



UNIVERSIDADE DA BEIRA INTERIOR
Engenharia

Bio Fermented Colors - Pigmentos de Origem Bacteriana: Uma Alternativa Sustentável no Design de Moda e Têxtil

(versão final após defesa)

Joana Filipa da Silva Almeida Valadas Guimarães

Dissertação para obtenção do Grau de Mestre em
Design de Moda
(2º ciclo de estudos)

Orientadora: Professora Doutora Isabel Cristina Aguiar de Sousa e Silva
Gouveia

Covilhã, Janeiro de 2018

Dedicatória

AOS QUE FICAM PARA SEMPRE.

5.

Agradecimentos

NA DIAGONAL, DE TRÁS PARA A FRENTE E DA FRENTE PARA TRÁS,
NA VERTICAL E HORIZONTAL, QUERIA AGRADECER A TODAS AS
BACTÉRIAS MILAGROSAS QUE ME AJUDARAM A TERMINAR ESTE PROJETO.
JACTÉRIAS MILAGROSAS QUACA JUDARAM A TERMINAR ESTE PROJETO L,
OACTÉRIAS MILAGROSAS FAMÍLIA JUDARAM A TERMINAR ESTE PROJETO I,
PACTÉRIAS BINAGROSAS QUE MIROUDARAM A TERMI BÓRE STINTÃO ETN,
OACTÉRIAS MILAGROSAS QUE ME AJUDARAM A TERMI DAMA STE PROJETH,
BACTÉRIAS MILAGROSAS QUE ME AJUDARAM A TERMINAR ESTE PROJETA,
BACTÉRIAS MITIOMANEL QUE ME ALUDARCMALURDINHAS STE PROJETO,
BI STCREWS MILAGROSAS QUE ME AJÚDALA M A TERMINAR ESTE PROJETO,
BACTSRJORGELAGROSAS QUE ME AJUCÁRAM A TERMI NSRMACHADO JETO,
BACTPROFLUÍSLOURENÇO QUE ME AJUUIRAM A TERMI GASES STE PROJETO,
BACTÉRIAS MILOTSOSAS QUE ME AJDDA A A M A TERMINAR ESTE PROJETO,
BACTÉRIAS MILABORATÓRIO SE AJUDARAM A TERMI MDNANAIAE PROJETO,
BQUELSIAS MILACRISAS QUE MENJUDARADNALUCINDA ESTE PROJETO,
BACTÉRIAS MILAGROSAS QUE MHAJUDARAM A TERMINAR ESTE PROJETO,
BACTÉRIAS MILAGROSAS QUE ACAMUDARAM A TERMINAR ESTE PROJETO,
BACTÉRIAS RIRISROSAS QUE ME AJUDARAM A TERMINAR ENÊSNÊS JETO,
BACTEQUISMILABBIOTECTÊXTILUBIRAM A PROFISABELTE PROJETO,
BACTÉRIAS MIOIROSAS QUE ME AJUDARAM A TERMINAR ESTE PROJETO,
BACTÉRIAS MILAGROSAS QUE ME AJUBIRAM A TERMI NMUITO OBRIGADA.

Resumo

No momento em que vivemos, torna-se indispensável um acompanhamento constante sobre os perigos que colocamos ao nosso planeta e o impacto ambiental que, cada avanço tecnológico tem sobre a forma como moldamos a vida de gerações futuras. É necessário saber gerir de forma objetiva e criteriosa, as mais recentes descobertas em diversos campos, enriquecendo a nossa qualidade de vida sem, no entanto, prejudicar a sustentabilidade dos ecossistemas que nos rodeiam.

Deste modo, torna-se imprescindível criar soluções alternativas e viáveis para problemas que surgem pela contínua utilização de materiais derivados de petróleo, não-renováveis e de cariz sintético. Não se trata apenas, de criar soluções alternativas prolongando a durabilidade de matérias, cada vez mais escassas e finitas, mas encontrar um caminho sustentável que nos permita garantir a conservação ambiental, prevenção de problemas de saúde, com igual qualidade e custo inferior, dos meios de proveniência não-renováveis, a que estamos habituados a recorrer.

Existe uma crescente consciencialização pública, sobre a utilização de produtos benignos e não nocivos, tanto para o meio ambiente como para a saúde humana. São cada vez mais, os adeptos e entusiastas de diversas áreas que se interessam e desenvolvem tecnologias, a partir de compostos naturais, que irão servir diferentes aplicações.

No âmbito do setor têxtil, a contínua exploração na opção de materiais de origem renovável, tem vindo a ser cada vez mais significativa. A investigação de novas fontes, de corantes naturais, está a tornar-se numa vertente de grande investimento. Um dos modos de atuação está, intimamente, ligado à utilização de microrganismos na produção de pigmentos naturais, assunto que tem vindo a despertar grande interesse por diversos investigadores. Deste modo, a dissertação recaiu sobre este tema, visando uma perspetiva exploratória e adotando a metodologia Tentativa-Erro.

O objetivo deste projeto será delinear, novos processos de introdução de cor, em diversos materiais têxteis, tendo como ponto de partida a fermentação de vários microrganismos, pensados como corantes naturais alternativos, capazes de garantir o mesmo tipo de qualidade e características dos corantes sintéticos.

O uso de várias bactérias para produzir bio-pigmentos já é amplamente descrito na literatura, mas existem algumas questões ainda por explorar. Requereu experimentação e aperfeiçoamento de novas técnicas, que serão apresentadas, como soluções promissoras para aplicações futuras. Não obstante, teve-se em consideração a informação recolhida em várias publicações e revisões sobre todos os processos de tingimentos naturais, extração de pigmentos bacterianos, otimizações de processos, meios de fermentação, custos e estratégias de produção, tendo como particular foco a sua utilização na Indústria Têxtil e Design de Moda. Espera-se que esta abordagem inovadora possa abrir novas vias para o desenho de

opções renováveis utilizando microrganismos como fonte prioritária, respondendo a questões ambientais, capazes de serem industrializadas, reconhecendo o cumprimento de uma série de parâmetros que, dizem respeito à sustentabilidade do processo produtivo e, garantindo normas de qualidade exigidas pelos consumidores.

A pesquisa sobre a aplicação dos pigmentos de origem bacteriana levou ao desenvolvimento laboratorial necessário, convergindo no projeto de Design Conceptual - *Bio Fermented Colors*, onde os bio-pigmentos seriam o foco principal para o seu desenvolvimento.

Palavras-chave

Pigmentos Microbianos; Pigmentos Naturais; Corantes Naturais; Design de Moda Sustentável

Abstract

In these times we are living in it becomes impossible not to consider the danger we ourselves pose to the planet and the environmental impact each technological advancement may have on future generations. It is much needed to manage in the most rigorous and objective manner the most recent discoveries in every single field, improving our way of life with no, or very little, damage to the ecosystem and its sustainability.

It is crucial to come up with real practical solutions to the problems that the continuous dependency on fossil fuels, fossil fuels' derivatives, non-renewable and synthetic materials are causing. The point is not to make sure we endure the use of these materials through new and alternative solutions, such materials are becoming increasingly scarce and they are indeed finite. What we do need is to find a sustainable way that guarantees the conservation of the environment, health promotion and disease prevention, at a high quality level but at a lower cost than the non-renewable sources, we are used to rely upon.

There is a growing public awareness about the use of both safe and environmentally friendly products. There are more and more people interested in developing technology out of natural compounds to be later applied onto several industries.

In the textile industry there has been an ongoing quest for renewable materials. A great deal has been invested into research on new sources of natural pigments. Several researchers have been paying special attention to the use of microorganisms to obtain natural pigments which have already become one of the main areas of focus. Hence this dissertation will address that same subject, adopting an investigative approach making use of the trial and error method.

The use of bacteria to produce bio-pigments is already extensively described in the literature but there are still issues to be addressed. That will definitely require experimentation and the improvement of new techniques, which can very likely become promising solutions to future applications. The goal of this project is to outline new methods of color application in different textile materials, based on the fermentation process of microorganisms thought out as alternative natural dyes capable of guaranteeing the same quality level and characteristics of the synthetic dyes.

Regardless, it will be taken into account the information collected from several publications on natural dye processes, extraction of bacterial pigments, process optimization, types of fermentation, costs as well as production strategies without ever forgetting its application in the textile industry and fashion design. This innovative approach will open up new possibilities to the use of microorganisms as a leading renewable source that tackles environmental questions while also being fit for industrialization, meeting all the requirements for a sustainable production process and the quality demanded by the consumers.

Research on the application of bacterial pigments led to the necessary laboratory development, converging in the Conceptual Design project - Bio Fermented Colors, where bio-pigments would be the focus for its development.

Keywords

Microbial Pigments; Natural Pigments; Natural Dyes; Sustainable Fashion Design

Índice Geral

Introdução	1
1. Prefácio	1
2. Questão de Partida	2
3. Objetivos	2
3.1 Objetivo Geral	2
3.2 Objetivos Específicos	2
4. Estrutura da Dissertação	3
Capítulo I	
Revisão da Literatura Estado da Arte	5
1. As Cores no Design de Moda	5
1.1 A Cor como elemento fundamental	5
1.2 Princípios da Teoria da Cor	6
2. Pigmentos e Corantes	10
2.1 Definição de Pigmentos e Corantes	10
2.2 Contextualização Histórica	12
3. Pensamento Sustentável na Moda e no Têxtil	16
3.1 Consciencialização das Empresas e Consumidores	16
3.2 Produção e Remanufatura Sustentáveis (<i>Sustainable Production and Remanufacturing</i>)	17
3.3 <i>Marketing Verde (Green Marketing)</i>	17
3.4 Partilha de Informação Verde (<i>Green Information Sharing</i>)	18
3.5 Atitude e Educação Verdes (<i>Green Attitude and Education</i>)	19
4. Desenvolvimento de pigmentos sustentáveis, alternativos aos sintéticos	20
4.1 Pigmentos Naturais vs Corantes sintéticos	20
4.2 Pigmentos de Origem Bacteriana/Microrganismos	21
5. Bio-Pigmentos	26
5.1 Melhoria de Estirpes Bacterianas	26
5.2 Estratégias de Fermentação	27
5.3 Recuperação e separação de pigmentos bacterianos	27
5.4 Novas estratégias de produção de pigmentos bacterianos	29
5.5 Perspetiva Económica	29
6. Aplicações dos Bio-Pigmentos	30
6.1 Projetos Design de Moda	32

Capítulo II	
Desenvolvimento Laboratorial	39
1. Metodologia Contextualização	39
2. Microrganismos estudados (Breve descrição)	39
3. Diário Laboratorial	40
3.1 Primeira Etapa - Meio de crescimento alternativo	40
3.2 Segunda Etapa - Sobreposição têxtil com os microrganismos	43
3.3 Terceira Etapa - Pastas de Estampar Microbianas	61
3.4 Quarta Etapa - Tingimento com Pigmento em Pó	62
4. Análise global dos Resultados	70
Capítulo III	
<i>Bio Fermented Colors</i>	73
1. Introdução	73
2. Inspiração Conceito	73
3. Público-Alvo	74
4. Pigmentos Petri Cores Coleção	74
5. Escolha de materiais e métodos de tingimento	76
5.1 Conceção das Peças Finais	77
5.1.1 Sobreposição têxtil com os microrganismos (Segunda Etapa)	77
5.1.2 Pastas de Estampar Microbianas (Terceira Etapa)	81
5.1.3 Tingimento com Pigmento em Pó (Quarta Etapa)	84
6. Coleção Final	89
Capítulo IV	
Discussão Geral, Conclusão, Perspetivas Futuras	93
1. Discussão Geral	93
2. Conclusão	94
3. Perspetivas Futuras	94
Referências Bibliográficas, Glossário	97
1. Referências Bibliográficas	97
2. Glossário	106

Índice de Figuras

Figura 1 - “The Art of Getting Dressed”. A cor como elemento fundamental no vestuário.	5
Figura 2 - Representação do prisma de cores. Dispersão da luz branca por um prisma. Devido à refração, a luz branca divide-se em raios de diferentes comprimentos de onda.	7
Figura 3. Roda das Cores criada por Goethe em 1810	8
Figura 4 - Demonstração da solubilidade das duas matérias (a. Pigmento - insolúvel; b. Corante - solúvel).....	12
Figura 5 - Pintura rupestre, 12000 a.C. Lascaux, sudoeste da França. Utilização de pigmentos naturais.....	13
Figura 6 - Extração de Índigo, Stepping process.	13
Figura 7 - Primeiro corante sintético (Malva) descoberto por Sir William Perkin em 1856.	15
Figura 8 - Benefícios dos corantes naturais/”green dyes”.	20
Figura 9 - Evolução anual de pigmentos naturais na base <i>Espacenet</i> . No eixo x, está representada a evolução anual; no eixo y, a quantidade de documentos de patentes.	22
Figura 10 - Distribuição das patentes analisadas por setores de aplicação.	23
Figura 11 - Bio-pigmentos produzidos por diferentes microrganismos e utilizado em tecido. .	24
Figura 12 - Bio-pigmentos produzidos por diferentes bactérias numa placa Petri.	26
Figura 13 - Tingimento de diferentes fibras a partir do pigmento produzido pela <i>Vibrio spp.</i> estirpe KSJ45.	30
Figura 14 - Batik com pigmentos bacterianos.	31
Figura 15 - Faber Futures Experiment no. 1 _____ The Print Room.	33
Figura 16 - Faber Futures Experiment no. 2 _____ The Print Room.	34
Figura 17 - Faber Futures Experiment no. 3 _____ Fold.	35
Figura 18 - Faber Futures Experiment no. 5 _____ Rise and Fall of a Micropolis.	36
Figura 19 - <i>Algaemy</i> _ “People change - So Do Textiles”.	37
Figura 20 - <i>Algaemy</i> _ “People change - So Do Textiles”.	38
Figura 21 - Método de inoculação dos microrganismos.	42
Figura 22. Experiência Nr.3 resultados finais das placas com os diferentes meios de cultura.	43
Figura 23 - Inoculação direta em três amostras de tecido (100% Algodão, 100% Poliéster, 100% Poliamida). Meio sólido secou impossibilitando a proliferação da bactéria.	43
Figura 24 - 1ª estratégia: suportes têxteis colocados no fundo, cobertos com a solução de meio sólido (NA) e posteriormente inoculada bactéria.	44
Figura 25 - 2ª estratégia: solução de meio sólido (NA), suportes têxteis colocados, nova camada de NA e posteriormente inoculada bactéria.	44
Figura 26 - 3ª estratégia: solução de meio sólido (NA), inoculação da bactéria e sobreposição dos suportes têxteis em contacto direto com a <i>Chryseobacterium shigense</i>	45

Figura 27 - No lado esquerdo é possível visualizar os resultados após fixação (Pad Dry) e no lado direito o resultado final das mesmas amostras após ensaboamento.	45
Figura 28 - Explicação da primeira fase em meio líquido: Pré-fermentação (1. Inoculação da bactéria no balão de 100ml; 2. Pré-fermentação durante 3h, a 28°C e 200 RPM.	46
Figura 29 - 3. Medido o branco no Espectrofotómetro. Seguidamente a célula foi aferida com meio da pré-fermentação para calcular a DO.	47
Figura 30 - 2ª fase em meio líquido: Fermentação (4. Adicionado volume adequado da pré-fermentação ao balão de 250ml da fermentação; 2. Fermentação durante 48h, a 28°C e 200 RPM.	47
Figura 31 - Amostras após lavagem: esquerda - 100% Poliamida; centro - 100% Poliéster; direita - 100% Algodão.	48
Figura 32 - Amostra 100% Algodão dobrada e retirada do meio sólido.....	49
Figura 33 - Amostra 100% Poliéster dobrada e retirada do meio sólido.	49
Figura 34 - Amostra 100% Poliamida dobrada e retirada do meio sólido.	49
Figura 35 - Amostra 40% Seda/ 60% Algodão dobrada e retirada do meio sólido.....	50
Figura 36 - Amostra 40% Seda/ 60% Algodão Técnica <i>Shibori</i> desdobrada e retirada do meio sólido.	50
Figura 37 - Amostras por ordem de aparecimento da esquerda para a direita: 100% Poliéster; 100% Algodão; 100% Poliamida; 40% Seda/60% Algodão, após lavagem durante 20 minutos a 40°C.....	51
Figura 38 - Amostras por ordem de aparecimento da esquerda para a direita: 100% Poliéster; 100% Algodão; 100% Poliamida; 40% Seda/60% Algodão, após lavagem durante 40 minutos a 40°C.....	51
Figura 39 - Amostra 40% Seda/60% Algodão (Técnica <i>Shibori</i>), após lavagem durante 40 minutos a 40°C.	51
Figura 40 - A: Amostras de tecido apenas em contacto com NA.....	52
Figura 41 - B: Amostras de tecidos em contacto com <i>Chryseobacterium shigense</i>	53
Figura 42 - Balões de fermentação <i>Chryseobacterium shigense</i> com amostra de tecido.	54
Figura 43 - Amostras de tecidos fixados pelo método de <i>Pad Dry</i> (lado esquerdo de cada imagem numerada) e após ensaboamento a 30°C durante 25 minutos. 1. 100% Algodão; 2. 54% Linho/44% Viscose/2% EA; 3. 100% Poliamida; 4. 40% Seda/60% Algodão; 5. 90% Lã/10% Poliamida; 4. 40% Seda/60% Algodão; 5. 90% Lã/10% Poliamida; 6. 50% Acrílico/50% Lã; 7. 100% Viscose.	55
Figura 44 - Amostras de tecidos fixados pelo método de <i>Pad Steam</i> (lado esquerdo de cada imagem numerada) e após ensaboamento a 30°C durante 25 minutos. 1. 100% Algodão; 2. 54% Linho/44% Viscose/2% EA; 3. 100% Poliamida; 4. 40% Seda/60% Algodão; 5. 90% Lã/10% Poliamida 4. 40% Seda/60% Algodão; 5. 90% Lã/10% Poliamida; 6. 50% Acrílico/50% Lã; 7. 100% Viscose.	56
Figura 45 - Inoculação da bactéria <i>Serratia plymuthica</i> (pigmento rosa) com sobreposição têxtil.....	57

Figura 46 - Inoculação da bactéria <i>Pseudomonas sp</i> (pigmento castanho) com sobreposição têxtil.	57
Figura 47 - Inoculação da bactéria <i>Serratia plymuthica</i> (lado esquerdo) e <i>Pseudomonas Sp</i> (lado direito) com sobreposição do tecido 54% Linho/44% Viscose/2% EA.	58
Figura 48 - Comparação de resultados obtidos pela <i>Serratia plymuthica</i> , em ambos métodos de fixação e posterior lavagem. 1. <i>Pad Dry</i> ; 2. <i>Pad Steam</i>	59
Figura 49 - Comparação de resultados obtidos pela <i>Pseudomonas sp</i> , em ambos métodos de fixação e posterior lavagem. 1. <i>Pad Dry</i> ; 2. <i>Pad Steam</i>	59
Figura 50 - Comparação de resultados obtidos pela <i>Serratia plymuthica</i> , em ambos métodos de fixação e posterior lavagem. 1. <i>Pad Dry</i> 2. <i>Pad Steam</i> . Lavagem do lado esquerdo de cada imagem numerada e fixação do lado direito.	60
Figura 51 - Pastas de estampar a partir dos pigmentos e aplicadas em diferentes têxteis. Pigmento amarelo (<i>Chryseobacterium shigense</i>); pigmento rosa (<i>Serratia plymuthica</i>); pigmento castanho (<i>Pseudomonas sp</i>).	61
Figura 52 - Pastas de estampar a partir dos pigmentos e aplicadas em diferentes têxteis. Pigmento amarelo (<i>Chryseobacterium shigense</i>); pigmento rosa (<i>Serratia plymuthica</i>). Fixação (lado esquerdo das amostras) fixação + Lavagem (lado direito das amostras).	62
Figura 53 - Pastas de estampar a partir dos pigmentos e aplicadas em diferentes têxteis. Pigmento amarelo (<i>Chryseobacterium shigense</i>); pigmento rosa (<i>Serratia plymuthica</i>); pigmento castanho (<i>Pseudomonas sp</i>). Fixação (lado esquerdo das amostras) fixação + Lavagem (lado direito das amostras).	62
Figura 54 - Máquina de tingimento laboratorial <i>Datacolor AHIBA IR</i>	64
Figura 55 - Resultados após fixação (<i>Pad Dry</i>) e lavagem das fibras: 100% Algodão - lado esquerdo da imagem; 100% Viscose - lado direito da imagem.	66
Figura 56 - Resultados após fixação (<i>Pad Dry</i>) e lavagem das fibras: 100% Algodão - lado esquerdo da imagem; 100% Viscose - lado direito da imagem. Solução C.	66
Figura 57 - Resultados tingimento com pigmento extraído da <i>Chryseobacterium shigense</i> . 1. Tecido 100% algodão não revela tingimento por nenhuma das soluções; 2. Tecido 100% Viscose não revela tingimento por nenhuma das soluções; 3. Banho das 3 soluções no final do tingimento.	67
Figura 58 - Resultados obtidos no fio 100% Viscose com uma concentração de 10% SPF. Solução A - 1. Sem lavagem (lado direito) com ensaboamento (lado esquerdo); 2. Solução B - 2. Sem lavagem (lado direito) com ensaboamento (lado esquerdo).	68
Figura 59 - Resultados obtidos pelas soluções sem (topo da imagem) e com sal (em baixo). Observado na imagem da esquerda para a direita fio: 100% Viscose; 100% Algodão; 90% Viscose/10% PBT; 70% Algodão/30% WO; 50% Algodão/50% Acrílico.	69
Figura 60 - Imaginário Laboratorial. Inspiração para a coleção.	74
Figura 61 - Metaforização da “Visão Tricromática”	75
Figura 62 - Cores primárias do Sistema Subtrativo	75

Figura 63 - Cores Principais e Cores secundárias do projecto <i>Bio Fermented Colors</i> . As cores secundárias surgiram como complemento da paleta de cores proveniente dos pigmentos bacterianos: amarelo (<i>Chryseobacterium shigense</i>); pigmento rosa (<i>Serratia Plymuthica</i>); pigmento roxo <i>Chromobacterium violaceum</i> ; pigmento castanho (<i>Pseudomonas Sp</i>).	76
Figura 64 - Meio de cultura NA inoculado com <i>Chryseobacterium shigense</i> - Após 48h.....	77
Figura 65 - Meio de cultura TSA inoculado com <i>Serratia plymuthica</i> - Após 48h.	78
Figura 66 - Meio de cultura TSA inoculado com <i>Serratia plymuthica</i> - Após 48h verificado a proliferação de fungos e uma produção reduzida de bio-pigmento.	78
Figura 67 - Meio de cultura NA inoculado com as bactérias: <i>Chryseobacterium shigense</i> ; <i>Serratia plymuthica</i> - Após duas semanas.....	79
Figura 68 - Meio de cultura TSA inoculado com <i>Serratia plymuthica</i> - Após duas semanas. ...	79
Figura 69 - Tecido 100% Viscose em meio de cultura NA inoculado com <i>Chryseobacterium shigense</i> ; <i>Serratia plymuthica</i> - Após duas semanas. Padrão orgânico com diferentes pigmentos.....	80
Figura 70 - Pormenores das mangas e bolso do vestido camiseiro confeccionado com tecido 100% Viscose com apontamentos do padrão orgânico conferido pelas bactérias.	80
Figura 71 - Pigmentos microbianos retirados diretamente do meio sólido para a sua preparação e utilização no marmorizado como pasta de estampar.....	82
Figura 72 - Soluções com bio-pigmentos diluídos num preparado de água e sabão azul para obter a consistência adequada para que as cores não afundassem no banho do marmorizado.	83
Figura 73 - Estampagem/carimbos feitos em tecido 100% Algodão com os padrões de inoculação dos microrganismos.	83
Figura 74 - Pormenores das peças finais. Marmorizado com sobreposição de estampado/carimbos feitos a partir das placas Petri onde estavam inoculadas as bactérias <i>Chryseobacterium shigense</i> , <i>Sphingobacterium multivorum</i> , <i>Blastomonas natatoria</i> , <i>Serratia plymuthica</i>	84
Figura 75 - Resultado do tingimento com o pigmento extraído da bactéria roxa (<i>Chromobacterium violaceum</i>) em fio 100% Viscose.....	85
Figura 76 - Estrutura da malha. Desenho no programa CAD. O fio que contém o pigmento extraído da <i>Chromobacterium violaceum</i> é utilizado apenas na zona de vanizado.	86
Figura 77 - Descrição da barra de comandos e tipos de fio utilizados para a malha amarela.	87
Figura 78 - Pano de malha e pormenor da peça confeccionada. Extremidades da peça em vanizado com fio tingido pelo pigmento extraído da <i>Chromobacterium violaceum</i>	87
Figura 79 - Descrição da barra de comandos e tipos de fio utilizados para a malha azul.	88
Figura 80 - Pano de malha e pormenor da peça confeccionada. Extremidades da peça em vanizado com fio tingido pelo pigmento extraído da <i>Chromobacterium violaceum</i>	88
Figura 81 - Peça final no centro da imagem. Método de tingimento descrito em 5.1.1 - Sobreposição têxtil com os microrganismos (Segunda Etapa).	89

Figura 82 - Peças finais no centro das imagens. Método de tingimento descrito em 5.1.2 - Pastas de Estampar Microbianas (Terceira Etapa).....	90
Figura 83 - Peças finais no centro das imagens. Método de tingimento descrito em 5.1.3 - Tingimento com Pigmento em Pó (Quarta Etapa).	91

Índice de Tabelas

Tabela 1. Lista de pigmentos produzidos por diferentes microrganismos (adaptado de [88]).	24
Tabela 2 - Cálculos descritos para as 3 estratégias de tingimentos: Tecido (0,82g): 100% Algodão. (fonte: a autora)	63
Tabela 3 - Cálculos descritos para as 3 estratégias de tingimentos: Tecido (0,26g): 100% Viscose. (fonte: a autora)	63
Tabela 4 - Cálculos descritos para as 3 estratégias de tingimentos: Tecido (0,22g): 100% Algodão. (fonte: a autora)	65
Tabela 5 - Cálculos descritos para as 3 estratégias de tingimentos: Tecido (0,15g): 100% Viscose (fonte: a autora)	65
Tabela 6 - Cálculo para as soluções A (sem sal) e B (com Sal): FIO (0,26g): 50% Algodão/50% Acrílico; 100% Viscose; 50% Algodão/50% Modal. (fonte: a autora)	67
Tabela 7 -Cálculo para as soluções A (sem sal) e B (com Sal): FIO (0,1g): 100% Viscose; 100% Algodão; 90% Viscose/10% PBT; 70% Algodão/30% WO; 50% Algodão/50% Acrílico. (fonte: a autora)	68
Tabela 8 - Cálculo da quantidade necessária de pigmento roxo (<i>Chromobacterium violaceum</i>) para o tingimento de 150g de fio 100% viscose em 3l de água. (fonte: a autora)	85

Lista de Acrónimos

DO	Densidade Ótica
ESI-MS	Espectrometria de Massa de Electrospray (<i>Electrospray ionization</i>)
FTIR	Espectroscopia de Infravermelhos por Transformada de Fourier (<i>Fourier-transform infrared spectroscopy</i>)
HPLC	Cromatografia de Líquidos
+	
NA	Nutriente Ágar
NaCl	Cloreto de Sódio
Na ₂ CO ₃	Carbonato de Sódio
NB	<i>Nutriente Broth</i>
RB	Razão de Banho
RMN	Ressonância magnética nuclear
RPM	Rotações Por Minuto
SPF	Sobre Peso Fibra
TSA	<i>Tryptic Soy Agar</i>
UV-vis	Espectrofotometria (<i>Ultraviolet-visible spectroscopy</i>)

Introdução

1. Prefácio

É reconhecida a pesquisa, cada vez mais acentuada nas últimas décadas, de novos caminhos ligados à sustentabilidade das empresas de diversos sectores, com vista a travar o uso de materiais nocivos que empregamos no nosso quotidiano. Têm sido gerados significativos avanços, de modo a solucionar questões ligadas à saúde humana e conservação ambiental. À medida que surgem novos avanços tecnológicos, médicos, científicos, químicos, etc., torna-se necessário avaliar toda a informação gerada e, perceber de que forma se poderá conjugar com matérias provenientes de compostos naturais, deixando assim de parte, a constante utilização de produtos não renováveis ou de cariz sintético.

A crescente consciencialização dos consumidores, na importância da utilização de produtos naturais exige a procura de soluções que eliminem os compostos sintéticos na indústria têxtil, na produção de alimentos, na produção de papel, nas práticas/desenvolvimentos agrícolas, na tecnologia, etc.) [1]. De acordo com as tecnologias ditas “Verdes”, os produtos menos tóxicos e materiais de origem natural são mais benéficos para as linhas de produção. No caso dos corantes sintéticos, já existem alguns que não são permitidos, pelos seus efeitos cancerígenos do precursor ou produto e, pelo seu efeito negativo, na remoção dos resíduos industriais no ecossistema.

Partindo de um pensamento que põe o consumidor e o ambiente em primeiro lugar, têm sido desenvolvidas novas formas de introduzir os compostos naturais, sustentáveis e economicamente viáveis. A adoção de microrganismos como fonte de pigmentos naturais é já uma alternativa explorada, por traduzir inúmeros benefícios, a si associados.

Apesar de existirem estudos referenciados na literatura, ligados à extração de pigmentos a partir de bactérias, são ainda escassos os resultados otimizados que não apresentem diversas limitações na extração de pigmento em grande escala, sendo que os métodos utilizados para a aplicação dos corantes são também escassos. Desta forma, estratégias que permitam o crescimento da bactéria (tanto em meio líquido como em meio sólido) e consequentemente, do seu pigmento diretamente no material têxtil onde seria aplicado, uma otimização dos meios de cultura e processos de fermentação para garantir a máxima capacidade de produção dos bio-pigmentos ou a extração de pigmentos solúveis em água, são potenciais soluções e caminhos estudados neste projeto.

Independentemente da metodologia é necessário garantir que o processo se torne economicamente viável e sustentável, possível de industrializar, com produção rentável de pigmento e que cumpra normas de qualidade exigidas pelo consumidor.

Neste contexto, este trabalho visa estabelecer uma nova estratégia de obtenção e aplicação destes corantes naturais na indústria têxtil e está dividido em quatro capítulos.

2. Questão de partida e Hipótese

Com o intuito de resolver questões sustentáveis, apresentando produtos inovadores, eficientes, funcionais e que garantam alta qualidade, o uso de microrganismos tornou-se um ponto de partida, para que estes parâmetros pudessem ser cumpridos. Há cada vez mais uma procura de soluções alternativas para travar o uso de produtos não renováveis, pois são responsáveis por inúmeros problemas tanto na saúde humana como nos ecossistemas.

Fruto de descobertas respeitantes à produção, pigmentos naturais, a partir da fermentação bacteriana será possível (hipótese), criar uma alternativa capaz de garantir resultados no mundo têxtil levando as empresas a seguir um caminho amigo do ambiente e economicamente sustentável.

Deste modo, este projeto de investigação irá abrir portas no campo, dos compostos naturais renováveis, onde uma variada gama de cor de pigmentos produzidos, por diversos microrganismos, será estudada para uma potencial aplicação no campo dos têxteis. Serão otimizados meios de cultura e fermentação, formas de introdução dos bio-pigmentos em diferentes tipos de fibra, partindo exclusivamente de microrganismos.

3. Objetivos

3.1 Objetivo geral

O objetivo geral/principal deste projeto de investigação – desenvolver fontes sustentáveis de bio-pigmentos alternativos aos sintéticos.

Partindo da otimização de meios de cultura e de fermentação microbiana, e parametrizando o objetivo geral: conceber novas formas de tingimento e utilização dos bio-pigmentos com potencial aplicação no Design de Moda e Têxtil; Criar uma opção segura e sustentável (económica e ambiental) de pigmentos naturais que garantam, competências comparáveis aos corantes sintéticos.

3.2 Objetivos específicos

Face a esses pressupostos, os objetivos específicos deste trabalho de investigação são:

- Desenhar as melhores condições para a produção bacteriana de pigmentos naturais a fim de obter a máxima produção de pigmento;
- Desenvolver diferentes estratégias capazes de garantir a transferência do corante em diferentes suportes têxteis, facultando a coloração desde o momento da inoculação além de conferir o tingimento por impregnação e esgotamento;
- Estudar a aplicação dos bio-pigmentos em diversos suportes têxteis (fibras naturais e fibras sintéticas) com os consecutivos acabamentos (fixação das cores) e lavagem, de modo a estudar a solidez dos corantes para garantir a durabilidade e estabilidade das cores, aferindo os melhores materiais;
- Produzir cores secundárias através da combinação de pigmentos produzidos por diferentes microrganismos, com o intuito de alargar a paleta de cores.

4. Estrutura da dissertação

Após a introdução supracitada apresenta-se o normativo estrutural da dissertação.

Capítulo I - Contextualização literária (estado da arte).

A partir da importância da Cor no Design de Moda, é feita uma breve abordagem sobre a Cor e relevância da história dos pigmentos, focando-se numa comparação entre os corantes sintéticos e corantes naturais.

Descrição sucinta e atualizada, do resultado da pesquisa bibliográfica, sobre pigmentos bacterianos e aplicações no setor têxtil destacando o pensamento sustentável ligado ao Design de Moda que levou ao interesse desta alternativa **verde**.

Capítulo II - Desenvolvimento Laboratorial.

Apresentação detalhada do trabalho realizado, bactérias utilizadas, materiais têxteis bem como descrições de métodos e dados recolhidos facilitando uma análise final da investigação.

Capítulo III - *Bio Fermented Colors*.

Apresentação do projeto de Design Conceptual proposto a partir dos resultados conseguidos ao longo da pesquisa, com aplicação dos pigmentos bacterianos no mundo da moda, aliado ao pensamento sustentável.

Capítulo IV - Discussão Geral, Conclusão e Perspetivas Futuras.

Explicação sucinta dos principais resultados obtidos, apresentação das conclusões mais relevantes e propostas de possíveis vias de utilização dos bio-pigmentos no futuro.

Referências bibliográficas.

Exposição das referências bibliográficas que serviram de base científica para a realização do trabalho bem como algumas definições-chave/glossário para melhor entendimento de alguns conceitos científicos utilizados.

Capítulo I

Revisão da Literatura | Estado da Arte

1. As Cores no Design de Moda

1.1 A Cor como elemento fundamental

As cores são o parâmetro mais agradável e o primeiro a ser notado em qualquer artigo pelo recetor. A cor talvez seja a força mais poderosa na comunicação da Moda. Esta pode influenciar o comportamento hormonal, a pressão sanguínea e a temperatura do corpo de quem a vê. Tem o poder de estimular ou deprimir, atrair ou repelir. Assim, antes de nos vestirmos para uma ocasião em particular, temos de ter em consideração não só, como cada cor nos faz sentir e o que comunica sobre a nossa personalidade, como também, de que forma (in)consciente os outros reagem quando vêm as cores que estamos a usar (figura 1) [2].



Figura 1 - “The Art of Getting Dressed”. A cor como elemento fundamental no vestuário.

<http://www.messynessychic.com/2013/12/12/fashion-is-wasted-on-the-young-take-a-style-cue-from-grandma/> [consultado a 20-08-2017].

A cor é a parte mais emotiva do processo visual [3]. Possui uma grande força e pode ser empregue para expressar e reforçar uma informação visual. As cores, dependendo de como se organizam, podem fazer algo novo ou avançar, de acordo com o contexto em que atuam. O próprio volume do objeto pode ser alterado pelo uso da cor. Esta pode ser um elemento de peso, onde a forma pode ser equilibrada ou desequilibrada, dentro de um espaço

bidimensional, pelo jogo de cores que nele atuam. A cor não tem apenas um significado universalmente compartilhado pela experiência, mas também um valor informativo de significados que lhe são adicionados simbolicamente. A cor pode ser explorada para diversas finalidades funcionais, psicológicas, mercadológicas, cromoterápicas entre outras [4].

Para *Dondis* (1997) [5], a cor está impregnada de informação e é uma das mais profundas experiências visuais, comum a todos. Constitui, portanto, uma fonte de valor inestimável para os comunicadores visuais e para a moda, bem como para o indivíduo que quer transmitir algo sobre si através da roupa.

Para poder utilizar a cor como forte elemento de comunicação, *Ostrower* (1996) [6] afirma: “É preciso conhecer os princípios das relações entre as cores, como funcionam e qual o possível efeito de cada uma delas dentro de um eventual contexto. Percebendo isto, saberemos de que modo as cores se podem tornar expressivas”.

Uma fonte para se observar a combinação das cores é a natureza, onde a harmonia é uma sequência/consequência real. Em virtude da cor existir em toda parte, a arte de escolher a cor certa pode ser de grande auxílio para a beleza. As cores podem moldar e dar contorno às formas que, sem elas, não teriam expressão. Quando o Ser Humano compreender isto e aceitar a indicação da natureza, trará para o mundo da moda, as novas cores que surgem em cada estação, pois estão evidentes no mundo da natureza [7].

Com tanta importância atribuída à Cor, é indubitável que para a sua utilização seja necessário uma contextualização sobre o seu aparecimento.

1.2 Princípios da Teoria da Cor

Muitas teorias surgiram como meras especulações, mas, eventualmente, acabariam por convergir numa explicação que envolvia o cérebro e a percepção que nos dá das cores. Atualmente é aceite que, de facto, a nossa percepção da cor depende de três fatores: a luz, a fisionomia do olho e o cérebro [8].

A mais antiga teoria das cores de que se tem registo é da autoria do filósofo grego Aristóteles, que concluía que as cores eram uma propriedade dos objetos. Assim como peso, material, textura, também tinham cores. Relacionadas com importância dos números, concluiu que eram seis: o vermelho, o verde, azul, amarelo, branco e preto. O poeta Plínio teorizou que as três cores básicas seriam o vermelho vivo, o ametista e uma outra que chamou de conchífera. O amarelo foi excluído desta lista por estar associado às mulheres, pois era usado no véu nupcial. Na Idade Média, o estudo das cores sempre foi influenciado por aspetos psicológicos e culturais. Já na Renascença, a natureza das cores foi estudada pelos artistas. *Leon Battista Alberti*, um discípulo de *Brunelleschi*, diria que seriam quatro as mais importantes: o vermelho, o verde, o azul e o cinza. Deste modo, as cores estavam relacionadas com os quatro elementos (Fogo-vermelho; Ar-azul; Água-verde; Terra-Cinza (como escreve na sua obra "*De Pictura*"). [8]

Desde a Idade Média, passando pela Renascença, até *Leonardo da Vinci* e *Isaac Newton*, a cor sempre foi alvo de estudo, curiosidade e grande controvérsia [9].

Foi *Leonardo da Vinci*, no século XV (1452-1519), quem teve a primeira concepção do conjunto de dados que levariam, mais tarde, à criação da teoria das cores. Nos seus estudos de luz e sombra, procurou organizar as várias gradações das sombras dos objetos através de um gráfico circular, da cor ao branco (claro) e da cor ao preto (escuro), trabalhando deste modo apenas uma característica da cor denominada luminosidade. Classificou também como cores primárias o vermelho, verde, azul e amarelo e embora respeitasse antigos estudos, *Da Vinci* opunha-se a Aristóteles ao afirmar que a cor não era uma propriedade dos objetos, mas da luz [10].

Já em 1663, o físico inglês *Isaac Newton*, debruçou-se sobre o estudo dos fenômenos luminosos tendo como base a luz solar. Foi o primeiro a observar o fenômeno da decomposição da luz branca, contida nos raios do sol, o espectro solar, que contém as sete cores básicas (vermelho, laranja, amarelo, verde, azul, anil e violeta), através de um prisma de vidro, em 1666. Desta maneira conseguiu produzir o seu pequeno arco-íris artificial (figura 2) [11].

Newton apresentou a sua teoria das cores numa publicação da *Royal Society* chamada “*Philosophical Transactions of the Royal Society of London*”, onde escreveu:

“Para cumprir a minha promessa anterior, devo sem mais cerimónias adicionais informar-lhe que no começo do ano de 1666 (época que me dedicava a polir vidros ótico de formas diferente da esférica), obtive um prisma de vidro retangular para tentar observar com ele, o célebre fenômeno das cores. Para este fim, tendo escurecido o meu quarto e feito um pequeno buraco na minha janela para deixar passar uma quantidade conveniente de luz solar, coloquei o meu prisma num ponto em que ela [a luz] pudesse ser assim refratada para a parede oposta. Isso era inicialmente um divertimento muito prazeroso: ver todas as cores vividas e intensamente assim produzidas, mas depois de um tempo dedicando-me a considerá-las mais seriamente, fiquei surpreso por vê-las...” [12].

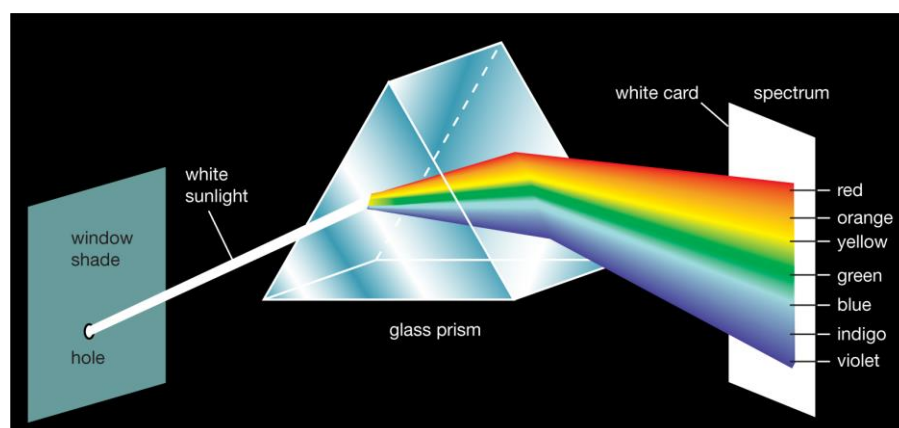


Figura 2 - Representação do prisma de cores. Dispersão da luz branca por um prisma. Devido à refração, a luz branca divide-se em raios de diferentes comprimentos de onda.

<https://www.britannica.com/media/full/477178/1066> [consultado a 9-12-2017].

Em seguida, *Newton* repetiu a experiência e conseguiu comprovar que combinando adequadamente dois ou mais prismas, era possível decompor e recompor a luz branca. A separação é possível porque cada cor tem um índice de refração diferente. Isto é, apresenta um desvio diferente quando passa de um meio (ar) para outro (vidro) [13].

No mesmo artigo *Newton* escreve:

"...a observação experimental do fenômeno inverso ao da dispersão das cores do espectro pelo prisma: Mas a composição surpreendente e maravilhosa foi aquela da brancura. Não há nenhum tipo de raio que sozinho possa exibi-la. Ela é sempre composta.... Frequentemente tenho observado que fazendo convergir todas as cores do prisma e sendo desse modo novamente misturadas como estavam na luz inteiramente e perfeitamente branca..." [12].

Newton concluí que o mecanismo de coloração dos corpos se dá através da absorção e reflexão dos raios luminosos, ou seja, os corpos não contêm cor em si: têm é a capacidade de refletir a cor que podemos observar, sendo que as demais cores contidas na luz são absorvidas [13].

Ainda no século XVIII, um impressor chamado *Le Blon* testou diversos pigmentos até chegar aos três básicos para impressão: o vermelho, o amarelo e o azul.

Posteriormente, no início do século XIX, o escritor e cientista alemão *Johann Goethe* (1749-1832) deu uma grande contribuição para o estudo da classificação das cores. Observou as três cores-pigmento transparentes primárias (magenta, ciano e amarelo). No entanto, ele não aceitou a cor como decorrência da decomposição da luz branca. Defendeu o princípio de que a cor tem como origem a luz e a obscuridade [14]. A Teoria das Cores (*Zur Farbenlehre*) de *Goethe* foi originalmente publicada em 1810 (figura 3) [15].

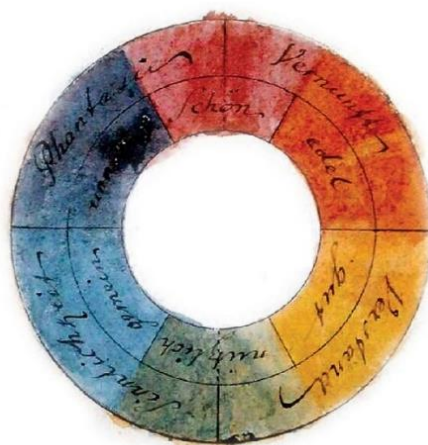


Figura 3. Roda das Cores criada por Goethe em 1810

<http://cdn8.openculture.com/2013/09/17161148/photo-7.jpg> [consultado a 10-07-2017].

Com a sua publicação de 1400 páginas sobre as cores, *Goethe* reformulou a teoria das cores de uma maneira inteiramente nova, sendo o primeiro a ousar confrontar as ideias de *Newton*

sobre luz e cor. Newton via as cores como um fenômeno puramente físico, envolvendo a luz que atinge os objetos e penetra nos nossos olhos. *Goethe* concebeu um novo pensamento, em que as sensações das cores que surgem na nossa mente são moldadas pela nossa percepção - pelos mecanismos da visão e pela maneira como o nosso cérebro processa estas informações [15]. Por exemplo, a experiência da luz decomposta em cores ao passar por um prisma foi explicado por ele, como sendo um efeito do meio translúcido (o vidro) que enfraquecia a luz branca. O amarelo seria a impressão produzida no olho pela luz branca vinda em nossa direção através de um meio translúcido. O sol e a lua parecem amarelados pois, a sua luz passa pela atmosfera até chegar a nós. Já o azul seria o resultado da fuga da luz até à escuridão. O céu é azul porque a luz refletida na terra volta em direção ao espaço negro através da atmosfera. Da mesma forma o mar, onde a luz penetra alguns metros em direção ao fundo escuro. O verde seria a neutralização do azul e do amarelo. Como no mar raso ou numa piscina, onde a luz refletida no fundo vem na nossa direção (amarelo) ao mesmo tempo que vai do sol em direção ao fundo (azul). A intensificação do azul, ou seja, a luz muito enfraquecida ao ir em direção à escuridão torna-se violeta, do mesmo modo que o amarelo intensificado, como o sol nascente, mais fraco, e tendo que passar por um percurso maior de atmosfera até ao nosso olho fica avermelhado. Os dois extremos tendem ao vermelho, que representa o enfraquecimento máximo da luz. A interpretação do arco-íris é assim modificada [16].

Goethe descobriu aspetos que *Newton* ignorara sobre a fisiologia e psicologia da cor. Observou a retenção das cores na retina, a tendência do olho humano em ver nas extremidades uma cor complementar, notou que os objetos brancos parecem sempre maiores do que os objetos com ausência de luz (preto). Também reinterpreto as cores, pigmentos de "*Le Blon*", renomeando-os púrpura, amarelo e azul claro, aproximando-se com muita precisão das atuais tintas magenta, amarelo e ciano utilizadas em impressão industrial.

Contudo as observações de *Goethe* não destituíam a teoria de *Newton*, em parte devido ao enorme prestígio do físico inglês e por outro lado, visto que as explicações que propunha para estes fenômenos eram muitas vezes insatisfatórias pois não sugeria nenhuma base científica para provar a sua teoria. A publicação de *Goethe* "A teoria das cores" caiu em descrédito na comunidade científica pois não despertou interesse entre os artistas e era deveras complexa para leigos. Apenas no início do século XX, as suas observações foram resgatadas pelos estudiosos da *Gestalt* e por alguns pintores da Modernidade como *Paul Klee* e *Kandinsky* [8].

"Em geral, a cor é por isso um meio que permite exercer uma influência direta sobre a alma. A cor é o teclado. O olho é o martelo. A alma é o piano com as suas numerosas cordas. O artista é a mão que faz vibrar a alma humana através desta ou daquela tecla."

Ulrich Becks-Malorny, Wassily Kandinsky. Em busca da Abstração, 1995, p.20.

Os estudos de *Da Vinci* (1452-1519), *Newton* (1642-1727) e *Goethe* (1749-1832) foram fundamentais para a formulação da teoria das cores, tal como se conhece atualmente, teoria

que envolve o fenómeno da perceção, a dimensão, a classificação e a harmonia das cores [14].

Atualmente, o estudo da teoria das cores baseia-se nas três primeiras secções da obra de *Goethe*, onde as cores são tratadas sobre o ponto de vista fisiológico, físico e químico: Cores Fisiológicas (*Physiologische Farben*), Cores Físicas (*Physische Farben*) e Cores Químicas (*Chemische Farben*). O conteúdo é basicamente a teoria de *Newton* acrescida de observações modernas sobre ondas eletromagnéticas [15].

Hoje sabe-se que a Cor é um fenómeno fisiológico, psicológico, de caráter subjetivo e individual. A cor é como o cérebro interpreta os sinais electro-nervosos vindos do olho, resultantes da reemissão da luz vinda de um objeto, que foi emitida por uma fonte luminosa por meio de ondas eletromagnéticas. Estas correspondem à parte do espectro eletromagnético que é visível ao olho humano (380 a 700 nanómetros - $4,3 \times 10^{14}$ Hz a $7,5 \times 10^{14}$ Hz). Consequentemente, a cor não se pode tratar de um fenómeno físico, pois o mesmo comprimento de onda pode ser percebido distintamente por diferentes pessoas [8].

2. Pigmentos e Corantes

2.1 Definição de Pigmentos e Corantes

Um **pigmento** é um material que muda a cor da luz transmitida ou refletida como resultado de uma absorção seletiva num determinado comprimento de onda. Muitos materiais absorvem seletivamente certos comprimentos de onda da luz. Os materiais usados como pigmentos possuem propriedades especiais que os tornam ideais para colorir outros materiais. Um pigmento deve possuir uma resistência de tingimento alta em relação aos materiais que tinge. Deve ser estável na sua forma sólida e à temperatura ambiente. Em aplicações industriais, assim como na arte, a durabilidade e estabilidade são propriedades desejáveis. Alguns pigmentos desaparecem com o tempo e exposição solar, enquanto outros apenas escurecem [16].

Pode-se ainda referir que os pigmentos são substâncias coloridas naturais ou artificiais e componentes essenciais das pinturas.

Em biologia os pigmentos são as substâncias orgânicas que determinam a cor dos tecidos animais e vegetais. Quase todos os tipos de células, como as da pele, olhos, cabelo etc. contêm pigmentos. Seres com distúrbio congénito -deficiência de pigmentação na pele, olhos, cabelo - padecem de albinismo (hipo-pigmentação) [17]. Existe uma ampla variedade de materiais que permite a produção de cores. Os pigmentos são frequentemente confundidos com os corantes. No entanto, os **corantes** são substâncias geralmente solúveis em água, utilizadas para conferir cor a um determinado produto. Fixam-se na superfície que vão colorir através de mecanismos de adsorção ou ligações iónicas covalentes. Este tipo de ligações é formado quando dois átomos de uma molécula partilham um elétron. Uma vez que o vínculo é formado, é obtida uma molécula de corante que se torna parte real da molécula da fibra e nada a poderá remover, exceto a lixívia ou outro produto químico, capaz de

desfazer estas ligações. Este tipo de ligações é característico dos corantes reativos que são o tipo de corante mais permanente. [17].

Os **corantes** para a produção de quase todos os tipos de soluções são constituídos por pigmentos, aglutinantes, mordentes, solventes e aditivos (resinas, óleos e outros) [18]. As propriedades da solução criada, como a cor, a resistência à coloração, a opacidade/transparência e a resistência à luz, são determinadas, entre outras coisas, pelo tipo de pigmento utilizado.

Se uma substância que dá a cor se dissolve em líquido então não chamamos à substância (que dá cor) um pigmento, mas sim um corante.

Os corantes são muito utilizados na indústria têxtil e os pigmentos são fundamentais para as pinturas [19]. Os pigmentos conferem cor por meio de uma simples dispersão física no meio a ser colorido. A sua produção pode ser alcançada por diversos métodos e classificados como orgânicos ou inorgânicos e como naturais, artificiais ou sintéticos.

Os pigmentos naturais inorgânicos estão disponíveis na forma natural como ocres, terras coloridas, entre outros. Os compostos mais frequentemente identificados nas pinturas rupestres são os óxidos metálicos. Por outro lado, os compostos orgânicos, frequentemente descritos nos registos etnográficos, são raramente identificados. Efetivamente, os pigmentos identificados nas pinturas rupestres pré-históricas são na sua maioria classificados como naturais e inorgânicos, sendo muito raro o reconhecimento dos orgânicos [20]. Os pigmentos inorgânicos apresentam uma excelente estabilidade química e térmica [20], o que pode explicar a sua melhor conservação em relação aos de origem orgânica na arte pré-histórica. Muitos dos materiais orgânicos identificados são "concreções" que podem aparecer por razões biogénicas ou climatológicas, associadas à presença de microrganismos que, em contacto com a humidade e em função das condições de temperatura e exposição solar, se vão mineralizando - biomineralização [21], dificultando, por vezes, a interpretação dos resultados obtidos. Um pigmento é considerado natural quando apenas sujeito a processos de natureza física (esmagamento, maceração). Os pigmentos 'artificiais' são obtidos através de processos físico-químicos, como, por exemplo, o tratamento térmico, que alteram a composição química e mineralógica original. Os pigmentos naturais são utilizados desde a pré-história e são essencialmente de origem mineral [22,23]. Os pigmentos sintéticos são aqueles que não existem na natureza e são produzidos através da combinação de diferentes substâncias (o azul egípcio - um dos primeiros, do 3º milénio a.C - era obtido misturando areia quartzosa, compostos de cobre, carbonato de cálcio e o natrão) [24].

Pigmentos são, em sentido rigoroso, materiais insolúveis (Figura 4) usados na forma de pó muito fino (tipicamente com partículas de diâmetro na ordem de 1 µm) que ficam dispersos no aglutinante (óleo, ovo, cera, conforme a técnica de pintura; são materiais orgânicos ou inorgânicos que têm sua principal utilização em tintas e, conseqüentemente, em pintura. Alteram a aparência através de absorção seletiva e/ou através de dispersão de luz e retêm os cristais ou estrutura de partículas durante todo o processo de coloração [25].

Os **corantes** também têm a função de dar cor a um substrato por absorção seletiva de luz; são substâncias orgânicas solúveis em água (Figura 4), especialmente utilizados no tingimento de têxteis, embora alguns corantes também tenham sido utilizados em pintura na forma de laca - material resultante da fixação de um corante à superfície das partículas de um pigmento branco transparente (carbonato de cálcio ou alumina), designado carga. Tipicamente, as lacas dão origem a camadas de tinta transparentes. No processo de aplicação dos corantes, pelo menos temporariamente, destroem qualquer estrutura cristalina por absorção, ou solução, e a retenção mecânica, por ligações químicas covalentes ou iônicas [25].

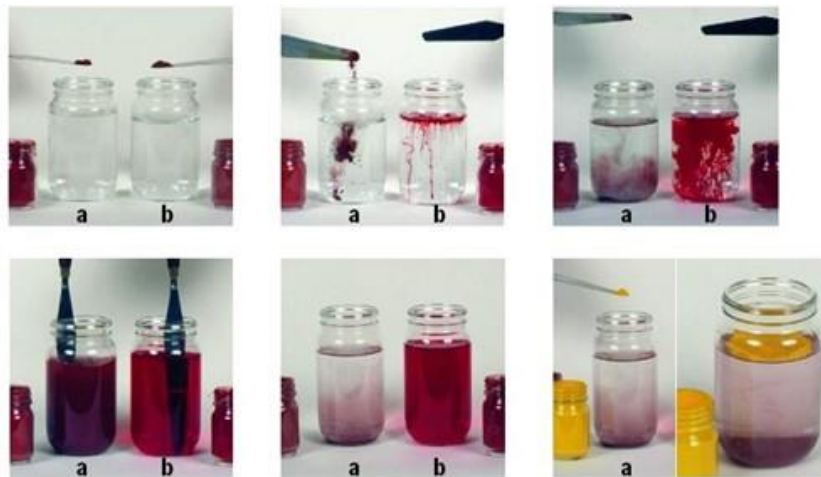


Figura 4 - Demonstração da solubilidade das duas matérias (a. Pigmento - insolúvel; b. Corante - solúvel).

<https://www.royaltalens.com/information/a-guide-to-pigments/pigments-vs-dyes/> [consultado a 10-07-2017].

Em síntese, como explicado por explicado por Cruz (2007) “...o uso da palavra “pigmento” apenas está documentado desde 1881 e “corante” desde 1862; em francês, “pigment”, somente em 1881; em inglês, “pigment”, já em 1398; mas, antes do século XX, estes materiais eram normalmente designados por “cores” ou pela sua respetiva tradução noutros idiomas. Desta nomenclatura resulta alguma confusão entre um material e uma de suas propriedades óticas, sobretudo na literatura mais antiga.” [26].

2.2 Contexto Histórico

A utilização de pigmentos naturais pelo Ser Humano remete aos primórdios da história, onde já os homens da Pré-História os usavam como corantes provenientes da Natureza (plantas, animais, frutas, insetos e minerais), para adorno pessoal, decorar objetos, fazer pinturas e sobretudo tingir têxteis, com os quais cobriam o corpo e decoravam as habitações.

A utilização de pigmentos data do período Paleolítico (30.000 - 8.000 a.C.). Dada a durabilidade destes pigmentos (terras coloridas, pó de rochas, carvão vegetal e colas vegetais e animais), as pinturas rupestres conservadas até aos dias de hoje (figura 5), são um dos

vestígios mais evidentes da empregabilidade de compostos naturais com a finalidade de coloração em diversos momentos do cotidiano [27].



Figura 5 - Pintura rupestre, 12000 a.C. Lascaux, sudoeste da França. Utilização de pigmentos naturais. [28]

Alguns corantes conhecidos naquela época eram o azul índigo ou anil, retirado da planta *Indigofera tinctoria*, ainda hoje utilizado no tingimento dos *jeans* (Figura 6). Era uma dos principais materiais importados e transportado em panelas ou em barra. O vermelho provinha da raiz da *Rubia tinctorum* conhecida na pintura como alizarina. Também o vermelho, o ocre e o preto, eram feitos a partir de óxido de ferro, terras coloridas, carvão ou osso queimado, que eram misturados com agentes aglutinantes como gordura de animais, cera, ovo ou resina de árvores, e aquecidos para serem trabalhados [13]. O violeta era obtido a partir de moluscos *Murex trunculis* e *Murex brandaris*. Visto que era necessária uma grande quantidade de moluscos para produzir tinta (dez mil moluscos equivaliam a um grama de corante), por volta de 1300 d.C., estes seres vivos entraram em extinção e a cor passou a ser retirada do líquen (simbiose de um organismo formado por um fungo (o micobionte) e uma alga ou cianobactéria (o fotobionte) [27].



Figura 6 - Extração de Índigo, Stepping process.

<http://tdsblog.com/dye-off-natural-vs-synthetic/> [consultado a 12-07-2017].

De notar que, a variedade das matérias-primas e das técnicas utilizadas na arte parietal é documentada desde o 3º Milénio a.C. pelas pinturas egípcias. Os artistas egípcios, ornamentavam os túmulos de paredes de calcário, que pintavam com uma primeira camada de gesso, em que depois aplicavam pigmentos pretos, vermelhos, amarelos, castanhos, azuis e verdes. Ao aplicar as cores e/ou misturando-as com pigmentos pretos e brancos, os artistas egípcios conseguiram uma grande gama de cores e tonalidades. Estes pigmentos eram também aplicados em cosmética. Para os lábios utilizavam o ocre vermelho e para a maquilhagem dos olhos materiais diversos como: a Estibina (preto), a Malaquite (verde), a Azurite (azul escuro), a Turquesa (azul turquesa), e Lápiz *Lazuli* (azul profundo) [27].

É de 2600 a.C., o primeiro registo conhecido da utilização de corantes naturais na China. Da vasta gama de produtos utilizados, certas fontes tintureiras que originavam majestosas e persistentes cores, atingiram enorme valor económico, fazendo com que a sua posse, fosse equiparada à fortuna de impérios. A utilização destes pigmentos serviria apenas a imperadores e altos dignatários da igreja [28].

Na Índia, o açafrão da terra (*Curcuma longa*) era bastante utilizado para produzir a cor amarela dos mantos dos monges budistas, sendo até mesmo, mencionado na Bíblia. O açafrão verdadeiro (*Crocus sativus*), utilizado no século XIX, também produzia uma tonalidade vibrante amarela, mas sua extração era muitíssimo mais complicada, além da cor ser fugaz [29]. No açafrão da terra, a cor é retirada das raízes, e no açafrão verdadeiro, dos estigmas das flores. Neste segundo processo eram necessárias mais de 250.000 flores para se obter meio quilo de açafrão. Assim, será fácil de perceber que para além de envolver processos demorados, as técnicas de produção de pigmento têm também a si associadas, custos elevados, fator que conferia às cores simbolismo de nobreza e diferenciava as classes sociais [30].

Um exemplo curioso será talvez a origem do amarelo indiano. Dada a cor característica da urina, que se deve à presença de vários pigmentos, o principal dos quais o urocromo, um composto derivado da urobilina ou do urobilinogénio (e outros pigmentos que incluem a uroeritrina, as uroporfirinas e riboflavina) deu-se a peculiar proveniência deste pigmento natural. O amarelo indiano seria então feito a partir da urina de vacas que apenas se alimentavam com folhas de manga, sem beber água. À urina recolhida era adicionada terra e mistura cozinhada e seca. A substância final era dividida em torrões para serem vendidos. No entanto, como todo este processo era demasiado penoso para os animais a sua produção foi proibida no início do século XX [17].

Os pigmentos naturais utilizados para o tingimento, eram já conhecidos no período da Civilização do Vale do Indo (2600-1900 a.C.) e fundamentado por descobertas de roupas, tecidos coloridos e vestígios dos mesmos, nas ruínas da civilização em *Mohenjodaro* e *Harappa*. Deste modo, os corantes naturais e os tingimentos são tão antigos como os têxteis. O homem sempre esteve interessado em cores e a arte do tingimento tem um longo passado onde muitos dos corantes remontam à Pré-História [31]. As técnicas de tingimento primitivo

incluíam colar plantas nos tecidos ou esfregar pigmentos triturados nas roupas. No entanto, estes métodos foram-se tornando cada vez mais sofisticados com o tempo. As técnicas que utilizavam corantes naturais extraídos de frutas trituradas, bagas e plantas, que eram fervidas no tecido e garantiam resistência à luz e à lavagem, também foram melhoradas.

A utilização de pigmentos naturais em alimentos é conhecida, no Japão, no período *Nara* (século VIII), num texto que contém referências a bolos pigmentados pela utilização de soja e feijão-*adzuki*. Assim, estudos sobre pigmentos naturais são grandemente impulsionados pelas suas múltiplas funções [32]. A arte da coloração difunde-se amplamente com o avanço da civilização [33].

Antes da existência dos pigmentos sintéticos, os pigmentos naturais eram a única fonte de cor disponível, amplamente utilizados e comercializados, fornecendo uma fonte importante de criação de riqueza em todo o mundo. Tendo sido usados para muitas finalidades, como a coloração de fibras naturais (lã, algodão, seda), peles e couro, foram utilizados para colorir produtos cosméticos e produzir tintas e aguarelas para os artistas [34].

Até à descoberta do primeiro corante sintético malva (em 1856) por Sir *William Henry Perkin*, a indústria têxtil dependia de pigmentos naturais para o tingimento de diferentes fibras. A partir desta descoberta, foi dada uma maior importância aos corantes de origem sintética, dadas as suas vantagens económicas, seguindo um decréscimo da utilização dos pigmentos de proveniência natural (figura 7) [35].

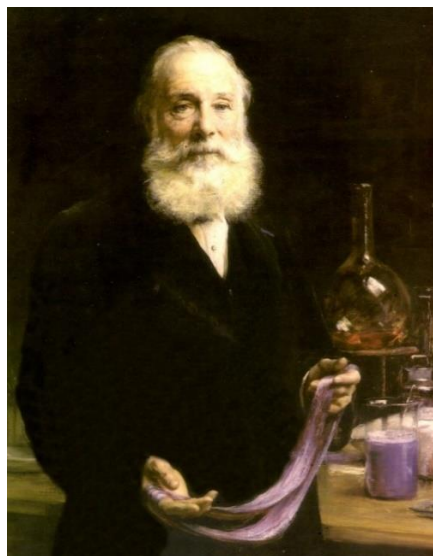


Figura 7 - Primeiro corante sintético (Malva) descoberto por Sir William Perkin em 1856.

<http://tdsblog.com/dye-off-natural-vs-synthetic/> [consultado a 16-07-2017].

Em 1868 a Alizarina ganha seu equivalente químico e em 1880 é a vez do azul índigo. Ao longo do século XX, os pigmentos orgânicos de proveniência natural foram quase totalmente substituídos por moléculas sintéticas, como as ftalocianinas, que variam de azul a verde, arilides de amarelo a esverdeado ou amarelo avermelhado e quinacridona variando de laranja a violeta [36]. Os avanços na química orgânica possibilitaram a produção em massa desses

compostos relativamente mais baratos, permitindo assim a substituição dos pigmentos de compostos naturais, cuja aquisição é muitas vezes, mais desafiadora. Atualmente a utilização de pigmentos sintéticos está ligada à indústria têxtil, indústria de curtimento de couro, produção de papel, tecnologia alimentar, pesquisa agrícola, células eletroquímicas fotográficas e coloração capilar [27].

Na década de 80 havia 3 milhões de cores disponíveis. Na década de 90, Estados Unidos, França e Inglaterra proibiram o uso de corantes químicos nas indústrias de alimentos e cosméticos. [37].

O estudo de pigmentos e matérias-primas é necessariamente interdisciplinar, envolvendo os componentes físico-químicos dos materiais, os componentes culturais e os antropológicos. A cor é recorrentemente utilizada como forma de expressão à escala Mundial [38-40], fazendo assim que as questões ligadas ao sistema de aprovisionamento utilizado e evolução das técnicas de produção dos pigmentos sejam a base do desenvolvimento da presente dissertação atendendo a uma nova perspectiva de sustentabilidade ligada ao Design de Moda e Têxtil.

3. Pensamento Sustentável na Moda e no Têxtil

3.1 Consciencialização das Empresas e Consumidores

A indústria da moda gera bilhões de dólares desde o processo inicial de produção de matéria-prima até à última etapa das vendas de produtos [41]. Ao mesmo tempo, é particularmente propenso a poluição ambiental devido às suas características inerentes [42]. Por exemplo, o processo de produção envolve o uso intensivo de produtos químicos e recursos naturais (terra e água), induzindo impactos ambientais adversos [43]. As preocupações com a sustentabilidade foram reforçadas na Agenda 21 das Nações Unidas em 2002 [42], onde era enfatizado que a consciência sustentável deve ser acompanhada por aspetos ambientais e sociais. Em voga, questões de sustentabilidade no meio ambiente e na sociedade também são cruciais e atraíram atenção considerável depois de muita publicidade. Assim a *Nike*, *H & M*, *Muji*, *GAP* e *Levi Strauss* estão a investir neste tipo de pensamento desenvolvendo cada vez mais as suas coleções de moda sustentável [44,45].

A moda sustentável também é conhecida como moda ecológica ou moda verde, o que implica que os produtos são produzidos e vendidos com um objetivo orientado para a sustentabilidade [47]. Especificamente, a abordagem do desenvolvimento da moda sustentável inclui o uso de materiais compatíveis com o meio ambiente (por exemplo, algodão orgânico, tecidos reciclados, métodos de tingimento ambientalmente seguros, utilização e desenvolvimento de corantes alternativos, embalagens ecológicas, etc). Embora a moda sustentável permaneça um nicho de mercado e ainda tenha um impacto de longo alcance sobre o estilo de vida das pessoas [48], tem sido amplamente discutido desde a última década. Muitos artigos

acadêmicos e industriais têm vindo a discutir como a moda sustentável pode ser efetivamente desenvolvida.

Para os consumidores responsáveis, a compra de moda sustentável é uma maneira de atender às suas necessidades básicas, psicológicas e humanas, como as atitudes de igualdade e sustentabilidade. Além da perspectiva psicológica, dimensões como o emprego de métodos de abastecimento e produção compatíveis com a regulamentação do comércio justo também são considerados os critérios da moda sustentável [43]. Os problemas de negócios sustentáveis consistem em diferentes tópicos, como produção e remanufactura sustentáveis, marketing verde, partilha de informação verde e atitude e educação verdes.

Estes tópicos merecem especial atenção e é importante investigar de que forma a perceção das pessoas sobre estes temas tem vindo a mudar.

3.2 Produção e Remanufactura Sustentáveis (*Sustainable Production and Remanufacturing*)

Produção e remanufactura sustentáveis são uma estratégia importante para as empresas de moda obterem vantagem competitiva. Uma boa empresa considera a sustentabilidade não apenas como forma de assumir responsabilidade social, mas também como uma poderosa fonte de vantagem competitiva e uma questão de sobrevivência corporativa [49]. Empresas de moda como a *Marks & Spencer* e o *Arcadia Group* ajustaram as práticas e procedimentos de produção e fabricação para abranger o princípio da moda sustentável [48]. Os produtos de moda sustentáveis são fabricados com matérias-primas orgânicas de forma ambiental e social, onde mesmo os tecidos tingidos ou submetidos ao processo de branqueamento, com produtos químicos menos prejudiciais ou branqueadores estão incluídos [44]. O uso de vestuário ecológico tem vindo a impor-se no mercado e será expandido por muitos anos. A indústria do têxtil e do vestuário beneficiou substancialmente das tecnologias desenvolvidas no âmbito da sustentabilidade. *Nike*, *Marks & Spencer* e *Timberland*, assumiram o desenvolvimento de têxteis de produção biológica. Na Califórnia, os sistemas biológicos agrícolas foram desenvolvidos para ajudar os produtores de algodão em direção à agricultura sustentável, o que resulta em importantes benefícios económicos para os produtores. A fim de aumentar a sustentabilidade da produção, as empresas de moda são encorajadas a adotar o sistema de informação, como a integração dos sistemas de gestão ambiental nas operações. Além disso, muitas marcas de moda diferenciaram os seus produtos e fortaleceram as empresas adotando práticas sustentáveis na sua cadeia de produção [49]. Uma opção/prática bem conhecida é a adoção do padrão ISO 14000. A certificação ISO 14000 tem sido uma evidência objetiva da conquista da empresa em gestão ambiental e sustentabilidade [50]. As empresas seguem o padrão ISO 14000 para estabelecer as suas operações e trabalhos relacionados com o meio ambiente [51,52]. A preocupação pública com a produção e manufatura sustentáveis pode mudar com o avanço da tecnologia e padrão industrial em sustentabilidade.

3.3 Marketing Verde (*Green Marketing*)

O *Marketing Verde* conseguiu introduzir produtos ecológicos no mercado, no entanto, é necessário enfatizar o *eco-design* e assim fortalecer o interesse e a lealdade dos clientes [49]. *Shedroff* (2009) [54] descreve uma estrutura para mostrar a ecoeficiência, que oferece uma base para entender o valor da sustentabilidade e as novas perspectivas em torno do design sustentável. O *marketing verde* está além da ligação aos produtos verdes ao *marketing*. *Etsy* e *Winston* (2009) [53] definem o *marketing verde* como as táticas de *marketing* na sustentabilidade do produto, como processos de remanufatura e redução da poluição. Dar um nome representativo à coleção é uma ótima técnica de *green marketing*. A *H&M* desenvolveu uma linha de moda sustentável "The Conscious Collection" enquanto a *Marks & Spencer* esquematizou o "Shwopping", uma estrutura de reciclagem de moda [55,56]. Tanto o "Conciouse" como o "Shwopping" traduzem a promessa de reduzir o impacto negativo sobre a sustentabilidade. Além disso, o desconto de vendas também é eficaz para promover a moda sustentável. Os clientes são encorajados a dar roupa (a empresa aceita roupas de qualquer marca e em qualquer condição) e, em troca, o consumidor recebe um voucher para usar numa loja *H & M* ou *Marks & Spencer* [55,57]. A estratégia de *marketing verde* está a mudar com a resposta do mercado.

3.4 Partilha de Informação Verde (*Green Information Sharing*)

A informação é significativa para os consumidores poderem fazer um julgamento ético, desempenhando um papel valioso nas empresas. Os consumidores dispõem de grande parte do seu tempo no momento de compra na procura de informações sobre os artigos. [49]. A disponibilidade de informações relacionadas à moda ecológica ajuda os consumidores ao acesso a moda sustentável [46]. *Joergens* (2006) [46] enfatiza que o fornecimento de informações sobre a sustentabilidade do produto é importante na venda em lojas de moda tradicionais. As empresas de moda são, portanto, sugeridas para melhorar a estrutura da loja, projetando o *layout* do espaço para que seja fácil os consumidores encontrarem a moda ecológica [41]. Por exemplo, as empresas de moda podem usar mais sinalização para indicar onde o vestuário ecológico é colocado na loja. Esta ação foi tomada pela *H & M* em muitas dos estabelecimentos comerciais [56]. Além disso, com a crescente popularidade da *Internet* na última década, mais e mais maneiras foram desenvolvidas para que pessoas ou organizações compartilhem e obtenham informações. Por exemplo, muitas marcas de moda lançam as suas últimas coleções sustentáveis em *sites*, da empresa, com informações detalhadas sobre os aspetos de sustentabilidade dos produtos [49]. *Beard* (2008) [48] recomenda que, para empresas emergentes no âmbito da moda ecológica, a *Internet* talvez seja mais útil para facilitar a promoção e a exposição das marcas. Além das informações de moda sustentável em lojas *on-line* e tradicionais, fornecer informações sobre a recolha e reciclagem de roupas usadas por algumas organizações (por exemplo, organização sem fins lucrativos) é, também, um forte contributo. As instituições de caridade desempenham um

papel proeminente na reutilização e reciclagem de têxteis e vestuário. Por exemplo, no Reino Unido, há mais de dois milhões de famílias que fazem uso de bancos têxteis ou recolha porta a porta para doar roupas e têxteis em finais de uso, todas as semanas [42]. Essas ações são suportadas por empresas de moda como a *H & M* e a *Marks & Spencer*, incentivando os seus clientes a distribuir um item antigo ou indesejado [55]. *Anson (2012) [55]* indica que os consumidores com uma consciência sustentável esperam receber informações úteis em relação ao local de recolha.

3.5 Atitude e Educação Verdes (*Green Attitude and Education*)

A atitude verde é definida pelos consumidores selecionando produtos, reciclagem e outras ações para proteger o meio ambiente. Embora a literatura existente mostre que os consumidores estão conscientes do meio ambiente e estão dispostos a comprar produtos verdes e a pagar mais, ainda têm uma visão estreita da moda sustentável, roupas orgânicas, ignorando a ampla complexidade da sustentabilidade [49]. *Morgan e Birtwistle (2009) [57]* argumentam que a falta de consciencialização na moda sustentável está relacionada com a reduzida educação do consumidor. A atitude de proteção ambiental poderia ser aprimorada entre os consumidores, melhorando a educação para a sustentabilidade. Demonstrou-se que a educação do consumidor é essencial para mitigar a cultura descartável e aumentar a consciencialização sobre os problemas éticos enfrentados pela indústria da moda. Algumas marcas de moda são encorajadas a tomar iniciativa para educar os consumidores, apenas para garantir o sucesso dos produtos de moda ética recém-lançados [49]. Por exemplo, o desenvolvimento de rótulos e projetos de embalagens que não explicam apenas os fatores ambientais relacionados aos produtos de vestuário verde, mas também chamam a atenção dos consumidores, podem ser um método educacional efetivo [64]. Estudos anteriores revelaram que os consumidores de moda estão interessados em comprar moda ecológica, mas não estão dispostos a sacrificarem-se pessoalmente, como pagar um preço mais alto [49]. No entanto, *Shen et al. (2012) [47]* descobriram recentemente que os preços da moda sustentável têm vindo a aumentar para garantir a sustentabilidade do produto. Os diferentes argumentos podem ser explicados pelo facto dos consumidores serem desanimados a comprar *eco-fashion* devido à má qualidade e materiais desconfortáveis [49]. No entanto, a qualidade da moda sustentável tem vindo a melhorar significativamente durante a última década, de modo a que os produtos sustentáveis sejam melhor aceites pelos consumidores [41].

Deste modo, como a preocupação das pessoas, com a produção e remanufatura sustentáveis, com o mercado verde, a partilha de informações sobre sustentabilidade e uma atitude e educação verde, tem vindo a mudar ao longo do tempo, novos avanços têm sido feitos nas diversas áreas de ação onde o Design de Moda e Têxtil estão inseridos. Aliado à tecnologia, biotecnologia e processos criativos chegam até aos métodos de produção, novas vias que garantem a sustentabilidade das empresas, consumo/consumidores e todos os ecossistemas envolvidos.

4. Desenvolvimento de pigmentos sustentáveis, alternativos aos sintéticos

4.1 Pigmentos Naturais vs Corantes sintéticos

Ao longo da última década, a sustentabilidade e a conduta ética começaram a ser importantes na moda [65,66]. As empresas perceberam que a moda acessível e sensível às tendências, embora geralmente altamente lucrativa, também levanta questões éticas [67]. Com jovens consumidores cada vez mais conscientes de valores verdes, é necessário equilibrar o consumismo ligado à moda, a um compromisso de sustentabilidade ambiental ligado à produção.

Os impactos ambientais devem ser considerados em todas as etapas de produção de um novo produto de moda, da origem da matéria-prima até ao momento em que deixa de servir de uso ao consumidor final. A indústria têxtil tende a adotar uma consciência global ecológica, com roupas sustentáveis para que haja menores emissões de CO₂, menor gasto de água e uma utilização moderada dos corantes sintéticos para preservar a natureza. Estilistas, Designers, empresas e até mesmo o consumidor final, sabem que a moda pode conciliar o desenvolvimento de produtos com a preservação da natureza. É preciso incorporar este tipo de pensamento e agir. Um fator bastante importante para este novo trajeto da moda é o desenvolvimento e a evolução tecnológica, que têm vindo a permitir ao Design de Moda e Têxtil encontrar alternativas a partir da reciclagem e do desenvolvimento de materiais inovadores e menos agressivos ao ambiente [68].

Com vista a reduzir a pegada ambiental causada pela indústria têxtil, a substituição dos corantes sintéticos por outros provenientes de compostos naturais tem vindo a ser alvo de grande investigação e desenvolvimento de novas vias de coloração de diversas fibras (figura 8).

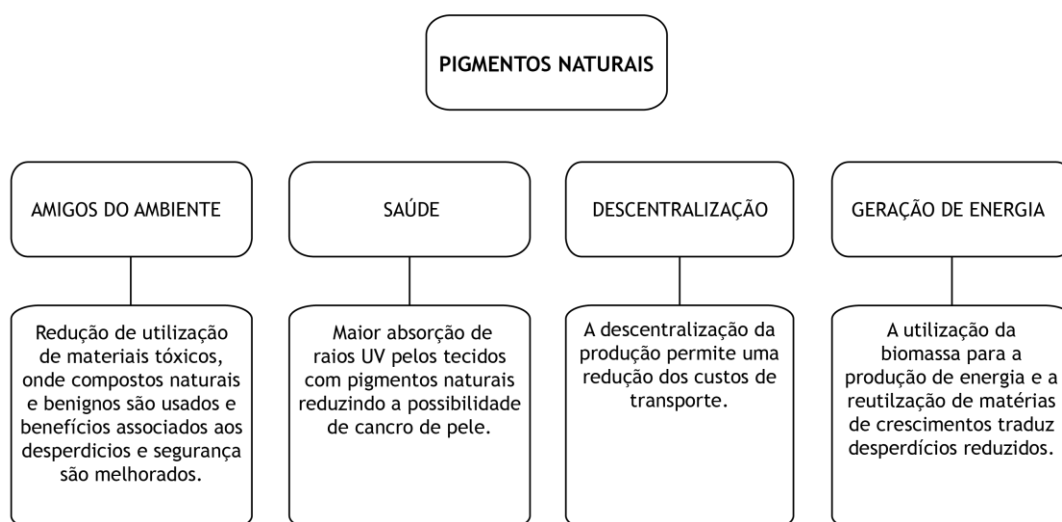


Figura 8 - Benefícios dos corantes naturais/"green dyes". (adaptado de [69]).

Face às suas características nutritivas, propriedades farmacológicas e por apresentarem fatores biológicos vantajosos (antioxidantes, anti-inflamatórios e agentes anticancerígenos), os pigmentos naturais têm não só a capacidade de aumentar a comerciabilidade dos produtos assim como garantem a segurança aquando do seu uso [69]. Organizações como a Organização Mundial da Saúde (OMS), a Administração de Alimentos e Drogas dos EUA (FDA) e a Autoridade Europeia de Padrões Alimentares (EFSA) recomendaram a dosagem segura de corantes sintéticos em alimentos, fármacos, têxteis e itens cosméticos [70,71]. Muitos corantes sintéticos são já proibidos pelos efeitos adversos (fatores potencialmente cancerígenos, alérgicos e tóxicos), o que fez com que a comunidade científica fosse redirecionada para a potencialidade dos corantes naturais. [69].

Desde tempos primordiais, produtos naturais, como isoprenoides, alcaloides e flavonoides, foram utilizados pelos seres humanos como corantes, sabores e fragrâncias. Considerando um menor impacto ambiental e benefícios para a saúde torna-se essencial explorar a proveniência e desenvolvimento de corantes naturais e aumentar a sua utilização nas mais diversas aplicações [72].

4.2 Pigmentos de Origem Bacteriana / Microrganismos

O pressuposto de sustentabilidade e consciencialização sobre segurança humana e conservação ambiental levou ao entusiasmo da substituição de fontes de carbono fóssil por matérias-primas renováveis. Consequentemente, o desenvolvimento de materiais a partir do uso de macromoléculas naturais de origem animal e vegetal obteve intensa pesquisa académica e industrial. [73].

O interesse pelos pigmentos derivados de fauna/flora, já é um assunto estudado, visto serem considerados seguros, pelas suas características não tóxicas, não cancerígenas e biodegradáveis [74]. Obtidos a partir de plantas, insetos, animais, minerais e bactérias, são produtos renováveis e biocombustíveis sustentáveis com um impacto ambiental mínimo, conhecidos e utilizados desde o período pré-histórico, não apenas na coloração dos têxteis [75] como também em ingredientes alimentares [76] e cosméticos [77].

A partir da descoberta do primeiro corante sintético (malva) por *W.H. Perkin*, em 1856, e consecutivo aumento de pesquisas sobre o tema (modo de produção e aplicação deste tipo de corantes) o uso de pigmentos naturais caiu drasticamente [72]. Os corantes sintéticos eram então a opção de eleição até meados do século XIX, apesar dos seus efeitos nocivos, tanto para seres humanos como para animais e meio ambiente.

Uma das hipóteses para garantir a sustentabilidade surge a partir da exploração de microrganismos (bactérias), pois são capazes de produzir diversos bio-produtos, sendo um deles os pigmentos. Assim, a produção de pigmentos bacterianos como corantes naturais tem sido investigada por vários entusiastas desta área [78-80]. A indústria é agora capaz de produzir alguns pigmentos bacterianos para aplicações em alimentos, cosméticos, têxteis, etc. [76].

“The total number of dyes discovered is more than three Million and some 27,000 had been marketed and about two new ones are appearing each week. Now, it is 2013. Numbers are certainly much more. Around 34,500 dyes and pigments are listed under 11,570 Color Index Generic Names in fourth edition of Color Index International of SDC & AATCC” [81].

O resultado de uma pesquisa feita por Santos *et al.*, em 2014, resultou num universo de dados compostos por diversos registos de documentos de patentes referentes à biotecnologia pesquisada. Contudo, é importante realçar que o número encontrado não representa o total de invenções protegidas nesta área, isto porque a mesma patente pode vir a ser registada em diferentes países (PCT).

A figura 9 apresenta a quantidade de documentos de patentes depositados ao longo dos anos, desde o primeiro registo em 1976 até o ano de 2013. Pode-se verificar dois momentos com uma tendência de crescimento, um de 1986 a 2000, e outro de 2004 a 2012. A falta de catalogação nos primeiros anos pode estar relacionada ao período de indexação de documentos. Observou-se o depósito de 30 patentes no ano de 2011 como o maior número de depósitos de todos os anos. O segundo momento de crescimento mostrado pelo gráfico da Figura 9 foi muito expressivo e recente, o que pode ser reflexo do atual interesse mundial no desenvolvimento de processos de extração e purificação de pigmentos de origem natural, visando substituir os corantes sintéticos [82].

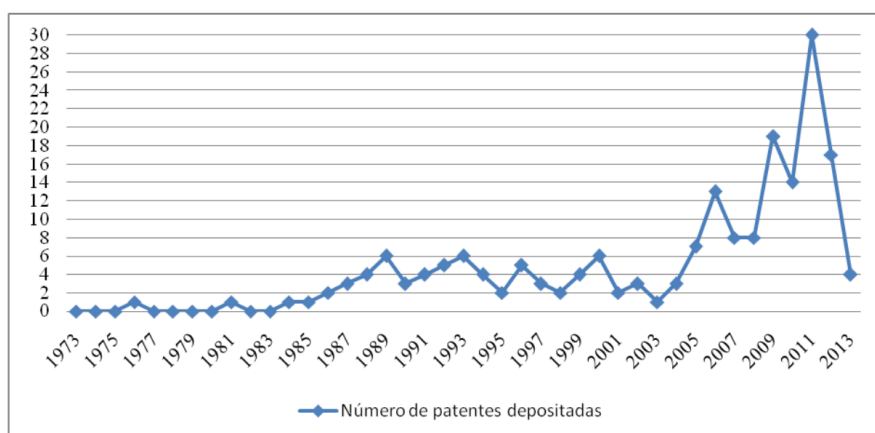


Figura 9 - Evolução anual de pigmentos naturais na base *Espacenet*. No eixo x, está representada a evolução anual; no eixo y, a quantidade de documentos de patentes (adaptado de [82]).

A partir do resumo das patentes para o estudo de prospecção até 2013, foi possível fazer uma análise por setor de aplicação da tecnologia, como apresentado na Figura 10. As indústrias químicas, de alimentos e de cosméticos destacam-se na aplicação da tecnologia de pigmentos naturais [82].

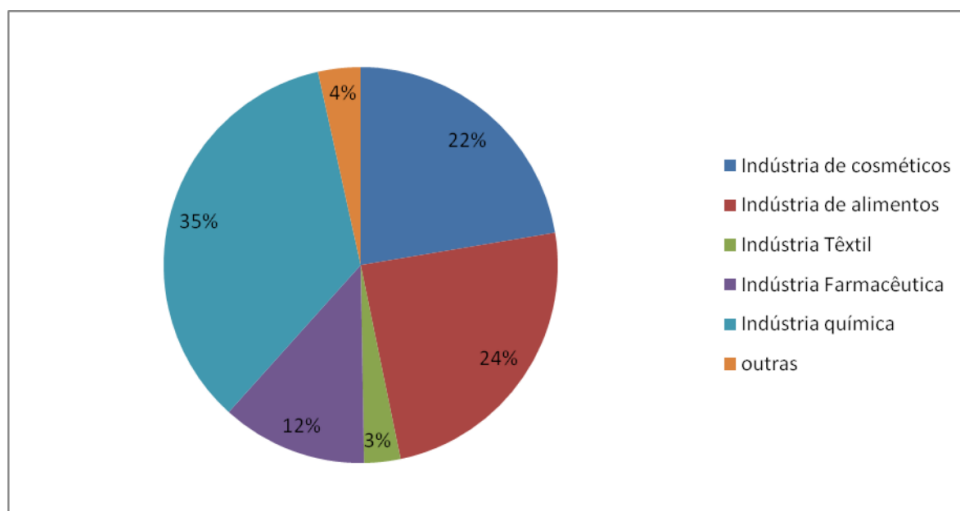


Figura 10 - Distribuição das patentes analisadas por setores de aplicação (adaptado de [82]).

As bactérias pigmentadas podem ser obtidas a partir de várias fontes ambientais que podem ser cultivadas e purificadas. Vários meios de crescimento podem ser utilizados para isolar diferentes tipos de bactérias que produzem pigmentos. No entanto, devido ao elevado custo de utilização do meio sintético, é necessário desenvolver um novo processo de baixo custo para a produção de pigmentos. A utilização de resíduos agroindustriais proporcionaria um meio rentável de reduzir o custo do substrato. O pigmento produzido por bactérias pode ser separado e utilizando com solvente e caracterizado adicionalmente utilizando várias técnicas analíticas baseadas em instrumentos tais como TLC, UV-vis, FTIR, ESI-MS, RMN, HPLC e Cromatografia de Permeação de Gel.

A extração de pigmentos bacterianos em formas relativamente puras e concentradas é o principal desafio tecnológico. As bactérias produzem dois tipos de pigmentos: os que predominantemente permanecem ligados ao micélio bacteriano (endo-pigmentos) e aqueles que são segregados para o meio de fermentação (exo-pigmentos). Os pigmentos da primeira classe podem ser convenientemente recuperados por interrupção dos micélios filtrados com acetona, enquanto os produtos naturais segregados são tipicamente recuperados por extração do meio líquido com grandes quantidades de solventes orgânicos, como o acetato de etilo. Para mitigar as preocupações ambientais e de saúde associadas à utilização de solventes, podem ser apropriadas tecnologias alternativas de separação, como a secagem por pulverização (geralmente utilizada na indústria alimentar) e a extração em fase sólida (comum na indústria química fina) [83].

A utilidade de um pigmento para aplicações industriais é ditada não só pelas suas propriedades inerentes, mas também pela capacidade de produção em quantidades suficientes. Embora existam vários desafios associados à ampliação da produção de pigmentos, grande parte da tecnologia para superar esses desafios já está em vigor, o que faz com que seja desenhada uma possível via para a reintrodução de pigmentos bacterianos num mundo economicamente frágil. Por exemplo, a restrição pragmática de cultivar um grande número de placas de meios sólidos, que exigiria o uso de muitas placas de Petri, bem como grandes incubadoras, pode ser superada usando tanques de fermentação. De facto, esta tecnologia de fermentação já é utilizada para produzir produtos naturais de bactérias para aplicações farmacêuticas. Um desafio mais significativo reside na necessidade de aumentar a produção dos pigmentos a partir de bactérias para tornar o seu fabrico economicamente viável. Aqui, os desenvolvimentos recentes na biologia molecular podem ser úteis. Os genes responsáveis pela biossíntese de inúmeros pigmentos foram clonados e a tecnologia do ADN recombinado, foi aproveitada para sob reproduzir esses pigmentos [84,85]. Por exemplo, os cientistas da *Amgen, Inc.* foram capazes de criar um grupo de microrganismos não-perigosa amplamente utilizada de *Escherichia coli* para produzir índigo (anteriormente derivado exclusivamente *Indigofera tinctoria*) em tanques de fermentação [86].

Pesquisas recentes projetaram o valor das cores naturais em relação às cores artificiais/sintéticas: Em 2011, as vendas globais de cores naturais totalizaram US \$ 600 milhões, um aumento de quase 29% em relação a 2007, representando um crescimento anual superior a 7%.

Os microrganismos são conhecidos como uma fonte potencial de produção de bio-pigmento (figura 11) devido às suas vantagens sobre as plantas em termos de disponibilidade; estabilidade; eficiência de custos; trabalho; rendimento e fácil processamento [78]. Foram já produzidas variedades de bio-pigmentos, tais como carotenoides, melaninas, flavinas, quininas, monascinas, violácea de microrganismos (tabela 1) [87].

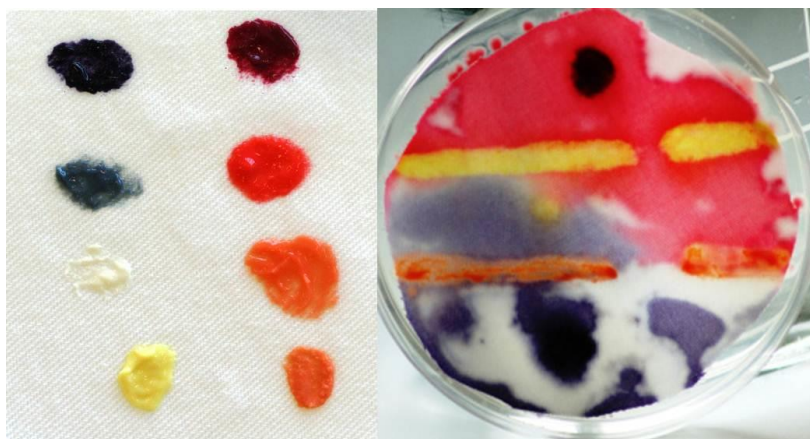


Figura 11 - Bio-pigmentos produzidos por diferentes microrganismos e utilizados em tecido.

<https://exploringtheinvisible.files.wordpress.com/2013/03/biodyes.jpg> [consultado a 13-04-2017].

Tabela 1. Lista de pigmentos produzidos por diferentes microrganismos (adaptado de [88]).

Pigmentos	Microrganismos
Indigo (azul; verde)	<i>Streptomyces aureofaciens</i> CCM 323, <i>Corynebacterium insidium</i>
Carotenoides	<i>Gemmatimonas aurantiaca</i> T-27 ⁷
Melanin (preto; castanho)	<i>Kluyveromyces marxianus</i> , <i>Streptomyces chibanensis</i> , <i>Cryptococcus neoformans</i> , <i>Aspergillus</i> sp., <i>Wangiella dermatitidis</i> , <i>Sporothrix schenckii</i> , and <i>Burkholderia cepacia</i>
Prodigiosina (vermelho)	<i>Serratia marcescens</i> , <i>Rugamonas rubra</i> , <i>Streptoverticillium rsubreticuli</i> , <i>Serratia rubidaea</i> , <i>Vibrio psychroerythrus</i> , <i>Alteromonas rubra</i> , and <i>Vibrio gaogenes</i>
Zeaxanthin	<i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Vibrio psychroerythrus</i> , <i>Streptomyces</i> sp., and <i>Hahella chejuensis</i>
Canthaxanthin (cor-de-laranja)	<i>Monascus roseus</i> , <i>Bradyrhizobium</i> sp.
Xanthomonadin (amarelo)	<i>Xanthomonas oryzae</i>
Astaxanthin (vermelho)	<i>Phaffia rhodozyma</i> , <i>Haematococcus pulvialis</i>
Violaceína (violeta)	<i>Janithobacterium lividum</i>
<i>Anthraquinone</i> (vermelho)	<i>Pacilmyces farinosus</i>
<i>Halorhodopsin</i> and <i>rhodopsin</i>	<i>Halobacterium halobium</i>
Cor-de-rosa claro	<i>Lamprocystis roseopersicina</i>
Violeta	<i>Thiocystis violacea</i> , <i>Thiodictyon elegans</i>
Cor-de-rosa pêssego	<i>Thiocapsa roseopersicina</i>
Cor-de-laranja; castanho	<i>Allochromatium vinosum</i>
Cor-de-rosa/violeta	<i>Allochromatium warmingii</i>

5. Bio-Pigmentos

Os microrganismos são as ferramentas mais versáteis em biotecnologia para produzir uma variedade de moléculas, incluindo enzimas, antibióticos, ácidos orgânicos e pigmentos (figura 12). Estudos recentes mostraram que os microrganismos são uma fonte promissora de cores naturais. A presença de pigmentos foi relatada entre todo o mundo microbiano, incluindo bactérias, fungos, leveduras, algas e protozoários. Esses microrganismos podem ser isolados/cultivados/purificados a partir de várias fontes naturais (meio aquático, solo, plantas, insetos e animais).

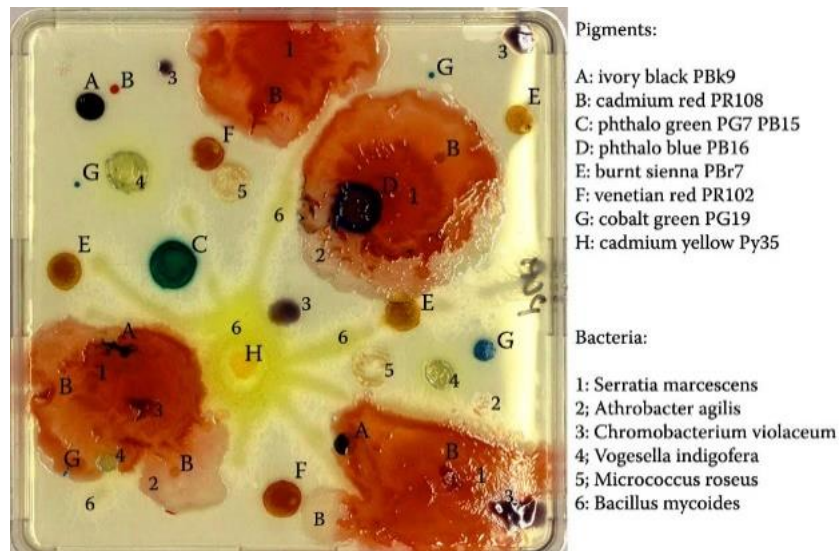


Figura 12 - Bio-pigmentos produzidos por diferentes bactérias numa placa Petri.

<http://4.bp.blogspot.com/>-

[m5tkj3njalc/TqWL66Qhycl/AAAAAABh8/wB5Alt5Owno/s1600/agarplatekey.jpg](http://4.bp.blogspot.com/m5tkj3njalc/TqWL66Qhycl/AAAAAABh8/wB5Alt5Owno/s1600/agarplatekey.jpg) [consultado a 10-07-2017].

5.1 Melhoria de Estirpes Bacterianas

A melhoria de algumas estirpes bacterianas foi alcançada, principalmente, por diversos ensaios aleatórios de mutação e seleção genética. Na última década, o desenvolvimento de abordagens de exclusão de genes [69] permitiu uma eficiente inativação de ADN no genoma e uma melhoria da engenharia metabólica das bactérias. Neste contexto, uma abordagem mais sistemática e integrada para o desenvolvimento de processos biotecnológicos que condicionam o desenvolvimento de microrganismos tornou-se predominante. A nível económico é vantajoso o desenvolvimento de estirpes industriais, uma vez que as concentrações de pigmentos produzidas por estirpes selvagens são relativamente baixas para garantir a viabilidade económica do processo.

É, também, necessário o isolamento de estirpes que produzem pigmentos com tempos de fermentação mais céleres.

A melhoria das estirpes microbianas para superprodução de produtos industriais tem sido a base de todos os processos de fermentação comercial. A melhoria provocada, por deformações causadas através de agentes mutagénicos comuns, como a radiação ultravioleta

(UV), o metano sulfonato de etilo (EMS) e a 1-metil-3-nitro-1-nitrosoguanidina (NTG), torna-se conveniente para proporcionar o aumento exponencial dos pigmentos produzidos ao longo do processo, como foi comprovado em vários estudos, anteriormente realizados [89,90].

5.2 Estratégias de Fermentação

Os avanços nas técnicas de fermentação levaram a uma fácil produção e isolamento de pigmentos bacterianos. Estes bio-pigmentos podem ser produzidos por fermentação em substrato sólido (*Solid Substrate Fermentation* - SSF) ou por fermentação submersa. Na fermentação SSF, o cultivo da biomassa microbiana ocorre na superfície de um substrato sólido. Esta técnica (SSF) tem diversas vantagens, incluindo poupança de águas residuais e um elevado rendimento de metabólitos. Por outro lado, na fermentação submersa, os microrganismos são cultivados em meio líquido de forma aeróbica com agitação adequada para obter um crescimento homogêneo das células, bem como dos componentes do meio. Perspetivando a otimização deste método, alguns investigadores têm vindo a estudar a influência de diversos parâmetros no processo de produção de pigmentos, nomeadamente a fonte de carbono, a temperatura, o pH e a taxa de aeração. Novos processos de baixo custo e procedimentos de extração mais eficientes de bio-pigmentos têm vindo a ser desenvolvidos em resposta ao custo relativamente elevado da utilização de meios sintéticos. Estudos esses que visam a produção em larga escala de pigmentos microbianos a partir do uso de resíduos de material orgânico. Alguns concentraram-se na produção de carotenoides a partir de resíduos como o soro de leite, a pomada de maçã e a polpa esmagada. Este tipo de procedimento poderá reduzir o custo de produção, definindo-se como vantajosa ferramenta de gestão de excedentes [88].

A Metodologia de Superfície de Resposta (*Response Surface Methodology* - RSM) é uma abordagem promissora para otimizar meios e métodos de produção de diferentes pigmentos, útil quando um elevado número de variáveis influenciam o processo. Deste modo, a RSM permite reduzir o número de ensaios experimentais necessários para avaliar a influência das múltiplas variáveis e as suas interações, por ser menos diligente e mais rápida do que os métodos clássicos necessários para otimizar um processo. Um exemplo empregue por diversos investigadores foi o *Plackett-*

Burman, apropriado para rastrear fatores significativos, envolvidos em processos específicos. Este tipo de metodologia tem sido aplicada com sucesso para estudar o efeito e as interações entre as diversas variáveis que influenciam um processo, proporcionando a otimização dos componentes comuns e condições de fermentação, exigindo um menor número de ensaios [69].

5.3 Recuperação e separação de pigmentos bacterianos

A necessidade de padrões de referência relativos à qualidade e quantidade de pigmentos bacterianos tem vindo a aumentar devido ao aparecimento de novas áreas de pesquisa sobre

as propriedades biológicas e farmacológicas destes organismos. No entanto, os processos de separação e purificação encontram ainda muitas limitações restringindo a produção em elevada escala.

O método convencional para a separação e purificação de pigmentos bacterianos tem-se baseado na extração utilizando solventes orgânicos, que tornam o processo bastante longo e complexo [91]. No caso da prodigiosina produzida por *Serratia marcescens*, que se encontra ligada ao envelope celular, apenas uma pequena porção de pigmento é liberada para o meio [92]. Neste contexto, uma elevada quantidade de solvente é requerida e, o rendimento da produção é demasiado baixo quando se pretende obter o produto, com elevada pureza.

Para muitas macromoléculas orgânicas têm sido utilizadas resinas de adsorção não iónicas para o isolamento e purificação, nomeadamente na separação de ácidos orgânicos, péptidos, proteínas, ácidos nucleicos e outros compostos [69]. A elevada capacidade de carga permite a separação de compostos em grandes quantidades. O produto-alvo pode ser adsorvido, diretamente, na resina selecionada a partir do meio de cultura, eliminando as etapas de separação celular e extração do pigmento, que traduz custos mais baixos no processo, devido ao reduzido consumo de solventes de extração e adsorventes reutilizáveis.

Com base na utilização de resinas de adsorção não iónicas, Wang *et al.* (2004) [92] aprovaram um método eficaz de absorção para separação e purificação de prodigiosina, diretamente do meio de cultura e com elevado rendimento. Esta tecnologia além de eliminar a etapa de separação celular produz um produto concentrado e parcialmente purificado pronto a ser utilizado nas posteriores etapas de purificação. A recuperação total do pigmento a partir deste processo (83%) demonstrou ser muito superior comparativamente com a extração convencional (50%). Além disso, a resina de adsorção (resina X-5) utilizada apresentou uma elevada capacidade de carga e pode ser facilmente regenerada. Estas vantagens tornaram possível a separação e purificação de pigmentos bacterianos em grande escala.

Outro exemplo, é o caso da violaceína, extraída por processos simples e económicos. A abordagem para o bio-pigmento produzido pela *Pseudoalteromonas sp.* Estirpe *Black Beauty* (DSM 13623), uma bactéria de sedimento marinho, obteve um rendimento 13 vezes superior, onde o corante bruto foi extraído a partir da massa celular por uma suspensão com metanol quente, conforme descrito nas Patentes Nos. AT000000369438, DE000010063712, EP000001341925, US020040053375, WO002002050299 [93].

Já os carotenóides podem ser extraídos com óleo de girassol em alternativa à utilização de solventes orgânicos, eliminando assim possíveis reações tóxicas devido a elevadas concentrações de acetona ou hexano [69].

Contudo, vários avanços tecnológicos são ainda necessários, para melhorar a recuperação e separação de pigmentos bacterianos do meio de cultura, de forma a reduzir os gastos de energia e os custos elevados associados aos processos.

5.4 Novas estratégias de produção de pigmentos bacterianos

Os métodos tradicionais empregues para atingir objetivos de inovação e competitividade global incluem a seleção de espécies microbianas, otimização dos meios de cultura, desenvolvimento de tecnologias, bio-reactores e novos processos. No entanto, estes métodos suportam algumas desvantagens, pois o tempo necessário para obter bons resultados torna-se bastante longo, aumentando os custos do processo, que em muitos casos têm baixas taxas de sucesso.

Ao longo dos últimos anos, foram introduzidas duas novas estratégias para produzir elevadas quantidades de produtos bacterianos, como enzimas e pigmentos, para a produção industrial. Estas estratégias são baseadas na resposta dos microrganismos às bactérias existentes na sua “vizinhança” (deteção de quórum) e ao ambiente envolvente (elicitación). Embora a investigação sobre o processo de deteção de quórum se tenha tornado numa alternativa viável, a atividade é limitada a pesquisas de referência nas áreas da biomédica. No entanto, existe um enorme potencial para empregar este processo a nível industrial para a produção de bio-pigmentos [94].

A produção de alguns pigmentos como a prodigiosina e a violaceína é controlada por sistemas de deteção de quórum [95,96] onde as células bacterianas sintetizam determinadas moléculas sinalizadoras que são segregadas para o meio. Estas funcionam como sinais que contêm informação acerca da densidade celular, que se traduzem num benéfico controlo de produção de pigmento. Um exemplo deste método foi observado pela inoculação da bactéria *Pantoea agglomerans*, que produziu um intenso pigmento azul tendo sido exibida uma elevada densidade celular regulada pelo processo de deteção de quórum [97].

A combinação entre a deteção de quórum e o ambiente envolvente (elicitación) traduz uma alternativa promissora a ser explorada como método alternativo para a superprodução de bio-produtos comercialmente desejáveis à escala industrial [94].

5.5 Perspetiva Económica

Por um lado, há uma crescente preferência pelos pigmentos bacterianos na indústria alimentar, tingimento têxtil, farmacêutica e cosmética, por outro, em alguns casos, os pigmentos naturais podem ser muito mais caros do que os corantes sintéticos. Um exemplo único é o *B-carotene* produzido por bactérias que tem um custo aproximado de US \$ 1000 / kg contra US \$ 500 / kg por meios sintéticos; embora mais caro que o sintético, o *B-carotene* produzido por meios bacterianos compete em segmentos de mercado, onde é importante que todos os pigmentos sejam "naturais" [98].

O aumento da globalização, a reestruturação e a internacionalização tem sido elemento relevante para o aperfeiçoamento da indústria dos pigmentos ao longo dos últimos anos. A demanda global de pigmentos e corantes orgânicos deverá chegar a quase 10 milhões de toneladas até ao final deste ano, de acordo com os Analistas da Indústria Global. A indústria

global de fabricação de tintas é dominada nos últimos 20 anos pelo Reino Unido, Suíça, Alemanha e por alguns fabricantes dispersos por todo o Mundo. A indústria têxtil irá continuar a ser a maior consumidora de pigmentos e corantes orgânicos, no entanto prevê-se um crescimento acelerado noutros setores industriais, como tintas de impressão, revestimentos e plásticos. Existe um impulso crescente, para a utilização de corantes naturais, devido ao carácter nocivo e uso proibido de alguns compostos sintéticos (proibição de corantes azo na Europa). O valor de mercado irá beneficiar, com o pensamento sustentável dos consumidores que, os incentiva à preferência de produtos ecológicos.

O desenvolvimento de estirpes bacterianas que usam substratos ecológicos e renováveis tornam o preço destes pigmentos competitivo com os pigmentos sintéticos. Portanto, descobrir substratos baratos para a produção de pigmentos é a chave para reduzir o custo dos processos. Embora o preço do pigmento bacteriano seja relativamente maior em comparação com os corantes sintéticos, o custo de produção pode ser reduzido através do:

- Uso de resíduos agrícolas como resíduos de abacaxi, bagaço de cana-de-açúcar e melaço como meio de crescimento para cultivo de bactérias.
- Uso de estirpes bacterianas selvagens, isoladas localmente, elimina o custo de quaisquer alterações genéticas, etc.
- Uso de técnicas de extração simples.

Os pigmentos bacterianos oferecem inúmeras vantagens e a aceitabilidade ambiental e as características de desempenho superiores, podem levá-los a ser líderes do mercado orgânico [69].

6. Aplicações dos Bio-Pigmentos

Alihosseini et al. (2008) [99] caracterizaram o pigmento da bactéria *Vibrio spp.* como um pigmento vermelho vivo e sugeriram que poderia ser usado para tingir diversas fibras, incluindo lã, nylon, acrílicos e seda (Figura 13).

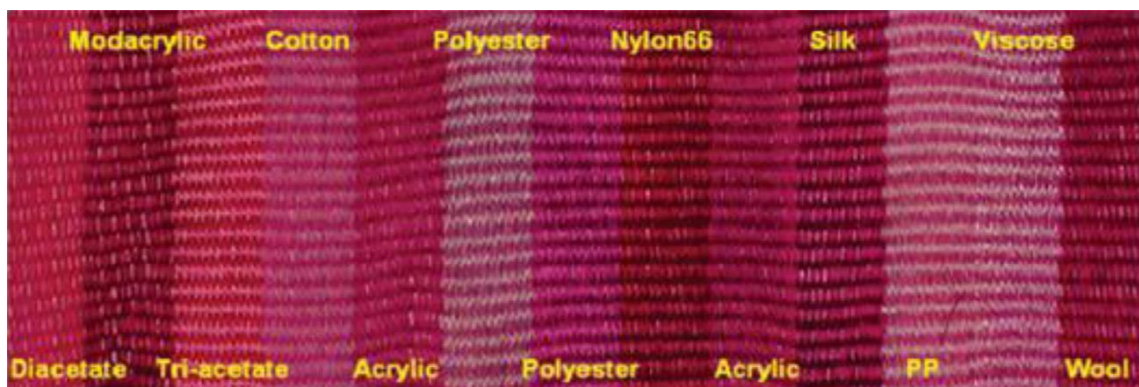


Figura 13 - Tingimento de diferentes fibras a partir do pigmento produzido pela *Vibrio spp.* estirpe KSJ45. (adaptado de [99])

Yusof (2008) [100] relatou a capacidade de usar pigmento de *Serratia marcescens* para colorir cinco tipos de tecido - acrílico, poliéster microfibras, poliéster, seda e algodão, utilizando o

tamarindo como mordente. No entanto, os desempenhos do tingimento são diferentes, dependendo dos tipos de fibras. A partir dos testes de resistência da cor, os tecidos tingidos também têm a capacidade de manter sua cor sob várias condições externas, como transpiração, lavagem e fricção/abrasão. A possibilidade de tingimento têxtil também foi relatada para *Janthinobac-terium lividum* [101] que apresenta um tom azulado-púrpura quando aplicada em todas as fibras naturais. O tingimento foi feito por um procedimento simples que consiste em mergulhar no extrato de pigmento ou em ferver os tecidos em conjunto com as células bacterianas. A variação de cor foi conseguida alterando o tempo de imersão e a temperatura do banho de tingimento.

Ahmad et al. (2012) [102] testaram a eficiência de coloração em diferentes tecidos (algodão puro, seda pura, *rayon* puro, *rayon jacquard*, acrílico, algodão, cetim de seda e poliéster) do pigmento vermelho (prodigiosina) produzido pela *Serratia marcescens* e o pigmento violeta (violaceína) da bactéria *Chromobacterium violaceum*. Os resultados sugeriram que a prodigiosina poderia ser usada para colorir acrílico enquanto a violaceína produziu colorações intensas em *rayon* puro, *rayon jacquard* e cetim de seda. Estes bio-pigmentos foram também utilizados pelo método de *Batik*, onde o desenho foi feito a lápis no tecido para posteriormente ser aplicada uma mistura de cera de abelha e parafina, sobre os motivos desenhados.

Na zona onde a cera foi aplicada o corante não iria penetrar. Os tecidos foram tingidos, usando os pigmentos bacterianos extraídos com a ajuda de um pincel. O tom da cor foi ajustado, adicionando acetato de etilo (usado para o pigmento vermelho e roxo) ou acetona (pigmento amarelo). Depois do tingimento, foi feita uma imersão dos tecidos em água a ferver, com a adição de um fixador de cor (alumínio, sulfato de ferro, sulfato de cobre) para remover a cera e garantir a solidez dos pigmentos bacterianos. No final o "*batik*" foi deixado a secar sob a luz solar suave (figura 14).



Figura 14 - *Batik* com pigmentos bacterianos. (adaptado de [102])

6.1 Projetos Design de Moda

Natsai Audrey Chieza, Designer do Departamento de Engenharia Bioquímica do *University College of London* desenvolveu uma série de projetos, partindo da microbiologia com o intuito de substituição de pigmentos sintéticos prejudiciais, por corantes naturais produzidos por bactérias. Este processo exigiu um repensar completo de todos os sistemas de produção de moda e têxtil e, uma perspectiva que examina como as questões contemporâneas sobre recursos alternativos, proveniência e especificidade cultural, se combinam com um tecnológico antropocêntrico.

Os projetos abaixo descritos foram desenvolvidos pela autora, onde o Design de Moda e Têxtil se alia aos bio-pigmentos [103].

Faber Futures | Experiment no. 1 _____ The Print Room

Conclusão do projeto 2013

"Primeira coleção de têxteis produzidos pela serigrafia tradicional usando corantes produzidos por bactérias".

Na primeira etapa da série "Faber Futures", com pesquisas adaptadas ao mundo do design, surge uma nova era da prática artesanal que emerge através da convergência do design com a biologia molecular. A série fornece a base para explorar várias hipóteses usando o pensamento de design criativo, idealizando um mecanismo para impulsionar a aplicação da biotecnologia. Em teoria, o aproveitamento dos sistemas vivos pode levar a um futuro mais resiliente.

Print Room apresenta a primeira coleção de produtos têxteis produzidos por serigrafia tradicional usando corantes que foram fabricados por bactérias (figura 15). Neste projeto, *Natsai* criou um sistema para "treinar" bactérias para produzir pigmentos variáveis como subproduto da sua atividade metabólica. Após experiências de extração, produz-se pigmento suficiente para imprimir diretamente sobre os têxteis. Este projeto ambicioso, ilustra o potencial que consiste em aproveitar os organismos vivos, para criar o protocolo de matérias-primas e artesanato necessários, para substituir produtos químicos altamente poluentes da indústria. Este projeto teve a colaboração do Professor *John Ward*, *The Ward Lab*, *University College London*, com apoio da *Espace Fondation EDF* para *ALIVE: NOVAS FRONTEIRAS DE DESIGN*. [104]

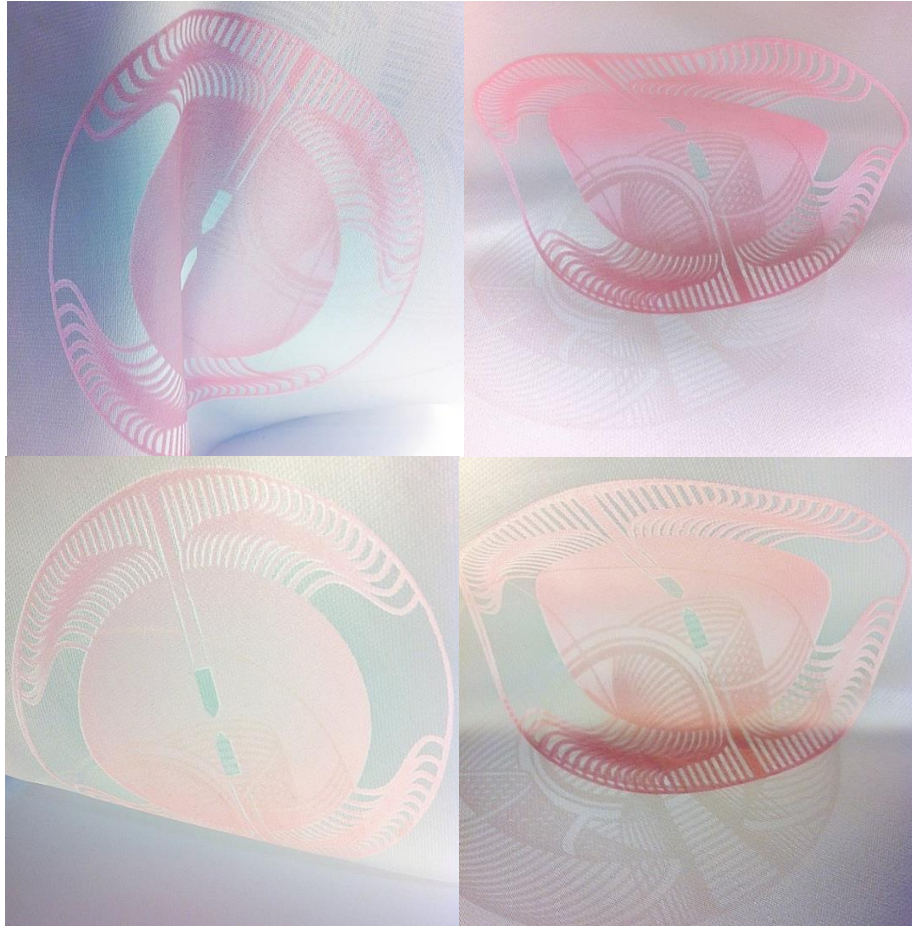


Figura 15 - *Faber Futures | Experiment no. 1 _____ The Print Room.* (adaptado de [104])

Faber Futures | Experiment no. 2 _____ The Print Room

Conclusão do projeto 2013

O *Rhizosphere Pigment Lab* é inspirado na noção de que o protocolo de laboratório pode ser interpretado como uma disciplina de artesanato (figura 16).

A inspiração para o projeto parte da rizosfera (seção de solo que é diretamente influenciada por secreções radiculares) e de microrganismos associados ao solo. Este trabalho articula o protocolo envolvido na determinação da cor produzida pela planta de estragão, alecrim e hortelã. Uma triagem que ilustra a proveniência botânica das bactérias, a avaliação do pigmento produzido pelas colônias microbianas de cada planta e, as amostras correspondentemente selecionadas que tingiram lenços de seda *in vitro*. Enquanto traçado o progresso desta experiência, os tecidos fluídos ilustram como a investigação, a ciência e o design estão a definir novos processos artesanais com microrganismos. Este projeto contou com a colaboração do Professor *John Ward, The Ward Lab, University College London*, apoiado pela *Science Gallery Dublin* para *CROW YOUR PROPERTY* e pela *Heimtextil for Progress e Revive!* [105].



Figura 16 - *Faber Futures* | *Experiment no. 2* _____ *The Print Room*. (adaptado de [105])

Faber Futures* | *Experiment no. 3* _____ *Fold

Conclusão do projeto: 2014

A relação entre material e processo é explorada nesta série de impressões bacterianas experimentais cultivadas em lenços de seda. A dobra torna-se a chave para o desenvolvimento de uma nova linguagem estética. Através de uma resistência deliberada para se desviar da padronização de uma placa de Petri, as dobras de *Origami* permitem que um lenço inteiro encaixe dentro dos limites de uma caixa de 150 mm de diâmetro. Os resultados são uma série de deslumbrantes cópias espelhadas, que se transformam e mudam o pigmento produzido por bactérias que, se difunde através de camadas de seda *habotai* inoculada (figura 17). Muito tempo, após o momento em que se observa o pico da atividade microbiana, o lenço de seda fina serve como registro do que é viver e morrer em 7 dias. Este projeto teve a colaboração do Professor *John Ward*, *The Ward Lab*, *University College London* [106].



Figura 17 - *Faber Futures* | *Experiment no. 3* _____ *Fold*. (adaptado de [106])

Faber Futures* | *Experiment no. 5* _____ *Rise and Fall of a Micropolis

Conclusão do projeto: 2017.

Rise and Fall of a Micropolis é a quinta etapa do projeto "Faber Futures" que procura estabelecer metodologias orientadas, para a indústria de impressão e tingimento de têxteis com bactérias produtoras de pigmento. Aqui, a variável do projeto de investigação é o tempo: as bactérias são cultivadas com têxteis de seda por 816 horas (34 dias). Isso apresenta um ciclo narrativo de vida que depende da disponibilidade rítmica de energia e recursos. As células pais dão lugar a células filhas numa coreografia perpétua de alimentação e hidratação, sem a qual a atividade metabólica do organismo diminui, resultando no fim de vida das células. Em condições de laboratório, a competição por recursos é eliminada mantendo a esterilidade na câmara de inoculação. O projeto é uma metáfora viva do domínio humano nos frágeis ecossistemas da Terra, pois é uma investigação séria, sobre a implicação dos recursos da incubação prolongada e as consequências estéticas visuais decorrentes desse

aprimoramento do protocolo. O artefacto material produzido no projeto, sugere a perspectiva que aponta para o desempenho colaborativo e uma aparente simbiose entre o Designer e o microrganismo (figura 18) [107].



Figura 18 - *Faber Futures | Experiment no. 5* _____ *Rise and Fall of a Micropolis*. (adaptado de [107])

Blond & Bibier

Algaemy é um projeto que investiga o potencial das microalgas na impressão Têxtil. Todos os padrões são impressos com material bacteriano (figuras 19 e 20). Como resultado da pesquisa em cooperação com o instituto de investigação alemã *Fraunhofer Insitute For Mikroalgae*, *Blond & Bieber* desenvolveram uma paleta de cores vivas utilizada em impressão Têxtil. No entanto, contrariamente ao usualmente conhecido pela indústria, as cores não são estáveis à luz. A "paleta de cores biodinâmica" dos têxteis da *Algaemy* varia ao longo do tempo, quando exposta à luz solar. De um verde a um azul intenso, de um rosa pálido a um vermelho

brilhante e, eventualmente, um laranja. Cada pedaço de tecido conta uma história ao longo do tempo. "People change - So Do Textiles."

Para o desfile de moda *Milk and Sugar* (organizado pelo Ministério de Investigação e Educação), *Blond & Bieber* criaram dois coordenados em cooperação com a designer *Ylenia Gortana* sediada em Berlim. As roupas foram costuradas sem exposição direta à luz solar para evitar a transformação biodinâmica das cores. Os coordenados foram exibidos no desfile pela primeira vez, onde começaram a mudança natural das cores (figura 19).

Em cooperação com a marca alemã de calçado *Trippen*, o *Blond & Bieber* produziu protótipos de sapatos impressos com microalgas (figura 20). A *Algaemy* foi nomeada para o prêmio *German Design Award 2015*, para o *DMY Award 2014* e recebeu o *OutPut Award 2014* assim como o *77 Award [108]*.



Figura 19 - *Algaemy* _ "People change - So Do Textiles". (adaptado de [108])



Figura 20 - *Algaemy* _ "People change - So Do Textiles". (adaptado de [108])

Capítulo II

Desenvolvimento Laboratorial

1. Metodologia | Contextualização

Com o intuito de reduzir a pegada ambiental gerada pela indústria têxtil, causada pelo uso excessivo de corantes sintéticos, foi desenhada uma nova via que explora a utilização dos microrganismos como fonte produtora de pigmentos naturais.

A partir de uma recolha de informação sobre métodos existentes para a utilização destes bio-pigmentos foi elaborada uma investigação sobre possíveis processos que pudessem ser adaptados à utilização dos microrganismos inseridos no âmbito da presente pesquisa.

O estudo laboratorial¹ teve como objetivo a otimização da produção dos bio-pigmentos dos diferentes microrganismos, aferindo os possíveis métodos de tingimento, selecionando, posteriormente, os que garantam melhores resultados na transferência dos corantes para os diversos suportes têxteis.

Foram elaboradas várias estratégias, sendo possível identificar quatro etapas distintas. Na primeira etapa, foi desenhado um plano de desenvolvimento de meios de cultura alternativos com vista a diminuir o custo de produção do meio de crescimento dos microrganismos; na segunda etapa, foi explorada a possível viabilidade da produção dos bio-pigmentos em contacto direto com os tecidos e consequente transferência dos corantes, desde o momento de inoculação das bactérias; a terceira etapa fez uso dos pigmentos microbianos como uma espécie de “pasta de estampar”, proporcionando a coloração dos tecidos, retirando o pigmento diretamente do meio sólido; a última etapa, diz respeito à utilização do pigmento em pó extraído de duas bactérias e utilizado para o tingimento por esgotamento de fios e tecidos.

Os dados recolhidos em todas as etapas foram posteriormente analisados para que pudessem servir como guia de planeamento do projeto de design conceptual, proposto para o enaltecimento destes novos compostos naturais.

¹ O estudo laboratorial da presente dissertação, foi desenvolvido com o apoio do Laboratório de Química Têxtil e Biotecnologia, da Universidade da Beira Interior, integrado na Unidade de I&D Fib.E.Tech - Materiais Fibrosos e Tecnologias Ambientais.

2. Microrganismos Estudados (Breve descrição)

Chryseobacterium shigense

A estirpe contém células Gram-negativas, não móveis, de forma alongada e produz um pigmento amarelo. Bactéria aeróbica, *chemo-organotrophic*, com crescimento dos 5-30°C e pH entre 5-8. Produz um tipo de pigmento identificado como flexirrubina. O pigmento revela estabilidade na exposição a luz UV, luz solar, em condições escuras e entre os 25-100°C [109].

Bactéria *Pseudomonas sp*

Bactéria Gram-negativa, *Gammaproteobacteria*, pertencente à família *Pseudomonadaceae* que contém 191 espécies descritas na literatura. Esta espécie demonstra grande diversidade metabólica, capazes de colonizar uma vasta quantidade de microrganismos. Devido à sua proliferação em água e plantas, a bactéria é descrita desde o início da história da microbiologia [110].

Esta bactéria foi gentilmente cedida pelo Professor Pete Askew (Imperial College, London) e, possui a característica especial de produção de um exo-pigmento solúvel de cor castanha, que se difunde para o meio exterior.

Serratia plymuthica

Bactéria da família *Enterobacteriaceae*, Gram-negativa, anaeróbica, de forma alongada.

Produz pigmento vermelho (prodigiosina), é um tipo de microrganismo encontrado no solo e isolado de diferentes tipos de alimentos [111].

3. Diário Laboratorial

Preâmbulo: Todos os componentes utilizados nos procedimentos microbiológicos foram esterilizados na autoclave, através de um ciclo normativo de 21 minutos, onde o nível da água da máquina e a proteção de todo o material com papel prata foram respeitados, garantindo a durabilidade dos mesmos.

Assim como as experiências de inoculação dos microrganismos e as diversas estratégias exploradas foram feitas dentro da câmara de fluxo previamente esterilizada durante 10 minutos com luz UV, de modo a garantir a manipulação dos microrganismos em condições estéreis.

A inoculação de cada microrganismo foi feita com uma ansa devidamente esterilizada, transferindo a bactéria de um meio de cultura para novas placas com meio de crescimento.

3.1 Primeira Etapa - Otimização do meio de cultura alternativo

Com o intuito de reduzir os custos associados aos meios de cultura comuns, foram realizados ensaios que procuravam novos meios que garantissem o crescimento das bactérias e a consequente produção de bio-pigmento.

Experiência Nr.1 - Meio Sólido 1

Pesagem separada dos componentes - 2g alginato + 100ml H₂O.

Adicionou-se lentamente o alginato à água com a ajuda de um agitador mecânico para que não existisse formação de grumos e se obtivesse uma solução viscosa.

Depois de autoclavar, a solução de alginato foi colocada numa placa Petri dentro da câmara de fluxo para solidificar. Pretendia-se a formação de um gel, que poderia permitir a inoculação de microrganismos, no entanto, esta experiência não foi bem-sucedida.

Experiência Nr.2 - Meio Sólido 2

Como não se verificou a formação de um gel na experiência Nr.1 foi necessária a adição de um agente gelificante (cloreto de cálcio) para criar as ligações necessárias que resultavam na formação do gel pretendido.

Os dois elementos foram pesados e autoclavados separadamente (2g alginato + 100ml H₂O e 0,5g cloreto de cálcio + 50ml H₂O) seguindo-se a adição da solução de cloreto de cálcio a temperatura ambiente dentro da câmara de fluxo. Este ensaio foi concluindo de forma positiva. As ligações cruzadas que se formam entre os iões do alginato com o cloreto de cálcio são equiparadas à estruturação de um tecido, onde teia e trama se cruzam de modo a criar uma rede, e que neste caso se traduz no gel necessário para a inoculação das bactérias.

Experiência Nr.3 - Meios de cultura e crescimento bacteriano

Preparação de placas para crescimento da bactéria - Três estratégias:

- **Placa 1:** Alginato e cloreto de cálcio + bactéria
- **Placa 2:** Alginato, cloreto de cálcio e NB (*Nutrient Broth*) + bactéria
- **Placa 3:** NA (utilizado comumente como meio de crescimento) + bactéria

Na **Placa 1** foi utilizada a solução previamente testada na experiência nr.2 (solução de alginato e cloreto de cálcio) para a inoculação da *Chryseobacterium shigense*.

Na **Placa 2** foi adicionado NB aos componentes utilizados na Placa 1 (2g alginato + 100ml H₂O e 0,5g cloreto de cálcio + 50ml H₂O) respeitando uma razão de 8g/l, o que indica que numa solução de 20ml de H₂O deveriam ser utilizadas 0,16g de NB.

O preparado foi misturado com a ajuda de um agitador magnético para facilitar a solvência do NB que foi posteriormente autoclavado para ser feita a inoculação.

A **Placa 3** foi utilizada como controlo, verificando se crescimento da bactéria inoculada no meio indicado e nas demais experiências eram semelhantes, ditando a viabilidade das estratégias alternativas.

O meio de crescimento otimizado é constituído por *Nutrient Broth*, Ágar e Água (0,8g NB + 1,5g ágar + 100ml H₂O).

A inoculação nas 3 placas foi feita da mesma forma, conforme ilustra a figura 21, que exemplifica no meio de crescimento otimizado (**Placa 3**).

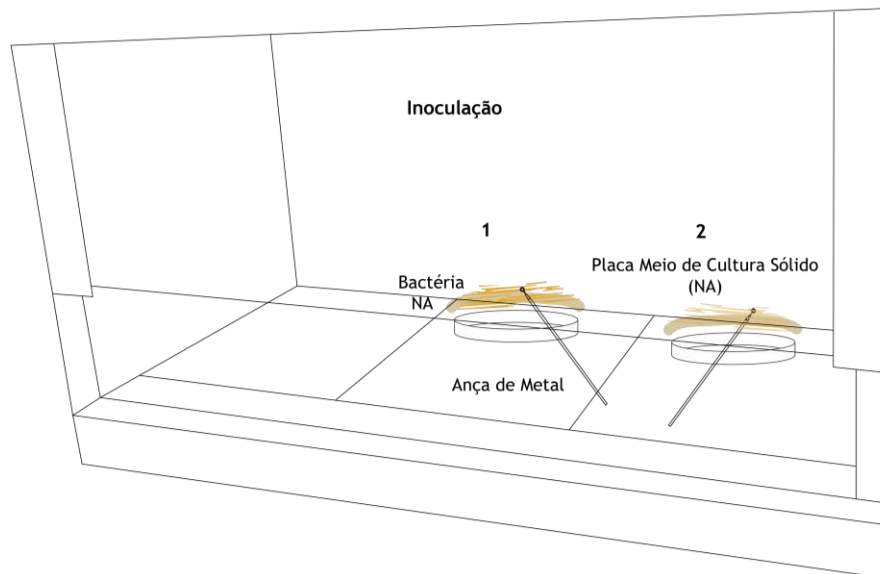


Figura 21 - Método de inoculação dos microrganismos (fonte: autora)

Juntamente com estas 3 estratégias foi ainda testada a viabilidade da inoculação ser feita diretamente no tecido. O ensaio foi feito em algodão, poliamida e poliéster sem qualquer tipo de coloração. O meio de crescimento utilizado na **Placa 3** (NA) foi vertido em tecidos 100% Algodão, 100% Poliéster, 100% Poliamida, de forma aleatória em pequenas quantidades com a ajuda de uma pipeta e, a bactéria inoculada sobre as zonas com meio de crescimento.

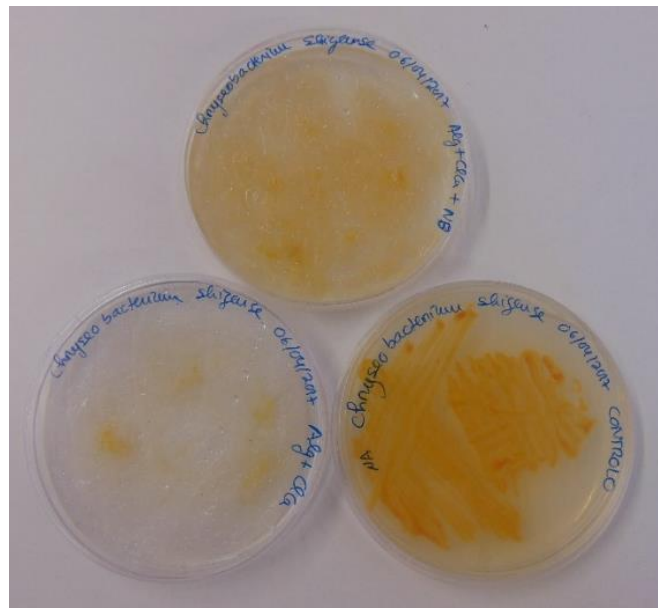
Todos os preparados foram devidamente colocados dentro da estufa, de modo a que o vapor de água criado na placa não ficasse retido no meio e permitisse o crescimento natural da bactéria, a 28°C durante pelo menos 24 horas.

Dados Recolhidos:

Após 24h e conforme expectável, foi perceptível o crescimento da bactéria na placa de controlo (**Placa 3** - figura 22). No entanto, nas outras estratégias não foi possível perceber se houve crescimento ou apenas dispersão do microrganismo. Tal como se pode verificar pela figura 23, nos tecidos, o meio secou impossibilitando a proliferação da bactéria.

Passadas 48 horas a Placa 1 continuava sem indicar crescimento algum da bactéria enquanto a Placa 2 apresenta apenas uma proliferação reduzida no meio (figura 22).

Placa 2



Placa 1

Placa 3

Figura 22. Experiência Nr.3 resultados finais das placas com os diferentes meios de cultura. (fonte: autora)



Figura 23 - Inoculação direta em três amostras de tecido (100% Algodão, 100% Poliéster, 100% Poliamida). Meio sólido secou impossibilitando a proliferação da bactéria. (fonte: autora)

Os resultados mostraram que a solução mais viável para a proliferação da bactéria em meio de cultura sólido seria o já otimizado, a uma temperatura de 28°C, no período mínimo de 24h. Nenhuma alternativa se mostrou favorável, mesmo que economicamente mais vantajosa, pois não garantiam nem o crescimento favorável da bactéria nem a produção de pigmento.

3.2 Segunda Etapa - Sobreposição têxtil com os microrganismos

Conforme resultado da primeira etapa, seria utilizado apenas o meio de cultura otimizado (NA) para o crescimento da *Chryseobacterium shigense*. Após a preparação da solução de

meio, foram estudadas novas estratégias para o tingimento de diferentes suportes têxteis com os pigmentos microbianos.

Experiência Nr.4 - Meio Sólido

Nesta 1ª estratégia (figura 24), os suportes têxteis (100% Algodão, 100% Poliéster, 100% Poliamida e 100% Latex) foram colocados no fundo da placa e cobertos pela solução de ágar para a inoculação da bactéria.

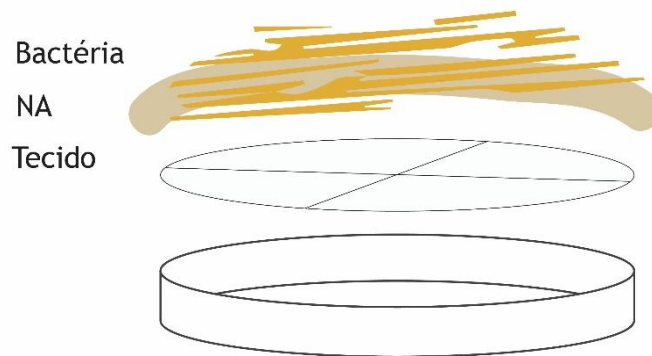


Figura 24 - 1ª estratégia: suportes têxteis colocados no fundo, cobertos com a solução de meio sólido (NA) e posteriormente inoculada bactéria. (fonte: autora)

Numa 2ª estratégia (figura 25), o meio foi vertido e após a solidificação foram colocadas 4 amostras dos materiais têxteis. Seguidamente foi colocada uma segunda camada de meio sólido, em menor quantidade do que na primeira camada e feita a inoculação.

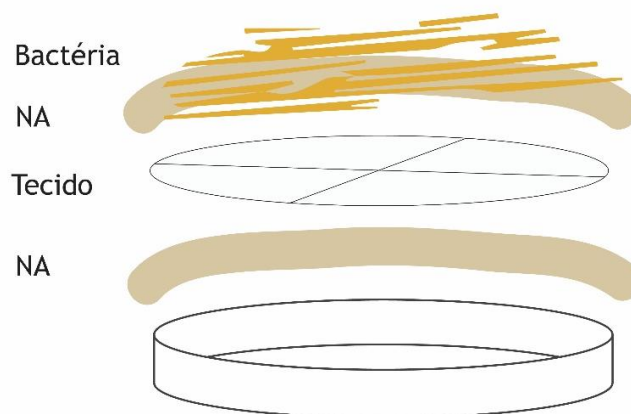


Figura 25 - 2ª estratégia: solução de meio sólido (NA), suportes têxteis colocados, nova camada de NA e posteriormente inoculada bactéria. (fonte: autora)

Noutra abordagem (3ª estratégia), foi vertido o meio de crescimento, feita a inoculação e colocados os suportes têxteis em contacto direto com a bactéria (figura 26).

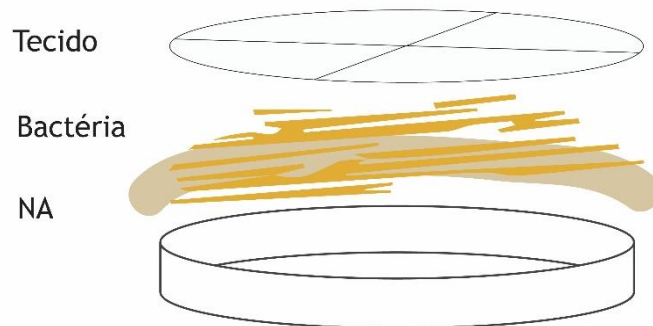


Figura 26 - 3ª estratégia: solução de meio sólido (NA), inoculação da bactéria e sobreposição dos suportes têxteis em contacto direto com a *Chryseobacterium shigense*. (fonte: autora)

Os ensaios foram mantidos na estufa a 28°C durante 24 horas.

Dados Recolhidos:

Verificou-se o crescimento e produção do pigmento em todas as estratégias. No entanto, a transferência do pigmento amarelo apenas foi possível pelo método ensaiado na terceira estratégia.

100% Poliéster - coloração superficial.

100% Algodão - transferência de cor e um aspeto mais “vivo” do pigmento.

100% Poliamida - amostra com melhor absorção da cor (tingimento mais uniforme).

100% Latex - Menor transferência do bio-pigmento.

Para garantir a durabilidade dos tingimentos, foi feita uma fixação e lavagem das amostras.

A fixação foi feita pelo método de *Pad Dry* a 150°C durante 7 minutos e a lavagem com detergente e água, na razão de 1g/l (0,5g + 500ml), foi feita a 40°C durante 40 minutos. Foi lavada apenas metade de cada amostra, para ser avaliada a solidez do pigmento.

Os resultados podem ser visualizados na figura 27 e revelaram o seguinte:

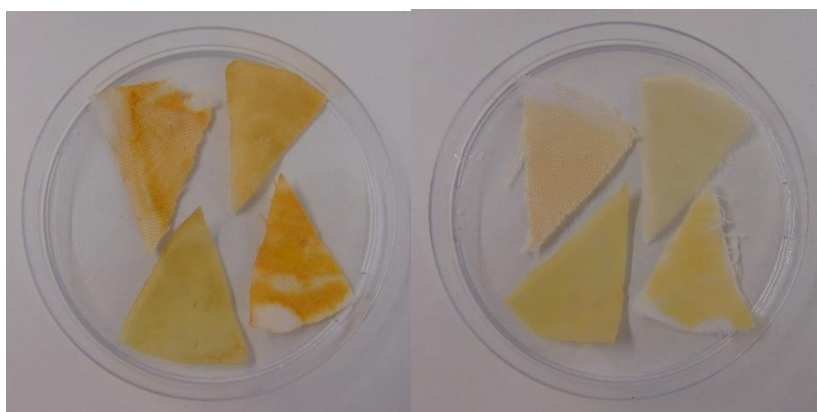


Figura 27 - No lado esquerdo é possível visualizar os resultados após fixação (*Pad Dry*) e no lado direito o resultado final das mesmas amostras após ensaboamento. (fonte: autora)

100% Poliéster - baixa fixação do pigmento após ensaboamento. Coloração mais ténue mas uniforme comparada com a metade da amostra apenas fixada.

100% Algodão - amostra com maior solidez do bio-pigmento após ensaboamento. Verificada apenas uma menor intensidade da cor.

100% Poliamida - perda significativa da intensidade da cor após o ensaboamento mas mantida uma coloração uniforme.

100% Latex - baixa fixação do pigmento após lavagem. Ténue manchado da amostra.

Experiência Nr.5 - Meio Líquido

Nas experiências em meio líquido existem duas fases:

Pré-fermentação - Como foi planeado apenas o tingimento de 4 amostras têxteis (100% Poliéster; 100% Algodão; 100% Poliamida; 100% Latex) foi calculado o processo para um balão de 250ml com 50ml de meio e um balão de 100ml com 20ml de meio. Ambas as soluções foram aferidas para que existisse uma razão para 20% de oxigénio em cada um dos balões. A bactéria foi inoculada no meio líquido da mesma forma que a utilizada em meio sólido e tomadas todas as devidas precauções de autoclavagem e esterilização da câmara de fluxo. A pré-fermentação foi feita a 28°C durante 3 horas a 200 RPM (figura 28).

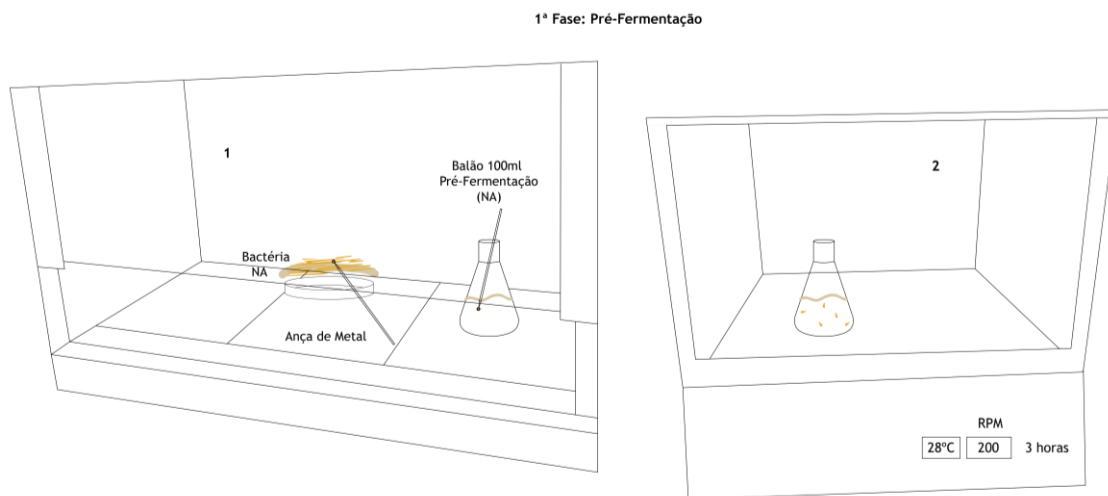
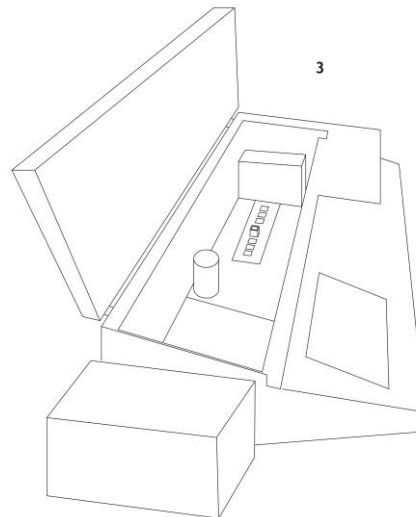


Figura 28 - Explicação da primeira fase em meio líquido: Pré fermentação (1. Inoculação da bactéria no balão de 100ml; 2. Pré-fermentação durante 3h, a 28°C e 200 RPM. (fonte: autora)

Após as 3h indicadas para a pré-fermentação, foi necessário medir a densidade ótica do meio para garantir que houve crescimento da bactéria e esta se encontrava no seu estado ótimo para passar da pré para a fermentação. Deste modo foi feito o branco no espectrofotómetro, com uma solução NaCl a 0,8%, de modo a descontar as contribuições da própria célula durante as medições (figura 29).

De seguida a célula foi aferida com o meio da pré-fermentação, sem qualquer diluição e caso a DO = 1 (densidade ótica) significando que estavam reunidas as condições para passar à fermentação, nestas condições (2mL de meio de pré-fermentação para 100 mL de novo meio

de fermentação [109]. Como a DO era superior a 1, foi feita uma diluição da solução de meio líquido da pré-fermentação com a bactéria, utilizando a solução de NaCl de modo a, obter-se uma leitura de densidade óptica fiável e sendo possível passar o processo para a fase de fermentação, através de simples ajuste no volume a transferir de pré-fermentação para meio de fermentação.



Branco no Espectrofotômetro e seguida célula aferida com meio da Pré-fermentação para calcular a DO

Figura 29 - 3. Medido o branco no Espectrofotômetro. Seguidamente a célula foi aferida com meio da pré-fermentação para calcular a DO. (fonte: autora)

Fermentação - Nesta segunda etapa, no balão de 250ml, apenas com o meio de cultura, foi adicionado o volume adequado da solução de pré-fermentação. De seguida foram colocadas as amostras de tecido para que pudesse haver uma adesão/absorção da bactéria em crescimento. Para a recolha de dados, foi necessário uma fermentação contínua durante 48h a 28°C e 200 RPM, conforme ilustrado pela figura 30.

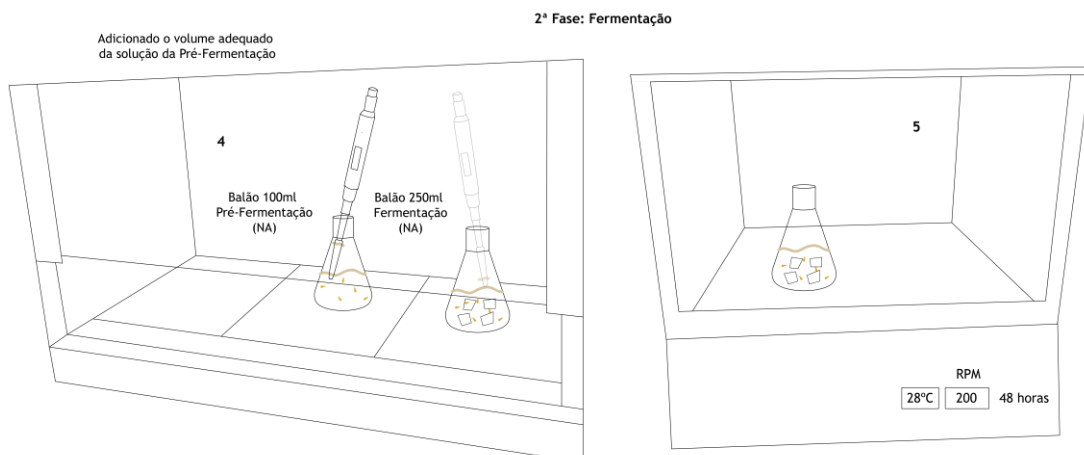


Figura 30 - 2ª fase em meio líquido: Fermentação (4. Adicionado volume adequado da pré-fermentação ao balão de 250ml da fermentação; 5. Fermentação durante 48h, a 28°C e 200 RPM. (fonte: autora)

Dados Recolhidos:

Após o tempo de fermentação, tanto a amostra de algodão como a de poliamida ficaram visivelmente tingidas enquanto as outras amostras apenas espelhavam uma leve absorção de pigmento.

Para garantir a durabilidade dos tingimentos, foi feita uma fixação e lavagem das amostras:

A fixação do corante nas amostras foi feita pelo processo de *Pad Dry* a 200°C durante 7 minutos. Verificou-se uma desintegração do latex devido ao excesso de temperatura, que foi excluído do resto do processo. Foi preparada a solução de lavagem para o ensaboamento de metade das amostras, durante 40 minutos a 40°C.

Após a lavagem, tanto o algodão como a poliamida revelaram boa capacidade de fixação e penetração do corante na fibra, enquanto o poliéster demonstrou um total desaparecimento do bio-pigmento como demonstrado pela figura 31.

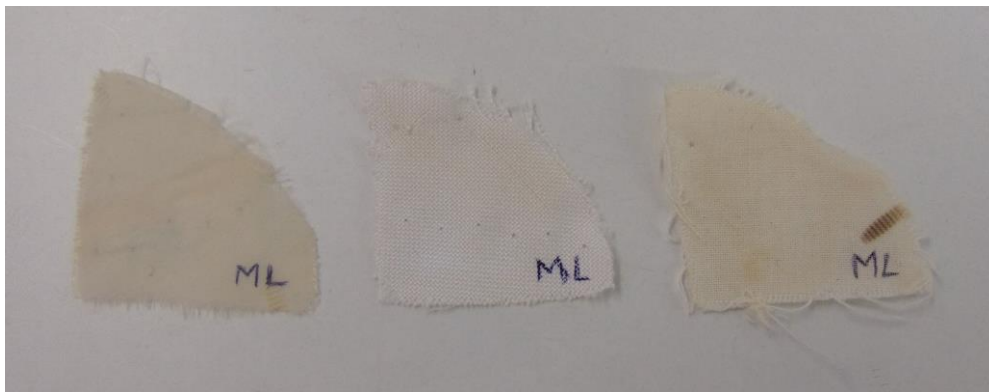


Figura 31 - Amostras após lavagem: esquerda - 100% Poliamida; centro - 100% Poliéster; direita - 100% Algodão (fonte: autora)

Experiência Nr.6 - Meio Sólido

Em diversas placas preparadas com o meio de cultura, foram colocadas em contato direto com a bactéria inoculada, amostras de 100% Algodão; 100% Poliéster; 100% Poliamida; 40% Seda/60% Algodão, dobradas em algumas zonas. Uma das placas continha uma amostra de seda-algodão dobrada pela técnica de *Shibori*.

- Estes ensaios funcionaram não só como estudo da capacidade de fixação do corante na fibra como também se analisou a possível penetração do pigmento nas camadas sobrepostas e se era ou não possível controlar o “desenho” do tingimento.

As placas foram mantidas na estufa a 28°C durante uma semana.

Dados recolhidos:

100% Algodão - Como consequência das dobras na amostra, a transferência de cor ficou limitada à zona de contato com a bactéria, manchando apenas o resto do tecido (figura 32).

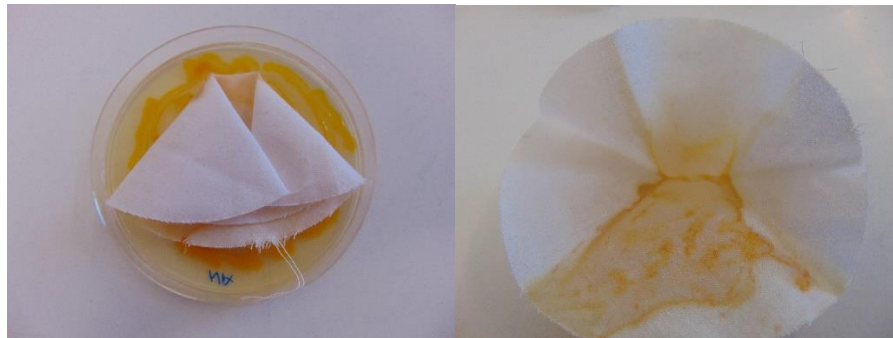


Figura 32 - Amostra 100% Algodão dobrada e retirada do meio sólido (fonte: autora)

100% Poliéster - Apesar da amostra dobrada o bio-pigmento tingiu todo o tecido, manifestando apenas uma coloração mais amarelada nas zonas em contacto com o pigmento e um tom mais acastanhado na restante área. O tingimento resultante espelhava o modo/desenho conforme tinha sido inoculada a bactéria (figura 33)

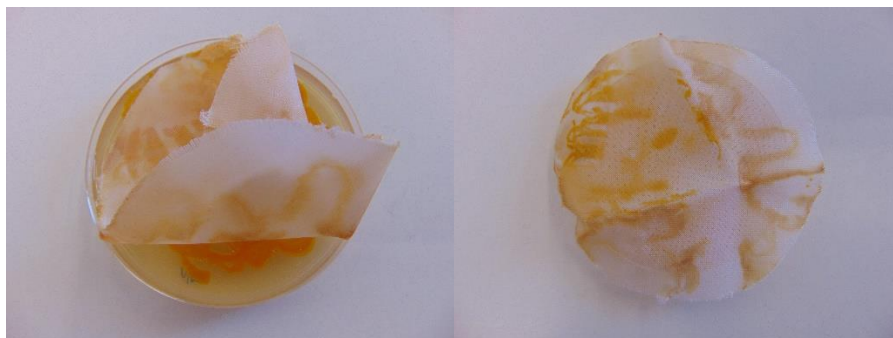


Figura 33 - Amostra 100% Poliéster dobrada e retirada do meio sólido (fonte: autora)

100% Poliamida - O contacto entre a amostra e a bactéria originou uma transferência uniforme do corante, mas apenas na zona de contacto como se verifica pela figura 34.

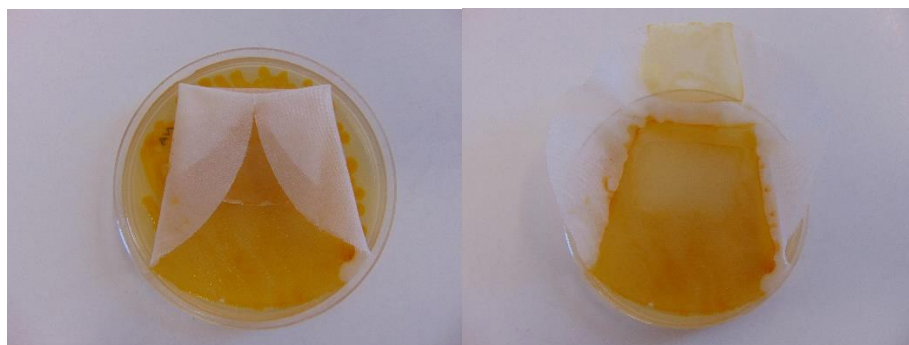


Figura 34 - Amostra 100% Poliamida dobrada e retirada do meio sólido (fonte: autora)

40% Seda/60% Algodão - Difusão da bactéria e respetivo pigmento para algumas zonas do tecido. A zona de contacto direto com a bactéria traduziu um tingimento uniforme enquanto a restante amostra apresentou um padrão irregular (figura 35).

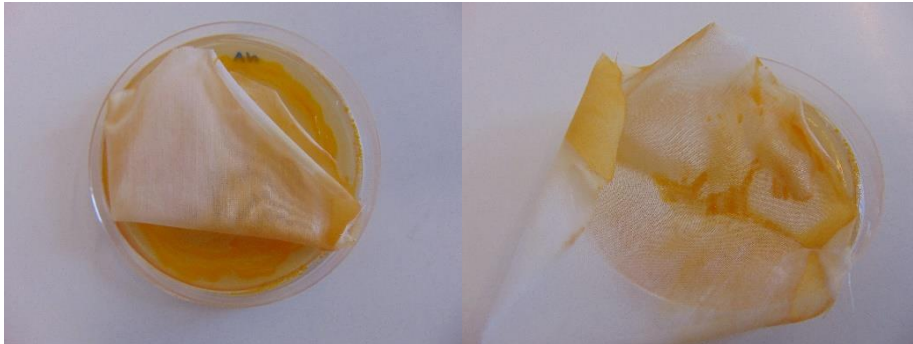


Figura 35 - Amostra 40% Seda/60% Algodão dobrada e retirada do meio sólido (fonte: autora)

40% Seda/60% Algodão (Técnica *Shibori*) - Transferência de pigmento com tonalidade mais intensa na zona da amostra diretamente sobreposta com a bactéria. Conforme demonstrado pela figura 36, à medida que existia uma maior sobreposição de camadas de tecido, a penetração do pigmento torna-se menos evidente e ténue.

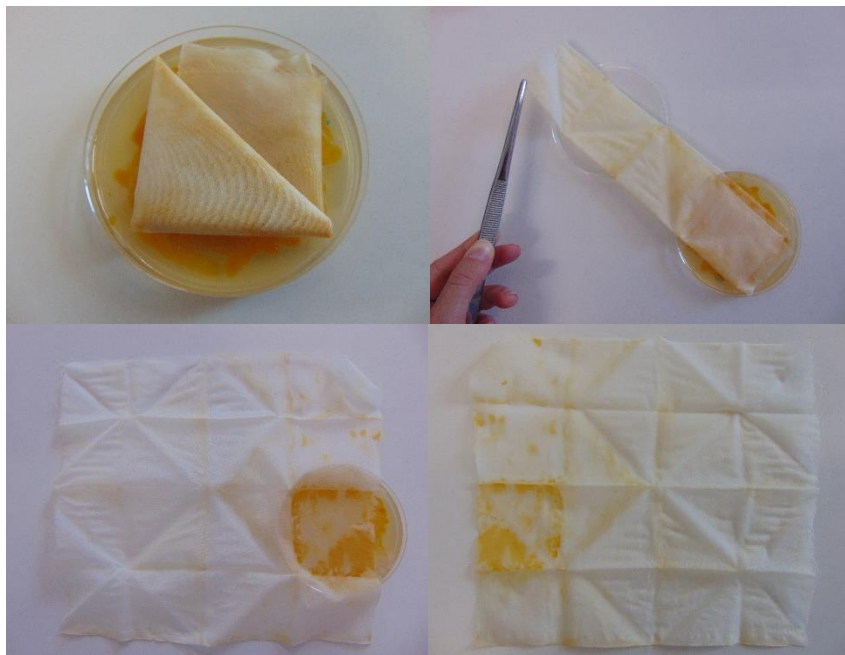


Figura 36 - Amostra 40% Seda/ 60% Algodão Técnica *Shibori* desdobrada e retirada do meio sólido (fonte: autora)

Para garantir a durabilidade dos tingimentos, foi feita uma fixação e lavagem das amostras: A fixação do corante nas amostras foi feita pelo processo de *Pad Dry* a 200°C durante 7 minutos e feita uma lavagem posterior de metade de cada amostra, durante 20 minutos a 40°C e a outra metade durante 40 minutos a 40°C.

Todas as amostras revelaram boa solidez à lavagem, apenas o poliéster revelou ligeiras desvantagens após ensaboamento como demonstrado pelas figuras 37, 38 e 39.

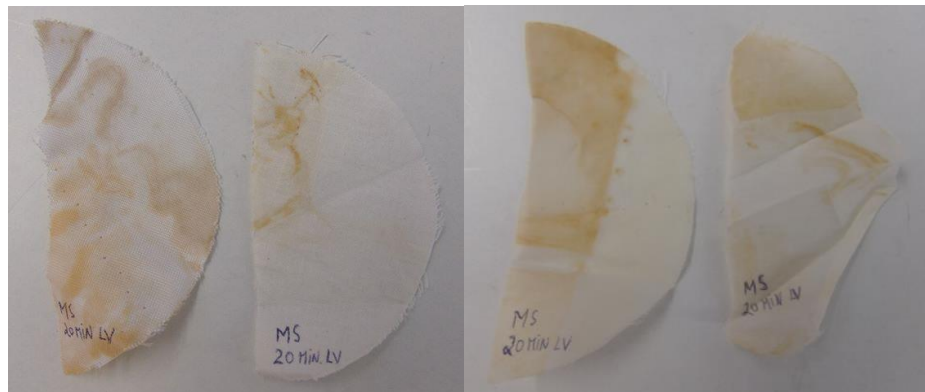


Figura 37 - Amostras por ordem de aparecimento da esquerda para a direita: 100% Poliéster; 100% Algodão; 100% Poliamida; 40% Seda/60% Algodão, após lavagem durante 20 minutos a 40°C. (fonte: autora)

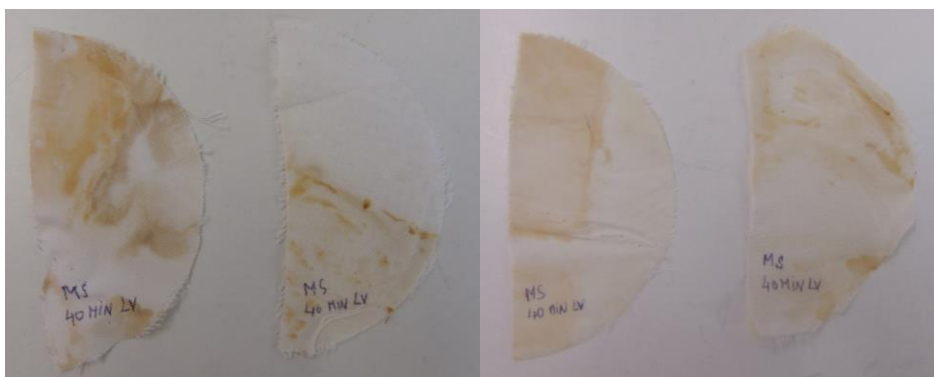


Figura 38 - Amostras por ordem de aparecimento da esquerda para a direita: 100% Poliéster; 100% Algodão; 100% Poliamida; 40% Seda/60% Algodão, após lavagem durante 40 minutos a 40°C. (fonte: autora)



Figura 39 - Amostra 40% Seda/60% Algodão (Técnica Shibori), após lavagem durante 40 minutos a 40°C. (fonte: autora)

Em síntese, após esta recolha de dados ficaram suspensos os testes em poliéster, por não se verificar um caso de sucesso e via a seguir para este tipo de método de tingimento. Os resultados foram os expectáveis, pois as moléculas do bio-pigmento são maiores do que as necessárias e incapazes de penetrar neste tipo de fibra sintética. O pigmento não teve afinidade com a fibra de poliéster. Foram ainda adicionadas novas amostras às experiências, que garantissem uma melhor afinidade entre o bio-pigmento e as fibras (amostra de 90% lã/10% poliamida, 54% linho /44% viscose/2% EA e 100% Viscose. Os métodos de fixação e lavagem também foram adaptados para garantir melhores resultados. A temperatura de *Pad Dry* foi ajustada para os 150°C durante 7 minutos e a lavagem alterada para os 30°C durante 25 minutos. Foi também acrescentada o método de fixação *Pad Steam* a 102°C durante 7 minutos, para verificar se esta alternativa proporcionava uma melhor penetração do pigmento na fibra.

Experiência Nr.7 - Meio Sólido

- Para assegurar que o tingimento era feito exclusivamente pelos microrganismos e não pelas soluções de meio, foram comparadas amostras que estiveram em contacto apenas com os nutrientes tanto em meio sólido como em meio líquido e com amostras onde a bactéria tinha sido inoculada.

Preparada a solução de meio sólido (14g NA + 500ml H₂O) devidamente dissolvida e autoclavada. Tal como nos outros ensaios o restante procedimento foi feito dentro da câmara de fluxo devidamente esterilizada.

Quatro amostras foram colocadas apenas em contacto com o meio sólido e cinco foram colocadas em meio sólido com a bactéria inoculada.

A: Amostras: 100% Algodão; 40% Seda/60% Algodão; 90% Lã/10% Poliamida; 100% Poliamida, inoculadas segundo demonstrado pela figura 40, apenas em contacto com o meio sólido NA.

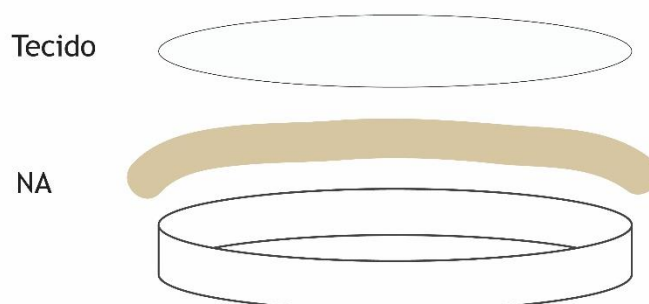


Figura 40 - A: Amostras de tecido apenas em contacto com NA. (fonte: autora)

B: Amostras: 50% Acrílico/50% Lã; 54% Linho/44% Viscose/2% EA; 100% Poliamida; 40% Seda/60% Algodão; 90% Lã/10% Poliamida, colocadas sobre a bactéria inoculada em NA como demonstrado pela figura 41.

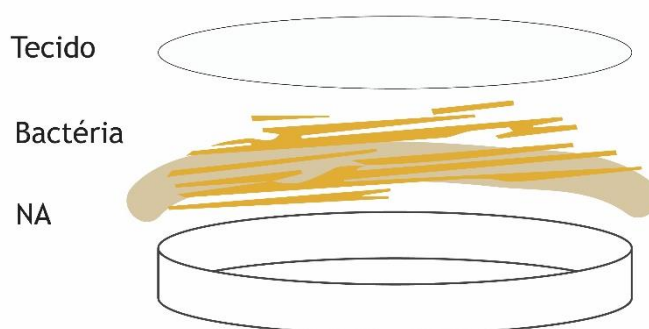


Figura 41 - B: Amostras de tecidos em contacto com *Chryseobacterium shigense*. (fonte: autora)

Os ensaios foram mantidos na estufa a 28°C durante 48 horas, fixadas tanto em *Pad Dry* como em *Pad Steam*.

Posteriormente foi preparada uma solução de 0,5g de detergente para 500ml de água e foram lavadas metade das amostras, durante 25 minutos a 30°C e verificados os resultados.

Dados Recolhidos:

A - Amostras de tecido + Meio Sólido (NA):

Nenhuma das amostras de tecido utilizadas para esta experiência demonstrou um aparente tingimento apenas pelo contacto direto com o meio sólido de crescimento.

B - Amostras de tecido + Meio Sólido (NA) + bactéria *Chryseobacterium shigense*:

Foram verificados os mesmos resultados em ambos os processos de fixação.

Após a lavagem os tecidos que garantiram uma melhor fixação do corante, apesar de uma coloração muito mais ténue comparada à parte da amostra não sujeita a lavagem, 100% Poliamida; 54% Linho/44% Viscose/2% EA; 40% Seda/60% Algodão.

Já as amostras de 50% Acrílico/50% Lã; 90% Lã/10% Poliamida ficaram quase sem aparente coloração.

Experiência Nr.8 - Meio Líquido com materiais têxteis

Com o intuito de perceber se o tingimento em meio líquido se dava apenas pelo pigmento produzido pelos microrganismos ou, se, de facto, o meio de crescimento teria alguma influência na coloração das fibras, foram preparados dois ensaios para aferição de resultados.

Pré-fermentação - Processo calculado para 250ml água com 2g NB. A solução foi posteriormente distribuída por 4 balões de 250ml com apenas 50ml de meio e dois balões de 100ml com 20ml de meio. Ambas as razões de meio foram aferidas para que existisse uma razão para 20% de oxigénio em cada um dos balões. A bactéria foi inoculada no meio líquido

da mesma forma utilizada em meio sólido e tomadas todas as devidas precauções de autoclavagem e esterilização da câmara de fluxo.

A pré-fermentação nos balões de 100ml foi feita a 28°C durante 3 horas a 200 RPM.

Após as 3h indicadas para a pré-fermentação foi necessário medir a densidade ótica do meio para garantir que houve crescimento da bactéria e que esta se encontra no seu estado ótimo para passar da pré para a fermentação, garantindo que tinha havido uma adaptação da bactéria do meio sólido para meio líquido.

Fermentação - Em dois balões de 250ml apenas com o meio de crescimento foi adicionada 1ml da solução do balão da pré-fermentação que já continha a bactéria. Foram então colocadas as amostras de tecido (50% Acrílico/50% Lã; 54% Linho/44% Viscose/2% EA; 100% Poliamida, 40% Seda/60% Algodão; 90% Lã/10% Poliamida; 100% Viscose; 100% Algodão) tanto nos balões com e sem a bactéria inoculada, conforme demonstra a figura 42.

Os resultados foram avaliados após uma contínua fermentação durante 48 horas a 28°C e 200 RPM.



Figura 42 - Balões de fermentação *Chryseobacterium shigense* com amostra de tecido. (fonte: autora)

Foi feita uma fixação em *Pad Dry* (150°C, 7 minutos) em metade de cada amostra e nas metades sobrantes, uma fixação em *Pad Steam* (102°C, 7 minutos). Seguidamente foi feito o ensaboamento em 500ml de água com 0.5g de detergente sabão, a 30°C durante 25 minutos.

Dados Recolhidos:

Amostras de tecido + Meio Líquido (NA):

Nenhuma das amostras de tecido utilizadas neste ensaio demonstrou um aparente tingimento apenas pelo contacto direto com o meio líquido de crescimento.

Amostras de tecido + Meio Líquido (NA) + bactéria *Chryseobacterium shigense*:

Após a lavagem o corante demonstrou pouca solidez e apenas uma ténue coloração amarela nas fibras tendo melhores resultados no Algodão; 54% linho /44% viscose /2% EA; Poliamida; Seda-Algodão. Os resultados verificados pelo método *Pad Dry* (figura 43) foram, ligeiramente, mais eficientes que, pelo método *Pad Steam* (figura 44).

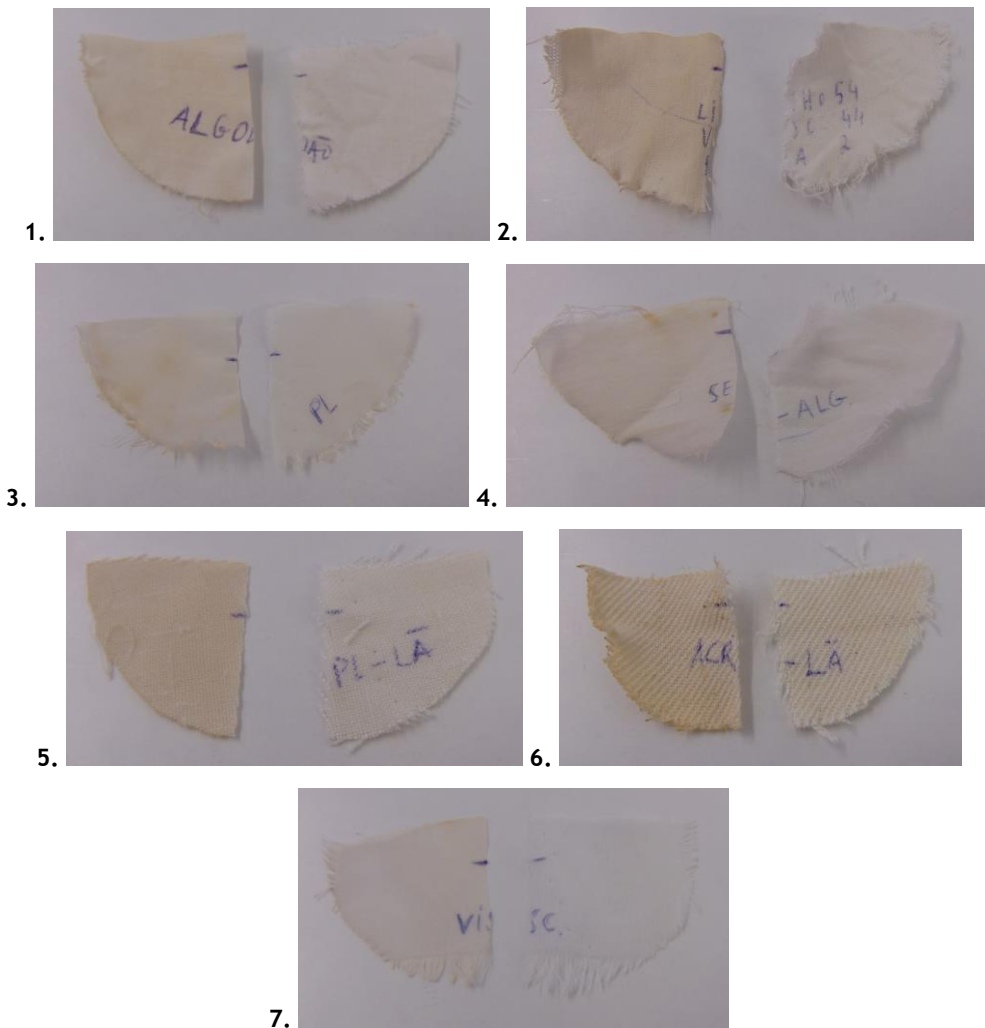


Figura 43 - Amostras de tecidos fixados pelo método de *Pad Dry* (lado esquerdo de cada imagem numerada) e após ensaboamento a 30°C durante 25 minutos. 1. 100% Algodão; 2. 54% Linho/44% Viscose/2% EA; 3. 100% Poliamida; 4. 40% Seda/60% Algodão; 5. 90% Lã/10% Poliamida; 6. 50% Acrílico/50% Lã; 7. 100% Viscose. (fonte: autora)

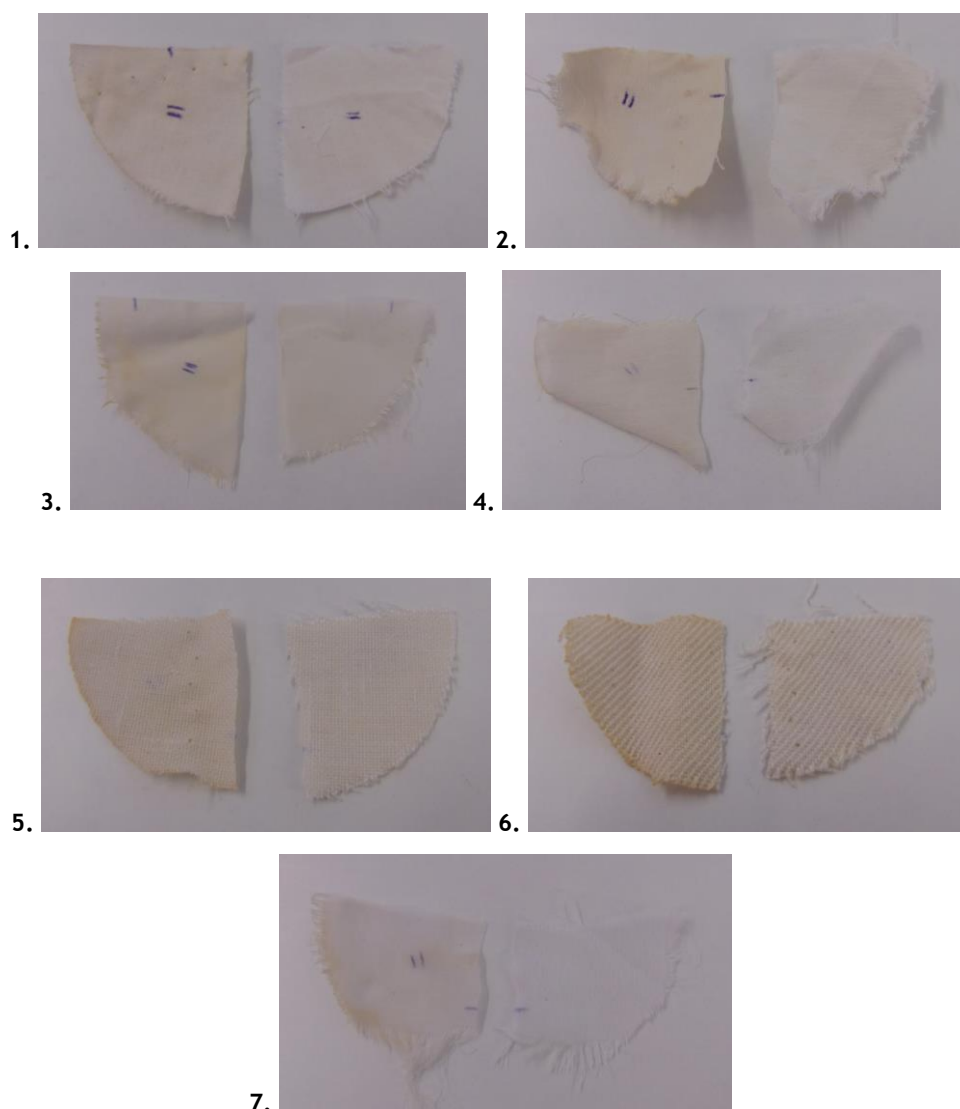


Figura 44 - Amostras de tecidos fixados pelo método de *Pad Steam* (lado esquerdo de cada imagem numerada) e após ensaboamento a 30°C durante 25 minutos. 1. 100% Algodão; 2. 54% Linho/44% Viscose/2% EA; 3. 100% Poliamida; 4. 40% Seda/60% Algodão; 5. 90% Lã/10% Poliamida; 6. 50% Acrílico/50% Lã; 7. 100% Viscose. (fonte: autora)

- Face aos dados recolhidos, através das diversas estratégias abordadas, para a primeira bactéria estudada, foram feitos ensaios para duas novas estirpes tentando alcançar iguais ou melhores resultados de tingimento.

Experiência Nr.9 - Meio Sólido

No meio de cultura otimizado TSA foram inoculadas as bactérias *Serratia plymuthica*, que produz um pigmento rosa e a bactéria *Pseudomonas sp*, que produz pigmento castanho. Ambas as bactérias eram muito menos viscosas que a primeira bactéria estudada e, por isso, mais fáceis para a repicagem em diversas placas.

A *Pseudomonas sp* (bactéria que produz pigmento castanho) continha uma característica especial (ao ser inoculada a bactéria produz o pigmento castanho que se difunde no meio de

cultura (exo-pigmento), o que tornava a percepção de crescimento e verificação de contaminações muito mais difícil).

As experiências otimizadas na bactéria amarela foram adotadas para continuar os ensaios de tingimentos com estes dois novos microrganismos. Foi produzida a solução de TSA, inoculada individualmente cada bactéria e colocadas as amostras de diversos tecidos (90% Lã/10% Poliamida; 100% Algodão; 54% Linho/44% Viscose/2% EA; 100% Poliamida; 40% Seda/60% Algodão; 100% Viscose) em contacto direto com o bio-pigmento dentro de cada placa Petri, como demonstrado pelas figuras 45 e 46.

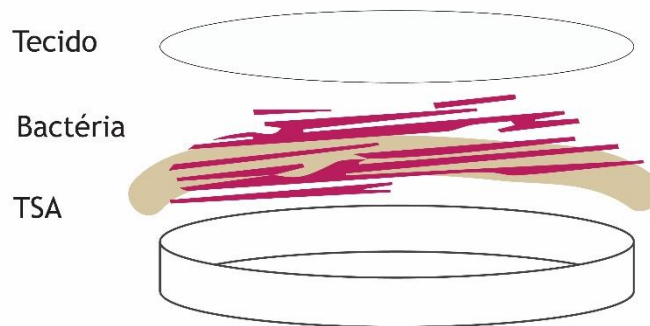


Figura 45 - Inoculação da bactéria *Serratia plymuthica* (pigmento rosa) com sobreposição têxtil. (fonte: autora)

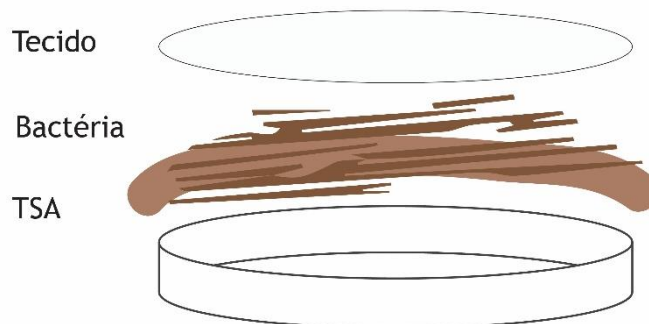


Figura 46 - Inoculação da bactéria *Pseudomonas sp* (pigmento castanho) com sobreposição têxtil. (fonte: autora)

As bactérias repicadas foram colocadas na estufa a 28°C durante uma semana, de modo a verificar se o aumento do tempo de crescimento traduzia um aumento exponencial da produção de pigmento melhorando assim a qualidade de tingimento (figura 47).

Chegamos à conclusão que existia a proliferação de fungos em vez de bactérias em algumas fibras (100% Algodão; 54% Linho/44% Viscose/2% EA; 100% Viscose).

Conforme delineado para garantir a durabilidade dos tingimentos, foi feita uma fixação (metade das amostras em *Pad Dry* e metade em *Pad Steam*) e posterior ensaboamento (30°C, 25 minutos).

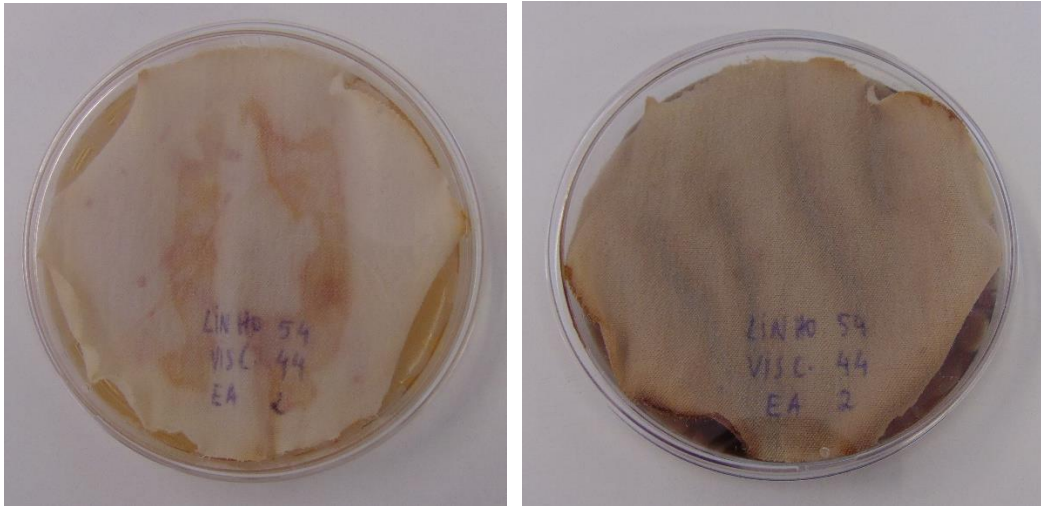


Figura 47 - Inoculação da bactéria *Serratia plymuthica* (lado esquerdo) e *Pseudomonas sp* (lado direito) com sobreposição do tecido 54% Linho/44% Viscose/2% EA. (fonte: autora)

Dados recolhidos *Serratia plymuthica* (pigmento rosa):

Viscose - Apresenta melhor transferência e fixação do pigmento rosa.

Algodão; 54% Linho/44% Viscose/2% EA; Poliamida; 40% Seda/60% Algodão - Boa absorção do bio-pigmento.

Lã-Poliamida - Transferência e fixação quase nula do corante.

Dados recolhidos *Pseudomonas sp* (pigmento castanho):

Notável capacidade de transferência do bio-pigmento em todas as fibras exceto na Lã-Poliamida.

O processo de *Pad Dry* foi o método de fixação que revelou melhores resultados para fixar o pigmento rosa (figura 48). Já para o corante castanho a melhor opção foi o processo de *Pad Steam* (figura 49).

Atendendo apenas à solidez após a lavagem dos dois corantes, a bactéria que produz pigmento castanho revela capacidade superior de coloração em relação à bactéria que produz pigmento rosa.

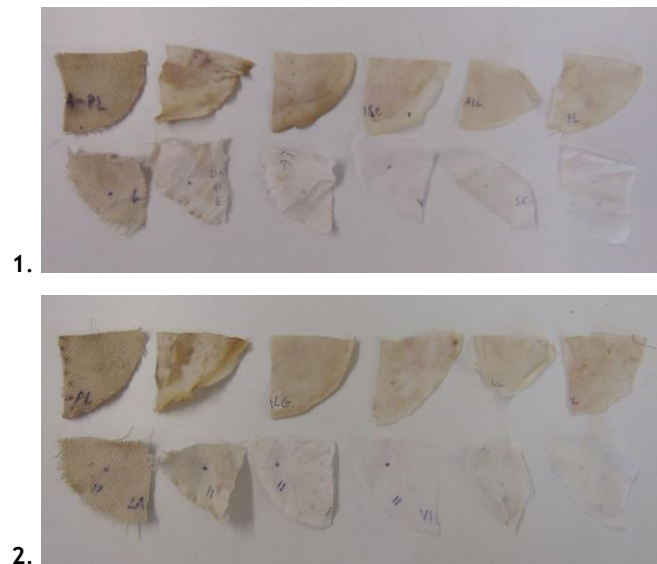


Figura 48 - Comparação de resultados obtidos pela *Serratia plymuthica*, em ambos métodos de fixação e posterior lavagem. 1. *Pad Dry*; 2. *Pad Steam*. (fonte: autora)

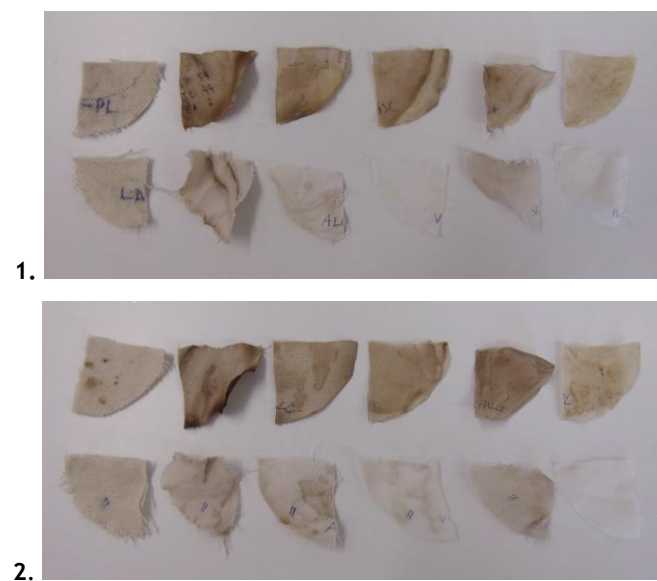


Figura 49 - Comparação de resultados obtidos pela *Pseudomonas sp.*, em ambos métodos de fixação e posterior lavagem. 1. *Pad Dry*; 2. *Pad Steam*. (fonte: autora)

Experiência Nr.10 - Meio Sólido

Constatando-se a diferença de solidez dos dois corantes, foi pensada uma nova estratégia de tingimento, que consistia na inoculação dos microrganismos durante pelo menos 48 horas para garantir as condições necessárias de crescimento sem que o tecido inibisse a proliferação da bactéria. Deste modo a produção expectável de pigmento seria superior e poderia proporcionar um tingimento mais evidente, pois a área útil de contacto entre a bactéria e o tecido seria naturalmente mais abrangente e o bio-pigmento teria uma coloração mais forte.

Foi realizado o ensaio apenas com a bactéria *Serratia plymuthica* (pigmento rosa) para verificação de resultados, por ter revelado menor solidez do que a outra bactéria utilizada. Apesar do crescimento durante 3 dias a produção de pigmento não foi a esperada. Como são ainda microrganismos com escasso estudo na literatura e não serem conhecidas a 100% as condições ótimas para a produção de pigmento e, visto que alguns fatores exteriores não puderam ser controlados, terá eventualmente sido esta uma das causas de uma fraca produção do bio-pigmento, apesar do crescimento da bactéria.

Dados Recolhidos:

Após fixação por ambos os métodos e seguida lavagem os resultados não foram tão favoráveis conforme esperado, devido à fraca produção de pigmento, apesar de notadas algumas melhorias (figura 50).

100% Viscose; 100% Poliamida - Revelaram ser as fibras com melhor fixação e solidez do corante natural.

100% Algodão; 40% Seda/60% Algodão - Penetração reduzida do pigmento.

54% Linho/44% Viscose/2% EA - Amostra com muito baixa absorção e fixação do corante rosa.

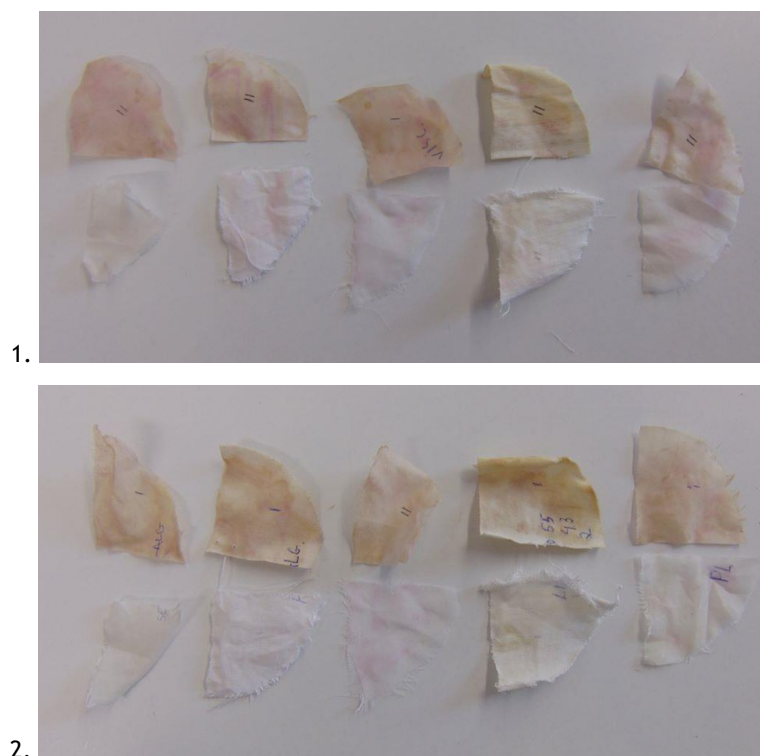


Figura 50 - Comparação de resultados obtidos pela *Serratia plymuthica*, em ambos os métodos de fixação e posterior lavagem. 1. *Pad Dry* 2. *Pad Steam*. Lavagem do lado esquerdo de cada imagem numerada e fixação do lado direito. (fonte: autora)

3.3 Terceira Etapa - Pastas de Estampar Microbianas

Concluída a 2ª etapa em que os microrganismos foram colocados em contacto com os tecidos desde do momento da sua inoculação, tanto em meio sólido como em meio líquido, foi idealizada uma nova lógica de coloração.

Experiência Nr.11 - Meio Sólido

Como cada microrganismo tem as suas próprias condições ideais de produção do bio-pigmento foram inoculadas todas as baterias em meio sólido, controlado diariamente o seu crescimento, até atingir o máximo de produção.

Posteriormente, o pigmento bacteriano produzido foi utilizado como pasta de estampar para colorir várias amostras de tecido (100% Algodão; 54% Linho/44% Viscose/2% EA; 100% Poliamida) com formas orgânicas apenas para delinear se esta poderia ser uma nova estratégia a seguir como demonstra a figura 51.

De facto, esta abordagem demonstrou ser uma excelente opção, pois além de obter o pigmento com as suas características otimizadas (excelente produção de pigmento, com tonalidades bastante “vivas”), foi ainda possível utilizar a quantidade total dos corantes naturais e controlar a zona de estampagem, conferindo motivos nos têxteis.

Conforme observado pelas figuras 52 e 53, depois da fixação com *Pad Dry* e lavagem, com exceção da bactéria que produz pigmento castanho (*Pseudomonas sp*), foram obtidos excelentes resultados de tingimento nas bactérias *Chryseobacterium shigense* e *Serratia plymuthica*.



Figura 51 - Pastas de estampar a partir dos pigmentos e aplicadas em diferentes têxteis. Pigmento amarelo (*Chryseobacterium shigense*); pigmento rosa (*Serratia plymuthica*); pigmento castanho (*Pseudomonas sp*). (fonte: autora)



Figura 52 - Pastas de estampar a partir dos pigmentos e aplicadas em diferentes têxteis. Pigmento amarelo (*Chryseobacterium shigense*); pigmento rosa (*Serratia plymuthica*). Fixação (lado esquerdo das amostras) fixação + Lavagem (lado direito das amostras). (fonte: autora)



Figura 53 - Pastas de estampar a partir dos pigmentos e aplicadas em diferentes têxteis. Pigmento amarelo (*Chryseobacterium shigense*); pigmento rosa (*Serratia plymuthica*); pigmento castanho (*Pseudomonas sp.*). Fixação (lado esquerdo das amostras) fixação + Lavagem (lado direito das amostras). (fonte: autora)

3.4 Quarta Etapa - Tingimento com Pigmento em Pó

Com um método de tingimento aferido e que apresentava bons resultados para a maioria dos microrganismos estudados, foi efetuada a última fase de experiências. Esta consistia em perceber se o pigmento em pó extraído da bactéria *Chromobacterium violaceum* era capaz de se comportar como um corante reativo e tingir de forma tradicional algumas fibras selecionadas.

Foi elaborado um plano com três novas estratégias, recolhidos os dados e otimizados os métodos de tingimento.

A extração da violaceína (*Chromobacterium violaceum*) foi executada através de uma lise celular com uma solução de 10% SDS (*sodium dodecyl sulfate*), um detergente capaz de lisar as paredes celulares das bactérias. Após várias centrifugações o pigmento foi precipitado através da adição de etanol puro [112].

Experiência Nr.12 - Pigmento em Pó

Para garantir o tingimento das matérias utilizadas nestes ensaios foram estudadas três estratégias (tabelas 2 e 3) descritas do seguinte modo:

A - 7,5% SPF numa RB (Razão de Banho) 1:30

B - 7,5% SPF + 30 g/l Cloreto de sódio (NaCl- Sal) numa RB 1:30

C - 7,5% SPF + 30 g/l Sal + 30 g/l Carbonato de Sódio (Na₂CO₃) numa RB 1:30

Tabela 2 - Cálculos descritos para as 3 estratégias de tingimentos: Tecido (0,82g): 100% Algodão. (fonte: a autora)

	7,5% SPF	Cloreto de sódio 30 g/l	Carbonato de Sódio 30 g/l	RB 1:30
A	61,5 mg	-	-	24,6 ml
B	61,5 mg	738 mg	-	24,6 ml
C	61,5 mg	738 mg	*	24,6 ml

*carbonato adicionado até a solução atingir pH 10,7 (valor verificado com um medidor de pH)

Tabela 3 - Cálculos descritos para as 3 estratégias de tingimentos: Tecido (0,26g): 100% Viscose. (fonte: a autora)

	7,5% SPF	Sal 30 g/l	Carbonato 30 g/l	RB 1:30
A	19,5 mg	-	-	7,8 ml
B	19,5 mg	234 mg	-	7,8 ml
C	19,5 mg	234 mg	*	7,8 ml

*carbonato adicionado até a solução atingir pH 10,7 (valor verificado com um medidor de pH)

O pigmento utilizado em cada solução foi pesado e diluído em água com a ajuda de um agitador magnético, antes da adição dos outros componentes (Soluções B e C) para facilitar o processo, visto que este corante pelas suas características seria pouco solúvel. Seguidamente foi colocado o sal, agitadas novamente as soluções e finalmente adicionado o carbonato de sódio para aferir o pH a 10,7 das soluções C. Foi feita uma primeira tentativa adicionando lentamente o carbonato até que a solução alcançasse o pH desejado controlando-o com a ajuda de um medidor.

Posteriormente foram colocados os tecidos e as respectivas soluções devidamente identificadas em cada recipiente na máquina de tingimento laboratorial *Datacolor AHIBA IR* (figura 54), durante 60 minutos a 90°C.

Conforme estabelecido efetuou-se a fixação dos corantes pelo processo de *Pad Dry* (150°C, 7 minutos) e posterior ensaboamento (30°C, 25 minutos) de metade de cada amostra para permitir a análise e validação do processo de tingimento.

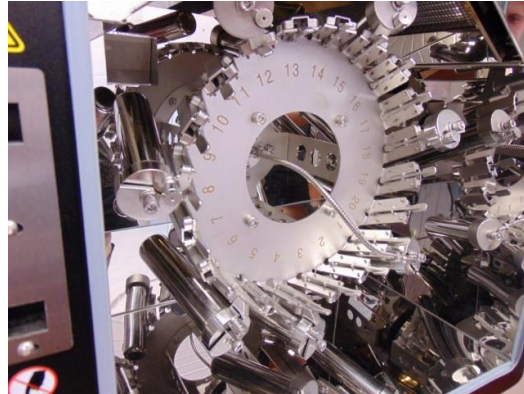


Figura 54 - Máquina de tingimento laboratorial *Datacolor AHIBA IR*. (fonte: autora)

Dados Recolhidos:

As fibras ficaram tingidas pelas três diferentes soluções, apesar da concentração de pigmento ser relativamente baixa.

A experiência **B** (em ambas as amostras) foi a que obteve melhores resultados, com uma capacidade de coloração mais forte e duradoura. A estratégia **A** unicamente com uma coloração mais clara também apresentava uma via promissora e mais barata por conseguir o tingimento apenas com adição do pigmento, sem precisar de um fixador para garantir solidez à lavagem. Por último, e apesar da adição de um fixador extra como o carbonato de sódio, a estratégia **C** foi a menos promissora para este tipo de corante. Ainda que verificada a coloração de ambas as fibras, a tonalidade conseguida, era bastante ténue pois poderá ter promovido alguma hidrólise do corante.

Experiência Nr.13 - Pigmento em Pó (Tecidos)

Os ensaios anteriores foram repetidos para poderem ser comparados os resultados, mas foram alterados dois procedimentos. Foi feita a solução base com o pigmento dissolvido apenas em água que seria utilizado para as 3 estratégias das duas fibras. Isto permitiu uma uniformização da tonalidade roxa, garantindo que não havia diferença nos grãos que cada solução continha. A segunda alteração dizia respeito ao processo desenhado para a solução **C**. Contrariamente ao ensaio anterior, em vez de ser aferida a solução com o carbonato até alcançar o pH desejado, o componente foi pesado respeitando uma razão de 30 g/l (tabelas 4 e 5).

Tabela 4 - Cálculos descritos para as 3 estratégias de tingimentos: Tecido (0,22g): 100% Algodão. (fonte: a autora)

	7,5% SPF	Cloreto de sódio 30 g/l	Carbonato de Sódio 30 g/l	RB 1:30
A	16,5 mg	-	-	6,6 ml
B	16,5 mg	198 mg	-	6,6 ml
C	16,5 mg	198 mg	198 mg	6,6 ml

Tabela 5 - Cálculos descritos para as 3 estratégias de tingimentos: Tecido (0,15g): 100% Viscose (fonte: a autora)

	7,5% SPF	Sal 30 g/l	Carbonato 30 g/l	RB 1:30
A	11,25 mg	-	-	4,5 ml
B	11,25 mg	135 mg	-	4,5 ml
C	11,25 mg	135 mg	135 mg	4,5 ml

Dados Recolhidos:

Após as fases de tingimento, fixação e lavagem, verificou-se que neste ensaio a diferença entre a opção sem sal e com sal, não era significativa. O facto de uniformizar a tonalidade da solução base (água e pigmento) demonstrou que, apesar da adição de um fixador, o tingimento foi igualmente promissor (figura 55). Por outro lado, mesmo alterando a quantidade de carbonato adicionada a solução C não demonstrou ser capaz de se apresentar como via de tingimento a seguir para este tipo de corante natural. Como demonstrado na figura 56, a tonalidade do tingimento é muito ténue e após a fixação os tecidos ficaram ligeiramente danificados e amarelados.

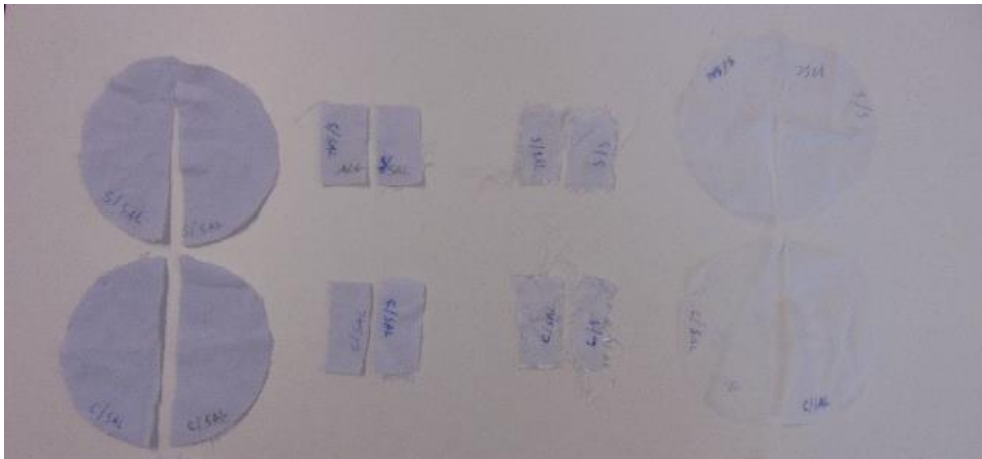


Figura 55 - Resultados após fixação (*Pad Dry*) e lavagem das fibras: 100% Algodão - lado esquerdo da imagem; 100% Viscose - lado direito da imagem (fonte: autora)

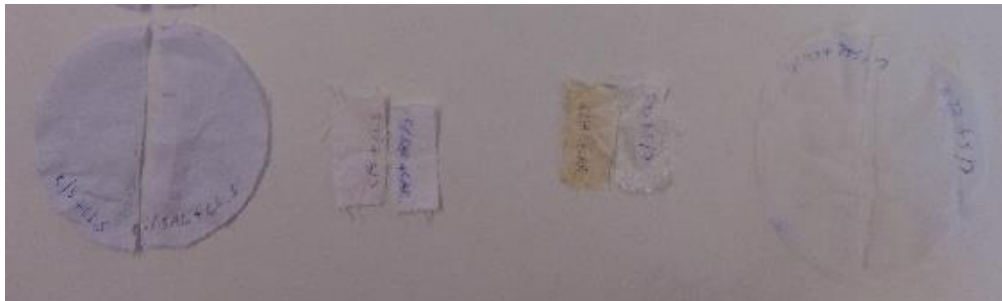


Figura 56 - Resultados após fixação (*Pad Dry*) e lavagem das fibras: 100% Algodão - lado esquerdo da imagem; 100% Viscose - lado direito da imagem. Solução C. (fonte: autora)

Experiência Nr.14 - Pigmento em Pó (Tecidos)

O processo de extração de pigmento conseguido também na *Chryseobacterium shigense* permitiu a verificação da viabilidade das soluções estudadas para o pigmento roxo, para o tingimento dos suportes têxteis com o corante amarelo. Foi testado nas mesmas fibras e do mesmo modo que o idealizado para a Experiência Nr. 13, mas sem sucesso em nenhuma das soluções. O corante ficou no banho das três solvências, não se verificando qualquer penetração do corante nas fibras, conforme demonstra a figura 57.

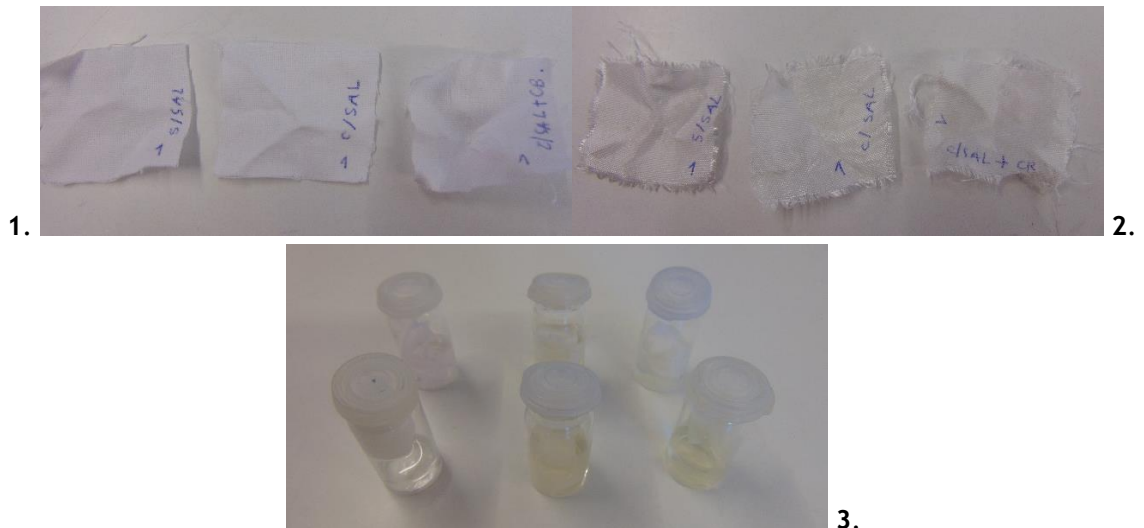


Figura 57 - Resultados tingimento com pigmento extraído da *Chryseobacterium shigense*. 1. Tecido 100% algodão não revela tingimento por nenhuma das soluções; 2. Tecido 100% Viscose não revela tingimento por nenhuma das soluções; 3. Banho das 3 soluções no final do tingimento. (fonte: autora)

Experiência Nr.15 - Pigmento em Pó (FIO)

Posto como um dos objetivos do projeto alcançar o máximo de estratégias de tingimento, foram também testadas as soluções com e sem Cloreto de Sódio (sal) respeitando o processo otimizado pela Experiência Nr.13, em fios: 100% Viscose; 50% Algodão/50% Acrílico; 50% Algodão/50% Modal. Para melhorar a tonalidade da coloração conseguida foi aumentada a concentração do pigmento para 10% SPF (tabela 6).

Tabela 6 - Cálculo para as soluções A (sem sal) e B (com Sal): FIO (0,26g): 50% Algodão/50% Acrílico; 100% Viscose; 50% Algodão/50% Modal. (fonte: a autora)

	10% SPF	Cloreto de sódio 30 g/l	RB 1:30
A	26 mg	-	7,8 ml
B	26 mg	234 mg	7,8 ml

Dados Recolhidos:

Para garantir a durabilidade dos tingimentos, foi feita uma fixação e lavagem das amostras: 100% Viscose - Fibra com maior capacidade de absorção e qualidade de tingimento em ambas as soluções, conforme demonstra a figura 58. Ainda que se tenha proporcionado uma coloração uniforme, a concentração de pigmento permite apenas uma tonalidade ainda bastante clara.

50% Algodão/50% Acrílico; 50% Algodão/50% Modal - Estes dois tipos de fio ficaram tingidos mas com uma tonalidade bastante fraca. Talvez se tenha verificado um ténue tingimento pela falta de branqueamento das fibras.

- Como os mesmos resultados obtidos antes e após ensaboamento final, tinham sido os mesmos, a etapa de lavagem foi excluída da experiência seguinte.

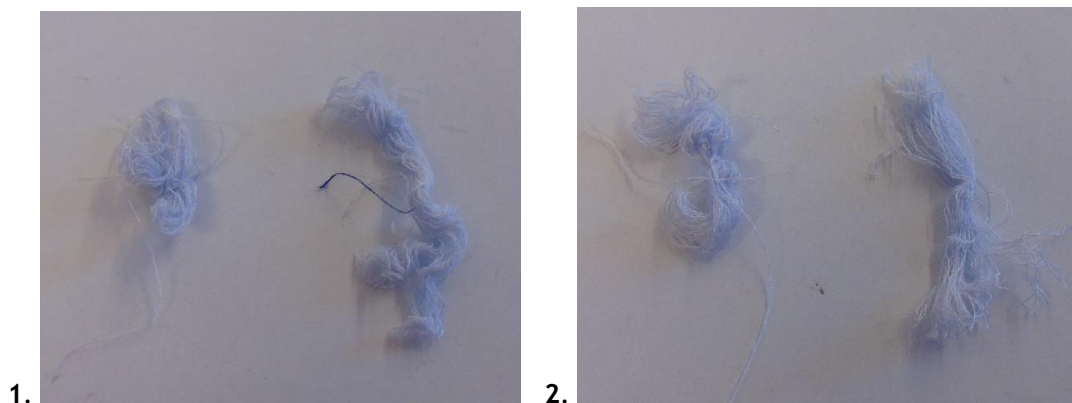


Figura 58 - Resultados obtidos no fio 100% Viscose com uma concentração de 10% SPF. 1. Solução A - Sem lavagem (lado direito) com ensaboamento (lado esquerdo); 2. Solução B - Sem lavagem (lado direito) com ensaboamento (lado esquerdo). (fonte: autora)

Experiência Nr.16 - Pigmento em Pó (FIO)

Como o corante extraído da bactéria disponível para os ensaios não era abundante, por limitação de meios e economia de verbas, as concentrações e peso das amostras de fio tiveram que ser relativamente baixas, ainda que equilibradas, para poderem ser recolhidos dados sobre este método.

Na tabela 7 são descritos os cálculos do aumento da concentração de pigmento para 15% SPF, além de ter sido ampliado o leque de fibras escolhidas para o tingimento (100% Viscose; 100% Algodão; 90% Viscose/10% PBT; 70% Algodão/30% Lã; 50% Algodão/50% Acrílico). Este aumento de variáveis permitiu alargar o estudo da afinidade do corante com diversas fibras.

Tabela 7 -Cálculo para as soluções A (sem sal) e B (com Sal): FIO (0,1g): 100% Viscose; 100% Algodão; 90% Viscose/10% PBT; 70% Algodão/30% WO; 50% Algodão/50% Acrílico. (fonte: a autora)

	15% SPF	Cloreto de sódio 30 g/l	Carbonato de Sódio 30 g/l	RB 1:30
A	15 mg	-	-	3 ml
B	15 mg	90 mg	-	3 ml

Com o intuito de aclarar os substratos têxteis 100% Algodão; 70% Algodão/30% Lã; 50% Algodão/50% Acrílico, foi feita uma fervura alcalina moderada, usando uma solução de 500ml de água com 1g/l de NaOH 30 minutos após a fervura.

As soluções de pigmento (15% SPF com e sem sal) foram colocadas juntamente com as diversas fibras, na máquina de tingimento laboratorial (Datacolor AHIBA IR) durante 60 minutos a 90°C.

Dados Recolhidos:

Os resultados podem ser visualizados na figura 59 e revelaram o seguinte:

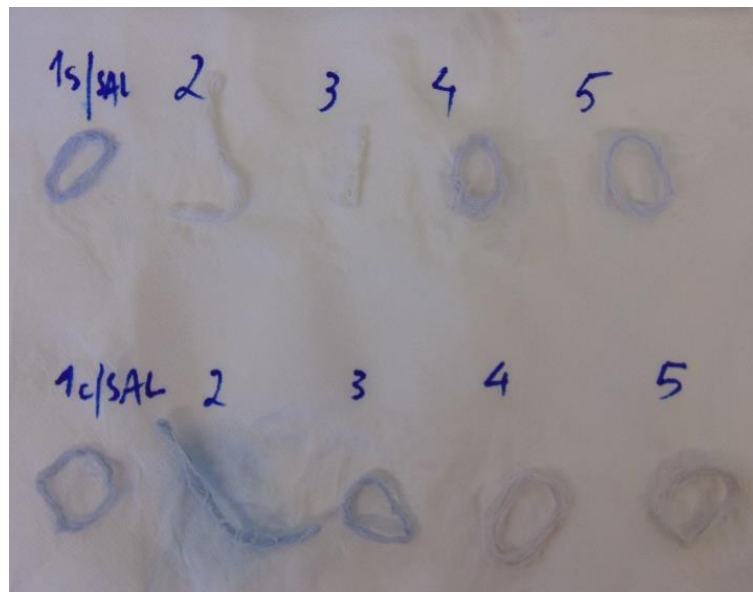


Figura 59 - Resultados obtidos pelas soluções sem (topo da imagem) e com sal (em baixo). Observado na imagem da esquerda para a direita fio: 100% Viscose; 100% Algodão; 90% Viscose/10% PBT; 70% Algodão/30% WO; 50% Algodão/50% Acrílico. (fonte: autora)

100% Viscose - tingimento verificado em ambas as soluções com uma tonalidade mais viva na solução A. Foi conseguida uma tonalidade roxa na solução sem sal, enquanto a solução B demonstrava uma tonalidade roxa um pouco acinzentada.

100% Algodão; 90% Viscose/10% PBT - tingimento verificado apenas na solução B. A tonalidade conseguida no algodão foi muito mais azulada enquanto a conseguida no fio 90% Viscose/10% PBT foi semelhante ao fio 100% Viscose, da solução B.

70% Algodão/30% Lã; 50% Algodão/50% Acrílico - contrariamente aos fios anteriores, a solução A permitiu uma coloração mais evidente das fibras ainda que com resultados positivos na solução B. O fio Algodão-Lã com uma tonalidade mais roxa enquanto o fio Algodão-Acrílico com um tom mais azulado.

O aumento da concentração de bio-pigmento nesta experiência traduziu, conforme expectável, uma coloração mais evidente da fibra Algodão-Acrílico comparativamente com o fio tinto com uma concentração de 10% SPF.

4. Análise global dos Resultados

Os dados recolhidos nas diferentes etapas, levou a uma análise cuidada dos resultados de forma a delinear o plano que estruturava o projeto final. O Design Conceptual partia da utilização dos bio-pigmentos, foco principal do produto a desenvolver, sendo indispensável uma abordagem crítica dos métodos estudados.

O crescimento das bactérias e a produção de pigmento regularizada com os respetivos meios de cultura otimizados foi um fator inalterável e um custo permanente no processo. O caso dos tingimentos feitos com o tecido diretamente em contacto com a proliferação das colónias de microrganismos desde a sua inoculação foi concluído como método artístico, onde a padronização do tingimento era controlada pela bactéria e pela sua tendencial produção de pigmentos em algumas zonas. As fibras celulósicas utilizadas (100% Algodão; 100% Viscose; 54% Linho/44% Viscose/2% EA) garantiam uma melhor absorção e solidez de todos os bio-pigmentos. Este processo proporcionava não só a transferência de corante, como sugeria uma vertente criativa e orgânica ao trabalho, uma mais-valia destes microrganismos quando aliados ao Design de Moda. Apesar dos resultados terem sido positivos em todas as opções bacterianas, *Pseudomonas Sp* apresentou melhores resultados, mesmo após ensaboamento.

No que toca aos meios de cultura, apesar de proporcionado o tingimento em meio líquido, a produção de pigmento em maior escala foi conseguida em meio sólido e consequente durabilidade e tonalidade do tingimento foram mais propensas neste meio.

Os tempos de inoculação estudados individualmente foram cruciais e permitiram proporcionar um aumento da produção e qualidade/tonalidade de cada pigmento. Mesmo com alguma informação na literatura consultada, existiram fatores externos, difíceis de controlar, que, por vezes, traduziam numa baixa eficiência de produção de pigmento bacteriano. O acompanhamento do crescimento diário das estirpes estudadas foi necessário para definir a otimização dos tempos de inoculação, sempre aliada à produção de pigmento. Na *Chryseobacterium shigense* o pico de produção de pigmento foi alcançado em 24h, na *Pseudomonas Sp* após 96h e na *Serratia plymuthica* em 162h. Todas dentro da estufa a uma temperatura média de 28°C. O bio-pigmento retirado do meio sólido e a sua utilização como pasta de estampar para o desenho/pintura diretamente nos suporte têxteis, aliado ao acompanhamento da produção dos pigmentos para verificar a qualidade e tonalidade dos mesmos, propunha maior eficácia de tingimento dos materiais (durabilidade e tonalidade), além da utilização total do corante natural produzido.

A fixação pelo método *Pad Dry* (150° C, 7' min.) obteve resultados mais eficientes e, que garantiam a durabilidade do pigmento absorvido pelas diferentes fibras, tanto na *Chryseobacterium shigense* como na *Serratia plymuthica*, enquanto o método *Pad Steam* proporcionava melhores resultados na *Pseudomonas sp*.

Os resultados conseguidos pela transferência de cor, tanto pelo método de contacto direto do tecido com as bactérias como pela utilização do pigmento para desenho/pintura, revelavam grandes diferenças antes e após ensaboamento. A lavagem tornava a tonalidade do

tingimento muito menos evidente. Já no caso da utilização do pigmento em pó extraído da *Chromobacterium violaceum* apesar das diferentes concentrações, os resultados eram os mesmos antes e após ensaboamento.

Para o tingimento com o pigmento roxo (pó), devem ser mantidas etapas do processo otimizado na Experiência Nr.13. A preparação de uma solução base (pigmento e água) permite a uniformização da tonalidade do banho, que posteriormente pode ser separada em diferentes soluções. O tecido 100% algodão e o fio 100% Viscose, foram os suportes que garantiram melhor afinidade com o corante. A coloração destes dois materiais obteve os mesmos resultados após a lavagem com e sem adição de sal na solução. Este fator permite reduzir o custo do processo, onde é apenas necessária uma solução de água e corante para o tingimento por esgotamento. No entanto, a disparidade de cor dos grãos de pigmento extraído deste microrganismo, torna necessária uma elevada quantidade de corante para que o tingimento tenha uma alta concentração sobre o peso da fibra.

Capítulo III

Bio-Fermented Colors

1. Introdução

Naturalmente que no primeiro instante que se debate o assunto da utilização de bactérias, muitos se tornam imediatamente reticentes sobre o tema. Sendo que o conteúdo gira em torno da palavra “bactéria”, causa logo à partida alguma desconfiança e inquietação. Pela falta de conhecimento sobre a matéria, é necessário um esclarecimento fundamentado e aprofundado sobre esta questão. Assim, torna-se mais fácil demonstrar que o assunto não é descabido nem perigoso e, tem inúmeras vantagens, tanto para a saúde humana como para o meio ambiente.

De facto, para a produção do bio-pigmento é necessário proporcionar todas as condições necessárias para que os microrganismos sejam capazes de proliferar. No entanto, como se trata de um ser vivo que pode ou não causar algum tipo de risco em contacto direto com a pele enquanto ativo, as devidas precauções devem e são sempre tomadas. Todas as bactérias utilizadas no presente projeto não revelaram nenhum malefício em contacto direto com a pele no momento de inoculação e processos de tingimento. Não obstante, para garantir a segurança e não contaminação de ambas as partes, o uso de luvas e uma posterior desinfecção com etanol é recomendada. Em todo o caso, o processo de fixação torna seguro o contato entre a matéria colorida e a pele. Como a fixação é feita entre os 120-150°C, todas as bactérias estudadas para o projeto, morrem pois, as suas características apenas permitem uma temperatura não superior a 80°C.

Deste modo é necessário manter uma mente aberta sobre o tema e perceber que o objetivo geral deste tipo de soluções serve para garantir a sustentabilidade de processos como o tingimento que causam uma enorme preocupação ambiental.

2. Inspiração | Conceito

Dando continuidade ao imaginário da ciência e desenvolvimento tecnológico, a apropriação da envolvimento laboratorial torna-se inspiração para coleção (figura 60). As batas brancas, o ambiente frio e esterilizado, a pesquisa regulada por processos metódicos e estruturação de etapas, remetem para a utilização de linhas direitas e geométricas e a sobreposição de camadas.

A bata como elemento chave e o branco como cor associada à atmosfera científica são a base desta associação criativa.



Figura 60 - Imaginário Laboratorial. Inspiração para a coleção.

<https://www.ignant.com/2017/08/17/the-objectuals-by-hyungkoo-lee/>;

<https://www.vogue.com/fashion-shows/spring-2018-menswear/ambush/slideshow/collection#5>;

<http://fashiion-gone-rouge.tumblr.com/post/127859096536> [consultado a 25-08-2017].

3. Público-Alvo

A coleção foi pensada para o público-alvo feminino, com especial atenção ao cariz sustentável da sua escolha de vestuário, com algum espírito revolucionário, capaz de optar por algo inovador, desconhecido e diferente do habitual. Como se trata de um produto com algumas especificidades científicas, o comprador deve ser alguém informado e apto a dar a conhecer as peças, expondo as vantagens deste tipo de projeto, desmitificando os contras que os demais poderão apontar.

Fazem parte da coleção peças com especial atenção aos pormenores, criadas de forma a expor o que não se vê a olho nu. Os padrões e estruturas desenvolvidas são inspirados nos microrganismos e realçam o cariz científico, artístico e inovador do projeto. Deste modo, o público feminino que por si só, tem especial atenção aos detalhes, terá oportunidade de adquirir peças arrojadas que se destacam pela sua originalidade e abordagem experimental, seguindo tendências atuais e que vão de encontro ao estilo de vida descontraído e confortável.

4. Pigmentos Petri | Cores Coleção

Leonardo da Vinci, in Tratado de Pintura, 1982.

(...) Podemos colocar o branco como representante da luz sem o qual nenhuma cor pode ser vista (...)

Cor branca, consequência da junção de todas as cores do espectro visível, cor que reflete todos os raios luminosos, é tomada como base e tela límpida, absorvendo apenas o imaginário científico dado ao projeto. O preto (ausência de luz) é adicionado à paleta de cores como oposto ao branco criando a dicotomia dos dois polos onde compreende o espectro visível. Associadas juntam-se as cores primárias.

O olho humano normalmente contém três tipos de recetores de cor (células cone) onde cada uma corresponde a diferentes bandas do espectro visível, denominado assim a visão humana como tricromática (figura 61). Assim, os estímulos luminosos captados pelo olho são geralmente modelados como mistura das três cores primárias (figura 62) [8].



Figura 61 - Metaforização da “Visão Tricromática”

<https://www.pinterest.pt/pin/353110427024818881/>;

<https://www.pinterest.pt/pin/353110427024818883/>; <http://100sss.tumblr.com/post/138677764370>
[consultado a 25-08-2017].

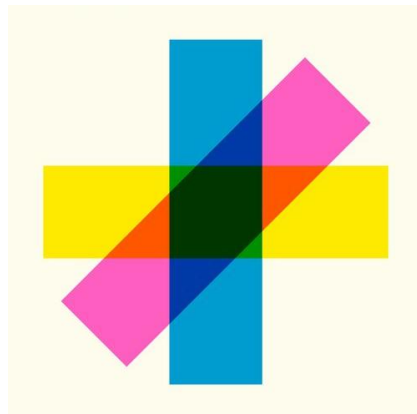


Figura 62 - Cores primárias do Sistema Subtrativo

<http://blog.excites.co.uk/post/58002689061/alternative-venn-diagrams-attributesgood-designer>

[consultado a 25-08-2017].

A consolidação de conhecimento sobre a cor, a apropriação do laboratório como imaginário concetual, o desenvolvimento feito nos ensaios com os microrganismos e a paleta de cores disponível, propôs os Pigmentos Petri finais conforme demonstra a figura 63.

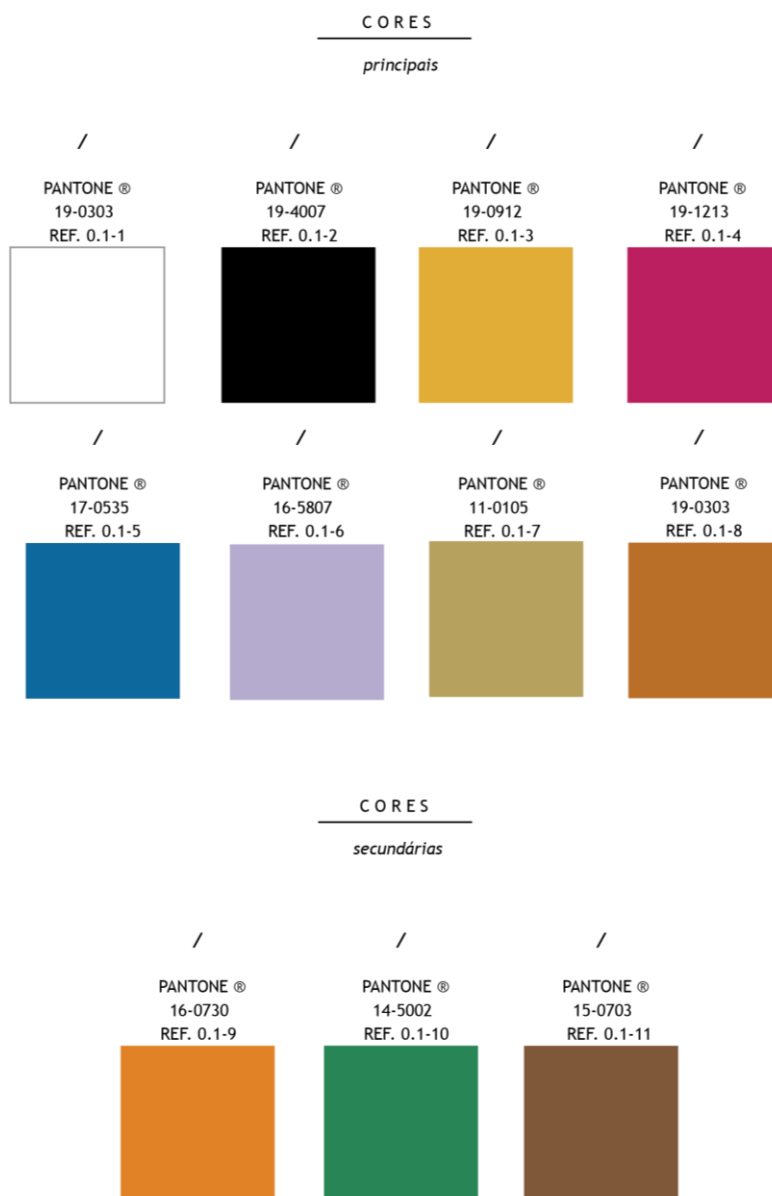


Figura 63 - Cores Principais e Cores secundárias do projecto *Bio Fermented Colors*. As cores secundárias surgiram como complemento da paleta de cores proveniente dos pigmentos bacterianos: amarelo (*Chryseobacterium shigense*); pigmento rosa (*Serratia plymuthica*); pigmento roxo *Chromobacterium violaceum*; pigmento castanho (*Pseudomonas sp*). (fonte: autora)

5. Escolha de materiais e métodos de tingimento

Depois de um estudo científico necessário, foram definidas as formas de tingimento e suportes adequados para responder à proposta da coleção.

Seguindo uma linha de pensamento sustentável, utilizando apenas materiais naturais e tendo em consideração as fibras que obtiveram melhores resultados, foram seleccionados o Algodão e a Viscose.

Identificadas algumas melhorias nos processos de coloração, foi possível a utilização de todos os métodos estudados no desenvolvimento laboratorial (Segunda Etapa, Terceira Etapa e Quarta Etapa).

Nesta coleção experimental, as diversas peças foram concebidas de modo a enaltecer o potencial dos microrganismos e características inovadoras dos bio-pigmentos.

5.1 Conceção das Peças Finais

5.1.1 Sobreposição têxtil com os microrganismos (Segunda Etapa)

Adequando o método de tingimento pela sobreposição do tecido com a bactéria desde o momento de inoculação, foi idealizada uma peça (vestido camiseiro) que espelhava o uso da bata branca em laboratório.

Para proporcionar um tingimento orgânico, a peça foi confeccionada com duas camadas de tecido branco 100% Viscose, molhado e colocado dentro de dois recipientes de forma aleatória. O meio sólido foi vertido, criando uma camada de nutrientes que continha partes do tecido submerso, enquanto outras estavam à superfície e iriam estar em contacto com o bio-pigmento produzido. As bactérias *Chryseobacterium shigense* (pigmento amarelo) e *Serratia plymuthica* (pigmento rosa) foram inoculadas nos respetivos meios de cultura (NA para a primeira e TSA para a segunda) e os recipientes colocados dentro da estufa a 28°C. O crescimento das bactérias e produção de pigmentos foi acompanhado diariamente para garantir a viabilidade da coloração do tecido.

Após 48h, no meio (NA) onde a *Chryseobacterium shigense* tinha sido inoculada era evidente o crescimento e elevada produção de pigmento como demonstrado pela Figura 64 enquanto no meio TSA onde a *Serratia plymuthica* estava inoculada a produção e proliferação da bactéria eram reduzidas (Figura 65), além de ser propenso o crescimento de fungos como demonstra a figura 66.



Figura 64 - Meio de cultura NA inoculado com *Chryseobacterium shigense* - Após 48h. (fonte: autora)



Figura 65 - Meio de cultura TSA inoculado com *Serratia plymuthica* - Após 48h. (fonte: autora)



Figura 66 - Meio de cultura TSA inoculado com *Serratia plymuthica* - Após 48h verificado a proliferação de fungos e uma produção reduzida de bio-pigmento. (fonte: autora)

Após cinco dias como a produção no meio NA era manifestamente maior, foi feita uma segunda inoculação da bactéria de pigmento rosa para que pudesse proliferar no meio NA (já que é um meio de cultura geral e capaz de proporcionar o crescimento de grande parte dos microrganismos).

Como o objetivo da adaptação deste método seria potenciar o contacto prolongado entre os bio-pigmentos e o tecido, a inoculação foi mantida na estufa durante duas semanas.

No meio de cultura que continha a *Chryseobacterium shigense* a proliferação foi bastante acentuada e a produção de pigmento extremamente elevada. Além da produção de pigmento amarelo foi notória a produção do pigmento da bactéria rosa no mesmo meio de cultura bem como um pigmento verde produzido por alguns fungos que foram proliferando ao longo do tempo de inoculação como demonstra a figura 67. No entanto, o meio TSA continuou com fraca produção de pigmento rosa e uma contínua proliferação de fungos (figura 68).



Figura 67 - Meio de cultura NA inoculado com as bactérias: *Chryseobacterium shigense*; *Serratia plymuthica* - Após duas semanas. (fonte: autora)



Figura 68 - Meio de cultura TSA inoculado com *Serratia plymuthica* - Após duas semanas. (fonte: autora)

O resultado no recipiente que continha NA foi um aglomerado de cores bastante evidentes, além de conseguido o padrão orgânico delineado pelas bactérias conforme planeado (figura 69). Já no caso do meio que continha apenas a bactéria de pigmento rosa, a produção foi muito mais moderada, apesar de visível a coloração do tecido.

Antes da confecção da peça final o tecido foi fixado pelo método *Pad Dry* a 150°C durante 20 minutos e feita uma lavagem durante 1h a 30°C numa solução de detergente e água para eliminar cheiros e vestígios excedentes de meio ou outro tipo de pigmento que não estava fixado.



Figura 69 - Tecido 100% Viscose em meio de cultura NA inoculado com *Chryseobacterium shigense*; *Serratia plymuthica* - Após duas semanas. Padrão orgânico com diferentes pigmentos. (fonte: autora)

A montagem da peça final foi feita com a apropriação do tecido contido em ambos os recipientes, que resultou numa peça que espelhava a vivência destes microrganismos durante duas semanas. O vestido camiseiro inspirado na bata utilizada em laboratório foi confeccionado com a aplicação do tecido com tonalidade mais vibrante nas zonas das mangas e bolsos como demonstrado pela figura 70.



Figura 70 - Pormenores das mangas e bolso do vestido camiseiro confeccionado com tecido 100% Viscose com apontamentos do padrão orgânico conferido pelas bactérias. (fonte: autora)

5.1.2 Pastas de Estampar Microbianas (Terceira Etapa)

O ensaio que explicava a utilização dos pigmentos como pastas de estampar microbianas traduzia o controlo possível do desenho/motivo que podia ser aplicado nos têxteis. Apesar de proporcionar a estruturação delineada da área colorida, os motivos pensados para as peças retratavam os padrões aleatórios de crescimento e produção de bio-pigmento. Esta característica propôs a utilização poética dos pigmentos, onde o controlo e manipulação das pastas microbianas criavam padrões que espelhavam o aleatório, seguida como linha condutora para criar os estampados das peças.

Foi idealizado um novo método de utilização dos pigmentos bacterianos partindo da técnica de marmorizado *Suminagashi* (tradicional do Japão - início do século XII), *Abri* (tradicional da Pérsia - século XV) *Ebru* (tradicional da Turquia - século XVI). A marmorização permite o desenho com tintas líquidas de determinados motivos, em preparações aquosas, de uma certa densidade. As cores são manipuladas de forma a criar padrões ou formas através de processos físicos ou químicos que, por fim, são absorvidos pelo material escolhido, quando em contacto com o preparado [113].

Para o presente método foram adicionadas novas bactérias gentilmente cedidas por outros laboratórios para aumentar a gama de pigmentos disponíveis. Todas as bactérias adicionadas produziam diferentes tons de pigmento amarelo.

Para a utilização dos pigmentos nas suas melhores características e após conhecimentos dos meios, tempos e temperaturas otimizados, todas as bactérias foram inoculadas seguindo os parâmetros descritos:

NA - *Chryseobacterium shigense* - 48 horas, 28°C

NA - *Sphingobacterium multivorum* - 48 horas, 28°C

NA - *Blastomonas natatoria* - 48 horas, 28°C

TSA - *Serratia plymuthica* - 162 horas, 28°C

TSA - *Pseudomonas sp* - 96 horas, 28°C

Aquando atingida o pico de produção de pigmento pelos diferentes microrganismos, as placas foram retiradas e reservadas a 4°C para manter as características de tonalidade otimizada de cada bio-pigmento, para o futuro tingimento das peças.

A primeira etapa para a marmorização diz respeito à preparação do banho. O banho utilizado foi preparado com 450g de sementes de linhaça adicionadas a 8l de água. Após 3 horas, as sementes foram coadas para eliminar atritos excedentes, garantindo que o banho estava com a densidade necessária para a marmorização e pronto a utilizar. As pastas de estampar sintéticas (cores: preto, Branco e azul) bem como as que continham os bio-pigmentos, foram preparadas com a adição de uma solução água com sabão azul com o propósito de reduzir a tensão da superfície do banho para que as cores não “afundassem”, criando uma camada

microscópica de gordura à volta de cada fragmento de cor, de modo a preservar a sua identidade, impedindo a mistura e produzindo os padrões pretendidos [114].

Os pigmentos microbianos foram retirados diretamente do meio de cultura dentro da câmara de fluxo (figura 71) e adicionada posteriormente a solução de água e sabão.

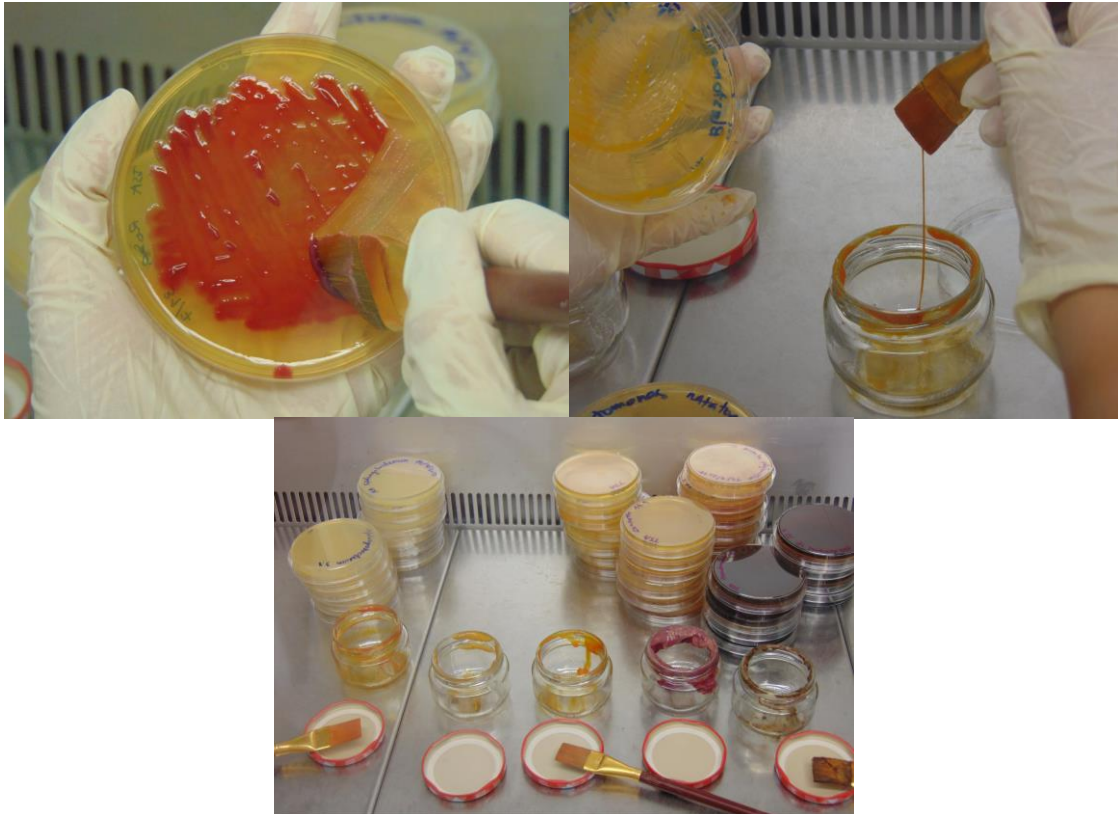


Figura 71 - Pigmentos microbianos retirados diretamente do meio sólido para a sua preparação e utilização no marmorizado como pasta de estampar. (fonte: autora)

Produzidas as pastas pretendidas (sintéticas e naturais) os tipos de padrão marmorizado foram feitos no banho de linhaça e quando terminados, absorvidos pelas peças previamente confeccionadas em tecido 100% Algodão.

Nota: No momento de preparação das soluções foram combinados o pigmento rosa (*Serratia plymuthica*) com o pigmento amarelo da *Chryseobacterium shigense*) para a produção de uma cor adicional (cor-de-laranja) além de ter sido adicionado pigmento castanho (*Pseudomonas sp*) ao pigmento amarelo produzido pela *Blastomonas natatoria* para obter um amarelo mais escuro (figura 72).

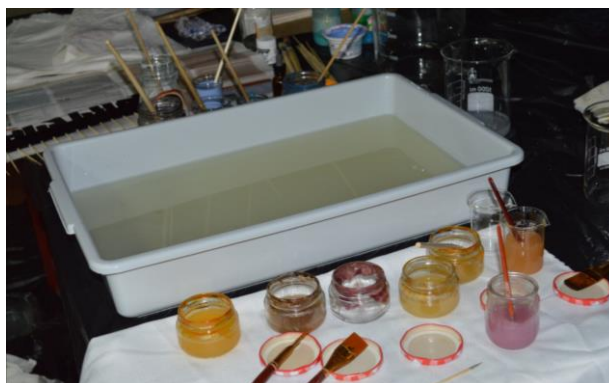


Figura 72 - Soluções com bio-pigmentos diluídos num preparado de água e sabão azul para obter a consistência adequada para que as cores não afundassem no banho do marmorizado. (fonte: autora)

Necessária uma diluição adequada das pastas microbianas foi verificada apenas uma ténue transferência dos bio-pigmentos. Deste modo foi possível criar um fundo onde o preto, branco e azul serviam de base para o estampado seguinte, referente à segunda etapa do processo. Posteriormente as peças foram carimbadas com as placas Petri onde estavam inoculadas as bactérias *Chryseobacterium shigense*, *Sphingobacterium multivorum*, *Blastomonas natatoria*, *Serratia plymuthica*. Esta opção permitiu que fosse mantida a ideia do padrão de estampagem ser comandado pelos microrganismos (figura 73).



Figura 73 - Estampagem/carimbos feitos em tecido 100% Algodão com os padrões de inoculação dos microrganismos. (fonte: autora)

Por fim, as peças foram fixadas pelo método de *Pad Dry* a 150°C durante 1h e uma posterior lavagem durante 1h a 30°C numa solução de detergente e água para eliminar cheiros e vestígios excedentes do banho de linhaça e pigmento que não estava fixado. Os resultados são demonstrados pela figura 74, com pormenores das duas peças finais.



Figura 74 - Pormenores das peças finais. Marmorizado com sobreposição de estampado/carimbos feitos a partir das placas Petri onde estavam inoculadas as bactérias *Chryseobacterium shigense*, *Sphingobacterium multivorum*, *Blastomonas natatoria*, *Serratia plymuthica*. (fonte: autora)

5.1.3 Tingimento com Pigmento em Pó (Quarta Etapa)

Como o principal objetivo era tingir uma quantidade significativa de fio no mesmo banho, foi selecionado o método de tingimento mencionada no diário laboratorial como solução A (corante e água), que além de ser a mais viável economicamente (necessitava apenas de dois elementos), era aquela que apresentava melhores resultados no fio 100% Viscose.

Nesta fibra, a capacidade de impregnação do corante e solidez da cor eram bastante significativas, mesmo após a lavagem.

Visto que o corante extraído da *Chromobacterium violaceum* (pigmento roxo) não estava disponível em grande quantidade, o tingimento foi idealizado para uma meada com 150g de fio, que seria utilizado apenas numa zona do tricot.

Foram diluídas 3g de pigmento em 3l de água, proporcionando uma concentração de 2% de corante SPF.

Tabela 8 - Cálculo da quantidade necessária de pigmento roxo (*Chromobacterium violaceum*) para o tingimento de 150g de fio 100% viscosa em 3l de água. (fonte: a autora)

	Pigmento (g)	Banho (l)
150g - 100% Visc.	3	3

O tingimento foi feito num recipiente de 5l colocado sobre uma placa de aquecimento, que permitia a aferição manual da temperatura, ajuste do volume da água, caso necessário e, agitação da fibra dentro do banho, permitindo a uniformização da absorção do corante na fibra.

Visto que os ensaios anteriores tinham sido feitos na máquina de tingimento laboratorial *Datacolor AHIBA IR*, onde o pigmento dissolvido no banho estava desde do início em contacto com a fibra e, apenas com um progressivo aumento da temperatura era possível proporcionar o tingimento do fio, não era previsto nenhum comportamento contrário em grande escala. Com o aumento do volume de banho e uma difícil solvência do corante, a temperatura da solução foi aumentada até aos 80°C antes da submersão da meada no banho. Um dos aspetos denotados no tingimento, foi a capacidade de absorção da fibra, que era praticamente imediata. As primeiras zonas de contacto da meada de Viscosa ficaram com uma tonalidade mais vibrante e evidente, não impedindo, no entanto, a viabilidade de tingimento do restante fio. De facto, um percalço que poderia ser tomado como inconveniente, acabou por se tornar uma mais-valia. O resultado orgânico ia de encontro às características do produto pensado para albergar estes novos corantes naturais (figura 75).



Figura 75 - Resultado do tingimento com o pigmento extraído da bactéria roxa (*Chromobacterium violaceum*) em fio 100% Viscosa. (fonte: autora)

Foi mantido o conceito geométrico para a malha, onde os pontos da estrutura foram desenhados de acordo com a idealização abstrata e geométrica da forma dos microrganismos. A estrutura tridimensional de alguns pontos simbolizava a apropriação das bactérias como forma e elemento principal da malha. Os fios escolhidos foram: 90% Viscose/10% PRT; 70% Viscose/20% Lã/10% Poliamida; 100% Poliéster, 100% Acrílico combinados com o fio 100% Viscose tingido pela bactéria. As zonas das extremidades das peças continham o fio tingido com o pigmento roxo extraído da *Chromobacterium violaceum*, tal como previsto na estruturação inicial da peça conforme ilustrado pela figura 76.

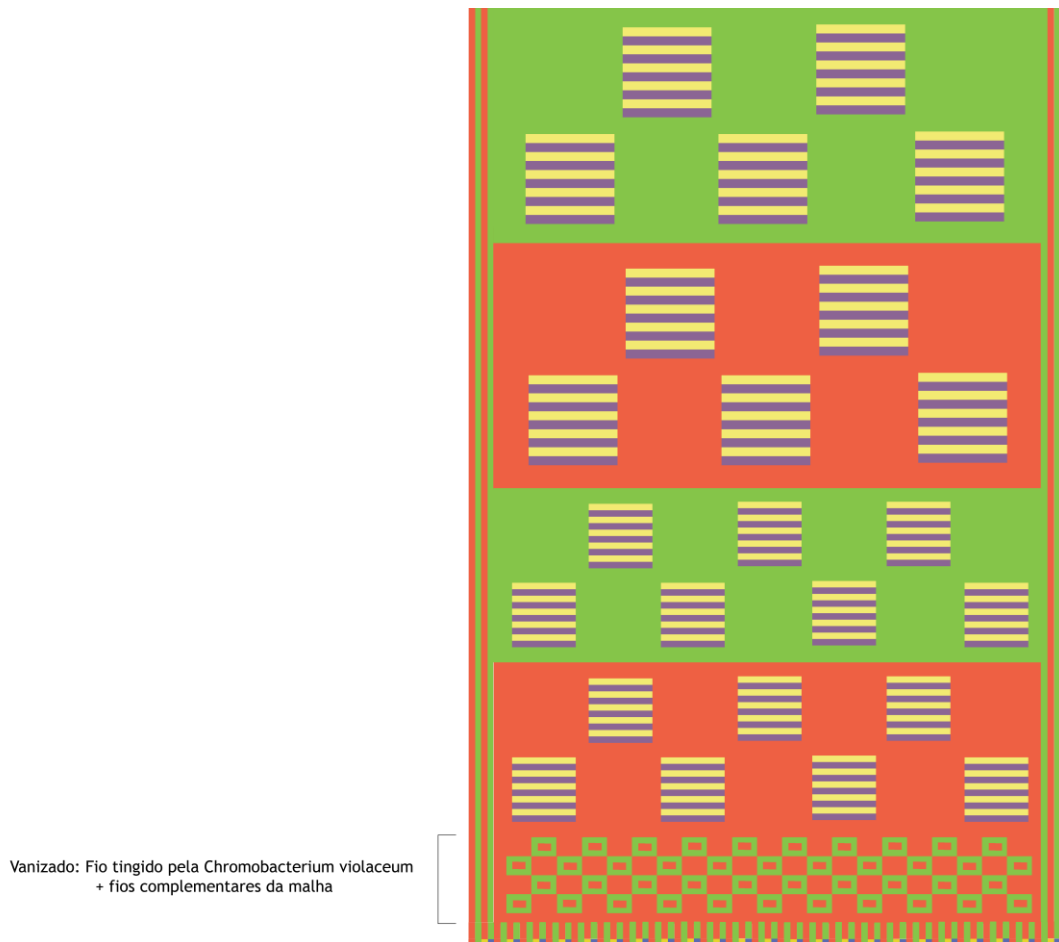


Figura 76 - Estrutura da malha. Desenho no programa CAD. O fio que contém o pigmento extraído da *Chromobacterium violaceum* é utilizado apenas na zona de vanizado. (fonte: autora)

Os detalhes da estrutura e fios utilizados nas duas malhas produzidas são descritos pelas figuras 77 e 79 que se seguem. As figuras 78 e 80 demonstram o pano final e pormenores das peças de malha finais.

Malha Amarela
Shima Seiki Jogo 7

ESTRUTURA

Canelado 1 x 1 - GF 5
Vanizado jersey - GF 4
Jersey e Ponto pérola - GF 5

Valor CAD - barras de comando	Ponto	Valor aperto Shima Seiki
5	Malhas	45
7	Vanizado	35
14	Canelado	20
17	Volta Larga	24

320 Agulhas para a Malha

Sistema CAD:

Canelado: Cor 1 ■ Jersey à frente
Cor 2 ■ Jersey atrás
Vanizado: Cor 1 ■ Jersey à frente
Cor 2 ■ Jersey atrás
Ponto pérola: Cor 3 ■ Tricota à frente e atrás
Cor 42 ■ Carga atrás
Jersey: Cor 1 ■ Jersey à frente
Cor 2 ■ Jersey atrás

Estrutura:

Canelado 1 x 1 - (GF 5)

Nr. de Fios para Malha	Ref:	Composição	Ne
3	0.1-3	70% VIS 20% LA 10% PA	20/2
Nr. de Fios para Malha	Ref:	Composição	Ne
1	0.1-7	100% PES	65/1

Vanizado jersey - (GF 4)

Nr. de Fios para Malha	Ref:	Composição	Ne
2	0.1-6	100% Viscose - fio tingido (<i>Chromobacterium violaceum</i>)	50/2
Nr. de Fios para Malha	Ref:	Composição	Ne
1	0.1-6	100% Acrílico	30/1

Jersey e Ponto pérola - (GF 5)

Nr. de Fios para Malha	Ref:	Composição	Ne
3	0.1-3	70% VIS 20% LA 10% PA	20/2
Nr. de Fios para Malha	Ref:	Composição	Ne
1	0.1-7	100% PES	65/1

Figura 77 - Descrição da barra de comandos e tipos de fio utilizados para a malha amarela. (fonte: autora)



Figura 78 - Pano de malha e pormenor da peça confeccionada. Extremidades da peça em vanizado com fio tingido pelo pigmento extraído da *Chromobacterium violaceum*. (fonte: autora)

Malha Azul
Shima Seiki Jogo 7

ESTRUTURA

Canelado 1 x 1 - GF 5
Vanizado jersey - GF 4
Jersey e Ponto pérola - GF 5

Valor CAD - barras de comando	Ponto	Valor aperto Shima Seiki
5	Malhas	45
7	Vanizado	35
14	Canelado	20
17	Volta Larga	24

320 Agulhas para a Malha

Sistema CAD:

Canelado: Cor 1 ■ Jersey à frente
Cor 2 ■ Jersey atrás
Vanizado: Cor 1 ■ Jersey à frente
Cor 2 ■ Jersey atrás
Ponto pérola: Cor 3 ■ Tricota à frente e atrás
Cor 42 ■ Carga atrás
Jersey: Cor 1 ■ Jersey à frente
Cor 2 ■ Jersey atrás

Estrutura:

Canelado 1 x 1 - (GF 5)

Nr. de Fios para Malha	Ref:	Composição	Ne
2	0.1-5	90% VIS 10% PRT	30/2
Nr. de Fios para Malha	Ref:	Composição	Ne
1	0.1-8	100% PES	65/1

Vanizado jersey - (GF 4)

Nr. de Fios para Malha	Ref:	Composição	Ne
2	0.1-6	100% Viscose - fio tingido (<i>Chromobacterium violaceum</i>)	50/2
Nr. de Fios para Malha	Ref:	Composição	Ne
1	0.1-5	90% VIS 10% PRT	30/2

Jersey e Ponto pérola - (GF 5)

Nr. de Fios para Malha	Ref:	Composição	Ne
2	0.1-5	90% VIS 10% PRT	30/2
Nr. de Fios para Malha	Ref:	Composição	Ne
1	0.1-8	100% PES	65/1

Figura 79 - Descrição da barra de comandos e tipos de fio utilizados para a malha azul. (fonte: autora)



Figura 80 - Pano de malha e pormenor da peça confeccionada. Extremidades da peça em vanizado com fio tingido pelo pigmento extraído da *Chromobacterium violaceum*. (fonte: autora)

6. Coleção Final

Peças Primavera/Verão 2018 com linhas simples e geométricas, pensadas de forma a potenciar a ligação com o ambiente e conceito laboratorial. Uma leitura por camadas dos padrões e formas coloridas nos materiais, onde a sobreposição dos elementos descreve metaforicamente, as etapas estruturadas para o processo de inoculação dos microrganismos e consequente produção dos bio-pigmentos.

Os resultados das peças finais enquadradas pelo ambiente laboratorial são demonstradas pelas figuras 81, 82 e 83, referenciando nas respetivas legendas, o tipo de método utilizado com os pigmentos bacterianos como fonte de coloração.



Figura 81 - Peça final no centro da imagem. Método de tingimento descrito em 5.1.1 - Sobreposição têxtil com os microrganismos (Segunda Etapa). (fonte: autora)



Figura 82 - Peças finais no centro das imagens. Método de tingimento descrito em 5.1.2 - Pastas de Estampar Microbianas (Terceira Etapa). (fonte: autora)



Figura 83 - Peças finais no centro das imagens. Método de tingimento descrito em 5.1.3 - Tingimento com Pigmento em Pó (Quarta Etapa). (fonte: autora)

Capítulo IV

Discussão Geral, Conclusão e Perspetivas Futuras

1. Discussão Geral

Além da aprendizagem sobre as características e potencialidades destes bio-pigmentos, o estudo desenvolvido revela vários resultados bastante promissores. No entanto, existem sempre protocolos que necessitam de otimizações e melhorias de modo a que os procedimentos descritos, ao longo, deste trabalho, possam vir a ser implementados e explorados a outros níveis. O carácter experimental do projeto e a escassa informação disponível sobre alguns microrganismos (muitos ainda alvos de investigação), leva a uma necessidade de contínua procura e aperfeiçoamento das vias de utilização dos pigmentos microbianos.

Os microrganismos são muito sensíveis aos diferentes estímulos externos e, apesar das medidas de precaução tomadas, por vezes surpreendem-nos, com o crescimento de contaminações nos meios de cultura sem aparente explicação e baixa produção de pigmento além de fraca tonalidade, mesmo que inoculada numa placa a partir de outra onde, a produção de corante é bastante evidente e em grandes quantidades. Existem factores que afetam o crescimento e produção de pigmento que ainda não conseguimos controlar, no entanto, a contínua investigação do comportamento dos microrganismos ajuda na compreensão dos mecanismos envolvidos e, será uma mais-valia para uma produção coerente, otimizada e economicamente viável.

A solidez moderada, característica dos corantes naturais, foi uma constante após o ensaboamento e uma das questões inalteráveis, pois torna-se necessária a etapa de lavagem para eliminar maus odores dos pigmentos e resíduos indesejados, na peça final. No entanto, a possibilidade de pastas de estampar com a adição de fixadores e espessantes ainda que sintéticos, poderá ajudar na fixação dos pigmentos bacterianos, nas fibras mesmo, após o ensaboamento. Esta opção não é 100% sustentável mas potencia a competitividade com os corantes sintéticos.

O propósito de tingimento através do contacto direto entre as fibras e os bio-pigmentos também é uma solução viável para a coloração dos suportes têxteis, ainda que deva ser adequado o tempo de inoculação para o tipo de fibra submetido a este processo. Uma fibra mais sensível como o caso da Viscose, deve ser bem cronometrada/controlada prevenindo o enfraquecimento do tecido em zonas mais expostas ao contacto com os pigmentos microbianos e consequentemente, bactérias e fungos produtoras destes mesmos corantes naturais.

A diluição dos pigmentos retirados diretamente do meio sólido deve ser explorada e adequada para garantir a solidez de tingimento após lavagem.

2. Conclusão

A fermentação de microrganismos, como fungos e bactérias é uma fonte valiosa para a produção de uma ampla variedade de pigmentos estáveis com maior rendimento de produção e menor quantidade de resíduos em comparação com o uso de plantas e animais.

A utilização de pigmentos naturais provenientes de microrganismos é de facto opção cativante, caracterizada por traduzir um impacto ambiental reduzido, de caráter não-tóxico, renovável e sustentável. No entanto, mediante análise de todo o desenvolvimento conseguido no presente trabalho, esta solução deve ainda ser aprimorada, conseguindo estruturar métodos de produção e otimização dos fatores envolvidos no crescimento respetivo de cada organismo bacteriano propenso à produção de bio-pigmento.

A adequação das fibras utilizadas é um ponto relevante e diferenciador assim como a adequação dos métodos ideias, específicos para cada pigmento bacteriano. No âmbito do estudo desenvolvido a *Chryseobacterium shigense* foi a que revelou maior recetividade aos métodos implementados, sendo também aquela que possui menor tempo de fermentação, proporcionando uma relação tempo/qualidade e produção de pigmento mais proveitosa. A bactéria rosa (*Serratia plymuthica*) revela uma fermentação mais longa e a produção de pigmento é algo sensível e que requer bastante rigor. O método mais eficaz para a sua utilização é de facto como pasta de estampar, devendo ser retirado no pico de produção e imediatamente utilizado, para que não perca as suas características (tonalidade evidente). No caso do exo-pigmento produzido pela *Pseudomonas Sp*, os melhores resultados são obtidos aquando contacto direto com os suportes de coloração, proporcionando o tingimento ideal.

A utilização do pigmento em pó extraído da *Chromobacterium violaceum* revela uma excelente capacidade de tingimento apesar de ser necessária uma grande quantidade de pigmento para uma elevada concentração de corante SPF.

A coloração de diferentes suportes têxteis a partir da utilização dos pigmentos de origem bacteriana demonstrou resultados conclusivamente positivos e promissores.

3. Perspetivas Futuras

Faz parte da condição humana a constante evolução. O interesse no desenvolvimento de novas tecnologias, novos métodos científicos, o aumento de soluções inovadoras nas mais diversas áreas, convergindo num progresso empolgante, com o intuito de estender a capacidade do ser humano na apropriação de novas descobertas em seu proveito, estreitando a ligação entre a sua forma de viver ao equilíbrio e preservação dos ecossistemas.

Apesar de, nos últimos anos, ter havido um crescimento substancial na compreensão dos detalhes tecnológicos necessários, para a utilização eficiente de corantes obtidos, a partir de

microrganismos, existe ainda, uma série de desafios técnicos a superar para poderem ser adotados em grande escala, alargando a capacidade de aplicação destes compostos naturais. Na perspetiva do enquadramento, No Design de Moda e Têxtil, seria interessante poder utilizar estes bio-pigmentos em impressão, a jacto de tinta ou por um método de estampagem (quadro ou rolo), onde o depósito do pigmento seria feito em zonas específicas, delineadas pelo desenho feito anteriormente no suporte de estampagem/impressão, pelo meio de cultura, permitindo o crescimento da bactéria e produção de pigmento diretamente no produto final.

A possibilidade do aumento de solidez dos pigmentos, sem a adição de compostos sintéticos, também, deverá ser uma preocupação futura, de forma a garantir apenas a utilização de compostos naturais, nos processos de introdução de cor nos suportes têxteis, mantendo o carácter sustentável, desta alternativa amiga do ambiente. Seria interessante uma investigação dedicada na melhoria de estirpes, com o intuito de facilitar o aumento da solidez dos corantes à lavagem, luz solar, abrasão, etc.

A possibilidade não só, do isolamento da parte da codificação genética da bactéria que diz respeito à produção de pigmento, de modo a aumentar a superprodução do corante natural, seria também proveitoso utilizar este método para a combinação de estirpes em *cocktails* microbianos, para alargar a paleta de cores provenientes destes seres vivos, partindo diretamente, do seu código genético.

A melhoraria das metodologias de extração dos pigmentos, poderia ser outro caminho futuro, possibilitando a diminuição da necessidade de grandes quantidades de corante para conseguir grandes concentrações nos tingimentos.

Existem inúmeras aplicações e metodologias por explorar no que toca aos pigmentos de origem bacteriana e, espera-se que no futuro seja possível albergar um material tão vantajoso como os microrganismos existentes nos vários ecossistemas. Um extenso processo de pesquisa e desenvolvimento nesta área está em curso, mas a implementação prática propensa a adotar novas tecnologias tornando os bio-pigmentos viáveis, talvez seja uma perspetiva a longo prazo, pois é necessário o estudo isolado de cada bactéria, do seu comportamento, perspetivando a otimização de todos os parâmetros envolvidos na sua utilização em grande escala, promovendo uma nova via, económica e sustentável em diversas indústrias.

Referências Bibliográficas, de Imagens, Bibliografia e Glossário

1. Referências Bibliográficas

[1] Cserhati T. Liquid chromatography of natural pigments and synthetic dyes. J. Chromatogr Libr., vol. 71, 1st edition Elsevier Science; 2006.

[2] Fisher-Mirkin, Toby. O código do vestir. Rio de Janeiro: Rocco, 2001.

[3] Heller, Eva, 1948-2008. A psicologia das cores : como as cores afetam a emoção e a razão / Eva Heller; [tradução Maria Lúcia Lopes da Silva]. 1. ed., São Paulo: Gustavo Gili, 2013. Título original: Wie Farben auf Gefühl und Verstand wirken: Farbpsychologie, Farbsymbolik, Lieblingsfarben, Farbgestaltung.

[4] Gomes Filho, João. Gestalt do objeto: sistema de leitura visual da forma. São Paulo: Escrituras Editora, 2000.

[5] Dondis, Donis A. A sintaxe da linguagem visual. São Paulo: Martins Fontes, 1991

[6] Ostrower, Fayga. Universos da arte. Rio de Janeiro: Campus, 1996

[7] KARGERE Audrey. A cor e a personalidade. 4ª ed. Porto Alegre: Associação Macrobiótica de Porto Alegre, 1982.

[8] Cardoso A. P., Ribeiro S., Ramada J. Cor e Luz na Interpretação da Imagem - Tradução Cerebral, 2014.].

[9] Bernardo, Luís Miguel. Histórias da Luz e das Cores, Lenda-Superstição-Magia- História-Ciência- Técnica, Volume 1. Editora da Universidade do Porto, 2005.

[10] Da Vinci, Leonardo. Tratado de Pintura. In Publicación Madrid: Editora Nacional, 1982.

[11] PEDROSA, Israel. Da cor à cor inexistente. 7ª ed. Rio de Janeiro: Léo Christiano Editorial Ltda, 1999

[12] NEWTON, I. A letter of Mr. Isaac Newton, professor of the Mathematicks in the University of Cambridge; containing his new theory about light and colours; sent by the author to the publisher from Cambridge, Febr. 6. 1671/72; in order to be communicated to the R. Society', *Philosophical Transactions of the Royal Society*, v.6, n.80, p.3075-3087, 1672a. Traduzido em SILVA, C. C, & MARTINS, R. A. A "Nova teoria sobre luz e cores" de Isaac Newton: uma tradução comentada. *Revista Brasileira de Ensino de Física*, v.18, p.313-27, 1996.]

[13] MARTINS, R. A. & SILVA, C. C. Newton and colour: the complex interplay of theory and experiment. *Science & Education*, v.10, n.3, p.287-305, 2001.

[14] Albers, Josef. 1975 Interaction of Color- Revised, University of Yale, p.1-81.

[15] Goethe W.V. Theory of Colours, Translated from the German with notes by Charles Lock Eastlake, Introduction by Deane B. Judd. The M.I.T. Press. Cambridge, Massachusetts, and London, England, 1840.

[16] The New Caxton Encyclopedia, Caxton Publications Limited, London, 1979.

[17] [Enciclopédia Verbo Luso-Brasileira de Cultura - Edição Século XXI - Volume 1. Lisboa | São Paulo, Editorial Verbo, 2002.].

[18] Burgio L., Clark R.J.H., 2001. Library of FT-Raman spectra of pigments, minerals, pigment media and varnishes, and supplement to existing library of Raman spectra of pigments with visible excitation. *Acta Spectrochimica, Part A*, 57: 1491-1521.

[19] Yamanaka H.T., Barbosa F.S., Bettol N.L.A., Tamdjian R.M.M., Fazenda J., Bonfim G., Furlameti F., Silva L.E.O., Martins J., Sicolin C., Beger R. 2006. Tintas e Vernizes. Governo do Estado de São Paulo, São Paulo.

[20] Casqueira R.G., Santos S. F. 2008. Pigmentos Inorgânicos: propriedades, métodos de síntese e aplicações. Série Rochas e Minerais Industriais, CETEM/MCT, 12, Rio de Janeiro.

[21] Buzgar N., Buzatu A., Sanislav I.V. 2009. The Raman study on certain sulfates. *Analele Stiintifice ale Universitatii "Al. I. Cuza" 55: 5-23.*

[22] Ana J.D. 1978. Manual de Mineralogia. Editora LTC, Rio de Janeiro.

[23] Furukawa S., Masui T., Imanaka N. 2006. Synthesis of New Environment-Friendly Yellow Pigments, *Journal of Alloys and Compounds* 418: 255-258.

- [24] Thomas S. 2000. Aspects of Technology and trade in Egypt and Mediterranean during the late Bronze Age. Unpublished PhD thesis, University of Liverpool.
- [25] Sanz, Juan Carlos y Gallego, Rosa, 2001. Diccionario del Color, Ediciones Akal, S. A.. p.2-1039.
- [26] Cruz, António João. Os Pigmentos naturais utilizados em pintura, in Alexandra Soveral Dias, António Estevão Candeias (org.), Pigmentos e Corantes Naturais. Entre as artes e as ciências, Évora, Universidade de Évora, 2007, pp. 5-23.
- [27] Delamare F., Guineau B. Colour Making and using Dyes and Pigments, Thames &Hudson, 2000, p.12-159.
- [28] Itten, Johannes. Art de la Couleur, traduction de Sylvie Girard, Dessain et Toldra / VUEF 2001.
- [29] Feller R.L. 1986. Artists' Pigments. A handbook of their history and characteristics. National Gallery of Art, Cambridge University Press, Cambridge.
- [30] Siva R. Status of natural dyes and dye-yielding plants in India. Curr Sci 2007;92(7):1-9.
- [31] Gulrajani ML. Present status of natural dyes. Indian J Fibre Texture Res 2001;26:191-201.
- [32] Newsome RL. Food colors. Food Technol 1986;40:49-56.
- [33] Krishnamurthy KV, Siva R, Senthil TK. Natural dye-yielding plants of Sher-varoy Hills of Eastern Ghats. In: Proceedings of National Seminar on the Conservation of the Eastern Ghats. 2002. p. 151-3.
- [34] Cristea D, Vilarem G. Improving light fastness of natural dyes on cotton yarn. Dyes Pigments 2006;70:238-45.
- [35] G Nagendrappa, "Sir William Henry Perkin: the man and his "Mauve"", September 2010.
- [36] Lomax SQ, Learner T. A review of the classes, structures, and methods of analysis of synthetic organic pigments. J Am Inst Conserv 2006;45:107-25.
- [37] R. E. Rose, E., "Growth of the Dyestuffs Industry: The Application of Science to Art", Journal of Chemical Education, 1926, 3: 9, 973 - 1007.

[38] Mithen S. 1988. Looking and learning: Upper Paleolithic art and information gathering. *World Archaeology* 19: 297-327.

[39] Lewis-Williams J., Dowson T., Bahn P., Bandi H., Bednarik R., Clegg J., Consens M., Davis W., Delluc B., Delluc G., Faulstich P., Halverson J., Layton R., Martindale C., Mirimanov V., Turner C., Vastokas J., Winkelman M., Wylie A. 1988. The Signs of All Times: Entoptic Phenomena in Upper Palaeolithic Art. *Current Anthropology* 29: 201-245.

[40] White R.H. 2003. *Prehistoric Art: the Symbolic Journey of Humankind*. Harry N. Abrams, New York.

[41] Chan, T. Y., & Wong, C. W. Y. (2012). The consumption side of sustainable fashion supply chain: Understanding fashion consumer eco-fashion consumption decision. *Journal of Fashion Marketing and Management*, 16, 193-215.

[42] de Brito, M. P., Carbone, V., & Blanquart, C. M. (2008). Towards a sustainable fashion retail supply chain in Europe: Organisation and performance. *International Journal of Production Economics*, 114, 534-553.

[43] Annamma Joy, John F. Sherry, Jr, Alladi Venkatesh, Jeff Wang and Ricky Chan. Fast Fashion, Sustainability, and the Ethical Appeal of Luxury Brands. *Fashions Theory*, Volume 6, Issue 3, pp 273-296, 2012.

[44] Lee, H. (2010). Don't tweak your supply chain: Re-think it end-to-end. *Harvard Business Review*, 88, 62 -69.

[45] Fletcher, K. (2008). *Sustainable fashion and clothing: Design journey*. London: Earthscan.

[46] Joergens, C.(2006). Ethical fashion: Myth or future trend? *Journal of Fashion Marketing and Management*,10,360-371.

[47] Shen, B., Wang, Y., Lo, C., & Shum, M. (2012). The impact of ethical fashion on consumer purchase behavior. *Journal of Fashion Marketing and Management*, 16, 234-245.

[48] Beard, N. (2008). The branding of ethical fashion and the consumer: A luxury niche or mass market reality? *Fashion Theory*, 12, 447-468.

- [49] Bin Shen, Jin-Hui Zheng, Pui-Sze Chow & Ka-Yan Chow (2014) Perception of fashion sustainability in online community, *The Journal of The Textile Institute*, 105:9, 971-979, DOI: 10.1080/00405000.2013.866334
- [50] Delmas, M., & Montes-Sancho, M. J. (2011). An institutional perspective on the diffusion of international management system standards. *Business Ethics Quarterly*, 21, 103-132.
- [51] Delmas, M., & Toffel, M. W. (2004). Stakeholders and environmental management practices: An institutional framework. *Business Strategy and the Environment*, 13, 209-222.
- [52] Lo, C. K. Y., Yeung, A. C. L., & Cheng, T. C. E. (2012). The impact of environmental management systems on financial performance in fashion and textiles industries. *International Journal of Production Economics*, 135, 561-567.
- [53] Etsy, D., & Winston, A. (2009). *Green to gold*. New Haven, CT: Yale University Press.
- [54] Shedroff, N. (2009). *Design is the problem*. New York: Rosenfeld Media LLC.
- [55] Anson, R. (2012). Editorial: Can the shift of textile and clothing production to Asia be reversed? *Textile Outlook International*, 19,4 -9. Ayres
- [56] Siegle, L. (2012, April 7). Is H&M the new home of ethical fashion? *The Guardian*.
- [57] Morgan, L. R., & Birtwistle, G. (2009). An investigation of young fashion consumers' disposal habits. *International Journal of Consumer Studies*, 33, 199-205.
- [58] Dickson, M. (1999). US consumers' knowledge of and concern with apparel sweatshops. *Journal of Fashion Marketing and Management*, 3, 44 -55.
- [59] Mohr, L., & Webb, D. (2001). Do consumers expect companies to be socially responsible? The impact of corporate social responsibility on buying behaviour *Journal of Consumer Affairs*, 35, 45 -72.
- [60] Shaw, D., & Tomolillo, D. (2004). Undressing the ethical issues in fashion: A consumer perspective. In M. Bruce (Ed.), *International retail marketing: A case study approach* (pp. 141-152). Oxford: Butterworth-Heinemann.
- [61] Moye, L. N., & Kincade, D. H. (2003). Shopping orientation segments: Exploring differences in store patronage and attitudes toward retail store environments among female apparel consumers. *International Journal of Consumer Studies*, 27, 58 -71.

- [62] Chiang, K. P., & Dholakia, R. R. (2003). Factors driving consumer intention to shop online: An empirical investigation. *Journal of Consumer Psychology*, 13, 177 -183.
- [63] Monsuwe, T. P., Dellaert, B. G. C., & Ruyter, K. (2004). What drives consumers to shop online? A literature review. *International Journal of Service Industry Management*, 15, 102-121.
- [64] Fraj, E., & Martinez, E. (2006). Environmental values and lifestyles as determining factors of ecological consumer behaviour: An empirical analysis. *Journal of Consumer Marketing*, 23, 133-144.
- [65] Emberley, V. 1998. "Venus and Furs: The Cultural Politics of Fur." London: I. B. Tauris & Co.
- [66] Moisander, Johanna and S. Personen. 2002. "Narratives of Sustainable Ways of Living: Constructing the Self and Others as a Green Consumer." *Management Decision* 40(4): 329-42.
- [67] Aspers, P. and L. Skov. 2006. "Encounters in the Global Fashion Business." *Current Sociology* 54: 745-63.
- [68] SANTOS, S. (2007). Impacto ambiental causado pela indústria têxtil. Dissertação apresentada ao curso de Engenharia de Produção e Sistemas na Universidade Federal de Santa Catarina. Florianópolis: UFSC.
- [69] Venil CK, Zakaria ZA, Ahmad WA. Bacterial pigments and their applications, *Process Biochemistry* 48 (2013) 1065-1079
- [70] Clydesdale FM (1993) Color as a factor in food choice. *Crit Rev Food Sci Nutr* 33(1):83-101
- [71] Wissgot U, Bortlik K (1996) Prospects for new food colorants. *Trends Food Sci Technol* 7:298-302
- [72] Holme, I., 2006. Sir William Henry Perkin: a review of his life, work and legacy. *Color. Technol.* 122, 235 e 251.
- [73] Rosa JR, Silva ISV, Lima CSML, Neto WPF, Silvério HA, Santos DB, Barud HS, Ribeiro SJL, Paquini D. New biphasic mono-component composite material obtained by partial oxypropylation of bacterial cellulose. *Cellulose*. 2014 Jun;21(3):1361-68.
- [74] Cristea, D., Vilarem, G., 2006. Improving light fastness of natural dyes on cotton yarn. *Dyes Pigm.* 70, 238e245.

- [75] Kadolph, S.J., 2008. Natural dyes: a traditional craft experiencing new attention. *Delta Kappa Gamma Bull.* 75 (1), 14e17.
- [76] Dweck, A.C., 2002. Natural ingredients for colouring and styling. *Int. J. Cosmet. Sci.* 24, 287e302.
- [77] Frick, D., 2003. The coloration of food. *Rev. Prog. Color* 33, 15e32.
- [78] Joshi V, Attri D, Bala A, Bhushan S (2003) Microbial Pigments. *Indian J Biotechnol* 2:362-369
- [79] Venil CK, Lakshmanaperumalsamy P. An insightful overview on microbial pigment: prodigiosin. *Ele J Biol* 2009;5(3):49-61.
- [80] Ahmad AS, Ahmad WYW, Zakaria ZK, Yosof NZ. Applications of bacterial pigments as colorant: the Malaysian perspective. New York: Springer Briefs in Molecular Science; 2012.
- [81] <https://drnsg.wordpress.com/2013/05/10/the-history-of-color-revolution-mauveine-and-indigo/> [consultado em 15-07-2017].
- [82] Santos PO, Pinheiro LKX, Roque MRA. Mapeamento tecnológico dos pigmentos naturais; 2016; 122-128
- [83] Charkoudian LK, Fitzgerald JT, Khosla C, Champlin A. In living color: bacterial pigments as an untapped resource in the classroom and beyond. *PLOS Biol* 2010;8:e1000510.
- [84] Pfeifer BA, Khosla C. Biosynthesis of polyketides in heterologous hosts. *Microbiol Mol Biol Rev* 2001;65:106-18.
- [85] Malpartida F, Hopwood DA. Molecular cloning of the whole biosynthetic path-way of a *Streptomyces* antibiotic and its expression in a heterologous host. *Nature* 1984;309:462-4.
- [86] Schweppe H. Indigo and woad. New York: Oxford University Press; 1997.
- [87] Duffose L (2006) Microbial production of food grade pigments, food grade pigments. *Food Technol Biotechnol* 44(3):313- 321
- [88] Hardeep S. Tuli, Prachi Chaudhary, Vikas Beniwal, Anil K. Sharma. Microbial pigments as natural color sources: current trends and future perspectives. 2014

- [89] Tripathi U, Venkateshwaran G, Sarada R, Ravishankar GA. Studies on *Haematococcus pluvialis* for improved production of astaxanthin by mutagenesis. *World J Microbiol Biotechnol* 2001;17:143-8.
- [90] Chen Y, Li D, Lu W, Xing J, Hui B, Han Y. Screening and characterization of astaxanthin-hyperproducing mutants of *Haematococcus pluvialis*. *Biotechnol Lett* 2003;25:527-9.
- [91] Montaner B, Pérez-Tomás R. Prodigiosin-induced apoptosis in human colon cancer cells. *Life Sci* 2001;68:2025-36.
- [92] Wang X, Tao J, Wei D, Shen Y, Tong W. Development of an adsorption procedure for the direct separation and purification of prodigiosin from culture broth. *Biotechnol Appl Biochem* 2004;40:277-80.
- [93] Bhaskaran K. Process for the production of violacein and its derivative deoxyviolacein containing bioactive pigment from *chromobacterium* sp. (MTCC5522) 2011. WO2011110932 A1.
- [94] Raina S, Murphy T, Vizio D, Reffatti P, Keshavarz T. Novel strategies for over-production of microbial products. *Chem Eng Trans* 2011;24:847-52.
- [95] McClean HK, Winson MK, Fish L, Taylor A, Chhabra SR, Camara M, et al. Quorum sensing and *Chromobacterium violaceum*: exploitation of violacein production and inhibition for the detection of N-acylhomoserine lactones. *Microbiology* 1997;143:3703-11.
- [96] Thomson NR, Crow MA, McGowan SJ, Cox A, Salmond GPC. Biosynthesis of carbapenem antibiotic and prodigiosin pigment in *Serratia* is under quorum sensing control. *Mol Microbiol* 2000;36:539-56.
- [97] Fujikawa H, Akimoto R. New blue pigment produced by *Pantoea agglomerans* and its production characteristics at various temperatures. *Appl Environ Microbiol* 2011;77(1):172-8.
- [98] Ruijter H. New innovative -carotene product. *Food Marketing Technol* 1998;98:16-8.
- [99] Alihosseini F, Ju KS, Lango J, Hammock BD, Sun G. Antibacterial colorants: characterization of prodiginines and their applications on textile materials. *Biotechnol Prog* 2008;24:742-7.

- [100] Yusof NZ. Isolation and applications of red pigment from *Serratia marcescens*. Universiti Teknologi Malaysia; 2008 [BSc thesis].
- [101] Shirata A, Tsukamoto T, Yasui H, Hata T, Hayasaka S, Kojima A, et al. Isolation of bacteria producing bluish-purple pigment and use for dyeing. *Jpn Agric Res Q* 2000;34:131-40.
- [102] Ahmad AS, Ahmad WYW, Zakaria ZK, Yosof NZ. Applications of bacterial pigments as colorant: the Malaysian perspective. New York: Springer Briefs in Molecular Science; 2012.
- [103] <http://natsiaudrey.co.uk/About> [consultado em 17-09-2017].
- [104] http://natsiaudrey.co.uk/Faber-Futures-Experiment-no-1-_____The-Print-Room [consultado em 17-09-2017].
- [105] http://natsiaudrey.co.uk/Faber-Futures-Experiment-no-2-_____The-Rhizosphere-Pigment-Lab [consultado em 17-09-2017].
- [106] http://natsiaudrey.co.uk/Faber-Futures-Experiment-no-3-_____Fold [consultado em 17-09-2017].
- [107] http://natsiaudrey.co.uk/Faber-Futures-Experiment-no-5-_____Rise-and-Fall-of-a-Micropolis [consultado em 17-06-2017].
- [108] <http://blondandbieber.com/algaemy-textiles> [consultado em 17-06-2017].
- [109] Chidambaram Kulandaisamy Venila, Zainul Akmar Zakariab, Rajamanickam Ushac, Wan Azlina Ahmad Isolation and characterization of flexirubin type pigment from *Chryseobacterium* sp. UTM-3T, in *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology* 3 (2014) 103-107
- [110] <https://en.wikipedia.org/wiki/Pseudomonas>
- [111] Lopez-Sabater EI, Rodríguez-Jerez JJ, Hernandez-Herrero M, Mora-Ventura MT 1996. Incidence of histamine-forming bacteria and histamine content in scombroid fish species from retail markets in the Barcelona area. *Int J Food Microbiol* 28: 411-418.
- [112] Blosser RS, Gray KM. Extraction of violacein from *Chromobacterium violaceum* provides a new quantitative bioassay for N-acyl homoserine lactone autoinducers, 2000
- [113] Wolfe, Richard J. – *Marbled paper: its history, techniques and patterns*. Philadelphia: University of Pennsylvania Press, 1990. ISBN 0-8122-8188-8. 249 págs.

[114] CHAMBERS, Anne – The Practical guide to Marbling Paper. Londres: Thames and Hudson, 1986. pág. 10. ISBN 0-500-27421-5

2. Referências de Imagens

Figura 84 - <http://www.messynessychic.com/2013/12/12/fashion-is-wasted-on-the-young-take-a-style-cue-from-grandma/> [consultado a 20-08-2017].

Figura 85 - <https://www.britannica.com/media/full/477178/1066> [consultado a 9-12-2017].

Figura 86 - <http://cdn8.openculture.com/2013/09/17161148/photo-7.jpg> [consultado a 10-07-2017].

Figura 87 - <https://www.royaltalens.com/information/a-guide-to-pigments/pigments-vs-dyes/> [consultado a 10-07-2017].

Figura 88 - <http://tdsblog.com/dye-off-natural-vs-synthetic/> [consultado a 12-07-2017].

Figura 89 - <http://tdsblog.com/dye-off-natural-vs-synthetic/> [consultado a 16-07-2017].

Figura 90 - <https://exploringtheinvisible.files.wordpress.com/2013/03/biodyes.jpg> [consultado a 13-04-2017].

Figura 12 - <http://4.bp.blogspot.com/-m5tkj3njalc/TqWL66Qhycl/AAAAAAAAABh8/wB5Alt5Owno/s1600/agarplatekey.jpg> [consultado a 10-07-2017].

Figura 91 - <https://www.ignant.com/2017/08/17/the-objectuals-by-hyungkoo-lee/>; <https://www.vogue.com/fashion-shows/spring-2018-menswear/ambush/slideshow/collection#5>; <http://fashiion-gone-rouge.tumblr.com/post/127859096536> [consultado a 25-08-2017].

Figura 92 - <https://www.pinterest.pt/pin/353110427024818881/>; <https://www.pinterest.pt/pin/353110427024818883/>; <http://100sss.tumblr.com/post/138677764370> [consultado a 25-08-2017].

Figura 93 - <http://blog.excites.co.uk/post/58002689061/alternative-venn-diagrams-attributesgood-designer> [consultado a 25-08-2017].

3. Bibliografia

Dicionário Houaiss da Língua Portuguesa, Lisboa, Círculo de Leitores. 2002-2003.

Trésor de la Langue Française informatisé, Paris, CNRS Éditions.

Oxford English Dictionary, Oxford, Oxford University Press, 1999.

Rodrigues, F. A., Dicionário Técnico e Histórico de Pintura, Escultura, Arquitectura e Gravura, Lisboa, Imprensa Nacional, 1875.

Ian Holme, "Sir William Henry Perkin: a review of his life, work and legacy" Soc. Of Dyers and Colourists, Color Technol., 2006, 122, 235-251. DOI:10.1111/J.1478- 4408.2006.00041.

COLE, Alison. Galeria de arte: cor. São Paulo: Editora Manole Ltda, 1994.

Vandenabeele P., Wehling B., Moens L., Edwards H., Reu M., de van Hooydonk G. 2000. Analysis with MicroRaman spectroscopy of natural organic binding media and varnishes used in art. Analytica Chimica Acta 407: 261-274.

Zollinger H. Color chemistry: syntheses, properties, and applications of organic dyes and pigments. 3rd edn. Zurich: Wiley-VCH; 1991.

Araújo, Leonardo Carneiro. A teoria das cores de Goethe. São Paulo: Leonardo Carneiro Araújo, 2013.

2. Glossário

Aeração - Processo que possibilita através do aumento de contacto de um líquido com o ar, o aumento de oxigénio e diminuição da taxa de dióxido de carbono.

Bactérias - Organismos unicelulares, de forma alongada, esférica ou espiralada, procarióticas e que podem ser encontrados na forma isolada ou em colónias. São microrganismos constituídos por uma célula, sem núcleo celular nem organelos membranares, que se alimentam segundo modo vegetal.

Corantes Azo - compostos que contêm o grupo azo, -N=N-, ligado aos átomos de carbono de hibridação sp². Formam o maior grupo de todos os corantes sintéticos, utilizados em corantes têxteis, tintas de impressão e corantes alimentares. Retirados da lista de substâncias aprovadas para uso alimentar, medicamentos e cosméticos pelos potenciais efeitos adversos na saúde.

Envelope Celular - conjunto de estruturas de revestimento existente nas bactérias que servem de proteção e separação entre o meio externo e interno. É constituído pela membrana plasmática, parede celular, e em bactérias gram-negativas, membrana externa.

ISO 14000 - é uma série de normas desenvolvidas pela *International Organization for Standardization* (ISO) e que estabelecem diretrizes sobre a área de gestão ambiental dentro de empresas.

Meio de Cultura - Preparações químicas geralmente usadas para estudos laboratoriais, que contêm nutrientes entre outras substâncias que proporcionam condições necessárias para a

inoculação, crescimento e desenvolvimento, neste caso específico de microrganismos, para que a produção de bio-pigmento seja feita nas melhores condições e traduza uma máxima produção do mesmo.

Além dos nutrientes existem condições ambientais para o crescimento microbiano, como a temperatura, pH, humidade, presença ou não de oxigénio (condição aeróbia e anaeróbia) entre outros. Os meios de cultura são classificados de acordo com seu estado físico, podendo ser sólido, quando possui agentes solidificantes como o ágar; semissólido, quando a consistência de ágar e/ou gelatina é intermediária, ou líquido, quando não possui solidificantes, caracterizando-se como meio líquido. Devido à diversidade de microrganismos, existem vários meios de cultura específicos que atendem às exigências para o desenvolvimento de cada um. Os meios básicos permitem o crescimento, porém não atendem a nenhuma condição nutricional específica de um determinado microrganismo.