faceta incontestável do uso de meios de crescimento comercial é seu custo elevado no mercado. O meio LB, utilizado por alguns autores para o crescimento de *J. lividum*, é vendido a US\$ 182/kg (caldo LB Miller, Merck). Em oposição a isso, o farelo de soja é vendido a um preço muito barato de aproximadamente US\$ 360/tonelada métrica (farelo de soja, Market Insider). Embora se possa escolher uma perspectiva diferente considerando o custo do L-triptofano (US\$ 707/kg) (L-triptofano,

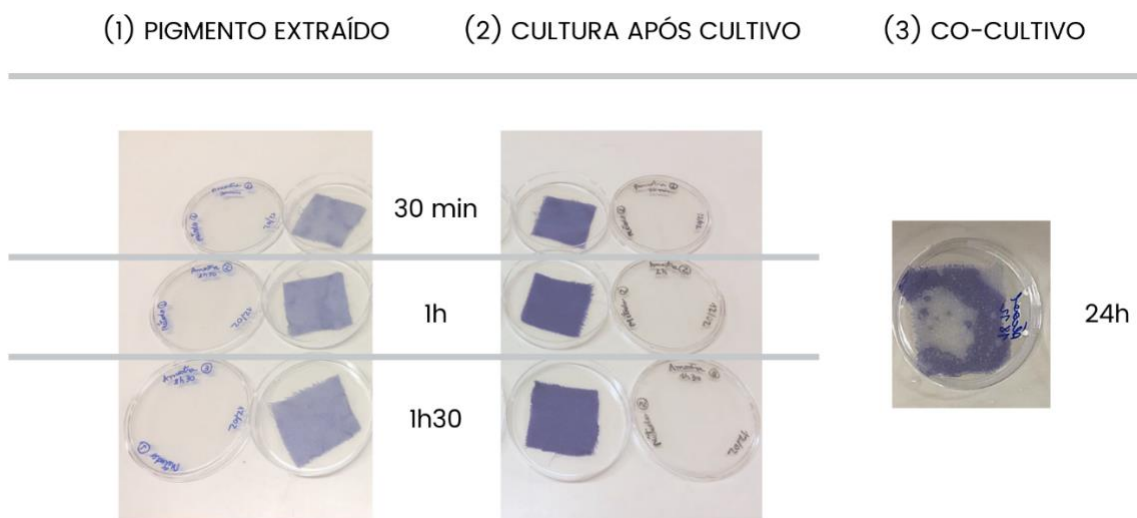
Merck), é importante ter em mente que a concentração de L-triptofano adicionado como suplemento é de apenas 100 mg/L, que deve resolver qualquer dúvida sobre a acessibilidade do meio com os resíduos agroindustriais.

A produção de violaceína foi relatada utilizando meios comerciais ou resíduos agroindustriais (Tabela 9). Alem *et al.* (2020) teve uma produção de violaceína de 2,92 g/L de violaceína a partir de *Janthinobacterium* sp. cepa UV13. Atalah *et al.* (2019) utilizaram a cepa de *Iodobacter* sp. 7MAnt e obteve 0,108 g/L. Usando resíduos líquidos de abacaxi a 10% v/v, Aruldass *et al.* (2015) obtiveram 0,285 g/L de violaceína bruta de *C. violaceum* UTM5. Este rendimento foi ainda aumentado até 0,367 g/L por suplementação de 0,150 mg/L de L-triptofano. Da mesma forma, Ahmad *et al.* (2012) analisaram diversos resíduos agrícolas e produziram 0,820 mg/L de violaceína bruta usando 3% (p/v) de bagaço de cana-de-açúcar com 100 ppm de L-triptofano. A otimização dos parâmetros de fermentação do presente trabalho demonstrou claramente um aumento na produção de violaceína.

5.3 TESTES DE TINGIMENTO DO TECIDO DE SEDA

Testes de tingimento foram realizados de acordo com a metodologia descrita anteriormente. Os resultados nos mostram parâmetros satisfatórios quanto a fixação do biopigmento na fibra, resistência à lavagem/luz e solidez da cor conforme apresentados na Figura 16.

Figura 16 – Métodos de tingimento 1, 2 e 3.



Fonte: O autor (2020).

Todos os métodos foram satisfatórios, com diferentes tipos de resultados. No método 1 teve a alteração de cor quando o tecido entrou em contato com o biopigmento extraído em etanol. No entanto, visualmente ele apresentou uma cor mais clara e algumas manchas brancas demonstrando o não-tingimento de forma uniforme.

O método 2, o mais simplificado entre eles, mostrou o melhor resultado de tingimento, pois manteve a coloração original e distribuição igual no tecido sem a presença de manchas em 1h de tingimento. Ele pode ser inserido no setor industrial sem que sejam necessárias alterações significativas nos processos e maquinários que são utilizados hoje.

O método 3 apresentou a fixação do biopigmento de acordo com o formato que as colônias bacterianas faziam ao crescer no meio de cultura em contato com o tecido. Inicialmente, esse método não seria viável para aplicação industrial pois teriam que ser desenvolvidos novos processos de inserção na indústria ou desenvolvimento colaborativo entre a indústria e laboratórios especializados. Além disso, até a liberação do biopigmento na fibra leva em torno de 24h, um tempo de tingimento alto comparado aos métodos de tingimentos industriais de hoje.

6 CONCLUSÃO

O processo de otimização realizado evidencia a produção de 9,88 g/L de extrato de violaceína mostrando ter qualificações promissoras para futuros testes em escala piloto e uma posterior aplicação industrial. A produção com o meio de cultura otimizado mostrou um aumento de aproximadamente 2,7x em relação ao meio padrão TGY. Os parâmetros analisados mostraram que os fatores mais significativos para a produção foram a triptona, triptofano e whey protein.

Os três métodos de tingimento testados são bem flexíveis, ajustando-se aos pontos exigidos pelos padrões industriais passíveis de poucas alterações nos processos utilizados atualmente, como o método 2 que teve a maior eficácia. O método 1 não é recomendado para aplicação industrial, com exceção dos casos em que o produto deva ter as características físicas explicadas nesse método. O método 3 também não é indicado, pois ainda possui algumas barreiras de adaptação ou coprodução com outras empresas especializadas na área biotecnológica.

As perspectivas futuras envolvem testes de produção em escala piloto/industrial utilizando biorreatores para comprovação prévia se a produção terá as mesmas concentrações obtidas nesse estudo e as análises laboratoriais de quantificação, toxicidade e purificação. Contudo, conclui-se que a definição de parâmetros e otimização do processo fermentativo para produção de violaceína por *Janthinobacterium lividum* e a avaliação do seu uso no tingimento do tecido de seda tiveram resultados satisfatórios.

REFERÊNCIAS

- ABIT. **Superintendência de políticas industriais e econômicas**, 2019. Disponível em: < <https://www.abit.org.br/uploads/arquivos/monitor%20outubro.pdf> > Acesso em: 27 Jun 2020.
- AHMAD, W.A., YUSOF, N.Z., NORDIN, N. *et al.* **Production and Characterization of Violacein by Locally Isolated Chromobacterium violaceum Grown in Agricultural Wastes**. Appl Biochem Biotechnol 167, P.1220–1234, 2012.
- ALEM, D., MARIZCURRENA, J. J., SARAIVA, V., DAVYT, D., MARTINEZ-LOPEZ, W., & CASTRO-SOWINSKI, S. **Production and antiproliferative effect of violacein, a purple pigment produced by an Antarctic bacterial isolate**. World Journal of Microbiology and Biotechnology, 2020.
- AKAIKE, H. **Modern development of statistical methods**. In P. Eykhoff (Ed.), Trends and progress in system identification, P.169–184, 1981 New York: Pergamon Press.
- ARAMWIT, P. **Wound Healing Biomaterials: Introduction to biomaterials for wound healing**. P.3-38, 2016. Disponível em: < https://www.researchgate.net/publication/303791400_Introduction_to_biomaterials_for_wound_healing > Acesso em: 26 Jun 2020.
- ARULDASS, C. A.; RUBIYATNO.; VENILA, C. K.; AHMAD, W. A. **Violet pigment production from liquid pineapple waste by Chromobacterium violaceum UTM5 and evaluation of its bioactivity**, 2015.
- ATALAH, J., BLAMEY, L., MUÑOZ-IBACACHE, S., GUTIERREZ, F., URZUA, M., ENCINAS, M. V., ... BLAMEY, J. M. **Isolation and characterization of violacein from an Antarctic Iodobacter: a non-pathogenic psychrotolerant microorganism**, 2019.
- BARBOSA, D., ROCHA, K. **Aplicação de catalisadores à base de Nióbio na fotocatalise visando a degradação de corantes da indústria têxtil**, 2014. 10.13140/2.1.2812.4488.
- BASTIAN, E. Y. O. **Guia técnico ambiental da indústria têxtil**. Elaboração Elza Y. Onishi Bastian, Jorge Luiz Silva Rocco; colaboração Eduardo San Martin ... [et al.]. - São Paulo : CETESB : SINDITÊXTIL, 2009.
- BROMBERG, N.; DURAN, N. **Violacein transformation by peroxidases and oxidases: implications on its biological properties**. Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic, v. 11, p. 463-467, 2001.
- CARVALHO, J. C; CARDOSO, L. C; GHIGGI, V; WOICIECHOWSKI, A. L; VANDENBERGHE, L. P. S. e SOCCOL, C. R. **Microbial pigments**. Biotransformation of Waste Biomass into High Value Biochemicals, Cap. 4. P.73-97, 2013. Disponível em: <http://dx.doi.org.10.1007/978-1-4614-8005-1_4> Acesso em: 23 Nov 2020.

CHEN, F.; HE, W.; TIAN, Z.; WANG, L. **Impacts of Silk Garment Production on Water Resources and Environment: Sustainable Development of Water and Environment**, *Environmental Science and Engineering*. P.311-319, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/978-3-030-45263-6_28> Acesso em: 27 Nov 2020.

CHERNIN, L.S.; WINSON, M.K.; THOMPOSN, J.M.; HARAN, S.; BYCROFT, B.W.; CHET, I.; WILLIAMS, P.; STWEART, G.S. **Chitinolytic activity in Chromobacterium violaceum: substrate analysis and regulation by quorum sensing**. *Journal of Bacteriology*, v. 180, P. 4435-4441, 1998.

CHEQUER, F. M. D.; OLIVEIRA, G. A. R.; FERRAZ, E. R. A.; CARDOSO, J. C.; ZANONI, M.V. B.; OLIVEIRA, D. P. **Textile Dyes: Dyeing Process and Environmental Impact**, Intech, 2013. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.5772/53659>> Acesso em: 27 Jun 2020.

DAUD, N., SAID, F., RAMU, M., AND YASIN, N. **Evaluation of bio-red pigment extraction from Monascus purpureus FTC5357**. *IOP Conf. Ser. Mater. Sci. Eng.* 736:022084. doi: 10.1088/1757-899X/736/2/022084, 2020.

DIVITIIS, M. **Balanco da indústria têxtil e de confecção 2019**. Fashion United, 2019. Disponível em: <<https://fashionunited.com.br/news/business/balanco-da-industria-texil-e-de-confeccao-2019-1576877129/20191220112057>> Acesso em: 27 Jun 2020.

DURAN, N; JUSTO, G. Z.; DURÁN, M; BROCCCHI, M; CORDI, L; TASIC, L; CASTRO, G. R.; NAKAZATO, G. **Advances in Chromobacterium violaceum and properties of violacein-Its main secondary metabolite: A review**, P.1030-1045, 2016.

FEMA. **A new textiles economy: Redesigning fashion's future**, 2017. Disponível em: <<http://www.ellenmacarthurfoundation.org/publications>> Acesso em: 27 Jun 2020.

FILHO, A. M. F. **Consumeirismo e reflexos na atividade empresarial as implicações do consumo consciente ou socialmente responsável**. In: *Âmbito Jurídico*, Rio Grande, ed. 59, 2008. Disponível em: <<https://ambitojuridico.com.br/cadernos/direito-ambiental/relacoes-de-consumo-x-meio-ambiente-em-busca-do-desenvolvimento-sustentavel/>> Acesso em: 27 Nov 2020.

FUJITA, R. M. L.; JORENTE, M. J. **A Indústria Têxtil no Brasil: uma perspectiva histórica e cultural**. *Revista ModaPalavra e-Periódico*, 2015. Disponível em: <<https://www.redalyc.org/pdf/5140/514051496008.pdf>> Acesso em: 26 Jun 2020.

GANDRA, A. **Setor têxtil tenta se reinventar para enfrentar a pandemia de covid-19**. Agência Brasil, 2020. Disponível em: <<https://agenciabrasil.ebc.com.br/economia/noticia/2020-04/setor-textil-tenta-se-reinventar-para-enfrentar-pandemia-de-covid-19>> Acesso em: 27 Jun 2020.

GOHIL, N.; BHATTACHARJEE, G.; GAYKE, M.; NARODE, H.; ALZHRANI, K. J.; SINGH, V. **Enhanced production of violacein by *Chromobacterium violaceum* using agro-industrial waste soybean meal**. Journal of Applied Microbiology, 2021. Disponível em: <<https://sfamjournals.onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/jam.15277>> Acesso em: 10 Nov 2021.

GROEMPING, U. **R Package FrF2 for Creating and Analyzing Fractional Factorial 2-Level Designs**. Journal of Statistical Software, 56(1), 1-56. Disponível em: <<http://www.jstatsoft.org/v56/i01/>> Acesso em: 10 Nov 2021.

GURSES, A. **The Impact and Prospects of Green Chemistry for Textile Technology: Sustainable colorants**. Elsevier, P.21-35, 2019.

G1. **Fio da seda do Brasil é o mais branco do mundo e reconhecido pela alta qualidade; veja como é sua produção**. Globo Rural, 2020. Disponível em: <<https://g1.globo.com/economia/agronegocios/globo-rural/noticia/2020/08/30/fio-da-seda-do-brasil-e-o-mais-branco-do-mundo-e-reconhecido-pela-alta-qualidade-veja-como-e-sua-producao.ghtml>> Acesso em: 25 Nov 2020.

IEDI. **O encolhimento do Brasil no mundo industrial**, 2020. Disponível em: <https://iedi.org.br/cartas/carta_iedi_n_1032.html> Acesso em: 27 Nov 2020.

KANELLI, M.; MANDIC, M.; KALAKONA, M.; VASILAKOS, S.; KEKOS, D.; NIKODINOVIC-RUNIC, J.; TOPAKAS, E. **Microbial Production of Violacein and Process Optimization for Dyeing Polyamide Fabrics With Acquired Antimicrobial Properties**, 2018. P.1-13

KOTHARI, V.; SHARMA, S. e PADIA, D. **Recent research advances on *Chromobacterium violaceum***. Asian Pacific Journal of Tropical Medicine, P.744–752, 2017. Disponível em: <[doi:10.1016/j.apjtm.2017.07.022](https://doi.org/10.1016/j.apjtm.2017.07.022)> Acesso em 28 Nov 2020.

KHAN, S; MALIK, A. **Environmental and Health Effects of Textile Industry Wastewater**. Environmental Deterioration and Human Health, 2013. P. 55–71.

LANGE, C. R. **Estudo das condições operacionais do processo de tingimento de fibra mista acrílico/algodão em bobina cruzada**, 2004. Disponível em: <<https://repositorio.ufsc.br/bitstream/handle/123456789/87736/212405.pdf?sequence=1>> Acesso em: 27 Jun 2020.

MENDES, A. S.; CARVALHO, J. E.; DUARTE, Marta C.T.; DURAN, Nelson; Bruns, R.E. **Factorial design and response surface optimization of crude violacein for *Chromobacterium violaceum* production**. Biotechnology Letters, v. 23, P. 1963-1969, 2001.

OH, W. T.; GIRI, S. S.; YUN, S.; KIM, H. J.; KIM, S. G.; KIM, S. W., *et al.* ***Janthinobacterium lividum* as An Emerging Pathogenic Bacterium Affecting Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*) Fisheries in Korea**, P. 2-10, 2019.

PARK, H., PARK, S., YANG, Y.-H., & CHOI, K.-Y. **Microbial synthesis of violacein pigment and its potential applications**. *Critical Reviews in Biotechnology*, 41, P.879–901, 2021. Disponível em: <<https://www.tandfonline.com/doi/full/10.1080/07388551.2021.1892579>> Acesso em: 09 Nov 2021.

QUÍMICA INTELIGENTE. **Corantes naturais**, 2021. Disponível em: <http://quimicainteligente.ind.br/corantes-naturais/>> Acesso em: 09 Nov 2021.

R CORE TEAM. **R: A language and environment for statistical computing**. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. 2021 Disponível em: <https://www.R-project.org/>.

RETTORI, D. **Estudos físico-químicos e biológicos da violaceína: um pigmento produzido pela Chromobacterium violaceum**. 139 f. Tese (Doutorado do Instituto de Química) - Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2000.

LENTH, R. V. **Response-Surface Methods in R, Using rsm**. *Journal of Statistical Software*, 32(7), 1-17, 2009. DOI: 10.18637/jss.v032.i07

SANCHEZ, S. *Encyclopedia of Food Microbiology | FERMENTATION (INDUSTRIAL) | Production of Amino Acids*. P.778–784, 2014. Disponível em: <[doi:10.1016/B978-0-12-384730-0.00373-6](https://doi.org/10.1016/B978-0-12-384730-0.00373-6)> Acesso em: 09 Nov 2021.

SANFINS, L. **Cenário do mercado têxtil e de vestuário no Brasil**, 2021. Disponível em: <<https://mediprobrasil.com.br/2021/03/22/mercado-textil-vestuario-no-brasil/>> Acesso em: 02 Nov 2021.

SCHINDLER, W. D. e HAUSER, P. J. **Chemical finishing of textiles**. Woodhead Publishing. P.1-224, 2004.

SEN, T; BARROW, C. J. e DESHMUKH, S. K. **Microbial Pigments in the Food Industry—Challenges and the Way Forward**. *Frontiers in Nutrition*, P.1-37, 2019. Disponível em:<<https://doi.org/10.3389/fnut.2019.00007>> Acesso em: 24 Nov 2020.

SHARMA, P.; SINGH, T. A.; BHARAT, B.; BHASIN, S.; MODI, H.A. **Approach towards different fermentative techniques for the production of bioactive actinobacterial melanina**. *Beni-Suef University Journal of Basic and Applied Sciences*, 2018. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S231485351830177X>> Acesso em: 09 Nov 2021.

SIVARAM, M. N.; GOPAL, P. M.; BARIK, D. **Energy from Toxic Organic Waste for Heat and Power Generation: Toxic waste from textile industries**. Elsevier. P.43-54, 2019. Disponível em:<<https://doi.org/10.1016/B978-0-08-102528-4.00004-3>> Acesso em: 27 Jun 2020.

TAO, H.; KAPLAN, D. L. e OMENETTO, F. G. **Silk Materials - A Road to Sustainable High Technology**. *Advanced Materials*. P. 2824–2837, 2012. Disponível em: <doi:10.1002/adma.201104477> Acesso em: 27 Nov 2020.

TEX BRASIL. **Dados Da Indústria Têxtil E De Confecção Referentes A 2019, 2020**. Disponível em: < <https://texbrasil.com.br/pt/imprensa/dados-da-industria-textil-e-de-confeccao/>> Acesso em: 27 Nov 2020.

TEXTÍLIA. **A pandemia e o declínio do Brasil na indústria mundial**, 2021. Disponível em: <http://www.textilia.net/materias/ler/textil/conjuntura/pandemia_e_o_declinio_do_brasil_na_industria_mundial > Acesso em: 15 Out 2021.

TIRUMALE, S. e WANI, N. A. **Biopigments: Fungal Pigments**. *Fungi and Their Role in Sustainable Development: Current Perspectives*, P.413–426, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/978-981-13-0393-7_23> Acesso em: 25 Nov 2020.

TWARDOKUS, R. G. **Reuso de água no processo de tingimento da indústria têxtil**. UFSC, 2004.

UNIDO. **Competitive industrial performance report 2018**, 2019. Disponível em: <<https://www.unido.org/sites/default/files/files/2019-05/CIP.pdf>> Acesso em 27 Nov 2020.

VALH, J. V.; MARECHAL, A. M. L.; VAJNHANDL, S.; JERIC, T.; SIMON, E. **Water in the textile industry**. University of Maribor. Elsevier. P.685-703, 2011.

VENEGAS, F. A.; KÖLLISCH, G.; MARK, K. *et al.* **The Bacterial Product Violacein Exerts an Immunostimulatory Effect Via TLR8**. *Scientific Reports* 9, 2019. Disponível em: <<https://doi.org/10.1038/s41598-019-50038-x>> Acesso em 27 Nov 2020.

VELOSO, L. A. **Corantes e Pigmentos**. Instituto de Tecnologia do Paraná. BRT, P.1-40, 2012.

ANEXO 1 – Esquema com Fotos dos Resultados da Pesquisa



ANEXO 2 – Protocolo de Pedido de Depósito de Patente



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 014648 6

Dados do Depositante (71)

Depositante 1 de 1

Nome ou Razão Social: UNIVERSIDADE ESTADUAL DE LONDRINA

Tipo de Pessoa: Pessoa Jurídica

CPF/CNPJ: 78640489000153

Nacionalidade: Brasileira

Qualificação Jurídica: Instituição de Ensino e Pesquisa

Endereço: RODOVIA CELSO GARCIA CD, KM 380 S/N CAMPUS
UNIVERSITARIO

Cidade: Londrina

Estado: PR

CEP: 86055-900

País: Brasil

Telefone: (043) 3371 5812

Fax: (043) 3371 5812

Email: aintecpi@uel.br

**PETICIONAMENTO
ELETRÔNICO**

Esta solicitação foi enviada pelo sistema Petição Eletrônica em 26/07/2021 às 15:05, Petição 870210067715

Dados do Pedido

Natureza Patente: 10 - Patente de Invenção (PI)

Título da Invenção ou Modelo de Utilidade (54): Processo de produção de biopigmento por *Janthinobacterium lividum*

Resumo: A presente invenção descreve um processo de produção de pigmento violaceína por *Janthinobacterium lividum* em meio de cultura formulado com resíduos agroindustriais, matérias-primas de baixo custo e aminoácidos precursores biossintéticos. O método compreende as etapas de manutenção e crescimento do microrganismo em meio específico, sob condições definidas de temperatura, pH e agitação. As condições otimizadas de cultivo resultaram na melhoria da produção do pigmento, com a maior produção foi alcançando uma absorbância de 9,00 A em 72 horas de cultivo. A combinação de componentes que proporcionou a maior produção de pigmento (tratamento 2) incluiu altos níveis de triptona, triptofano, soja, cevada, whey protein e K₂HPO₄ e baixo nível de extrato de levedura. O pigmento pode ser extraído da cultura e utilizado no tingimento de tecidos, fios e fibras ou passar por processos de secagem para obtenção do pigmento em pó. O pigmento em pó assim obtido, pode ser aplicado na indústria têxtil ou na fabricação de produtos de diversos setores produtivos como farmacêutica, cosmética, tintas, entre outros.

Figura a publicar: fig 1

Dados do Inventor (72)

Inventor 1 de 3**Nome:** ELISETE PAINS RODRIGUES**CPF:** 07809388797**Nacionalidade:** Brasileira**Qualificação Física:** Professor do ensino superior**Endereço:** Rua Caracas, 377, Apto 403.**Cidade:** Londrina**Estado:** PR**CEP:** 86050-070**País:** BRASIL**Telefone:** (43) 337 15812**Fax:****Email:** aintecsec@uel.br**Inventor 2 de 3****Nome:** AILTON PEREIRA**CPF:** 01141510243**Nacionalidade:** Brasileira**Qualificação Física:** Estudante de Pós Graduação**Endereço:** R S FRANCISCO ASSIS, 234 - AP 0401**Cidade:** Londrina**Estado:** PR**CEP:** 86020-510**País:** BRASIL**Telefone:** (43) 337 15812**Fax:****Email:** aintecsec@uel.br**Inventor 3 de 3**

**PETICIONAMENTO
ELETRÔNICO**

Esta solicitação foi enviada pelo sistema Petição Eletrônica em 26/07/2021 às 15:05, Petição 870210067715

Nome: GUILHERME BIZ
CPF: 33829738803
Nacionalidade: Brasileira
Qualificação Física: Professor do ensino superior
Endereço: Rua Eurico Hummig, 255, Torre 1, Apto 801.
Cidade: Londrina
Estado: PR
CEP: 86050-464
País: BRASIL
Telefone: (43) 337 15812
Fax:
Email: aintecsec@uel.br

Documentos anexados

Tipo Anexo	Nome
Comprovante de pagamento de GRU 200	Liquidação - Prof.ª Elisete..pdf
Desenho	DESENHO 26.07.21.pdf
Reivindicação	REIVINDICAÇÕES - 26.07.21.pdf
Relatório Descritivo	RELATÓRIO DESCRITIVO 26.07.21.pdf
Resumo	RESUMO - 26.07.21.pdf
Portaria	Decreto nomeacao SERGIO e DECIO.pdf
Documento de Cessão	Declaração Elisete (1).pdf
Documento de Cessão	DECLARAÇÃO DE CESSÃO - Ailton.docx- assinado (1).pdf
Documento de Cessão	Declaracao_GuilhermeBiz.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.

**PETICIONAMENTO
ELETRÔNICO**

Esta solicitação foi enviada pelo sistema Petição Eletrônica em 26/07/2021 às 15:05, Petição 870210067715