



UNIVERSIDADE DA BEIRA INTERIOR  
Faculdade de Ciências

# Tingimento de fibras têxteis com prodigiosina produzida por *Serratia plymuthica*

Ana Rita de Sousa Vieira da Costa

Dissertação para obtenção do Grau de Mestre em  
**Biotecnologia**  
(2.º ciclo de estudos)

Orientador: Prof.<sup>a</sup> Doutora Isabel Cristina Aguiar de Sousa e Silva Gouveia

Covilhã, Novembro de 2019



# **Dedicatória**

Aos meus pais, Patrícia e Ricardo e aos meus avós, Mila e Ramiro.



# Agradecimentos

Quero agradecer à Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Isabel Gouveia, por ter aceite o desafio de ser minha orientadora e principalmente por me dar a oportunidade de desenvolver um projeto do meu agrado. Agradeço também a disponibilidade, a ajuda a solucionar os problemas que foram aparecendo e por fomentar o meu sentido crítico.

À Cláudia Mouro e à Lúcia Amorim, por me integrarem, por me transmitirem conhecimentos, por estarem sempre disponíveis para me ouvir e ajudar, e principalmente por serem bem dispostas.

Ao Departamento de Química e ao Departamento de Ciência e Tecnologia Têxtil pela disponibilidade e prontidão na cedência de equipamentos.

À Universidade da Beira Interior, à Covilhã e a Biotecnologia, por me fazerem sentir em casa ao longo destes anos, por me porem à prova e me proporcionarem momentos únicos.

“Uma Cor, um Curso, uma Família, Biotecnologia!”

Aos amigos que esta experiência me deu, por caminharem comigo ao longo destes anos, por criarem laços familiares, por me deixarem ser eu própria, por serem amigos de verdade. Um agradecimento especial ao Tiago, à Carolina, ao João Diogo, ao Valente e à Ana por começarem e acabarem comigo; à Zini, ao Rafa e ao João por me darem a oportunidade de aprender e crescer com eles; à Jéssica por ser o 8 e o 80 desta aventura.

Aos meus amigos de sempre, à Ana, à Francisca, à Laura, ao Bruno, ao Pedro, ao Pires e ao Martins por não deixarem que a distância fosse um impedimento e por estarem sempre de braços abertos para mim em cada chegada a casa.

Ao Alexandre, pelo companheirismo, dedicação, carinho e admiração. Por ser o meu braço direito e o meu maior apoio.

Aos meus avós Mila e Ramiro, por serem os pilares fundamentais da nossa família e por tudo que fazem diariamente por mim e pelos meus irmãos.

Por fim, quero agradecer às pessoas mais importantes da minha vida, à minha mãe e aos meus irmãos, João e Salvador. À minha mãe por me deixar voar e ser o que eu quiser, por ser a força da natureza que é e pela fonte de inspiração que é para mim. Aos meus irmãos por me darem a certeza de que a vida é melhor rodeada de alegria, confusão e amor.

Ao meu pai, por me fazer acreditar que consigo tudo o que quero.



## Resumo

Nos tempos de hoje existe uma maior consciencialização no que diz respeito à fragilidade ambiental e respetivas fontes prejudiciais. A área têxtil é uma das indústrias mais poluidoras a nível mundial. Com este facto em foco, surgiu este trabalho em que se aliou a área têxtil à biotecnologia, para produzir um processo de tingimento mais ecológico e sustentável, simultaneamente eficiente que permita satisfazer as necessidades impostas pela população mundial.

Com a preocupação ecológica surgiu uma maior apreensão com os corantes sintéticos, considerados tóxicos tanto para o Homem como para o ambiente, e voltou a emergir a investigação na área dos pigmentos naturais. Estes podem ser de origem vegetal, mineral, animal e microbial, e tendo em conta o balanceamento de vantagens e desvantagens de todas as classes, os pigmentos microbianos ganham a preferência, principalmente os bacterianos.

A realização do presente estudo serviu para investigar a capacidade tintorial do extrato bruto de prodigiosina, produzido por *S.plymuthica*, de uma forma ecológica. Avaliou-se a influência de diferentes parâmetros experimentais (temperatura de tingimento; adição de auxiliares; adição de mordentes e pH) e também a interação do pigmento com diferentes fibras (acetato, algodão, poliamida, poliéster, acrílica e lã), com base na leitura espectrofotométrica das cores obtidas, pelos valores de intensidade colorística (K/S) e pelos valores de igualização (dE) correspondentes. Em fases posteriores, na produção de um tingimento otimizado, caracterizaram-se as cores obtidas nas diferentes fibras, através das coordenadas CIELab; avaliaram-se as propriedades de solidez com base na lavagem doméstica e industrial, na fricção a seco e a húmido e à luz; determinou-se a resistência à abrasão segundo o método de Martindale; avaliou-se, ainda, a tensão e o alongamento de rutura e finalmente a atividade antibacteriana, em virtude das conhecidas propriedades bioativas do pigmento utilizado.

A otimização dos parâmetros tintoriais resultou nas condições ideais para poliamida, com a temperatura de tingimento a 60°C, mordentagem com um bio-mordente como a L-Cisteína (L-Cys) a 3% e com a solubilização parcial da prodigiosina em etanol. O uso deste extrato bruto de pigmento bacteriano exibiu resultados muito positivos e vantajosos em relação aos corantes sintéticos e à prodigiosina extremamente purificada, resultando numa estratégia potencialmente mais ecológica para o tingimento destas fibras.

## Palavras-chave

Pigmentos bacterianos; Prodigiosina; Poliamida; Tingimento têxtil; Tingimento natural; Bio-mordente



# Abstract

Nowadays, there is a heightened awareness of environmental fragility and its respective sources. The textile area is one of the most polluting industries in the world. In this focus, this work arises to emphasize the importance of biotechnology in the textile industry, namely by developing an efficient and ecological dyeing process and consequently to better attend the world population's demands.

Concerning this, natural pigments are coming back as an alternative to the synthetic dyes, which are considered toxic to both man and environment. These pigments may be obtained from plants, minerals, animals, and microorganisms. However, bacterial pigments are gained special attention due to their advantages and disadvantages balance out.

So, the present study explores the dyeing ability of the crude extract of prodigiosin ecologically produced by *S. plymuthica*. Different experimental parameters (temperature, dyeing auxiliaries, mordants addition, and pH) and also the interaction of this pigment with different fibers (acetate, cotton, polyamide, polyester, acrylic, and wool) were studied based on the spectrophotometric reading of the pigment's colors from K/S values, and respectively dE. Afterward, in the production of optimized dyeing, the colors obtained in the different fibers were characterized through CIELab coordinates; the fastness properties of the samples were assessed based on domestic and industrial washing, dry and wet friction, and to light, while the abrasion resistance was determined according to the Martindale method. Also, the strain and elongation at break of the samples were determined, and finally the antibacterial activity, due to the known bioactive properties of the pigment used.

The optimum dyeing was achieved using polyamide at 60°C, and adding a biomordant like L-Cys at 3%(w/w). The partial solubilization of the prodigiosin in ethanol was also beneficial and fundamental in the dyeing process. Therefore, the use of this crude bacterial pigment extract exhibits very positive and advantageous results over the synthetic dyes and purified prodigiosin, resulting in a potentially greener strategy for dyeing these fibers.

## Keywords

Bacterial pigments; Prodigiosin; Polyamide-fibers; textile-dyeing; Natural-dyeing; Biomordant



# Índice

<b>Capítulo 1</b> .....	1
1. Introdução .....	1
1.1. Classificação dos Corantes Naturais .....	2
Com base na Estrutura Química: .....	3
Com base no Método de Aplicação: .....	4
Com base na Origem: .....	6
1.2. Pigmentos Bacterianos .....	8
1.2.1. <i>Serratia spp.</i> .....	11
1.2.1.1. <i>Serratia plymuthica</i> .....	11
1.2.2. Prodigiosina.....	12
1.3. Sustentabilidade ambiental e socioeconómica da utilização de pigmentos naturais .	13
1.4. Fibras Têxteis.....	14
1.4.1. Distinção entre Naturais, Artificiais e Sintéticas.....	14
1.4.1.1. Poliamida .....	16
1.5. Processo de Tingimento por Esgotamento .....	17
1.5.1. Influência da Temperatura.....	17
1.5.2. Influência do pH.....	18
1.5.3. Influência da adição de auxiliares de tingimento .....	18
1.5.3.1. Influência da adição de sais.....	18
Hidrossulfito de sódio:.....	18
Hidróxido de sódio: .....	19
1.5.3.2. Influência da adição de mordentes.....	19
Sulfato Ferroso:.....	20
L-Cys: .....	20
1.5.3.3. Influência do etanol .....	21
<b>Capítulo 2</b> .....	22
2. Objetivos.....	22

<b>Capítulo 3</b> .....	24
3.    Materiais e Métodos .....	24
3.1    Materiais .....	24
Equipamentos .....	24
Reagentes .....	25
Fibras .....	25
Bactérias .....	26
3.2.    Métodos .....	26
3.2.1. Processos de Tingimento .....	26
3.2.1.1. Influência da temperatura de tingimento no rendimento tintorial .....	27
3.2.1.2. Influência da adição de auxiliares de tingimento no rendimento tintorial .....	29
Adição de sais: .....	29
Adição de mordentes: .....	29
Adição de etanol: .....	31
3.2.1.3. Influência do pH de tingimento no rendimento tintorial .....	31
3.2.2.    Tingimento ótimo .....	32
3.2.2.1.    Avaliação dos parâmetros colorimétricos .....	32
3.3.    Caracterização das amostras têxteis .....	32
3.3.1. Espectroscopia de infravermelho por transformada de Fourier (FTIR-ATR) .....	33
3.3.2. Solidez do tinto à lavagem doméstica e industrial .....	33
3.3.3.    Solidez do tinto à fricção seca e húmida .....	34
3.3.4.    Solidez do tinto à luz .....	34
3.3.5. Determinação da resistência à abrasão utilizando o método de Martindale .....	34
3.3.6.    Determinação da tensão e alongamento de rutura .....	35
3.3.7.    Avaliação da atividade antibacteriana .....	35
<b>Capítulo 4</b> .....	36
4.    Resultados e Discussão .....	36
4.1.    Avaliação do potencial de tinturaria da Prodigiosina em diferentes tipos de fibras e condições de tingimento .....	36

4.1.1.	Influência da Temperatura na multifibra.....	36
4.1.2.	Influência da adição de auxiliares de tingimento.....	39
	Adição de sais: .....	39
	Adição de mordentes: .....	41
	Sulfato Ferroso.....	41
	L-Cisteína .....	45
	Adição de etanol: .....	49
4.1.3.	Influência do pH.....	51
	4.1.3.1.    pH=4.....	52
	4.1.3.2.    pH=8,3 .....	54
4.1.4.	Seleção da fibra têxtil.....	56
4.2.	Otimização das condições de tingimento e avaliação das propriedades tintoriais.....	59
4.2.1.	Medição de cor espectrofotométrica- Sistema CIELab .....	59
4.2.2.	Solidez do tinto à lavagem doméstica e industrial .....	62
4.2.3.	Solidez do tinto à fricção seca e húmida.....	64
4.3.	Condições ótimas .....	66
4.3.1.	Espectroscopia de infravermelho por transformada de Fourier- FTIR.....	66
4.3.2.	Solidez do tinto à luz.....	67
4.3.3.	Determinação de resistência à abrasão utilizando o método de Martindale.....	69
4.3.4.	Determinação da Resistência à tração e Alongamento de rutura .....	70
4.3.5.	Avaliação da Atividade Antibacteriana .....	72
<b>Capítulo 5</b>	.....	<b>74</b>
5.	Conclusão.....	74
5.1	Perspetivas Futuras .....	75
<b>Capítulo 6</b>	.....	<b>76</b>
6.	Referências Bibliográficas.....	76



# Lista de Figuras

<b>Figura 1:</b> Esquematização da Classificação de Corantes Naturais (Adaptado de (Yusuf, Shabbir e Mohammad, 2017)).	3
<b>Figura 2:</b> Estruturas químicas das principais classes de corantes naturais. (Adaptado de Vankar, 2000)	4
<b>Figura 3:</b> Exemplos de Corantes com base no método de Aplicação (Adaptado de <a href="https://www.google.com/search?q=corantes+naturais&amp;rlz=1C1GCEA_enPT875PT875&amp;source=l nms&amp;tbm=isch&amp;sa=X&amp;ved=2ahUKEwjer_6Lm4jmAhX1BGMBHVumA3YQ_AUoAXoECAwQAw&amp;biw =1366&amp;bih=625#imgrc=pE1uXVzqtswNM:">https://www.google.com/search?q=corantes+naturais&amp;rlz=1C1GCEA_enPT875PT875&amp;source=l nms&amp;tbm=isch&amp;sa=X&amp;ved=2ahUKEwjer_6Lm4jmAhX1BGMBHVumA3YQ_AUoAXoECAwQAw&amp;biw =1366&amp;bih=625#imgrc=pE1uXVzqtswNM:</a> . Acedido em 26 setembro de 2019).	5
<b>Figura 4:</b> Estrutura química de Prodigiosina (Adaptado de (Narsing Rao, Xiao e Li, 2017)).	13
<b>Figura 5:</b> Classificação de Fibras Têxteis, alguns exemplos (versão simplificada)(Adaptado de Needles, 1986; Burkinshaw, 2016).	15
<b>Figura 6:</b> Representação esquemática do processo de tingimento.	27
<b>Figura 7:</b> Representação esquemática do tingimento à temperatura de 40°C.	28
<b>Figura 8:</b> Representação esquemática do tingimento à temperatura de 60°C.	28
<b>Figura 9:</b> Representação esquemática do tingimento à temperatura de 100°C.	28
<b>Figura 10:</b> Representação esquemática da adição de mordentes, na pré-mordentagem	30
<b>Figura 11:</b> Representação esquemática da adição de mordentes, na mordentagem simultânea	30
<b>Figura 12:</b> Representação esquemática da adição de mordentes, na pós-mordentagem	31
<b>Figura 13:</b> Influência da temperatura no tingimento de multifibras. a) Tingimento a 40°C; b) Tingimento a 60°C e c) Tingimento a 100°C.	37
<b>Figura 14:</b> Influência de auxiliares de tingimento, vários ensaios. a) Amostra 1; b) Amostra 2; c) Amostra 3 e d) Amostra 4.	39
<b>Figura 15:</b> Influência do Sulfato Ferroso no tingimento. a) Pré-mordentagem; b) Mordentagem simultânea e c) Pós-mordentagem. 1) 1%(m/m); 2) 3%(m/m) e 3) 5%(m/m).	42
<b>Figura 16:</b> Influência da L-Cisteína no tingimento. a) Pré-mordentagem; b) Mordentagem simultânea e c) Pós-mordentagem. 1) 1% L-Cys (m/m); 2) 3% L-Cys (m/m) e 3) 5%L-Cys (m/m).	46
<b>Figura 17:</b> Influência do Etanol. a) 5% de etanol; b) 10% de etanol e c) 15% de etanol.	50
<b>Figura 18:</b> Influência do pH ácido no tingimento. a) Tingimento apenas com prodigiosina; b) Tingimento com prodigiosina e adição de 3% (m/m) L-Cys e c) Tingimento com prodigiosina e adição de 3% (m/m) Sulfato Ferroso.	52
<b>Figura 19:</b> Influência do pH alcalino no tingimento. a) Tingimento apenas com prodigiosina; b) Tingimento com prodigiosina e adição de 3% (m/m) L-Cys e c) Tingimento com prodigiosina e adição de 3% (m/m) Sulfato Ferroso.	55
<b>Figura 20:</b> Amostras de poliamida tingidas nas condições selecionadas.	61
<b>Figura 21:</b> FTIR do Controlo e da L-Cys.	67

<b>Figura 22: Solidez à Luz.....</b>	<b>68</b>
<b>Figura 23: Atividade Antimicrobiana. ....</b>	<b>72</b>

# Lista de Tabelas

<b>Tabela 1:</b> Bactérias que produzem pigmentos, usados nas diferentes indústrias.....	10
<b>Tabela 2:</b> Classificação Científica da <i>Serratia spp.</i> (Adaptado de Prescott, Harley, 1998; Woolverton, Willey e Sherwood, 2013). .....	11
<b>Tabela 3:</b> Equipamentos. ....	24
<b>Tabela 4:</b> Reagentes. ....	25
<b>Tabela 5:</b> Fibras. ....	26
<b>Tabela 6:</b> Bactérias. ....	26
<b>Tabela 7:</b> Características dos Ensaios.....	33
<b>Tabela 8:</b> Valores das concentrações mínimas inibitórias das estirpes selecionadas. ....	35
<b>Tabela 9:</b> Valores de K/S e dE referentes às temperaturas de 40°C e 60°C. ....	38
<b>Tabela 10:</b> Valores de K/S e dE para o uso de sais como auxiliares de tingimento. ....	40
<b>Tabela 11:</b> Valores de K/S e dE para os ensaios de Sulfato Ferroso.....	43
<b>Tabela 12:</b> Valores de K/S e dE para os ensaios de L-Cisteína. ....	47
<b>Tabela 13:</b> Valores de K/S e dE para o tingimento com etanol. ....	51
<b>Tabela 14:</b> Valores de K/S e dE a pH 4. ....	53
<b>Tabela 15:</b> Valores de K/S e dE a pH 8,3.....	56
<b>Tabela 16:</b> Solidez da Lã e da Poliamida à lavagem doméstica e industrial.....	58
<b>Tabela 17:</b> Coordenadas Calorimétricas- CIELab. ....	59
<b>Tabela 18:</b> Solidez do tinto à lavagem doméstica e industrial. ....	62
<b>Tabela 19:</b> Solidez do tinto à fricção seca e húmida. ....	64
<b>Tabela 20:</b> Determinação de resistência à abrasão utilizando o método de Martindale. ....	70
<b>Tabela 21:</b> Determinação da resistência à tração, % de alongamento e módulo de Young. ...	71



## Lista de Acrónimos, símbolos e abreviaturas

AMP	Péptido antimicrobiano
CO <sub>2</sub> - eq	Equivalente ao dióxido de carbono, representa uma unidade baseada no potencial de aquecimento global
CPMA	Color Pigment Manufacturers Association, Inc.
C <sub>20</sub> H <sub>25</sub> N <sub>3</sub> O	Prodigiosina
dE	Diferença de cor na própria fibra: Igualização
ETAD	Associação Ecológica e Toxicológica dos Fabricantes de Corantes e Pigmentos Orgânicos.
FTIR-ATR	Espectroscopia de Infravermelho por Transformada de Fourier
GEE	Gases com Efeito de Estufa
GRAS	Generally Recognized As Safe
ISO	International Organization for Standardization
K/S	Intensidade Colorística
L-Cys	L-Cisteína
MIC	Concentração mínima inibitória
R%	Refletância
RB	Razão de Banho
UFC	Unidades Formadoras de Colónia



# Capítulo 1

## 1. Introdução

Em toda a sua existência o Homem procurou a cor e como fazê-la, pelo que este desafio tem origem na Pré-História e continua até aos dias de hoje. O uso de matérias-primas naturais era frequente para manchar peles, pintar conchas e penas e em pinturas rupestres, sendo datados os primeiros pigmentos feitos de ocre pelo Homem primitivo. A descoberta dos corantes pode ter sido um mero acidente que se tornou, com o avanço das civilizações, sendo um ponto fulcral nos costumes do Homem, sendo impossível imaginar o mundo moderno sem eles (R.Silva, 2007). Os termos Corante e Pigmento são muitas vezes confundidos, por se achar que são sinónimos, mas na realidade, existem diferenças fundamentais. As definições dos conceitos foram estabelecidas e acordadas internacionalmente através de diferentes organizações. ETAD, 2019 define os corantes como substâncias orgânicas intensamente coloridas ou fluorescentes, que conferem cor a um substrato por absorção seletiva da luz, sendo solúveis. Segundo a CPMA, 2019, os pigmentos são sólidos de natureza orgânica ou inorgânica, coloridos ou fluorescentes, geralmente insolúveis. A sua aparência pode sofrer alterações devido à dispersão da luz e/ou absorção seletiva. Desde a Pré-história, que os corantes naturais têm sido parte integrante da vida humana e da sociedade. Estes são menos tóxicos, poluentes e nocivos para a saúde, e por isso mesmo conhecidos como “*eco-friendly*”. Apresentam tons suaves, harmoniosos e subtis, criando um ambiente repousante e refrescante. Contudo, apresentam desvantagens que se tornaram devastadoras, com o avanço da sociedade e com a crescente necessidade de produzir mais e mais têxteis com cor, num curto intervalo de tempo e com o mínimo de recursos económicos. A extração do corante é um processo de baixo rendimento, pois a razão entre o tempo utilizado e a cor extraída é muito baixa, tornando o processo seguinte, o tingimento, mais dispendioso. Para além do processo de extração, os corantes naturais apresentam limitações no que diz respeito à disponibilidade de matéria-prima, bem como à criação de uma paleta de cor e padronização (R.Silva, 2007). Outra desvantagem associada relaciona-se com a baixa solidez à lavagem, à fricção, à luz e ao suor, relativamente aos sintéticos, devido às ligações mais frágeis que se estabelecem entre a fibra e o corante. Este problema, pode ser superado com a ajuda de mordentes, que na sua maioria contribuem para o aumento do impacto ambiental associado ao tingimento (Lichtfouse, 2013).

Durante muitos anos, as desvantagens dos corantes naturais foram sobrevalorizadas, deixando-os de parte e abrindo as portas aos sintéticos. Os avanços na ciência, na química e na química orgânica, foram imprescindíveis para a produção de corantes sintéticos, sendo em 1856, sintetizado o primeiro corante sintético, por Perkin, a malveína, também conhecido por malva (C.K. Venil, Akmar e Azlina, 2013). Estes são produzidos mais rapidamente que os naturais, e com eles consegue-se criar uma paleta e recriar todos os tons de igual forma, isto é, apresentam

boas condições de reprodutibilidade (Alihosseini *et al.*, 2008). Economicamente são mais sustentáveis, mas em termos de saúde pública e ambiental são um grande perigo. Por outro lado, a comunidade científica aponta a grande parte dos corantes sintéticos como potenciais carcinogénicos, causadores de alergias e irritações na pele (Kamel *et al.*, 2005; C.K. Venil, Akmar e Azlina, 2013). Além disso, a produção deste tipo de corantes exige o uso de um volume de água considerável e conseqüentemente, ocorre a produção excessiva de águas residuais coloridas, onde a cor, o único poluente visível, e outros compostos, formam uma combinação altamente indesejável, mesmo em concentrações muito baixas (Chowdhury e Das, 2011), provocando poluição aquática e acumulação no ecossistema (C.K. Venil, Akmar e Azlina, 2013). Assim, recentemente, surgiu um interesse crescente na revitalização de corantes naturais na coloração têxtil. Este é o resultado de rigorosos padrões ambientais impostos por muitos países em resposta às reações tóxicas e alérgicas associadas aos corantes sintéticos, visto que são provenientes de fontes renováveis, não apresentam toxicidade e são biodegradáveis (Kamel *et al.*, 2005). Os corantes naturais têm sido mais comercializados, pois também exibem atividades biológicas vantajosas como antioxidantes, propriedades anticancerígenas, antimicrobianas e uma elevada proteção à radiação UV (Grifoni *et al.*, 2011; C.K. Venil, Akmar e Azlina, 2013). A ação antimicrobiana é um enorme trunfo em relação aos sintéticos, uma vez que os têxteis estão em permanente contato com o corpo humano e estes oferecem resistência ao crescimento de microrganismos, enquanto que os sintéticos oferecem um meio com condições excelentes para o crescimento microbiano, como nutrientes fundamentais, sais orgânicos e inorgânicos, etc. (C.K. Venil, Akmar e Azlina, 2013). É ainda de salientar, que o facto de serem antimicrobianos, não significa que apresentem atividade contra os microrganismos benéficos que o ser humano precisa, não causando efeitos colaterais (Wells, 2013). Contudo, a produção mundial de corantes naturais ainda se encontra muito aquém da produção de sintéticos: anualmente produzem-se cerca de 10.000 toneladas de naturais, o que representa apenas 1% da produção mundial de sintéticos (Punrattanasin *et al.*, 2013).

## **1.1. Classificação dos Corantes Naturais**

Os corantes naturais podem ser classificados quanto à sua natureza química, quanto à forma como são aplicados e quanto à sua origem, como se pode ver pela Figura 1.

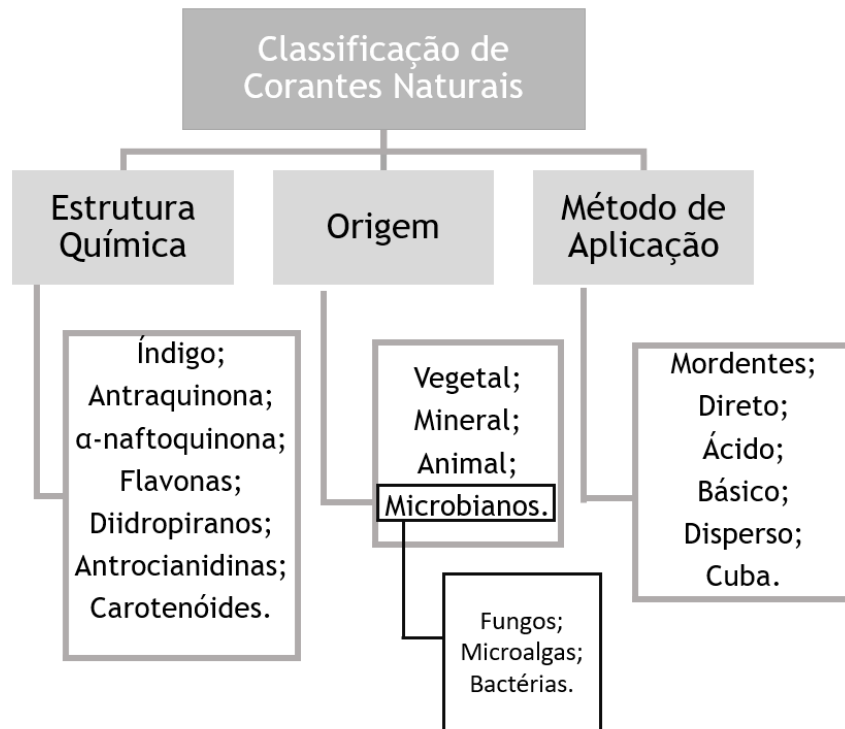


Figura 1: Esquemática da Classificação de Corantes Naturais (Adaptado de (Yusuf, Shabbir e Mohammad, 2017).

### Com base na Estrutura Química:

Neste ponto, serão apresentadas as sete classes fulcrais na distinção de corantes, com base na sua estrutura química (Figura 2).

- **Corante de Índigo:** é considerado um dos corantes naturais mais importantes e o primeiro a ser usado pelas primeiras civilizações. É extraído de fontes vegetais, como a *Indigofera tinctoria*, e apresenta uma tonalidade azul (Vankar, 2000; Manhita *et al.*, 2011; Yusuf, Shabbir e Mohammad, 2017).

- **Corantes de antraquinona:** representam o maior grupo de corantes naturais de quinona, sendo que a maior parte dos corantes vermelhos baseiam-se na estrutura antraquinona e estes podem ser obtidos de insetos e plantas. Apresentam boa estabilidade à luz, formam complexos com sais metálicos e os resultados destes complexos metálicos possuem elevada solidez à lavagem. Madder e carmim são exemplos de corantes de antraquinona (Vankar, 2000; Clark, 2011; Manhita *et al.*, 2011).

- **$\alpha$ -naftoquinonas:** pertencem à classe dos quinóides e o membro mais relevante é o corante de henna, proveniente de *Lawsonia inermis* (Vankar, 2000; Yusuf, Shabbir e Mohammad, 2017).

- **Flavonas:** representam a generalidade das cores amarelas naturais, uma vez que estas cores são derivadas hidroxí e metoxi flavonas e isoflavonas, são comumente encontradas em

plantas. Um exemplo destes corante é o *weld* (Vankar, 2000; Clark, 2011; Manhita *et al.*, 2011; Yusuf, Shabbir e Mohammad, 2017).

- **Diidropiranos:** são corantes naturais substituídos e do ponto de vista estrutural estão estritamente relacionados com as flavonas. São ideais para a produção de tons escuros na seda, lã e algodão. *Logwood* e *brazilwood*, são os maiores exemplos destes corantes (Vankar, 2000; Clark, 2011; Yusuf, Shabbir e Mohammad, 2017).

- **Antocianidinas:** o membro mais relevante desta classe é o carajurin, obtido das folhas de *Bignonia chica* e apresenta a cor de laranja (Vankar, 2000).

- **Carotenóides:** são corantes naturais de cores brilhantes, encontrados nos cloroplastos e nos cromoplastos, da maioria das plantas e organismos fotossintéticos. A cor deve-se à presença de longas ligações duplas conjugadas e apresentam tonalidades amarelas, laranjas e vermelhas, pois a luz é absorvida na região do espectro de 400-500 nm. O açafrão e o *annatto* são exemplos de carotenoides (Vankar, 2000; Clark, 2011; Yusuf, Shabbir e Mohammad, 2017).

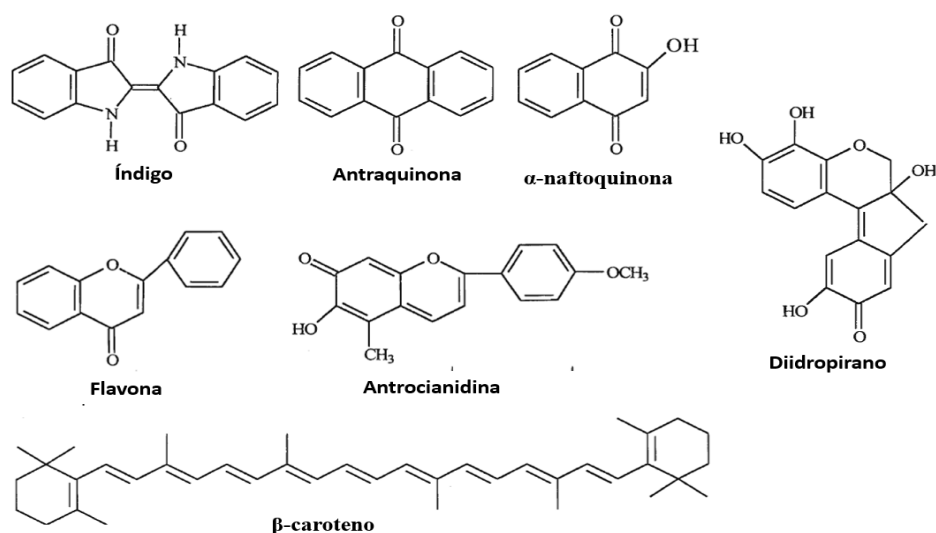


Figura 2: Estruturas químicas das principais classes de corantes naturais. (Adaptado de Vankar, 2000)

### Com base no Método de Aplicação:

Neste ponto, são apresentadas as seis classes fulcrais na distinção de corantes, com base no seu método de aplicação. A Figura 3 dá exemplos de cada um deles.

- **Mordentes:** São adicionados ao processo de tingimento, de modo a aumentarem a interação/afinidade entre a fibra e o corante. Os mordentes dividem-se em três categorias, metálicos (por exemplo: alume), à base de óleo e taninos (por exemplo: casca de *A. nilotica*). De forma geral, estes alteram as tonalidades dos corantes (Yusuf, Shabbir e Mohammad, 2017).

- **Diretos:** Caracterizam-se como compostos solúveis em água, tingem fibras celulósicas como algodão e viscose, aplicam-se facilmente e produzem cores brilhantes. Por causa da natureza das interações químicas, a resistência à lavagem é fraca, contudo as águas residuais

não contêm tanta quantidade de corante, devido ao elevado esgotamento que proporcionam. A casca de romã, o urucum, cártamo e curcuma são exemplos de corantes diretos (Guaratini, C.C.I; Zaroni, 2000; Yusuf, Shabbir e Mohammad, 2017).

- **Ácidos ou aniônicos:** Aplicam-se em meio ácido, as moléculas dos corantes têm grupos sulfônicos e carboxílicos e são solúveis em água, o que é fundamental para tingir fibras proteicas (lã, seda) e poliamida sintética. Estes corantes fornecem uma variada faixa de tonalidades e elevado grau de fixação. Um exemplo, é o açafrão (Guaratini, C.C.I; Zaroni, 2000; Yusuf, Shabbir e Mohammad, 2017).

- **Básicos ou catiónicos:** Na ionização cedem cátions coloridos, que formam uma ligação eletrovalente com o grupo -COOH das fibras de lã e seda. A carga positiva que os corantes transportam confere fraca resistência à luz, e um exemplo deste tipo de corantes é a berberina (Yusuf, Shabbir e Mohammad, 2017).

- **Dispersos:** Corantes insolúveis em água. No decorrer do tingimento, o corante sofre hidrólise e a parte insolúvel começa a precipitar-se na forma dispersa. A solubilidade apesar de baixa, influencia diretamente o processo e a qualidade. Estes servem principalmente para tingir poliamida, poliéster e poliácridonitrila. *Lawson*, *junglone*, *lapachol* e *shikonin*, são exemplos de corantes dispersos naturais (Guaratini, C.C.I; Zaroni, 2000; Yusuf, Shabbir e Mohammad, 2017).

- **Cuba:** são corantes insolúveis que no processo de aplicação são convertidos na sua forma solúvel para obterem afinidade com a fibra, e depois novamente à sua forma original insolúvel, uma vez feita a interação com a fibra, através de uma oxidação que desenvolve a verdadeira cor do corante. Usam-se principalmente no tingimento de algodão, apesar de ser um processo caro. Da literatura identificam-se apenas três exemplos de corantes naturais pertencentes a esta classe, índigo, *woad* e roxo *tyrian* (Guaratini, C.C.I; Zaroni, 2000; Yusuf, Shabbir e Mohammad, 2017).



**Figura 3: Exemplos de Corantes com base no método de Aplicação** (Adaptado de [https://www.google.com/search?q=corantes+naturais&rlz=1C1GCEA\\_enPT875PT875&source=lnms&tbm=isch&sa=X&ved=2ahUKEwjer\\_6Lm4jmAhX1BGMBHVumA3YQ\\_AUoAXoECAwQAw&biw=1366&bih=625#imgrc=pE1uXVzqtswhNM:](https://www.google.com/search?q=corantes+naturais&rlz=1C1GCEA_enPT875PT875&source=lnms&tbm=isch&sa=X&ved=2ahUKEwjer_6Lm4jmAhX1BGMBHVumA3YQ_AUoAXoECAwQAw&biw=1366&bih=625#imgrc=pE1uXVzqtswhNM:). Acedido em 26 setembro de 2019).

## Com base na Origem:

Neste ponto, são apresentadas as quatro classes fulcrais na distinção de corantes, com base na sua origem.

- **Vegetal:** A grande maioria de corantes naturais faz parte desta classificação, derivam das diversas partes da planta, das flores, dos caules, das folhas, das raízes, das sementes, das cascas, dos frutos, dos troncos, etc. (Dufossé *et al.*, 2014; Yusuf, Shabbir e Mohammad, 2017). O uso de plantas para a extração de cor remete-se para a pré-história, sendo que na atualidade existem cerca de quatrocentas plantas que produzem corantes, na Índia, e que no planeta existem mais de dois mil pigmentos sintetizados por plantas, mas só cerca de cento e cinquenta é que foram explorados comercialmente (R.Silva, 2007; Sinha, Saha e Datta, 2012; Yusuf, Shabbir e Mohammad, 2017). As plantas produzem cores suaves e ténues e a extração é biológica e renovável, contribuindo para o equilíbrio ecológico. Muitas das plantas usadas são consideradas plantas medicinais, com propriedades antimicrobianas e antifúngicas, como *Punica granatum L.*, *Lawsonia inermis L.*, sendo esta a vantagem que tem chamado mais à atenção dos investigadores, nos últimos anos. Contudo, o uso de plantas para a extração de pigmentos não é o mais eficaz, uma vez que as plantas são fortemente dependentes do clima, tornando impossível a reprodutibilidade de tons e havendo pouca disponibilidade de pigmento (R.Silva, 2007; Hussaan *et al.*, 2017). Alguns dos exemplos mais importantes de corantes derivados de plantas são *logwood*, *açafrão*, *catechu* e *madder*. (Clark, 2011).

- **Mineral:** A classificação de origem mineral baseia-se na presença de sais inorgânicos de metais e óxidos metálicos. Esta classe divide-se por cores: azul (*Ultramarine Blue* e *Azurite*); amarelo (*Raw Sienna*, *Orpiment* e *Litharge*); vermelho (Cinábrio, ocre vermelho e *Realgar*); verde (*Terre-Verte*, *Vedgiris* e *Malaquita*); preto (Grafite, *Terre-noire* e *Lamp Black*) e branco (*White Pigments Chalk* e *White lead*) (Yusuf, Shabbir e Mohammad, 2017).

- **Animal:** As principais fontes de carotenóides são os crustáceos e os insetos, sendo que o pigmento dominante é a astaxantina. A extração de pigmentos dos crustáceos apresenta problemas associados a uma baixa quantidade, já que a extração do próprio pigmento envolve uma considerável perda e, além disso, a extração por meio de solventes orgânicos destrói as estruturas químicas (Choubert, 1979). Os insetos produzem também o ácido cármico, uma antraquinona densa, usado em tintas, cosméticos e corantes alimentares, mas para produzir 100g de pigmento são necessários aproximadamente 14000 insetos (Mapari *et al.*, 2005; C.K. Venil, Akmar e Azlina, 2013). Uma nova aposta consiste em desenvolver pigmentos através de animais marinhos, uma vez que o planeta é constituído por 70% de água e havendo maior espaço para os animais se desenvolverem e produzirem livremente os seus pigmentos. Dentro dos pigmentos produzidos por animais marinhos, a astaxantina e equinocromo são os principais e amplamente conhecidos, isolados de crustáceos e *Echinodermata*, respetivamente. Os pigmentos naturais isolados de animais marinhos incluem também compostos de quinona, carotenóide e tetrapirrol, derivados na sua maioria de invertebrados como equinodermes (ouriços do mar), moluscos (mexilhões) e crustáceos (caranguejos) (Ye *et al.*, 2019).

- **Microbiano:** Os pigmentos com origem em microrganismos são relativamente abundantes e podem ser produzidos principalmente por fungos, microalgas e bactérias. Os microrganismos sempre foram conhecidos por serem um grupo extremamente diversificado e vistos como grandes produtores de uma diversificada variedade de cores. Para além da produção de cor, muito dos microrganismos possuem outras atividades biológicas que completam o próprio pigmento, como atividade antioxidante, precursor de vitamina A, benefícios no sistema imune, propriedades antimicrobianas, etc. As estirpes microbianas produtoras de pigmentos podem ser isoladas, extraídas, caracterizadas e purificadas de diferentes fontes ambientais, como solo, água, plantas e animais (Nigam e Luke, 2016). Os marinhos são isolados de diferentes lugares, incluindo algas, peixes, moluscos, esponjas, manguezais, água do mar e sedimentos. Os pigmentos incluem carotenóides, derivados de indol, polienos, alcalóides, peptídeos, macrolídeos, melaninas, monascinas, e terpenóides (Ye *et al.*, 2019).

Os pigmentos com origem em fungos começaram por ser usados para corar alimentos há centenas de anos no Oriente. Pigmentos da filo *Basidiomycota* já foram utilizados no passado para lã e seda, porém estes são difíceis de crescer em larga escala (Mapari *et al.*, 2005). Dentro das fontes não convencionais, os fungos filamentosos são capazes de produzir uma extraordinária gama de pigmentos que incluem várias classes químicas: carotenoides; melaninas; flavinas; fenazina; quinonas e mais especificamente monascinas, violaceína ou índigo. Para além da vasta gama de pigmentos, os fungos apresentam fácil cultivo em pequena e grande escala, existe conhecimento das diferentes estirpes, médio custo, processamento fácil e crescimento independente das condições climáticas (Dufossé *et al.*, 2014; Narsing Rao, Xiao e Li, 2017). Assim, produzem pigmentos com estabilidade e qualidade (Dufossé *et al.*, 2014). Este tipo de pigmentos naturais derivados de fungos exhibe uma ampla gama de cores e como na sua maioria são solúveis em água, não requerem modificação química ou o uso de transportadores e estabilizadores para a sua dispersão (Mapari *et al.*, 2005). A principal desvantagem associada aos pigmentos fúngicos é a toxicidade e a falta da sua avaliação, para que seja aceite em diferentes países (Narsing Rao, Xiao e Li, 2017).

Pigmentos naturais derivados de algas pertencem ao grupo de fontes não convencionais e que são considerados microrganismos geralmente reconhecidos como seguros (GRAS) (Dufossé *et al.*, 2014). A nível económico o uso de microalgas não é a estratégia indicada, pois ainda não existem estudos suficientes sobre a produção económica e sustentável de biomassa em larga escala, apenas estudos sobre produção dispendiosa (Khanra *et al.*, 2018). As microalgas produzem uma variedade de moléculas de pigmentos como clorofila, carotenóides e  $\beta$ -caroteno. Por exemplo, a microalga, *Haematococcus pluvialis* é conhecida como a fonte natural de astaxantina, que possui propriedades antioxidantes superiores às do  $\beta$ -caroteno,  $\alpha$ -caroteno, luteína, licopeno, cantaxantina e vitamina E (Khanra *et al.*, 2018). As algas azul-esverdeadas filamentosas *Cyanophyceae* produzem pigmento em grandes concentrações. Os carotenóides nas algas espirulinas confirmam a presença de  $\beta$ -caroteno, equinenona, criptoxantina, zeaxantina e xantofila (Choubert, 1979). A extração dos pigmentos associados a algas ainda

está intimamente relacionada com o uso de solventes orgânicos, no entanto, esses processos têm certas desvantagens e são limitados para aplicação industrial, devido à necessidade de grandes quantidades de solvente, à poluição ambiental associada e aos riscos para a saúde (Khanra *et al.*, 2018).

## 1.2. Pigmentos Bacterianos

À medida que a tendência do uso de compostos naturais e “*eco-friendly*” aumenta, os corantes naturais destacam-se. Os corantes naturais e pigmentos derivam de diferentes fontes como plantas, bactérias, microrganismos e minerais (Numan *et al.*, 2018). Particularmente, os microrganismos e bactérias têm a capacidade de sintetizar uma vasta variedade de metabolitos secundários e pigmentos com elevada taxa de crescimento. Deste modo, espera-se que sejam os mais competitivos na produtividade industrial. O potencial destes, não se fica somente pela produtividade, pois a independência das condições climáticas e das variações sazonais, a estabilidade, a rentabilidade e a possibilidade de serem produzidos em substratos de baixo custo, fazem com que estes sejam mais vantajosos que os pigmentos similares (Panesar, Kaur e Panesar, 2015; Nigam e Luke, 2016).

As bactérias selecionadas para a produção de pigmentos devem ter algumas características chave, como a natureza não patogénica e tóxica, a facilidade de usar uma ampla diversidade de fontes de carbono e azoto, a produção rentável de cor e a tolerância às variações de pH. De forma a suportar todas estas necessidades, de minimizar custos de substratos e tornar-se ainda mais um processo verde e amigo do ambiente, estudos recentes mostram a possibilidade de usar resíduos derivados da indústria agrícola como potenciais fontes de carbono, azoto e minerais para a produção destes pigmentos (Panesar, Kaur e Panesar, 2015).

Estes pigmentos têm diversificadas aplicações, na indústria têxtil, alimentar, farmacêutica e cosmética (Numan *et al.*, 2018). Na indústria têxtil foca-se, principalmente, em desenvolver um processo eficaz e mais limpo, de modo a reduzir a poluição sem comprometer a qualidade da cor. No seguimento de diversos estudos, comprova-se que isso é possível com o uso de pigmentos bacterianos, continuando as fibras a ter capacidade de manter a sua cor sob variações de condições extremas (C.K. Venil, Akmar e Azlina, 2013). Por vezes, estes pigmentos são apontados como “Pontos-chave”, quando se demonstra que são mais resistentes do que os sintéticos, como é o caso da prodigiosina obtida da *S. marcescens* (Panesar, Kaur e Panesar, 2015). O setor têxtil, na sua maioria das vezes, cria uma fusão com o setor farmacêutico, produzindo fibras com propriedades terapêuticas bastante benéficas para o consumidor.

O papel do pigmento alimentar como aditivo na indústria alimentar é fulcral não só para os consumidores como também para os produtores, uma vez que, a cor e a variedade conduzem à aceitação do produto no mercado, consequentemente ao aumento dos lucros (Nigam e Luke, 2016). Os pigmentos bacterianos surgem como uma opção vantajosa neste setor, após serem feitos estudos que comprovam que os aditivos alimentares sintéticos disponíveis, causam problemas gastrointestinais e dermatológicos, distúrbios respiratórios e reações neuronais adversas, enquanto que estes têm diversas propriedades médicas. Os principais pigmentos

usados nesta indústria alimentar são o vermelho *arpink*, o pigmento de *Monascus*, o  $\beta$ -caroteno e a riboflavina, dos quais os dois últimos podem ser produzidos por bactérias (Nigam e Luke, 2016).

Na indústria farmacêutica, o potencial destes pigmentos alarga-se desde os seus efeitos terapêuticos como anticancerígenos, antioxidantes, antimicrobianos e proteção UV e visual até ao seu uso em laboratório para a marcação de anticorpos, com pigmentos fluorescentes (Grifoni *et al.*, 2011; C.K. Venil, Akmar e Azlina, 2013; Panesar, Kaur e Panesar, 2015). Muitas das vezes, a indústria cosmética alia-se à farmacêutica, produzindo cremes com efeitos terapêuticos, como por exemplo, usando a melanina para a proteção solar (Panesar, Kaur e Panesar, 2015).

O maior desafio que estes apresentam consiste em desenvolver um método para tornar a sua produção viável e que maximize o rendimento enquanto que se reduzem os custos (Nigam e Luke, 2016; Numan *et al.*, 2018).

Na Tabela 1, são apresentados exemplos de bactérias que são utilizadas nas diferentes áreas industriais, para a produção de pigmentos.

Tabela 1: Bactérias que produzem pigmentos, usados nas diferentes indústrias.

Indústria	Bactéria	Pigmento	Cor	Referência
Têxtil	<i>Serratia spp.</i>	Prodigiosina	Vermelho	(C.K. Venil, Akmar e Azlina, 2013)
	<i>Rugamonas rubra</i>			
	<i>Streptoverticillium rubrireticuli</i>			(Panesar, Kaur e Panesar, 2015; Numan <i>et al.</i> , 2018)
	<i>Chromabacterium violaceum</i>	Violaceína	Violeta	(C.K. Venil, Akmar e Azlina, 2013)
Cosmética	<i>Streptomyces virginiae</i>	Melanina	Vermelho	(Panesar, Kaur e Panesar, 2015; Numan <i>et al.</i> , 2018)
	<i>Bacillus thuringiensis H-14</i>		Castanho escuro	
	<i>Janthinobacterium lividum</i>	Violaceína	Violeta	(C.K. Venil, Akmar e Azlina, 2013)
Alimentar	<i>Agrobacterium aurantiacum</i>	Astaxantina	Salmão	(C.K. Venil, Akmar e Azlina, 2013)
	<i>Serratia spp.</i>	Prodigiosina	Vermelho	(C.K. Venil, Akmar e Azlina, 2013)
	<i>Bacillus subtilis</i>	Riboflavina	Amarelo	(Panesar, Kaur e Panesar, 2015; Numan <i>et al.</i> , 2018)
	<i>Paracoccus Xanthinifacilus</i>	Zeaxantina	Amarelo	(C.K. Venil, Akmar e Azlina, 2013)
	<i>Bradyrhizobium spp.</i>	Cantaxantina	Vermelho escuro	(C.K. Venil, Akmar e Azlina, 2013)
	<i>Dietzia maris</i>		Vermelho	(Panesar, Kaur e Panesar, 2015; Numan <i>et al.</i> , 2018)
	<i>Brevibacterium spp.</i>		Laranja-avermelhado	(Panesar, Kaur e Panesar, 2015; Numan <i>et al.</i> , 2018)
Farmacêutica	<i>Rhodococcus maris</i>	B-caroteno	Vermelho-azulado	(C.K. Venil, Akmar e Azlina, 2013)
	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Piocianina	Azul-esverdeado	
	<i>Corynebacterium insidiosum</i>	Indigoidina	Azul	

### 1.2.1. *Serratia spp.*

*Serratia spp.* pertence à família *Enterobacteriaceae*. Estas bactérias são frequentemente chamadas de enterobactérias ou bactérias entéricas (enterikos gregos, pertencentes ao intestino) (Woolverton, Willey e Sherwood, 2013). O físico italiano Serafino Serrati atribuiu o nome a estas bactérias e estas só foram reconhecidas na 8ª edição do Manual de Bacteriologia Determinativa de Bergey (De Vleeschauwer e Höfte, 2007). Gram-negativas, apresentam vulgarmente mobilidade, formam colónias em forma de bastonete (0,50-0,80 × 0,90-2,00 µm), fermentam butanodiol, produzindo também etanol e dióxido de carbono, são quimiorganotróficas e anaeróbias facultativas (Singleton e Sainsbury, 2006; Woolverton, Willey e Sherwood, 2013). Uma característica importante e comum em algumas espécies de *Serratia* é a produção de prodigiosina, um pigmento vermelho não difusível e insolúvel em água, cuja tonalidade varia com a idade da colónia, de vermelho escuro a rosa pálido (Bennett e Bentley, 2000; Singleton e Sainsbury, 2006). Espécies de *Serratia* podem ser isoladas da água e do solo, bem como do intestino de vários insetos e vertebrados e ocasionalmente dos intestinos de humanos (Grimont e Grimont, 2006).

Dentro do género *Serratia*, existem diferentes espécies como *S.marcescens*; *S.rubidaea*; *S.plymuthica*; *S.liquefaciens*; *S.entomophila*; *S.proteatraculans*; *S.odorifera*; *S.fonticola*; *S.ficaria* (Grimont e Grimont, 2006).

A classificação científica da *Serratia* é apresentada na Tabela 2.

**Tabela 2: Classificação Científica da *Serratia spp.*** (Adaptado de Prescott, Harley, 1998; Woolverton, Willey e Sherwood, 2013).

<b>Domínio</b>	Bactéria (Eubacteria)
<b>Reino</b>	<i>Proteobactéria</i>
<b>Classe</b>	<i>γ-proteobacteria</i>
<b>Ordem</b>	<i>Enterobacteriales</i>
<b>Família</b>	<i>Enterobacteriaceae</i>
<b>Género</b>	<i>Serratia</i>

#### 1.2.1.1. *Serratia plymuthica*

Em 1896, a espécie *Serratia plymuthica* foi descrita pela primeira vez por Lehman e Newman como *Bacterium plymthicum*. Esta só foi associada ao género *Serratia*, anos mais tarde, após testes bioquímicos e estudos de hibridação de DNA comprovarem a semelhança com as espécies já conhecidas, pelo que só na 6ª Edição do Manual de Bacteriologia Sistemática de Bergey é que a sua taxonomia foi publicada (Domingo *et al.*, 1994).

É uma bactéria gram-negativa em forma de bastonete, saprófita, sem mobilidade, capaz de produzir prodigiosina. Encontra-se predominantemente na água, embora também tenha sido isolada do solo, plantas, insetos, animais, hemoculturas, exsudatos de feridas cirúrgicas, fluido peritoneal, infecções da medula óssea e cateteres venosos centrais (Domingo *et al.*, 1994; Grimont e Grimont, 2006; De Vleeschauwer e Höfte, 2007). Esta estirpe é considerada causadora de infecções nosocomiais, infecções associadas ao tratamento hospitalar, ainda que sem qualquer fator de patogenicidade identificado, pelo que, ao contrário de outros patógenos nosocomiais como *Burkholderia* e *Stenotrophomonas*, *S.plymuthica*, não causa doenças em sistemas de modelos animais alternativos, como o ensaio de *Caenorhabditis elegans* (De Vleeschauwer e Höfte, 2007).

### 1.2.2. Prodigiosina

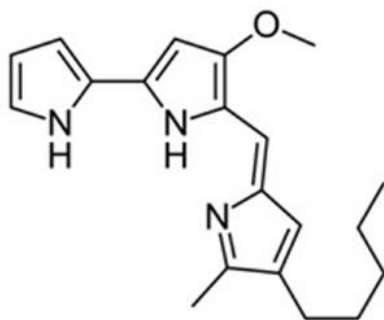
A prodigiosina é um pigmento bacteriano vermelho secretado como metabolito secundário por diferentes microrganismos, principalmente por *Serratia marcescens*, *Serratia plymuthica*, *Hahella chejuensis*, *Pseudomonas magnesorubra* e *Vibrio psychroerythreus* (Elahian, F., Moghimi, B., Dinmohammadi, F., Ghamghami, M., Hamidi, M., & Mirzaei, 2013). Pertence à família pró-prodigiosina, a mais relevante, sendo outros membros desta família a undecilprodigiosina, cicloprodigiosina, metacicloprodigiosina, prodigiosina R1 e estreptorubina B (Stankovic e Senerovic, 2014).  $C_{20}H_{25}N_3O$  é a molécula de prodigiosina, de baixa massa molecular (323,4 Da), tem três anéis, dois dos quais ligados entre si e o terceiro está ligado através de uma ligação de metano, conferindo desta forma a estrutura pirrolidipirrometano (Kramar *et al.*, 2014; Stankovic e Senerovic, 2014). Na Figura 4 encontra-se a estrutura química deste pigmento. Os precursores da prodigiosina são o acetato, a serina, a alanina, a metionina e a prolina (Shaikh, 2016).

A prodigiosina foi isolada pela primeira vez da *Serratia marcescens* em 1902 e foi produzida comercialmente antes do desenvolvimento dos corantes sintéticos, embora por pouco tempo, e usada para o tingimento de seda e lã (Bennett e Bentley, 2000). Este pigmento bacteriano tem despertado interesse na comunidade científica, pois para além de produzir cores na gama dos vermelhos, intensas e brilhantes (Gong *et al.*, 2019), possui propriedades benéficas para a saúde humana, tais como características antibacterianas (Alihosseini *et al.*, 2008), antifúngicas (Woodhams *et al.*, 2018; Yip *et al.*, 2019), antimaláricas (Papireddy *et al.*, 2011), anticancerígenas (Elahian, F., Moghimi, B., Dinmohammadi, F., Ghamghami, M., Hamidi, M., & Mirzaei, 2013), e atividade imunossupressora (Alessio *et al.*, 2000). Contudo, na maioria dos casos, a extração deste pigmento é um processo caro e demorado, uma vez que é um metabolito intracelular (Gong *et al.*, 2019).

A produção deste pigmento é altamente variável entre as espécies e depende das condições de crescimento, incluindo composição do meio (usar agar com baixo teor de fosfato sem glicose, tipo peptona-glicerol), temperatura (incubada à temperatura inferior de 35 °C), tempo de incubação, pH, fontes de carbono e azoto (Bennett e Bentley, 2000; Shaikh, 2016). É sensível à luz e insolúvel em água, moderadamente solúvel em álcool e éter, e solúvel em clorofórmio,

metanol, acetonitrila e DMSO (Shaikh, 2016). A prodigiosina é sensível ao pH, e esta sensibilidade é demonstrada com a variação de cor vermelha/rosa para azul/roxo a pH ácido e amarela/laranja a pH alcalino (Ren *et al.*, 2017). O ponto isoelétrico deste pigmento é aproximado do pH 9,7 (Gong *et al.*, 2017).

Este pigmento pode ser usado em diferentes indústrias como: alimentar, farmacêutica, têxtil, papel e cosmética (Shaikh, 2016).



**Figura 4: Estrutura química de Prodigiosina**  
(Adaptado de (Narsing Rao, Xiao e Li, 2017)).

### **1.3. Sustentabilidade ambiental e socioeconômica da utilização de pigmentos naturais**

A indústria têxtil é considerada uma das principais causadoras da poluição mundial, principalmente a do vestuário e calçado. Segundo o estudo da Empresa consultora na área da sustentabilidade, Quantis, de 2018, somente a indústria de vestuário representa 6,7% das emissões globais de gases com efeitos de estufa (GEE), equivalente a cerca de 3,3 bilhões de toneladas métricas de CO<sub>2</sub>-eq. Mais de 50% das emissões são provenientes de três fases de produção: tingimento e acabamento (consequência do maior consumo de energia devido ao aquecimento de elevadas quantidades de água), preparação de fios (representa 28%) e produção de fibras (representa 12%). A fase de tingimento e acabamento não é só a maior responsável pela emissão de GEE e consequentemente das alterações climáticas, é também a principal causadora de poluição de águas residuais e de problemas de saúde, afetados pela poluição de combustíveis fósseis usados para gerar calor e energia.

Desde a altura em que se começaram a enfrentar desafios ambientais e sociais motivados pela mudança climática e pelo esgotamento de recursos, coube a esta indústria criar soluções mais eficazes e de menor impacto ambiental. Traçaram-se metas ambiciosas baseadas em evidências de redução de impacto ambiental, a fim de promover mudanças significativas para garantir um futuro mais sustentável (Quantis, 2018).

Houve uma crescente conscientização tanto por parte dos produtores como dos consumidores, de que muitos produtos poderiam ser produzidos sob melhores condições ambientais. Atualmente, a norma ISO14000 referente à avaliação e melhoria da gestão ambiental na indústria, abrange alguns objetivos da química verde, muitos dos quais diretamente aplicáveis

à produção de corantes e fibras têxteis, e ao seu processamento. Qualquer produto deve ter baixa toxicidade para seres humanos e para o ambiente; ser biodegradável; se possível reciclável; os gastos de energia e de água devem ser minimizados e as quantidades de pigmentos nos efluentes também deverão ser reduzidas. A redução de energia pode estar associada à realização de reações/processos à temperatura mínima possível e a ciclos de processo mais curtos e, também através da otimização das condições de tingimento (Dawson, 2011).

A criação de processos de tingimento sustentáveis economicamente e ambientalmente, está muito relacionada com o uso de pigmentos bacterianos e com o conceito de economia circular. Deve-se ao rápido crescimento em um meio de cultura relativamente barato e ao controle eficiente do processo de fermentação. O custo da produção de pigmentos bacterianos pode ser reduzido com o uso de resíduos agrícolas como meio de crescimento, com o uso de estirpes bacterianas isoladas localmente ou através da simplificação de técnicas de extração e purificação (C.K. Venil, Akmar e Azlina, 2013). Os processos de purificação são excessivamente caros, pelo que se torna necessário investigar vias de extração mais ecológicas ou aplicação de extratos não purificados, como o estudo levado a efeito com sucesso por Kramar *et al.*, 2014, em que apenas se extraiu o pigmento da bactéria usando-o num estado não purificado ao contrário de outros em que maioritariamente se usam prodigiosinas ultra-purificadas (Liu *et al.*, 2013; Namazkar *et al.*, 2013).

## **1.4. Fibras Têxteis**

Os tecidos têxteis são estruturas planas produzidas por entrelaçamento de fios que por sua vez são compostos por fibras. Cada fibra é formada por milhões de cadeias moleculares longas individuais. O arranjo e a orientação dessas moléculas na fibra, bem como a sua morfologia, condicionam as propriedades da fibra (Needles, 1986). Uma fibra normalmente é apreciada como uma matéria-prima têxtil, caracterizada pela flexibilidade, finura e alta taxa de resistência (Burkinshaw, 2016).

### **1.4.1. Distinção entre Naturais, Artificiais e Sintéticas**

Geralmente as fibras têxteis dividem-se em dois grandes grupos: Fibras Naturais/ Artificiais e Fibras Sintéticas, como se pode ser pela Figura 5.

As fibras naturais são provenientes de fontes naturais, de origem vegetal (algodão, celulose e linho), animal (lã e seda) ou mineral (amianto, já não se encontra devido à sua elevada toxicidade). São fibras básicas e são fornecidas pela natureza na sua forma pronta (Needles, 1986; Burkinshaw, 2016).

As fibras sintéticas e artificiais são provenientes da criação do Homem, tanto podem ser fibras poliméricas de fonte natural transformadas por via química (viscose) ou derivação (cânhamo), designadas como artificiais, como também podem ser fibras poliméricas sintéticas derivadas de

polímeros sintéticos (poliamida, poliéster, acrílica), sendo neste caso designadas de sintéticas (Needles, 1986; Burkinshaw, 2016).

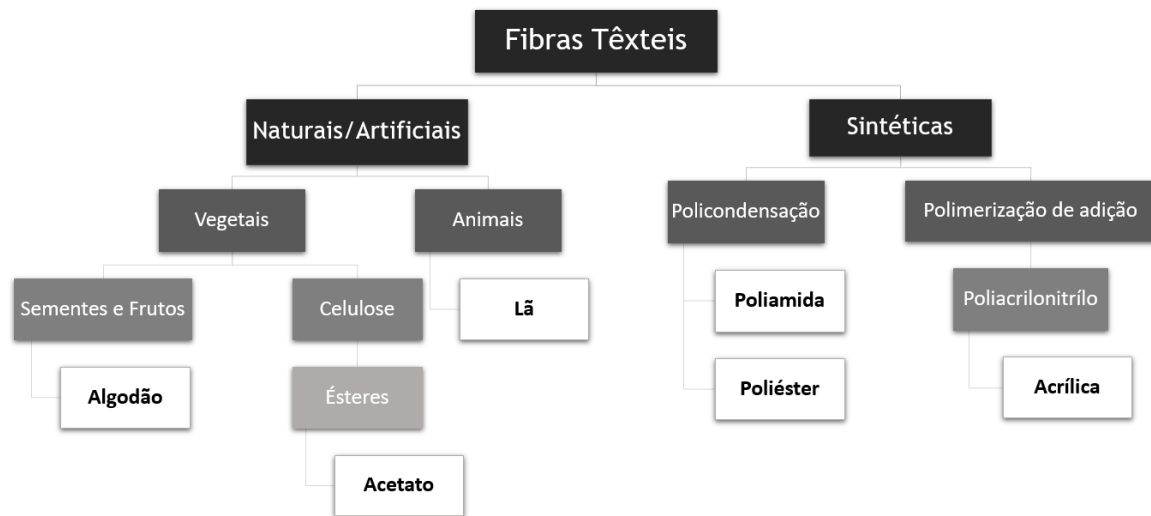


Figura 5: Classificação de Fibras Têxteis, alguns exemplos (versão simplificada)(Adaptado de Needles, 1986; Burkinshaw, 2016).

- **Algodão:** É obtido da oclusão de sementes de espécies de plantas *Gossypium* da família *Malvaceae*. Estas fibras representam uma das configurações mais puras de celulose, que se encontram na Natureza. Contém 96% de celulose e os outros constituintes principais são a lignina, a pectina e hemiceluloses. É formada por três camadas principais: a parede primária, a parede secundária e o lúmen. Em 2012, o algodão não foi só a fibra celulósica mais usada com 85% ( $23,5 \times 10^6$  Toneladas das  $27,5 \times 10^6$  Toneladas totais), como também a segunda mais usada em termos globais com 30% ( $23,4 \times 10^6$  Toneladas das  $78,9 \times 10^6$  Toneladas totais) (Burkinshaw, 2016).

- **Lã:** É um material fibroso proveniente das ovelhas (pelo) e é considerada a fibra têxtil de origem animal mais comercializada para produtos têxteis (roupas, tapetes, feltros, etc). É comumente referenciada como fibra proteica constituída com queratinas, que são caracterizadas pelo seu elevado teor de enxofre (cisteína), de ligações cruzadas de dissulfureto e insolúveis em água. Classifica-se de acordo com o comprimento e o diâmetro, havendo lã fina e lã grossa. Em 2012, a fibra de lã representava 1,4% ( $1,1 \times 10^6$  toneladas) da utilização mundial de fibras têxteis ( $78,9 \times 10^6$  toneladas) (Burkinshaw, 2016).

- **Acetato:** É uma fibra celulósica, obtida por esterificação da celulose, não havendo regeneração do polímero de celulose. Forma estruturas amorfas e cristalinas e é solúvel em acetona (Burkinshaw, 2016).

- **Acrílica:** É uma fibra sintética composta por um polímero (poliacrilonitrilo). É frequentemente diferenciado e usado para modificar a termoplaticidade de fibras e melhorar a substantividade da fibra em relação a corantes catiónicos. Em 2012, representou 2,4% ( $1,91$

× 10<sup>6</sup> toneladas) da produção mundial de fibras têxteis (78,9 × 10<sup>6</sup> toneladas) (Burkinshaw, 2016).

- **Poliéster:** Refere-se a uma grande família de polímeros que na sua constituição têm o grupo éster (—O—CO—). Os poliésteres lineares usados na indústria têxtil são termoplásticos saturados, enquanto os poliésteres insaturados e de baixa massa molecular fornecem polímeros termoendurecidos. Em 2012, representou 55% (43,3 × 10<sup>6</sup> toneladas) da procura mundial de fibras têxteis (78,9 × 10<sup>6</sup> toneladas), sendo a fibra mais produzida no mundo. O interesse à volta desta fibra relaciona-se com: baixo custo; boa solidez à abrasão e à luz; processabilidade conveniente e excelente e adaptável desempenho (Lewin *et al.*, 2006; Burkinshaw, 2016).

#### 1.4.1.1. Poliamida

A fibra de poliamida deriva de um polímero sintético, da família de polímeros com grupos amida como parte recorrente da cadeia polimérica e produzido pela polimerização de uma diamina com um diácido. Comumente e comercialmente é chamada por “Nylon”. Embora existam maioritariamente três tipos de poliamida sintética, nomeadamente poliamidas alifáticas, poliamidas semi-aromáticas e poliamidas aromáticas, as poliamidas alifáticas dominam a indústria têxtil, em particular, a Poliamida 6 e a Poliamida 6.6. A poliamida 6 e a poliamida 6.6 ganham preferência comparativamente às restantes devido à facilidade de coloração, à boa resistência química, à alta resistência à tração, à durabilidade e à resiliência (Lewin *et al.*, 2006).

- **Composição Química:**

As fibras poliamida 6 e 6.6. são homopolímeros semi-cristalinos parcialmente orientados e, como tal, contêm regiões amorfas e domínios cristalinos altamente ordenados. A formação destas fibras envolve a policondensação de monómeros difuncionais, que utilizam aminoácidos ou pares estequiométricos de ácidos dicarboxílicos e diaminas, e a outra envolve a polimerização de abertura do anel de lactamas. As poliamidas formadas a partir de diácidos e diaminas são geralmente descritas como sendo do formato AABB, enquanto as derivadas de aminoácidos ou lactamas são do formato AB (Lewin *et al.*, 2006). As cadeias poliméricas compreendem grupos amida (—CONH—) separadas por sequências de metileno (—(CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>—) e são terminadas por grupos carboxila (—COOH), bem como grupos amino (—NH<sub>2</sub>) ou grupos acetilamino (—COCH<sub>3</sub>) (Burkinshaw, 2016).

- **Comportamento tintorial:**

As poliamidas 6 e 6.6. demonstraram melhores capacidades tintoriais comparativamente às restantes poliamidas, isto prende-se com capacidade de absorção de corante/pigmento de cada uma delas, esta capacidade depende essencialmente da cristalinidade e da quantidade de grupos amina terminais presentes. Maior cristalinidade e maior quantidade de grupos desencadeia maior absorção do tinto e conseqüente saturação do mesmo (Lewin *et al.*, 2006; Burkinshaw, 2016).

Os corantes ácidos são a classe de corantes que mais está relacionada com o tingimento das poliamidas, contudo os reativos também têm demonstrado qualidade (Lewin *et al.*, 2006; Burkinshaw, 2016). Nos últimos anos, já se realizaram tingimentos com pigmentos naturais com bons resultados, por exemplo com prodigiosina Alihosseini *et al.*, 2008; Liu *et al.*, 2013; Kramar *et al.*, 2014; com *emodin* e *dermocybin* Räisänen, Nousiainen e Hynninen, 2001 e com violaceína Kanelli *et al.*, 2018.

- **Características e aplicações:**

Estas fibras caracterizam-se por serem leves, resistentes e com grande elasticidade, que permite a durabilidade e funcionalidade do produto (Lewin *et al.*, 2006; Burkinshaw, 2016). Apresenta outra característica muito curiosa que é a boa proteção contra às radiações UV, pois contêm antioxidantes e estabilizadores UV (Mather e Wardman, 2015).

Uma das grandes aplicabilidades destas fibras é na indústria têxtil, na produção de roupa interior (lingerie e meias), roupa desportiva e roupa de banho, que se caracterizam pelo seu conforto, estética, adequação às curvas do corpo (Lewin *et al.*, 2006; Burkinshaw, 2016). Para estas aplicabilidades é fulcral criar acabamentos antimicrobianos nas fibras, para evitar maus odores criados pela decomposição dos fluidos corporais com o crescimento de bactérias (Lewin *et al.*, 2006; Mather and Wardman, 2015; Burkinshaw, 2016).

## **1.5. Processo de Tingimento por Esgotamento**

O tingimento é um processo químico que permite modificar a cor das fibras têxteis por aplicação de matérias coradas, através de uma solução ou de uma dispersão. É um processo que varia de artigo para artigo pois para cada tipo de fibra têxtil existem corantes e pigmentos específicos. Os vários processos estão desenhados de forma a que resultem tingimentos igualizados e de elevado rendimento. Para o efeito, os fatores que afetam o processo de tingimento, em particular a temperatura, pH, meio de aplicação e demais auxiliares devem ser otimizados caso a caso (Cegarra, Puente e Valldeperas, 1992; Guaratini, C.C.I; Zanoni, 2000).

### **1.5.1. Influência da Temperatura**

A difusão do pigmento segue a mesma teoria da difusão do corante, assim sendo ocorre por meio de movimentos aleatórios de moléculas de um meio de elevadas concentrações para um de menor concentração. A taxa de difusão aumenta com o aumento da temperatura, isto deve-se ao aumento da energia cinética das moléculas presentes nos pigmentos e ao aumento consequente da sua capacidade de se mover de uma posição para outra dentro da fibra. Com o aumento da temperatura, maior quantidade de moléculas se encontra excitadas e movem-se para dentro do substrato. Contudo, a quantidade de moléculas adsorvidas em equilíbrio diminuirá com o aumento da temperatura devido à natureza exotérmica dos processos de

tingimento. A temperatura está intimamente dependente do tempo de tingimento, porque num período de tempo maior, haverá diminuição das moléculas adsorvidas com o aumento da temperatura, enquanto que num período de tempo inferior não haverá reduções (Burkinshaw, 2016). Tanto o tempo como a temperatura são responsáveis pelos gastos de energias obtidos no tingimento, e resultante insustentabilidade económica e ambiental, deste modo é necessário fazerem-se ajustes nestas condições (Quantis, 2018).

### **1.5.2. Influência do pH**

O pH do banho de tingimento influencia muito a transferência do pigmento para o interior das fibras. Cada complexo fibra/pigmento têm o pH ideal e este fator deve ser sempre respeitado e ajustado, pois a influência varia de caso para caso e é fulcral colocar o banho nas melhores condições para que haja formação de ligações entre a fibra e o pigmento e simultaneamente garantir a velocidade de tingimento certa.

No tingimento com prodigiosinas é necessário cuidado especial com pH, pois este pigmento é muito sensível e varia as suas cores com as variações de pH (Ren *et al.*, 2017). São praticamente insolúveis em água em condições neutras, contudo a solubilidade pode aumentar com o aumento da temperatura e diminuição do pH. No estudo da influência do pH no banho de tingimento de algodão com prodigiosina, os melhores resultados foram a pH 3 (Gong *et al.*, 2017), enquanto que o tingimento de poliéster com prodigiosina obteve melhores resultados a pH 1,9 e 7,9 (Ren *et al.*, 2017).

### **1.5.3. Influência da adição de auxiliares de tingimento**

#### **1.5.3.1. Influência da adição de sais**

A adição de auxiliares de tingimento encontra-se na generalidade dos processos de tingimento. São adicionados produtos adicionais aos banhos de tingimento, de forma a ajudar e melhorar a interação do complexo fibra/pigmento a fim de promover um processo de qualidade (homogeneidade, solidez, força da cor, etc.). O uso destes auxiliares não é uma metodologia recente, remete-se aos primórdios da humanidade. Esta adição é uma componente fulcral no tingimento, facilita o trabalho e a compreensão do técnico, como também facilita o próprio processo. Desde a década de 1920, que se tem feito investimentos na produção e comercialização destes auxiliares (Burkinshaw, 2016). Quando o pigmento é insolúvel em água, adicionam-se sais para promover uma reação de redução-alkalina que transforma o pigmento na sua forma leuco (Guaratini, C.C.I; Zaroni, 2000; DyStar, 2017).

#### **Hidrossulfito de sódio:**

Ou ditonito de sódio, é o agente redutor mais popular usado no tingimento de leuco, devido a questões de custo e eficácia. Em alguns casos, a capacidade de redução extremamente forte

deste composto pode resultar numa redução excessiva do pigmento, levando à degradação do próprio e alteração de tonalidades. O  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_4$  é prejudicial para o ambiente, torna os efluentes de águas residuais inaceitáveis com a presença de aminas aromáticas e com elevados teores de sulfato/sulfito que são altamente corrosivos, e cria um impacto ambiental com os seus produtos de oxidação ( $\text{Na}_2\text{SO}_4$ , iões de sulfito, etc.). Em face a estes problemas ambientais, foram propostas alternativas mais ecológicas como hidroxiacetona e misturas comerciais de agentes redutores que evitam as alterações de pH, contudo o  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_4$  continua a ser o mais comercializado e usado (Burkinshaw, 2016).

### **Hidróxido de sódio:**

É um alcali, logo potencia a alcalinização do banho. Com a adição do NaOH, as fibras aumentam o seu volume e o alcali consegue penetrar nas regiões cristalinas em que as ligações de hidrogénio estão enfraquecidas e ocorre o “inchaço intracristalino”, desta forma haverá maior ligação dos iões do pigmento. Assim o NaOH irá comportar-se com auxiliador migratório do pigmento e aumentará a sua afinidade com a fibra. O “inchaço” é dependente da temperatura e da concentração de alcali (Burkinshaw, 2016).

### **1.5.3.2. Influência da adição de mordentes**

Mordente é classificado como qualquer substância natural ou sintética usada para definir o pigmento na fibra (Arroyo-Figueroa *et al.*, 2011). A adição de mordentes serve para criar maior afinidade entre as fibras e os pigmentos, obter melhor estabilidade, maior profundidade de cor, obtenção de uma paleta de cores e maiores resistências à luz e humidade (Burkinshaw e Kumar, 2009; Arroyo-Figueroa *et al.*, 2011; Morales-Oyervides *et al.*, 2017). O uso de mordentes remete-se para os tempos imemoriais e pode-se fazer de três formas distintas: pré-mordentagem (colocar primeiramente na fibra e só depois tingir com o pigmento); mordentagem simultânea (diretamente com o pigmento) e pós-mordentagem (tingir primeiramente a fibra com o pigmento e só depois adicionar o mordente) (Burkinshaw e Kumar, 2009; Arroyo-Figueroa *et al.*, 2011). A seleção e concentração dos mordentes é importante, pois têm um papel definidor no tingimento, uma vez que podem alterar as cores finais drasticamente e aumentar a profundidade da sombra (Morales-Oyervides *et al.*, 2017). Os mordentes dividem-se em três categorias: mordentes metálicos, mordentes à base de óleos e mordentes taninos. Os metálicos caracterizam-se por serem iões metálicos que atuam como recetores para doadores de eletrões, para formarem ligações de coordenação com moléculas de pigmento insolúveis em água. Caracterizam-se por melhorar a retenção de pigmento e consequente aumento da profundidade e sombra, melhoram as necessidades relacionadas com as solidez. Segundo Vankar, 2000, na mordentagem metálica existem dois tipos de ligação entre o próprio mordente e a fibra. Uma é a ligação covalente com o oxigénio e envolve um ião hidroxilo e o átomo metálico, a outra ligação é uma quelatação entre o metal e o oxigénio

duplamente ligado. Exemplos destes mordentes são alume, cloreto de estanho, sulfato de cobre, sulfato ferroso (Uddin, 2014). O crómio ( $\text{Na}_2\text{Cr}_7\text{O}_7$  ou  $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ ) é um dos principais destaques desta categoria, porém é prejudicial para a pele humana (Uddin, 2014). Os mordentes metálicos foram os mais populares e usados ao longo de muitos anos, contudo nos últimos anos têm sido postos de parte devido às preocupações ambientais em relação aos metais pesados, como por exemplo o crómio. O crómio pode ser substituído por ferro, um metal menos agressivo, com maior resistência à luz e lavagem, se quisermos continuar com os mordentes metálicos, mas também pode ser substituído por um mordente de uma das restantes categorias (Morales-Oyervides *et al.*, 2017).

Os mordentes à base de óleos são fundamentalmente usados para obter tons vermelhos (Clark, 2011).

Por fim os taninos são compostos polifenólicos solúveis em água, alguns são usados há centenas de anos e são provenientes do *dyewood*. São geralmente utilizados para melhorar a interação da fibra com pigmentos que produzem tons amarelos, laranjas, castanhos, cinzas, pretos (Clark, 2011). O ácido tânico é o mordente tanino mais popular, melhora a solidez à húmida e é resistente a nódoas. Os taninos podem ser associados a sais metálicos (por exemplo sais de ferro) e produzem tons acastanhados em fibras como algodão, seda e lã (Morales-Oyervides *et al.*, 2017).

### **Sulfato Ferroso:**

É um mordente metálico e já foi descrito na literatura as suas capacidades. Os sais de ferro como mordente metálico de transição formam grandes números de complexos com moléculas do pigmento, alguns locais de coordenação permaneceram desocupados quando interagem com a fibra e os grupos funcionais, tais como grupos amino e carboxílicos podem ocupar esses lugares. Assim, os sais de sulfato ferroso podem formar um complexo ternário com fibra, criando maior absorção do pigmento e potenciar uma mudança de cor para os tons acastanhados (Uddin, 2014).

Segundo o trabalho de Uddin, 2014, o sulfato ferroso foi o mordente que desempenhou melhor a sua função, aumentando o rendimento e a intensidade colorística. Pelo estudo de Burkinshaw e Kumar, 2009, o sulfato ferroso torna o tingimento mais opaco e acastanhado, contudo com boa solidez à luz. Mongkholrattanasit *et al.*, 2011 afirmou também que havia alteração das cores com a adição do sulfato ferroso.

### **L-Cys:**

É um aminoácido polar devido aos seus grupos tiol, que são importantes na estrutura de várias proteínas para a formação de ligações covalentes entre partes de uma molécula de polipeptídeo ou entre o grupo -SH, onde o H pode ser facilmente substituído por outros radicais. Cria ligações dissulfeto, com a ligação de dois grupos -SH livres em condições de oxidação, estas ligações são mais fortes que as pontes de hidrogénio, Van der Waals e eletrostáticas e são importantes para manter a estabilidade das proteínas nativas (Zhong, Li e Haynie, 2006; Caldeira *et al.*, 2013).

É um composto altamente reativo não tóxico que afeta várias reações enzimáticas e microrganismos, deste modo é considerado um agente bacteriostático natural (Caldeira *et al.*, 2013). Apresenta elevada atividade antimicrobiana contra bactérias Gram + Gram -, e contra fungos, contudo os melhores resultados são contra as Gram - (Mouro *et al.*, 2014).

A L-Cys nunca foi utilizada como mordente, apenas foi usada para funcionalizar diferentes fibras têxteis como seda, algodão, lã e poliamida, foi também incorporada em AMP's para promover ligações de dissulfeto e estabilizar o filme (Gouveia, 2010; Gouveia, Sá e Henriques, 2012; Caldeira *et al.*, 2013; Mouro *et al.*, 2014; Nogueira *et al.*, 2016). Apresentou boa atividade antimicrobiana com elevada durabilidade, sem citotoxicidade, melhorias nas solidez à lavagem e abrasão e propriedades antioxidantes.

### 1.5.3.3. Influência do etanol

Na maioria dos casos, os processos de tingimento de têxteis recorrem à água como único meio de aplicação, exceto no caso de pigmentos coloridos insolúveis, em que alguns solventes como o etanol podem ser adicionados para melhoria da penetração do corante na fibra e consequente fixação (Dawson, 2011).

A prodigiosina é insolúvel em água (Harashima *et al.*, 1967; Jissa and Soorej, 2011; Namazkar *et al.*, 2013). Segundo Shaikh, 2016, é moderadamente solúvel em álcool e éter, e solúvel em clorofórmio, metanol, acetonitrila e DMSO. Enquanto que Namazkar *et al.*, 2013 afirma que este pigmento na sua forma de extrato bruto a 25°C, é insolúvel em água, HCl, NaOH e clorofórmio; moderadamente solúvel em n-Haxane e solúvel em acetona, metanol e acetato de etilo. Estes solubilizadores apresentam algumas toxicidades para o ser humano como para o ambiente, logo devem ser evitados quando se trata de um processo de tingimento verde (Dawson, 2011).

O etanol é um álcool constituído por um grupo polar (-OH) e outro apolar (-CH<sub>2</sub>), sendo altamente solúvel em água e consegue solubilizar a prodigiosina (Liu *et al.*, 2013; Ren *et al.*, 2016; Shaikh, 2016). Liu *et al.*, 2013 utilizou etanol para solubilizar a prodigiosina, numa razão de 1:4 com a água, e os resultados mostraram que o etanol aumentou a solubilidade sem acarretar mudanças de cor, tornando-o um solvente adequado também pela sua já conhecida utilização em alguns tingimentos têxteis.

# Capítulo 2

## 2. Objetivos

O principal objetivo deste trabalho consiste em investigar e avaliar o tingimento de diferentes fibras têxteis com um pigmento bacteriano, a prodigiosina, produzida por *Serratia plymuthica*. Visa, ainda, estudar uma nova estratégia para o desenvolvimento de um tingimento ambientalmente sustentável, usando o extrato bruto do pigmento, ao invés do extrato purificado.

Para o efeito, são enunciados os seguintes objetivos específicos:

- Estudo da influência dos vários parâmetros que afetam o processo de tingimento: temperatura; adição de auxiliares de tingimento; adição de mordentes; pH e etanol no tingimento;
- Otimização das condições de tingimento para obtenção de um tingimento de qualidade no que se refere à igualização e solidez dos tintos;
- Estudo da atividade da prodigiosina no que se refere ao efeito antibacteriano das amostras tingidas, em virtude das suas propriedades não só tintoriais como bioativas.



# Capítulo 3

## 3. Materiais e Métodos

### 3.1 Materiais

#### Equipamentos

Os equipamentos usados no decurso deste trabalho estão descritos na Tabela 3.

Tabela 3: Equipamentos.

Equipamento	Marca
Aparelho de tingimento laboratorial	<i>AHIBA IR</i>
Autoclave	<i>Advantage lab ALO2-03-100</i>
Balança Analítica	<i>Mettler Toledo NS105 &amp; Kern 770-14</i>
Câmara de Fluxo Laminar	<i>Bioair, Topsafe 2.2</i>
Densímetro (medidor McFarland)	<i>Grant bio DEN-1</i>
Estufa	<i>WTB Binder</i>
Medidor de pH	<i>Medidor pH de Bolso, PH600, LaBBOX</i>
Placa de Agitação e Aquecimento	<i>Labinco LD-40</i>
Vórtex	<i>Heildolph Reax top</i>
Espectrofotómetro	<i>Datacolor spectraflash SF300</i>
Equipamento para Solidez à Fricção	<i>A.A.T.C.C. Crockmeter, Atlas Eletric Devices Co.</i>
Caixa de Luz para classificação da Solidez dos tintos	<i>Color-Chex, AtlAs Eletric Devices Co.</i>
Equipamento para Solidez à Lavagem	<i>Linitest Device</i>
Abrasímetro	<i>Martindale: Mark III Abrasion Tester (1991)</i>
Micrómetro	<i>Adamel Lhomargy M120</i>
Espectrofotómetro FTIR-ATR	<i>Thermo-Nicolet is10</i>
Dinamómetro	<i>Adamel Lhomargy DY35</i>

## Reagentes

Os reagentes usados no decurso deste trabalho estão descritos na Tabela 4.

Tabela 4: Reagentes.

Reagente	Marca
L-Cisteína	<i>Sigma Aldrich</i>
Sulfato Ferroso	<i>Sigma Aldrich</i>
Etanol Absoluto	<i>Fisher Chemical</i>
Ácido Clorídrico (HCl)	<i>Riedel-deHaen</i>
Hidróxido de Sódio (NaOH)	<i>PanReac</i>
<i>Peptone from meat</i>	<i>Fluka</i>
Glicerol	<i>Sigma Aldrich</i>
Fosfato de Potássio dibásico (K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> )	<i>Sigma Aldrich</i>
Hidrossulfito Sódio (Na <sub>2</sub> S <sub>2</sub> O <sub>4</sub> )	<i>PanReac</i>
Cloreto de Sódio (NaCl)	<i>Sigma Aldrich</i>
<i>Nutrient Agar</i>	<i>Cultimed</i>
Detergente Standard ECE	<i>Bayer</i>
<i>Nutrient Broth</i>	<i>Cultimed</i>
<i>Brain Heart Infusion</i>	<i>PanReac e Riedel-deHaen</i>
Agar Agar BAC	<i>Labkem</i>
<i>Tween-80</i>	<i>Sigma Aldrich</i>

## Fibras

As fibras usadas no decurso deste trabalho estão descritas na Tabela 5. A multifibra foi usada para averiguar qual a fibra mais adequada para o tingimento com extrato bruto de pigmento prodigiosina.

Tabela 5: Fibras.

Tipo de Fibra	Fabricantes
Multifibra	<i>James H. Heal &amp; Co. LTD., Textile Testing and Quality Control Equipment, SDC Multifibre Type 2DW.</i>
Poliamida	Malha de Poliamida 6.6, <i>Interlock 1 e 1.</i>
Lã	<i>James H. Heal &amp; Co. LTD., Textile Testing and Quality Control Equipment, SDC Wool;</i> <i>SDC Enterprises Limited, Crocking Clothes, batch LA1;</i> <i>James H. Heal &amp; Co. LTD., Abrasive Cloth SM25, SDC Wool.</i>
Algodão	<i>SDC Enterprises Limited, Cotton Limbric, Adjacent Fabric.</i>

## Bactérias

As bactérias usadas no decurso deste trabalho estão descritas na Tabela 6.

Tabela 6: Bactérias.

<i>Serratia plymuthica</i> ( <i>S.plymuthica</i> )	Gentilmente fornecida pelo Dr. Pete Askew e Dr. Robbie Coffin do IMSL ( <i>Industrial Microbiological Services Limited</i> ), Reino Unido
<i>Staphylococcus aureus</i> ( <i>S. aureus</i> )	ATTC 6538
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ( <i>P. aeruginosa</i> )	PA25

## 3.2. Métodos

### 3.2.1. Processos de Tingimento

Para o tingimento destas fibras, inocula-se a bactéria produtora de prodigiosina, a *S.plymuthica* em meio PGP, e após o seu crescimento com um tom rosa as placas são raspadas e obtêm-se o extrato bruto de pigmento. Este extrato em combinação com outros auxiliares de tingimento, descritos mais à frente, e as fibras têxteis, são colocados no equipamento de tingimento *Datacolor AHIBA IR*. As condições como temperatura, tempo, gradiente de subida de temperatura e agitação são definidas no próprio equipamento. No final do processo de tingimento as amostras de fibras tingidas são retiradas, enxaguadas e secas à temperatura ambiente. A representação esquemática do processo de tingimento pode ser observada na

Figura 6. No decorrer deste trabalho algumas condições fixaram-se à partida, como tempo (60 minutos); agitação (30 rpm) e gradiente de subida de temperatura (2°C/min), por serem as normalmente utilizadas e descritas na literatura técnica (DyStar, 2017), enquanto que outras serão variáveis para que seja possível realizar o estudo das melhores condições de tingimento, como temperatura, pH, auxiliares de tingimento: adição de sais, adição de mordentes, e solubilização com a adição de etanol ao meio de aplicação: água.

Também atendendo à literatura e conhecimento técnico, o processo de tingimento escolhido para este trabalho é o tingimento por esgotamento. Os principais objetivos deste tingimento são os de obter maior igualização (tingimento homogêneo), maior esgotamento/rendimento (absorção do pigmento), e maior solidez (tingimento resistente).

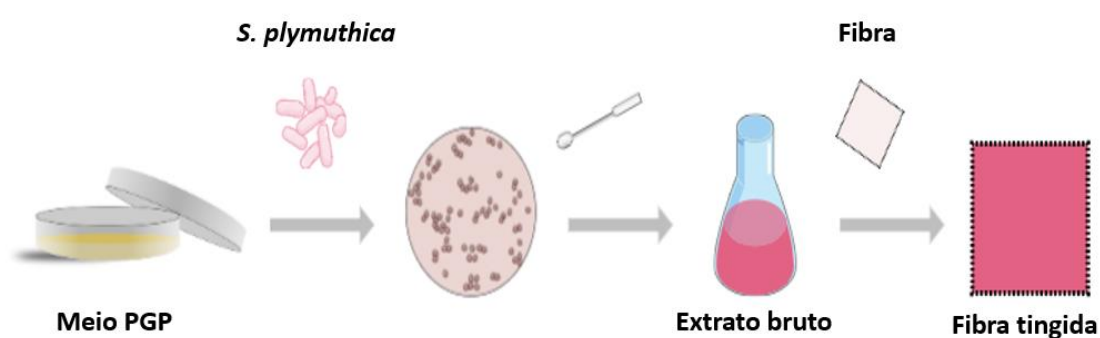


Figura 6: Representação esquemática do processo de tingimento.

### 3.2.1.1. Influência da temperatura de tingimento no rendimento tintorial

De forma a avaliar a influência da temperatura no rendimento tintorial, realizou-se o tingimento de amostras de multifibras com o extrato bruto de prodigiosina, à temperatura de 40, 60 e 100 °C, por serem por um lado temperaturas desejáveis no caminho da sustentabilidade (40, 60 °C) e usualmente usadas no tingimento de fibras têxteis (100 °C). As representações esquemáticas dos processos de tingimento, às diferentes temperaturas, encontram-se nas Figuras 7, 8 e 9, e foram adequadas com base na literatura técnica (DyStar, 2017).

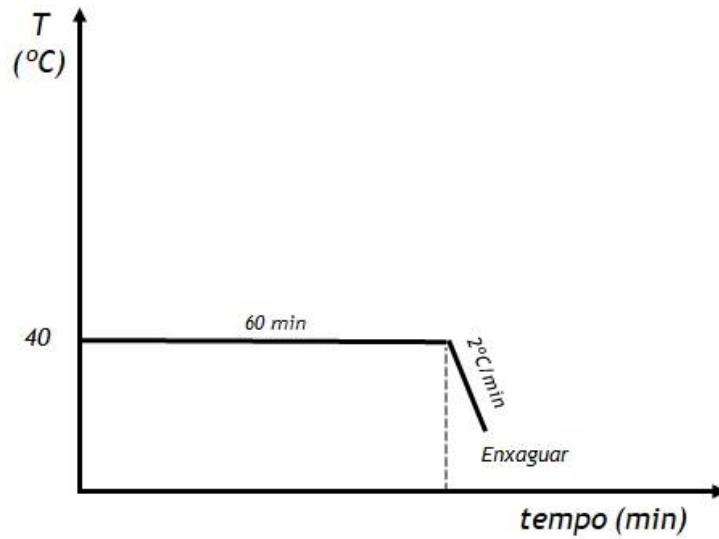


Figura 7: Representação esquemática do tingimento à temperatura de 40°C.

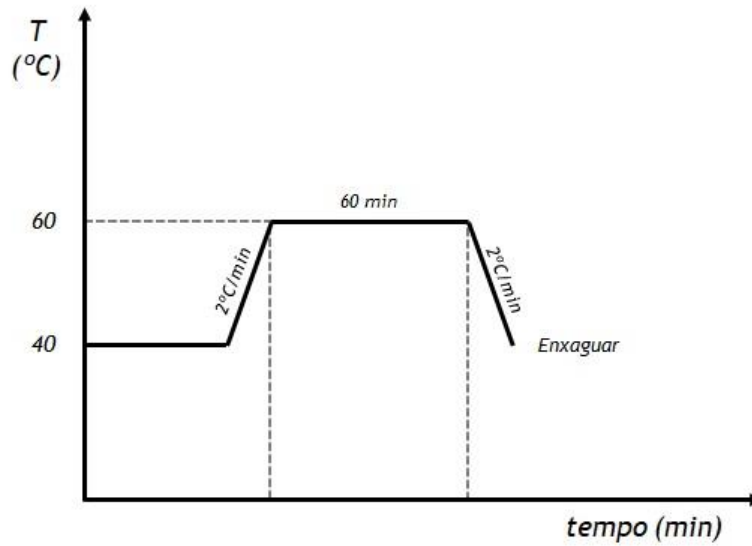


Figura 8: Representação esquemática do tingimento à temperatura de 60°C.

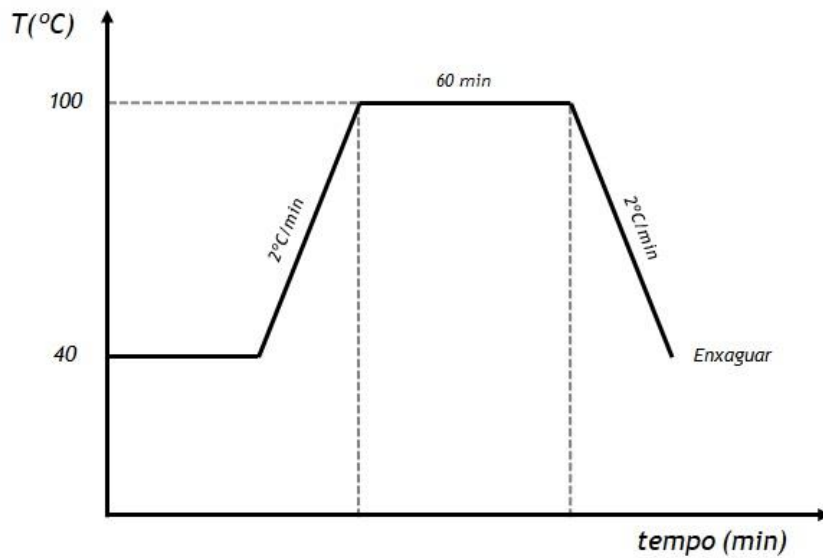


Figura 9: Representação esquemática do tingimento à temperatura de 100°C.

### 3.2.1.2. Influência da adição de auxiliares de tingimento no rendimento tintorial

#### Adição de sais:

De forma a avaliar a influência da adição de auxiliares de tingimento no rendimento tintorial, realizou-se o tingimento de amostras de multifibras com o extrato bruto de prodigiosina, com adição de NaOH e  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_4$ , sais utilizados no tingimento de fibras têxteis. As quantidades utilizadas, ajustadas por ensaios prévios com base na literatura técnica (DyStar, 2017), foram as seguintes: 12 mL/L de NaOH e 4 g/L de  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_4$ .

#### Adição de mordentes:

De forma a avaliar a influência da adição de mordentes no rendimento tintorial, normalmente utilizados quando os pigmentos não são solúveis e carecem de complexação na fibra para se obterem boas solidez dos tintos, realizou-se o tingimento de amostras de multifibras com o extrato bruto de prodigiosina, com adição de Sulfato Ferroso e L-Cys, com diferentes concentrações de 1; 3 e 5% sob o peso da fibra. Estes mordentes foram selecionados com base em ensaios prévios e também da literatura (Burkinshaw and Kumar, 2009; Mongkholrattanasit *et al.*, 2011; Uddin, 2014), sendo que a utilização da L-Cys aparece como total inovação, por nunca antes ter sido utilizada para o efeito, apresentando a vantagem de ser um potencial bio-mordente a utilizar, com as consequentes vantagens no que se refere a processos mais sustentáveis.

Para o efeito, definiram-se diferentes estratégias para uma maior penetração do pigmento e fixação: pré-mordentagem; mordentagem simultânea e pós-mordentagem (Figuras 10; 11 e 12). A pré-mordentagem, Figura 10, realizou-se previamente, antes do tingimento, durante 45 minutos a 30°C. A mordentagem simultânea, Figura 11, realizou-se simultaneamente e nas mesmas condições que o tingimento. A pós-mordentagem, Figura 12, realizou-se posteriormente ao tingimento, durante 45 minutos a 30°C. Todas estas condições resultam não só de ensaios prévios como da análise da literatura técnica e científica (Guaratini, C.C.I; Zanoni, 2000; Guaratini, Valnice e Zanoni, 2000; Burkinshaw e Kumar, 2009; Clark, 2011; Liu *et al.*, 2013; Kramar *et al.*, 2014; Uddin, 2014; Burkinshaw, 2016; DyStar, 2017).

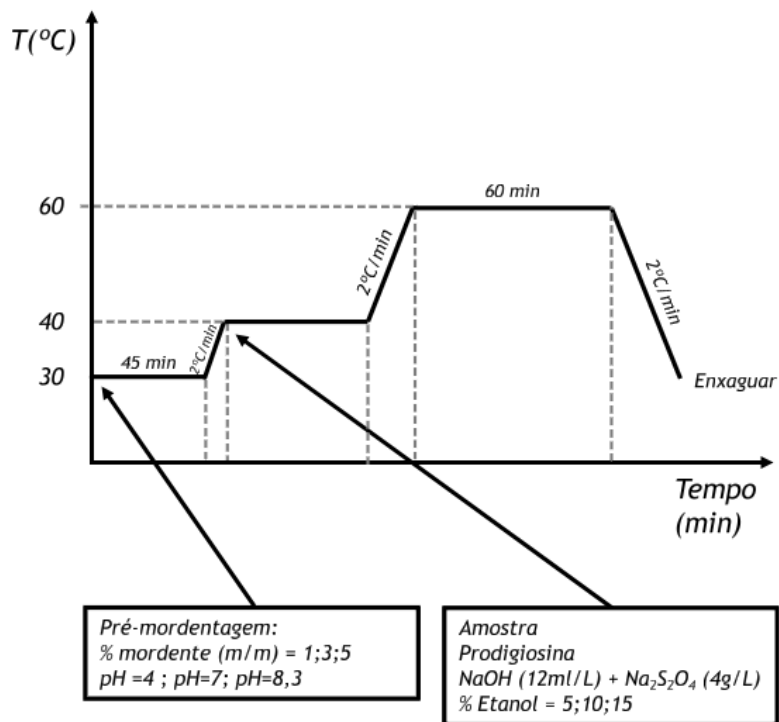


Figura 10: Representação esquemática da adição de mordentes, na pré-mordentagem

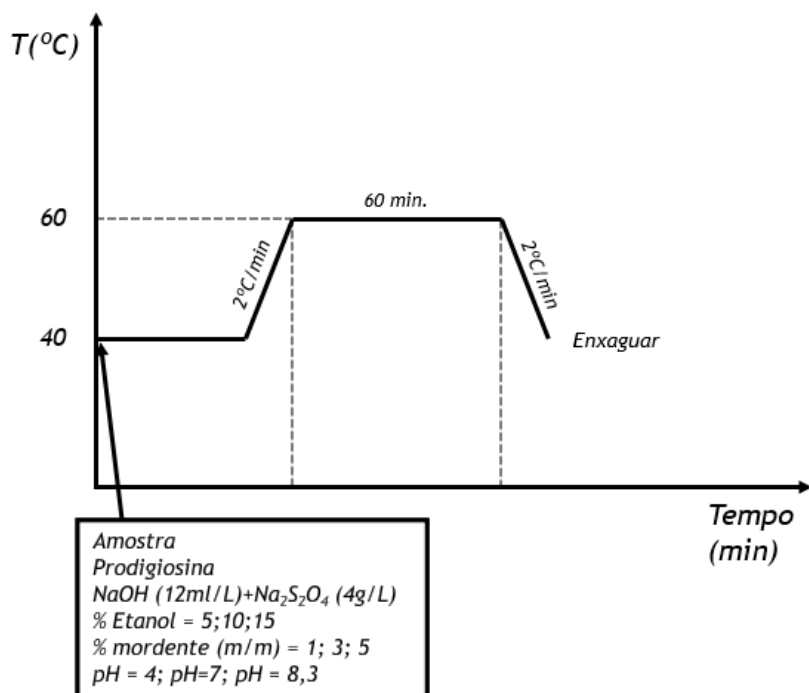


Figura 11: Representação esquemática da adição de mordentes, na mordentagem simultânea

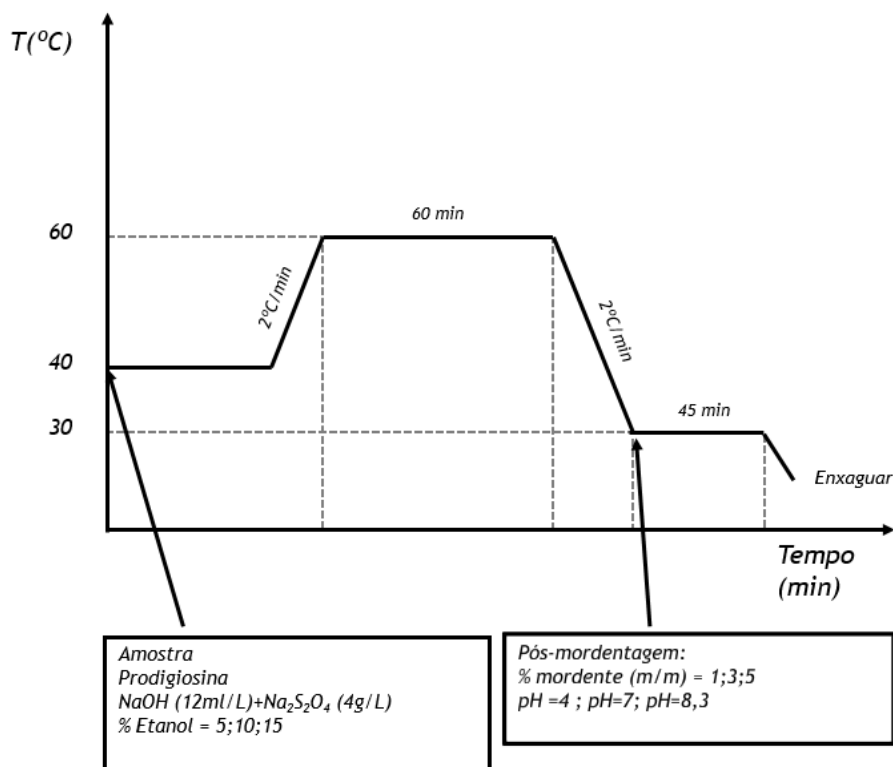


Figura 12: Representação esquemática da adição de mordentes, na pós-mordentagem

### Adição de etanol:

De forma a avaliar a influência da adição de etanol no rendimento tintorial, realizou-se o tingimento de amostras de multifibras com o extrato bruto de prodigiosina com adição de etanol, a 5; 10 e 15 %, às soluções tintoriais. Estas percentagens foram selecionadas com base em estudos realizados por Liu *et al.*, 2013; Namazkar *et al.*, 2013; Ren *et al.*, 2016; Shaikh, 2016.

#### 3.2.1.3. Influência do pH de tingimento no rendimento tintorial

De forma a avaliar a influência do pH no rendimento tintorial, realizou-se o tingimento de amostras de multifibras com o extrato bruto de prodigiosina e com a adição dos mordentes, com os três processos e com as três concentrações. As soluções de tingimento foram reguladas a diferentes valores de pH: ácido (pH 4); neutro (pH 7) e alcalino (8,3), estes ajustes foram realizados com o auxílio de uma base forte (NaOH a 1M) e um ácido forte (HCl 1M). A escolha do pH ácido está relacionada com o pH do banho de tingimento quando se adiciona o mordente metálico, em ensaios prévios, e a escolha do pH alcalino com o pKa do bio-mordente (M.Cox e L.Nelson, 2008; DyStar, 2017). O neutro poderá ser o mais adequado, em termos ecológicos.

### 3.2.2. Tingimento ótimo

Após a avaliação dos processos de tingimento, no ponto 3.2.1, as condições ótimas de tingimento, bem como a fibra mais adequada, foram selecionadas com vista à obtenção de um tingimento de qualidade, bem igualizado e de boa solidez.

#### 3.2.2.1. Avaliação dos parâmetros colorimétricos

Analisaram-se os respetivos parâmetros CIELab, das amostras tingidas e observadas no espectrofotómetro. Calculou-se a intensidade colorística ( $K/S$ ), através da equação de *Kubelka-Munk*, (Equação 1):

$$\frac{K}{S} = \frac{(1 - R)^2}{2R} \quad (1)$$

Onde  $K$  é o coeficiente de absorção,  $S$  é o coeficiente de dispersão e  $R$  é a refletância.

Destes parâmetros também foi possível obter-se a igualização do tingimento ( $dE$ ), medida através de diferentes leituras na própria fibra. Quanto mais próximo de zero for o valor, maior a igualização do tingimento naquela fibra, sendo o limite de aceitabilidade igual a um (Cegarra, Puente e Valldeperas, 1992).

Esta informação foi obtida pelos respetivos valores de refletância, provenientes das leituras no espectrofotómetro *Datacolor spectraflash SF300*, na região visível do espectro eletromagnético (400-700 nm).

### 3.3. Caracterização das amostras têxteis

De forma a realizar a caracterização das fibras tingidas, procedeu-se à avaliação da eficácia do tingimento, utilizando a eletroscopia de infravermelho por transformada de Fourier, a solidez dos tintos à lavagem doméstica e industrial, à fricção a seco e a húmido e à luz, bem como determinação da resistência à abrasão e da tensão e alongamento de rutura, de acordo com as respetivas normas internacionais.

**Tabela 7: Características dos Ensaios.**

<b>Ensaio</b>	<b>Forma e Dimensões dos provetos</b>	<b>Observações</b>
Solidez à lavagem doméstica e industrial	Retangular 10 × 4 cm	2 testemunhos: lã e algodão 1 proveto por ensaio Avaliação segundo Escala de Cinzentos
Solidez à Fricção seca e húmida	Retangular 14 × 5 cm	1 testemunho: lã 1 proveto por ensaio Avaliação segundo Escala de Cinzentos
Solidez à luz	Quadrado 7,5 × 7,5 cm	1 proveto por ensaio Avaliação segundo variações de K/S
Resistência à abrasão utilizando o método de <i>Martindale</i>	Circular diâmetro= 4 cm	1 testemunho: lã 1 proveto por ensaio Avaliação através da rutura de 2 fios da fibra
Tensão e alongamento de rutura	Retangular 5 × 1 cm	1 proveto por ensaio Avaliação através da rutura Poliamida= 0,512 ± 0,004 mm Poliamida + Prodigiosina= 0,524 ± 0,003 mm Poliamida + Prodigiosina + L-Cys= 0,549 ± 0,007 mm
Antibacterianos	Quadrado 2 × 2 cm	1 proveto por ensaio Avaliação segundo UFC e depois convertida em % de inibição

### **3.3.1. Espectroscopia de infravermelho por transformada de Fourier (FTIR-ATR)**

Para auxiliar a conhecer a composição química das amostras, realizaram-se ensaios de espectroscopia de infravermelho por transformadas de Fourier (FTIR-ATR), no espectrofotómetro *Thermo-Nicolet is10*. As medições realizadas encontram-se numa faixa espectral entre 400 e 4000 cm<sup>-1</sup>, com uma média de 32 varrimentos/minuto e uma resolução espectral de 4 cm<sup>-1</sup>.

### **3.3.2. Solidez do tinto à lavagem doméstica e industrial**

Para avaliar a solidez à lavagem doméstica e industrial foram realizados ensaios no *Linitest Device*, durante 30 minutos, a 40 °C, com o detergente ECE e com os dois testemunhos indicados: lã e algodão, de acordo com os procedimentos descritos na norma ISO 105-C06:2010.

No fim da lavagem, os provetes e respetivos testemunhos foram enxaguados em água destilada e secos à temperatura ambiente. A avaliação da alteração de cor ( $\Delta E$ ), é calculada através da seguinte equação (Equação 2):

$$\Delta E = (\Delta a^{*2} + \Delta b^{*2} + \Delta L^{*2})^{1/2} \quad (2)$$

Onde  $\Delta a^*$  é a variação da coordenada  $a^*$  antes e pós a lavagem,  $\Delta b^*$  é a variação da coordenada  $b^*$  antes e pós a lavagem e  $\Delta L^*$  é a variação da coordenada  $L^*$  antes e pós a lavagem. Este  $\Delta E$  é similar ao  $dE$ , a diferença é que o  $\Delta E$  refere-se à diferença de cor após o processo de lavagem e o  $dE$  refere-se à igualização dentro da própria fibra, após o tingimento (Cegarra, Puente e Valldeperas, 1992).

A avaliação da alteração de cor e do manchamento dos testemunhos foi concretizada no espectrofotómetro *Datacolor spectraflash SF300* e também com a escala de cinzentos, numa caixa de luz *Color-Chex*, sob o iluminante D65.

### 3.3.3. Solidez do tinto à fricção seca e húmida

Para avaliar a solidez do tinto à fricção a seco e a húmido foram realizados ensaios com o equipamento *A.A.T.C.C. Crockmeter*, em que os provetes foram friccionados contra o testemunho durante dez ciclos, a uma força constante de 9N, de acordo com os procedimentos descritos na norma ISO 105-X12:2016. A avaliação realizou-se através da escala de cinzentos, numa caixa de luz *Color-Chex*, sob o iluminante D65

### 3.3.4. Solidez do tinto à luz

Para avaliar a solidez do tinto à luz fizeram-se adaptações à norma ISO 105-B02:2014(E). Os ensaios foram realizados na caixa de luz *Color-Chex*, sob duas luzes diferentes: *daylight* e *blacklight*, durante 16 e 24 horas. Após cada ciclo de exposição a estas luzes, os provetes foram avaliados no espectrofotómetro *Datacolor spectraflash SF300*. Com os resultados obtidos, determinou-se a percentagem de descoloração dos provetes, através da Equação 3:

$$\%D = \frac{\frac{K}{S}i - \frac{K}{S}f}{\frac{K}{S}i} \quad (3)$$

Em que %D representa a percentagem de descoloração, as letras minúsculas em índice ( $i$  e  $f$ ) representam o valor inicial e o valor final, respetivamente.

### 3.3.5. Determinação da resistência à abrasão utilizando o método de Martindale

Para determinar a resistência à abrasão realizou-se um ensaio-padrão, segundo a norma ISO 12947-2 (IPQ). Para a realização deste ensaio utilizou-se o equipamento Martindale, onde se colocaram os provetes circulares num suporte apropriado e com uma carga definida (9 kPa). Estes foram friccionados contra um tecido padrão abrasivo e deslocaram-se através de um

movimento de translação descrevendo uma trajetória específica. A resistência dos provetes é avaliada com o auxílio de uma lupa e através de inspeções no final de determinados ciclos, até existir rutura de dois fios.

### 3.3.6. Determinação da tensão e alongamento de rutura

Para avaliar a degradação causada nos materiais têxteis pelos processos de tingimento, realizaram-se ensaios de resistência à rutura. Os ensaios foram realizados em amostras sem tratamento e nas amostras tingidas com prodigiosina, com ou sem adição de L-Cys, para comparação posterior. Os ensaios foram realizados num dinamômetro, de acordo a norma EN ISO 2062:2009 e a distância entre as garras de 1 cm. A tensão foi definida no início do ensaio e continuou constante até à rutura das amostras.

### 3.3.7. Avaliação da atividade antibacteriana

Para avaliar o comportamento antibacteriano das amostras têxteis tingidas com prodigiosina e com ou sem a adição de L-Cys foi realizado um ensaio, denominado de teste de suspensão, de acordo com a Norma Industrial Japonesa JIS L 1902: 2008, específica para amostras têxteis. Usaram-se duas estirpes de referência, uma gram-positiva (*S.aureus*) e outra gram-negativa (*P.aeruginosa*). Os valores das concentrações mínimas inibitórias (MIC) de cada estirpe foram estabelecidos por Giacomelli, 2018 e encontram-se na Tabela 8.

Tabela 8:Valores das concentrações mínimas inibitórias das estirpes selecionadas.

CMI (mg/mL)	<i>S. aureus</i>	<i>P. aeruginosa</i>
Prodigiosina	0,24	1,25

Concisamente, as suspensões bacterianas foram preparadas a partir de uma cultura líquida deixada a crescer em *overnight*. Inocularam-se as amostras com as suspensões, realizaram-se diluições sucessivas, posteriormente os respetivos meios de cultura foram plaqueados com gotas de cada uma das diluições. Por fim as placas foram incubadas a 37°C durante 24 horas. A atividade antibacteriana foi avaliada por um método quantitativo para determinar a percentagem de inibição de crescimento bacteriano (% de inibição) em 24 horas, através da Equação 4:

$$\% \text{ Inibição} = \frac{C - A}{C} \times 100 \quad (4)$$

Onde o C representa o valor médio de unidades formadoras de colónias (UFC-µg /mL) da amostra de poliamida não tingida, o A representa o valor médio de unidades formadoras de colónias (UFC- µg/mL) das amostras de poliamida tingidas.

## Capítulo 4

### 4. Resultados e Discussão

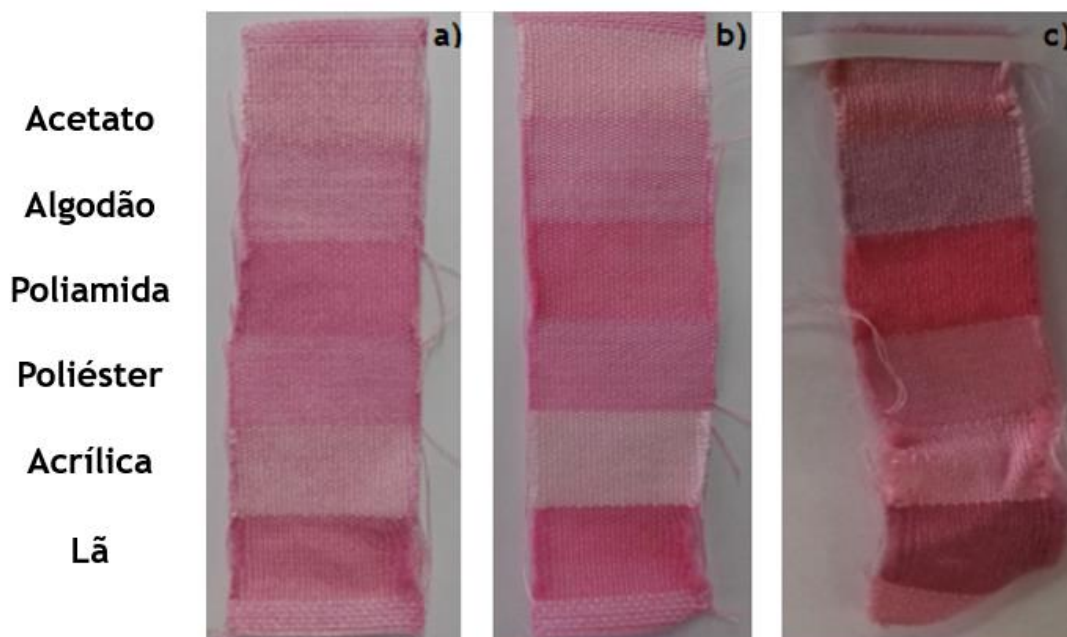
#### 4.1. Avaliação do potencial de tinturaria da Prodigiosina em diferentes tipos de fibras e condições de tingimento

De forma a obter um tingimento mais eficiente realizou-se um *screening* inicial, onde se fizeram variar diferentes condições como temperatura, pH e adição de diferentes auxiliares de tingimento como sais, mordentes e etanol.

As restantes condições de tingimento mantiveram-se constantes e de acordo com a literatura técnica (Cegarra, Puente e Valldeperas, 1992; Guaratini, C.C.I; Zaroni, 2000; Guaratini, Valnice e Zaroni, 2000; DyStar, 2017): tempo (60 minutos); gradiente de subida da temperatura (2°C/min); agitação (30 rpm) e razão de banho (1:50), mantiveram-se constantes.

##### 4.1.1. Influência da Temperatura na multifibra

Toda a literatura analisada, foca a temperatura como um parâmetro importante para o crescimento da bactéria e para a produção do pigmento, esquecendo-se de dar ênfase à temperatura do tingimento. Neste estudo, a maior importância da variação da temperatura foi para o tingimento, uma vez que o crescimento da bactéria e a produção de prodigiosina seguiram a otimização proposta por Giacomelli, 2018. Para o efeito, realizaram-se tingimentos fazendo variar a temperatura em 40°C, 60°C e 100°C, como se pode observar pela Figura 13.



**Figura 13: Influência da temperatura no tingimento de multifibras. a) Tingimento a 40°C; b) Tingimento a 60°C e c) Tingimento a 100°C.**

**Nota:** É importante ressaltar que as imagens das multifibras servem apenas para serem comparadas com as restantes imagens da mesma Figura. Todas as Figuras de multifibras devem ser interpretadas desta mesma forma. A comparação de imagens de diferentes Figuras não é possível, devido à existência de fatores que influenciam a qualidade das imagens, como luminosidade, posição e sombra. Assim, esta Figura e as Figuras similares servem apenas para se criar uma ideia visual e não para tirar conclusões relativamente às tonalidades, para isso usam-se os dados espectrofotométricos.

De forma geral, nas três situações, percebe-se que o tingimento tem diferentes tonalidades, nas diferentes fibras o que se deve às diferentes interações estabelecidas entre o pigmento e a fibra, bem como à própria cor das fibras. A 100°C verificou-se uma maior intensidade da cor sendo as diferentes fibras facilmente distinguíveis. Temperaturas elevadas, superiores a 80°C, são muitas vezes relatadas na literatura como influências positivas no tingimento, com a obtenção de cores mais profundas e uma maior absorção do pigmento, o que está de acordo com este trabalho. Contudo, é perceptível uma maior oxidação da cor, tornando-as mais escuras, como por exemplo no caso do algodão e da lã. No desenvolvimento deste projeto um dos principais objetivos era criar um tingimento *green*, o mais amigo do ambiente possível e economicamente atrativo, pelo que a temperatura de 100°C conduzirá a um processo menos sustentável, pois requer um gasto de energia elevado. Tendo as vantagens e desvantagens presentes, deliberou-se que esta temperatura elevada (100°C) não era a adequada, contrariando Liu et al. 2013; Kramar et al. 2014; Vaidyanathan et al. 2012; Alihosseini et al. 2008, que preferem temperaturas mais altas, para tingirem fibras têxteis com prodigiosina ultra-purificada proveniente de *Serratia marcescens*, *Streptomyces sp.*, *Serratia sakuensis* e

*Vibrio sp.*, respetivamente. Efetivamente, e comparando as amostras da Figura 13, verifica-se que temperaturas mais baixas possibilitam o tingimento, pelo que se selecionaram os tingimentos a 40°C e 60°C para a continuidade do estudo. A análise dos valores de intensidade colorística (K/S) e diferenças de cor (dE), apresentados na Tabela 9 permite comparar, de forma quantitativa, quer a absorção de corante quer as diferenças de cor encontradas, de forma a concluir qual a temperatura mais adequada.

**Tabela 9: Valores de K/S e dE referentes às temperaturas de 40°C e 60°C.**

		K/S	dE
60°C	Acetato	0,47	0,07
	Algodão	0,70	0,08
	Poliamida	1,20	0,04
	Poliéster	0,72	0,05
	Acrílica	0,30	0,03
	Lã	1,38	0,05
40°C	Acetato	0,49	0,10
	Algodão	0,78	0,10
	Poliamida	1,17	0,16
	Poliéster	0,68	0,09
	Acrílica	0,51	0,06
	Lã	1,56	0,12

Pela análise da Tabela 9 pode verificar-se que o pigmento mostrou maior afinidade para as fibras de lã e poliamida, e que a diferença de absorção é mínima entre estas duas temperaturas. As temperaturas de 60°C e 40°C influenciaram de forma semelhante as multifibras, sendo a temperatura mais alta a que exibiu uma melhor penetração do pigmento nas fibras, como esperado. De facto, nas temperaturas mais elevadas a difusão e penetração do corante nas fibras é superior, levando a cores mais intensas e uniformes (Cegarra, Puente e Valldeperas, 1992).

Todavia como a escolha da temperatura ideal para o processo depende igualmente da uniformidade ou igualização dos tintos, a análise das diferenças de cor dentro da própria amostra levaram à escolha da temperatura de 60°C, que revelaram uma menor diferença e portanto uma maior igualização.

### 4.1.2. Influência da adição de auxiliares de tingimento

Para analisar a influência da adição de auxiliares testaram-se três categorias: sais; mordentes e etanol. As condições de funcionamento da AHIBA IR mantiveram-se constantes: 60 minutos, gradiente de temperatura 2°C/min, 30 rpm e 60°C.

#### Adição de sais:

De forma a melhorar a solubilidade, usou-se os sais mais utilizados e descritos na literatura técnica: um álcali, o hidróxido de sódio (NaOH) e um redutor, o hidrossulfito de sódio (Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>4</sub>). Com esta adição o pH do banho passou de neutro (7) a alcalino (12,5). Fizeram-se dois ensaios cada um com duas amostras, no primeiro ensaio usou-se o mesmo banho e fizeram-se as duas amostras no mesmo dia, enquanto que o segundo ensaio fez-se em dias diferentes mas com o mesmo banho, a fim de testar a reprodutibilidade dos mesmos. Denominou-se as amostras do primeiro ensaio como 1 e 2, e as do segundo ensaio como 3 e 4. Na Figura 14, pode-se observar o tingimento das diferentes amostras.

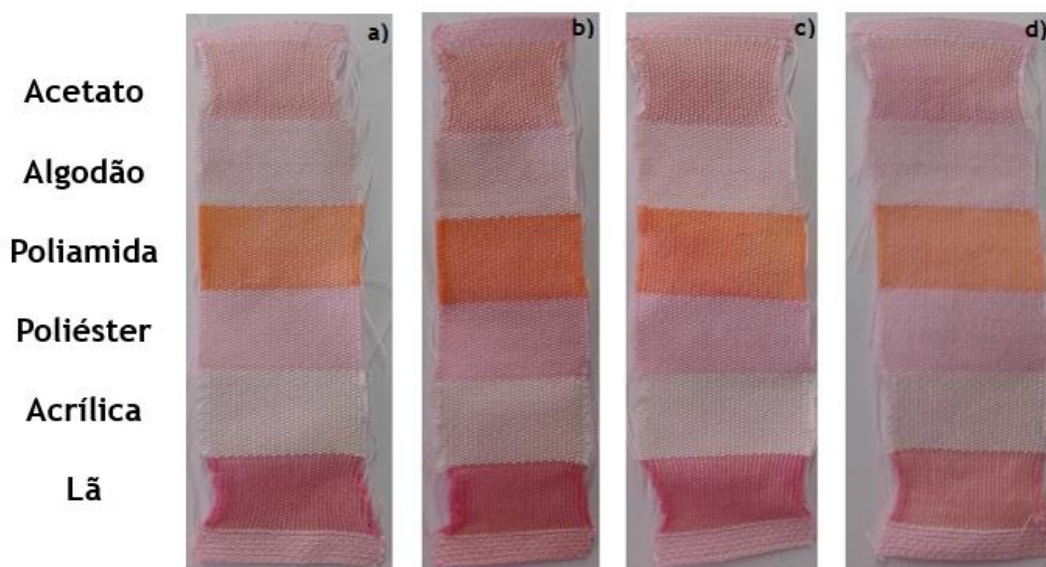


Figura 14: Influência de auxiliares de tingimento, vários ensaios. a) Amostra 1; b) Amostra 2; c) Amostra 3 e d) Amostra 4.

Na generalidade, percebe-se que o pigmento tem diferentes afinidades com as diferentes fibras. As amostras 1, 2 e 3 apresentam maior similaridade comparativamente à amostra 4. Visivelmente, a nível de coloração a amostra 4 foi afetada pelo dia do banho, exibindo falta de reprodutibilidade, provavelmente devido a alguma oxidação do pigmento ao longo do tempo. As fibras de acetato apresentaram uma tonalidade rosa-alaranjada muito clara. No tingimento de fibras de acetato o uso de álcalis pode reverter a reação de esterificação e regenerar a

celulose (Guaratini, C.C.I; Zanoni, 2000; Guaratini, Valnice e Zanoni, 2000; DyStar, 2017), mas neste caso o tingimento ocorreu de uma boa forma, não causando problemas visíveis nas fibras. As de algodão e de poliéster apresentaram cor idêntica às respectivas fibras no tingimento a 60°C; as de acrílica não absorveram cor e as de lã absorveram, mas oxidaram, principalmente a da amostra 2. A poliamida apresentou a maior diferença perceptível até ao momento pois exibiu uma tonalidade laranja fluorescente.

A prodigiosina é um pigmento extremamente sensível às variações de pH, variando as suas tonalidades. A pH's ácidos adquire um tom azul-roxo, a pH's neutros um tom rosa-vermelho e a pH's alcalinos um tom laranja-amarelo (Vaidyanathan *et al.*, 2012; Namazkar *et al.*, 2013; Kramar *et al.*, 2014). O banho de tingimento com o pH igual a 12,5, extremamente alcalino, adquiriu uma tonalidade laranja, como o previsto. Contudo só duas fibras é que conseguiram adsorver o pigmento com esta cor, a razão mais credível prende-se com as estruturas cristalinas das fibras, onde o acetato e a poliamida tinham maior disponibilidade para a adsorção por retenção física e interação com o pigmento na sua forma coloidal (Alihosseini *et al.*, 2008).

A análise dos valores de intensidade colorística (K/S) e diferenças de cor (dE), apresentados na Tabela 10 permite comparar, de forma quantitativa o tingimento das quatro amostras.

**Tabela 10: Valores de K/S e dE para o uso de sais como auxiliares de tingimento.**

		K/S	dE
<b>Amostra 1</b>	Acetato	0,65	0,18
	Algodão	0,21	0,13
	Poliamida	1,14	0,16
	Poliéster	0,37	0,05
	Acrílica	0,14	0,07
	Lã	1,40	0,11
<b>Amostra 2</b>	Acetato	0,59	0,19
	Algodão	0,25	0,16
	Poliamida	1,25	0,14
	Poliéster	0,39	0,07
	Acrílica	0,14	0,10
	Lã	1,60	0,05
<b>Amostra 3</b>	Acetato	0,50	0,29
	Algodão	0,21	0,22
	Poliamida	1,14	0,21
	Poliéster	0,33	0,10
	Acrílica	0,14	0,10
	Lã	1,50	0,23
<b>Amostra 4</b>	Acetato	0,64	0,33
	Algodão	0,27	0,18
	Poliamida	0,69	0,29
	Poliéster	0,37	0,13
	Acrílica	0,19	0,08
	Lã	0,99	0,33

Pela análise da Tabela 10 pode verificar-se que o pigmento mostrou maior afinidade para as fibras de lã e poliamida, mesmo tingidas com diferentes cores e independentemente das amostras. A igualização das fibras foi menor relativamente à obtida no tingimento sem adição de auxiliares, evidenciando alguns problemas de penetração ou difusão do pigmento. De uma forma geral, o acetato e a poliamida, as fibras tingidas de cor de laranja, apresentaram menores níveis de igualização. Apesar de estes auxiliares beneficiarem a solubilidade de tingimento de uma forma bastante positiva, esta adição não se mostrou eficiente na homogeneização, muito provavelmente devido à insolubilidade desse pigmento a altos valores de pH. A falta de reprodutibilidade deste ensaio foi visivelmente influenciada pelos dias do banho, o que se torna um entrave ao seu uso. Outra desvantagem apresentada foi a mudança de rosa para laranja no tingimento da poliamida e do acetato, pois pretendia-se manter a cor original da prodigiosina, promovendo a necessária reprodutibilidade em processos de tingimento. No entanto, esta mudança pode ser encarada como uma vantagem, quando o objetivo for criar uma paleta de diferentes cores com o mesmo pigmento.

Tendo em conta todos os fatores, decidiu-se não usar estes sais como auxiliares de tingimento.

## **Adição de mordentes:**

Para testar a influência da adição de mordentes, usaram-se dois tipos de mordentes: o Sulfato Ferroso e a L-Cisteína, em três concentrações diferentes 1%; 3% e 5% e em três processos de mordentagem distintos: pré, simultânea e pós. O pH dos banhos manteve-se neutro em todos os ensaios.

### **Sulfato Ferroso**

Os mordentes são geralmente associados a pigmentos naturais, pois melhoram as suas características de solidez, fixam o pigmento à fibra e produzem uma gama de tonalidades maior. Os mordentes metálicos são os mais comumente usados, melhoram a retenção do corante, conduzem a uma maior profundidade e sombra, pelo que neste caso se selecionou o Sulfato Ferroso.

Os resultados dos ensaios encontram-se na Figura 15 e na Tabela 11.



Figura 15: Influência do Sulfato Ferroso no tingimento. a) Pré-mordentagem; b) Mordentagem simultânea e c) Pós-mordentagem. 1) 1%(m/m); 2) 3%(m/m) e 3) 5%(m/m).

A concentração do mordente e o processo de mordentagem influenciam a afinidade do pigmento pelas fibras de forma distinta. Visualmente, este mordente metálico era insolúvel em água em qualquer tipo de mordentagem, uma vez que os íons metálicos atuam como recetores de eletrões para doadores, de modo a formar ligações de coordenação com moléculas de pigmento (Uddin, 2014). A insolubilidade referida originou um tingimento ineficiente, com uma coloração heterogénea e com manchas acastanhadas, diretamente proporcional ao aumento da concentração do mordente, como foi relatado por Burkinshaw e Kumar, 2009; Mongkholrattanasit *et al.*, 2011. A concentração mais baixa criou um tingimento mais suave e semelhante entre as fibras independentemente do processo de mordentagem e a concentração mais elevada criou o oposto, um tingimento mais intenso e dissimilar entre fibras. As fibras de lã oxidaram em todas as concentrações de mordente usadas e em todos os processos de mordentagem, contudo foi aos 5% (m/m) que exibiu os piores resultados. As manchas visíveis e os tons acastanhados encontram-se associados a dois processos de mordentagem, à pré e à pós. As fibras mais afetadas foram o acetato, algodão e acrílica. A mordentagem simultânea apresentou fibras tingidas de uma forma mais homogénea.

Pela análise da Tabela 11, com os valores de K/S e de dE, será possível fazer-se comparações mais concretas e conclusivas acerca deste mordente e do seu tingimento.

**Tabela 11: Valores de K/S e dE para os ensaios de Sulfato Ferroso.**

			K/S	dE
1%(m/m)	<b>Pré Sulfato Ferroso</b>	Acetato	0,88	0,14
		Algodão	0,61	0,22
		Poliamida	1,20	0,11
		Poliéster	0,59	0,09
		Acrílica	0,39	0,11
		Lã	1,36	0,16
	<b>Simultâneo Sulfato Ferroso</b>	Acetato	0,75	0,15
		Algodão	0,55	0,14
		Poliamida	1,39	0,09
		Poliéster	0,48	0,10
		Acrílica	0,27	0,09
		Lã	1,47	0,10
	<b>Pós Sulfato Ferroso</b>	Acetato	0,63	0,14
		Algodão	0,61	0,10
		Poliamida	1,20	0,10
		Poliéster	0,37	0,09
		Acrílica	0,23	0,10
		Lã	0,94	0,13
<b>Pré Sulfato Ferroso</b>	Acetato	0,96	0,15	
	Algodão	0,63	0,12	
	Poliamida	1,36	0,10	
	Poliéster	0,52	0,15	
	Acrílica	0,32	0,11	

<b>3%(m/m)</b>	<b>Simultâneo Sulfato Ferroso</b>	Lã	1,53	0,12
		Acetato	1,65	0,08
		Algodão	0,90	0,11
		Poliamida	2,02	0,09
		Poliéster	0,60	0,15
		Acrílica	0,66	0,06
	<b>Pós Sulfato Ferroso</b>	Lã	2,44	0,11
		Acetato	0,93	0,14
		Algodão	0,71	0,15
		Poliamida	1,61	0,11
		Poliéster	0,44	0,14
		Acrílica	0,20	0,13
<b>5%(m/m)</b>	<b>Pré Sulfato Ferroso</b>	Lã	0,89	0,25
		Acetato	1,75	0,29
		Algodão	1,17	0,88
		Poliamida	2,16	0,18
		Poliéster	0,97	0,32
		Acrílica	0,55	0,61
	<b>Simultâneo Sulfato Ferroso</b>	Lã	2,52	0,71
		Acetato	6,43	0,17
		Algodão	1,23	0,43
		Poliamida	6,81	0,16
		Poliéster	0,77	0,30
		Acrílica	0,92	0,55
	<b>Pós Sulfato Ferroso</b>	Lã	2,06	0,96
		Acetato	1,71	0,25
		Algodão	1,22	0,37
		Poliamida	2,91	0,20
		Poliéster	0,89	0,21
		Acrílica	0,56	0,26
Lã	2,08	0,92		

Com a análise na Tabela 11 torna-se possível verificar que a prodigiosina teve maior afinidade para as fibras de poliamida e lã, exibindo os maiores valores de intensidade colorística. Consegue-se também verificar que o processo de mordentagem simultânea foi mais eficiente independentemente das concentrações usadas, exibindo as maiores intensidades colorísticas e a maior igualização das fibras.

A intensidade colorística aumenta com o aumento da concentração do Sulfato Ferroso. Esta relação pode revelar que as moléculas do pigmento são capazes de formar um complexo metálico com iões carregados positivamente ( $Fe^{2+}$ ), como também descrito por Uddin 2014. Todavia, existe um aumento negativo nesta mesma proporção, o aumento dos valores de dE, que se traduz numa menor igualização e homogeneização do tingimento. Estes resultados eram

os esperados após a visualização de manchas e de um tingimento ineficiente na Figura 15. Deste modo, torna-se inviável continuar-se com a concentração de 5%(m/m).

As concentrações de 1 e 3% (m/m) na mordentagem simultânea influenciaram de forma semelhante as multifibras, sendo a concentração mais alta a que exibiu uma melhor penetração do pigmento nas fibras. De facto, as concentrações mais elevadas de mordente criam cores mais intensas (Cegarra, Puente e Valldeperas, 1992).

A escolha ideal para um tingimento eficiente depende das propriedades adquiridas nas fibras como intensidade de cor e igualização, como também da concentração e do processo de mordentagem, desta forma a escolha recaiu na mordentagem simultânea a 3%(m/m).

### **L-Cisteína**

Uma das alternativas aos mordentes metálicos são mordentes naturais, que são mais ecológicos e menos nocivos. Assim, pretendeu-se estudar um novo mordente dentro desta categoria, e a escolha recaiu sobre o aminoácido L-Cisteína. Ao contrário do Sulfato Ferroso, este aminoácido nunca foi utilizado como mordente, não havendo literatura que comprove ou não a sua eficiência no tingimento, apenas foi usado para funcionalizar diferentes fibras, como algodão, seda e lã, de forma a torná-las antimicrobianas (Gouveia, 2010; Gouveia, Sá e Henriques, 2012; Caldeira *et al.*, 2013).

Os resultados dos ensaios encontram-se na Figura 16 e na Tabela 12.

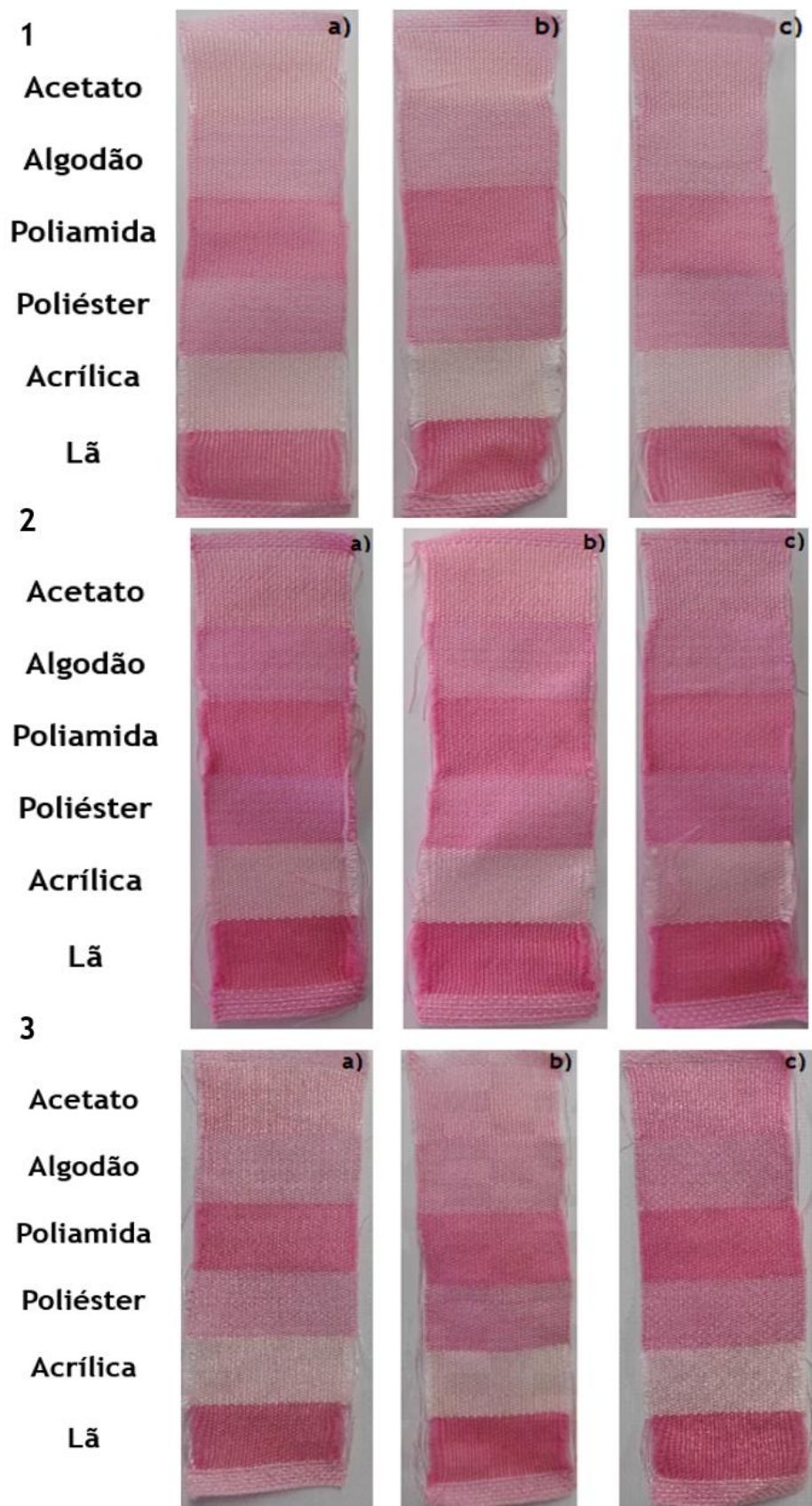


Figura 16: Influência da L-Cisteína no tingimento. a) Pré-mordentagem; b) Mordentagem simultânea e c) Pós-mordentagem. 1) 1% L-Cys (m/m); 2) 3% L-Cys (m/m) e 3) 5%L-Cys (m/m).

Nas três situações percebe-se que o tingimento tem diferentes tonalidades, nas diferentes fibras, sendo, no entanto, muito similares entre as diferentes concentrações e os diferentes processos de mordentagem. Contrariamente ao mordente metálico, este bio-mordente permite que o tingimento seja muito semelhante ao tingimento sem auxiliares, uma vez que não estimula a variação das tonalidades e das interações pigmento-fibra, mas com a vantagem de fortalecer a reação pigmento-fibra.

Os processos de mordentagem não influenciaram de uma forma visível a cor obtida como foi visto no Sulfato Ferroso. A concentração da L-Cys foi o parâmetro que exibiu maior influência nestes ensaios, principalmente a 5%(m/m), onde as multifibras apresentaram um tingimento heterogêneo.

A poliamida e a lã destacaram-se das restantes, evidenciando a afinidade da prodigiosina por estas. Por outro lado, o pigmento não mostrou ter afinidade com as fibras acrílicas, que não adsorveram cor.

A Tabela 12 apresenta os valores de intensidade colorística e as diferenças de cor na própria fibra.

**Tabela 12: Valores de K/S e dE para os ensaios de L-Cisteína.**

			K/S	dE
<b>1%(m/m)</b>	<b>Pré L-Cisteína</b>	Acetato	0,41	0,12
		Algodão	0,59	0,06
		Poliamida	1,04	0,09
		Poliéster	0,57	0,07
		Acrílica	0,21	0,08
		Lã	1,17	0,11
	<b>Simultâneo L-Cisteína</b>	Acetato	0,47	0,13
		Algodão	0,59	0,04
		Poliamida	1,12	0,06
		Poliéster	0,68	0,07
		Acrílica	0,19	0,05
		Lã	1,69	0,06
	<b>Pós L-Cisteína</b>	Acetato	0,48	0,12
		Algodão	0,49	0,08
		Poliamida	1,13	0,06
		Poliéster	0,61	0,08
		Acrílica	0,18	0,10
		Lã	1,47	0,07
<b>Pré L-Cisteína</b>	Acetato	0,57	0,13	
	Algodão	0,75	0,05	
	Poliamida	1,45	0,05	
	Poliéster	0,65	0,08	
	Acrílica	0,18	0,04	
	Lã	1,58	0,08	
		Acetato	0,63	0,08

<b>3%(m/m)</b>	<b>Simultâneo L-Cisteína</b>	Algodão	0,86	0,04
		Poliamida	1,72	0,02
		Poliéster	0,76	0,04
		Acrílica	0,21	0,02
		Lã	2,08	0,04
<b>Pós L-Cisteína</b>	Acetato	0,54	0,14	
	Algodão	0,59	0,10	
	Poliamida	1,19	0,09	
	Poliéster	0,62	0,11	
	Acrílica	0,16	0,05	
	Lã	1,61	0,12	
<b>5%(m/m)</b>	<b>Pré L-Cisteína</b>	Acetato	0,69	0,16
		Algodão	0,68	0,12
		Poliamida	1,67	0,08
		Poliéster	0,72	0,12
		Acrílica	0,29	0,17
		Lã	1,79	0,14
	<b>Simultâneo L-Cisteína</b>	Acetato	0,70	0,10
		Algodão	0,94	0,09
		Poliamida	1,61	0,07
		Poliéster	0,91	0,19
		Acrílica	0,35	0,12
		Lã	2,48	0,11
	<b>Pós L-Cisteína</b>	Acetato	1,26	0,08
		Algodão	0,30	0,16
		Poliamida	2,54	0,07
		Poliéster	1,19	0,13
		Acrílica	0,40	0,22
		Lã	2,71	0,13

A similaridade do tingimento demonstrada na Figura 16 é suportada pelos dados quantitativos expressos na Tabela 12. Independentemente das concentrações e dos processos de mordentagem, as intensidades colorísticas de cada fibra são muito semelhantes entre si e as obtidas no tingimento sem auxiliares de tingimento. Comparativamente ao mordente metálico estudado, este bio-mordente apresentou benefícios no tingimento, quer na gama de tonalidades produzidas e semelhantes às pretendidas inicialmente, quer na igualização/homogeneização da cor.

Em relação às concentrações usadas a de 5%(m/m) foi a que obteve melhores resultados da intensidade colorística, porém apresentou os piores resultados em termos de igualização. A concentração de 3% (m/m) exibiu a melhor igualização de tingimento e boas características de intensidade colorística. Por fim, a concentração de 1%(m/m) exibiu fraca intensidade de cor e boa igualização. Apesar deste mordente nunca ter sido relatado, segue a mesma ideologia dos mordentes comumente estudados, evidenciando que o aumento da concentração desencadeia o aumento de intensidade colorística, como referido por Cegarra, Puente e Valldeperas, 1992.

Os processos de pré e pós mordentagem apresentam muitas similaridades tanto a nível visual como a nível espectrofotómetro, contudo são desvantajosos comparativamente à mordentagem simultânea.

De forma geral, a mordentagem simultânea com 3%(m/m) de L-Cys exibiu melhores resultados de igualização em relação ao tingimento com o pigmento sem adição de auxiliares, e em relação ao tingimento com auxiliares (sais e mordente metálico). Estes valores provam que o uso deste bio-mordente, melhorou a interação da prodigiosina com as fibras. É importante ressaltar que este aminoácido nunca foi utilizado para este fim, e que apresentou uma vantagem importantíssima na definição de novos bio-mordentes.

Novamente, a prodigiosina evidenciou a sua afinidade pelas fibras de poliamida e lã. A lã com a adição de L-Cys originou uma cor intensa, mas não criou a oxidação observada até então, o que muito provavelmente se deve ao facto da lã, ao conter elevadas quantidades de enxofre (cisteínas) na sua estrutura química, com a adição do mordente L-Cys ter criado uma maior ligação entre a fibra, o pigmento e o mordente, não permitindo a sua oxidação (Burkinshaw, 2016).

Desta forma, a concentração que melhor satisfaz as características desejadas foi a de 3% (m/m), que combinou eficientemente os atributos visuais com os valores espectrofotométricos, e para além disso o uso de uma concentração menor é sempre mais vantajoso economicamente e ecologicamente.

### **Adição de etanol:**

A prodigiosina é um composto orgânico apolar, não exhibe diferenças entre a eletronegatividade dos átomos (Song *et al.*, 2006), deste modo deve ser dissolvido por um composto apolar, de modo a aumentar a solubilidade. No decorrer do trabalho experimental, comprovou-se que a prodigiosina era altamente insolúvel em água, composto polar, como foi anteriormente relatado por Jissa & Soorej 2011; Harashima *et al.* 1967 e Namazkar *et al.* 2013. Desta forma, tornou-se vital encontrar um solubilizante para o pigmento, assim surge o uso do etanol. Este álcool é um composto orgânico constituído por um grupo polar (-OH) e outro apolar (-CH<sub>2</sub>), sendo altamente solúvel em água e consegue solubilizar a prodigiosina. Assim, como a prodigiosina mostrou ser um pigmento insolúvel em água, e a fim de melhorar a solubilidade do pigmento, no intuito de se obter um maior rendimento colorístico e/ou uma maior igualização, realizaram-se tingimentos fazendo variar a percentagem de etanol em 5; 10 e 15%, como se pode observar pela Figura 17. A razão da escolha de percentagens baixas residiu mais uma vez na procura de processos mais sustentáveis.



Figura 17: Influência do Etanol. a) 5% de etanol; b) 10% de etanol e c) 15% de etanol.

De forma geral, nas três situações, percebe-se que o tingimento é bastante similar ao tingimento sem auxiliares, apresentando as mesmas tonalidades, mas com melhor adsorção do pigmento e com maior intensidade.

Os dados espectrofotométricos encontram-se apresentados na Tabela 13.

Tabela 13: Valores de K/S e dE para o tingimento com etanol.

		K/S	dE
5%	Acetato	1,00	0,07
	Algodão	0,98	0,07
	Poliamida	2,60	0,05
	Poliéster	0,98	0,07
	Acrílica	0,23	0,07
	Lã	2,58	0,09
10%	Acetato	1,40	0,05
	Algodão	1,00	0,08
	Poliamida	2,98	0,02
	Poliéster	1,01	0,04
	Acrílica	0,25	0,03
	Lã	3,14	0,04
15%	Acetato	1,27	0,06
	Algodão	0,92	0,07
	Poliamida	2,48	0,03
	Poliéster	0,74	0,04
	Acrílica	0,22	0,03
	Lã	3,12	0,03

A adição de etanol, independentemente das concentrações usadas, contribuiu para um aumento da intensidade colorística das tonalidades obtidas, em comparação com o tingimento com e sem auxiliares (Tabelas 9, 10, 11 e 12). Relativamente à igualização das cores, as concentrações de 10 e 15 % apresentaram resultados similares e a concentração de 5% não se mostrou vantajosa. Segundo Ren *et al.*, 2016, tanto as concentrações mais baixas como as concentrações mais altas de etanol, provocam o aumento dos valores de K/S, esta conclusão corrobora os resultados obtidos e apresentados na Tabela 12. As concentrações mais altas, influenciaram a solubilidade do pigmento de uma forma positiva, que desencadeou uma maior igualização nas fibras comparativamente ao tingimento sem auxiliares e bastante semelhante ao tingimento com 3%(m/m) de L-Cys em mordentagem simultânea. Assim, pode-se provar que o uso do etanol melhorou a solubilidade em relação à água e este facto é também corroborado pelo trabalho de Liu *et al.*, 2013; Namazkar *et al.*, 2013; Ren *et al.*, 2016; Shaikh, 2016.

A lã e a poliamida destacaram-se, após serem as fibras com as quais o pigmento teve maior afinidade.

A concentração de 10% de etanol foi escolhida devido a ser a melhor conjugação de resultados entre as intensidades colorísticas e as igualizações dos tintos.

### 4.1.3. Influência do pH

A influência do pH é muito abordada na literatura, uma vez que a prodigiosina é um pigmento muito sensível e instável às suas variações. A mudança de cor do pigmento está intimamente

relacionada com o pH, a pH's ácidos muda para azul-roxo e a pH's alcalinos para laranja-amarelo, contudo é um processo reversível (Vaidyanathan *et al.*, 2012; Kramar *et al.*, 2014). De modo a analisar a influência do pH, realizaram-se dois ensaios onde se fez variar o pH em 4 (ácido) e 8,3 (alcalino). Para realizar estes ensaios escolheram-se três condições: Controle (tingimento com prodigiosina sem auxiliares de tingimento); L-Cys (tingimento com prodigiosina e adição de 3%(m/m) de L-Cys em mordentagem simultânea) e Sulfato Ferroso (tingimento com prodigiosina e adição de 3%(m/m) de Sulfato Ferroso em mordentagem simultânea).

#### 4.1.3.1. pH=4

A escolha deste pH ácido está relacionada com o pH do banho após a adição do Sulfato Ferroso. Logicamente, este pH favorece o tingimento do mordente metálico relativamente às restantes amostras, na Figura 18 estão apresentadas as imagens das amostras.

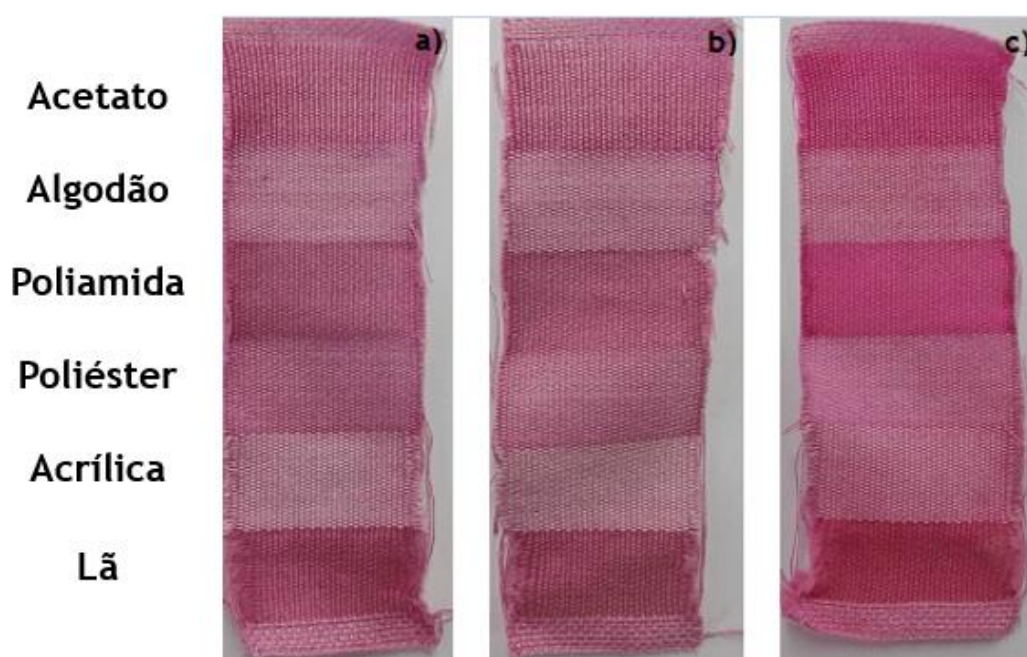


Figura 18: Influência do pH ácido no tingimento. a) Tingimento apenas com prodigiosina; b) Tingimento com prodigiosina e adição de 3% (m/m) L-Cys e c) Tingimento com prodigiosina e adição de 3% (m/m) Sulfato Ferroso.

Com base na Figura 18, conseguiu-se denotar que este pH não favoreceu em nenhum ponto o tingimento das amostras de Controle (tingimento com prodigiosina sem adição de auxiliares) e de L-Cys (Tingimento com prodigiosina e adição de 3% (m/m) L-Cys), contrariamente à amostra de Sulfato Ferroso (Tingimento com prodigiosina e adição de 3% (m/m) Sulfato Ferroso), como

era esperado. A mudança de cor com o pH, era outro fator previsível neste tingimento, pois como referido anteriormente a prodigiosina em pH ácido altera a sua cor para azul-roxo (Vaidyanathan *et al.*, 2012; Kramar *et al.*, 2014). Nas amostras a) e b) da Figura 18, observa-se isso mesmo, um tingimento ineficiente com uma tonalidade mais próxima do roxo, as fibras apresentam oxidação e o tingimento é heterogéneo. O tingimento destas multifibras nestas condições torna-se inviável, contudo é fulcral analisar os dados quantitativos da intensidade colorística e das diferenças de cor, da Tabela 14.

Relativamente à multifibra tingida com 3%(m/m) de Sulfato Ferroso, há maior intensidade colorística, menor oxidação, tingimento mais eficiente na generalidade das fibras e a gama de cor continuou no rosa.

As fibras de acrílica pela primeira vez neste trabalho adsorveram cor e segundo Alihosseini *et al.*, 2008, esta ocorrência está relacionada com o facto da prodigiosina em pH ácido se comportar como um corante catiónico devido ao seu grupo terminal -NH. Nestas situações determinadas fibras como a poliamida, lã, acetato e acrílica são favorecidas, principalmente as fibras de acrílicas que são comumente tingidas por esta gama de corantes (Cegarra, Puente e Valdeperas, 1992).

Na Tabela 14 encontram-se os dados espectrofotométricos do tingimento a pH ácido.

**Tabela 14: Valores de K/S e dE a pH 4.**

		K/S	dE
<b>Controlo</b>	Acetato	1,71	1,21
	Algodão	0,86	0,83
	Poliamida	1,73	1,01
	Poliéster	1,10	0,41
	Acrílica	0,57	0,17
	Lã	2,33	0,70
<b>L-Cisteína</b>	Acetato	1,53	1,16
	Algodão	0,83	0,80
	Poliamida	1,59	1,00
	Poliéster	0,97	0,33
	Acrílica	0,61	0,15
	Lã	2,04	0,84
<b>Sulfato Ferroso</b>	Acetato	3,81	0,19
	Algodão	1,46	0,62
	Poliamida	3,30	0,13
	Poliéster	1,11	0,22
	Acrílica	1,04	0,23
	Lã	3,22	0,35

Este tingimento a pH ácido mostrou ser vantajoso para o mordente metálico, como esperado. As fibras apresentaram intensidades colorísticas elevadas, à exceção do acetato e da poliamida, foram os valores mais altos de K/S analisados até então. A principal ajuda do pH ácido foi proporcionar um tingimento mais eficiente ao mordente metálico, aumentando a sua

solubilidade e melhorando a sua igualização, resultados semelhantes foram relatados por Uddin, 2014.

A inviabilidade deste tingimento a pH ácido para as amostras de Controlo e L-Cisteína, comprova-se com os valores elevado de dE que se traduzem numa menor igualização de tingimento. A pH ácido a L-Cys apresentou oxidação e estes resultados encontram-se de acordo com Koch e Fränz, 1960 que afirmam que em meios ácidos a L-Cys sofre auto-oxidação.

As fibras acrílicas como esperado após a visualização da Figura 18, obtiveram neste ensaio os seus valores mais altos de intensidade colorística, evidenciando que este tingimento, nestas condições criou maior afinidade entre a prodigiosina e a fibra. Apesar de serem valores muito positivos neste trabalho, estes ficam aquém dos resultados de Alihosseini *et al.*, 2008. A possível justificação prende-se com o facto de não se ter usado a mesma estirpe a produtora deste pigmento, neste trabalho usou-se a *S.plymuthica* e no de Alihosseini *et al.*, 2008 uma estirpe marinha, e pode estar também relacionado com o nível de purificação do pigmento se ter usado um extrato bruto e Alihosseini *et al.*, 2008 um extrato purificado.

Após este tratamento e discussão de resultados, optou-se por não dar continuidade ao tingimento em pH ácido.

#### **4.1.3.2. pH=8,3**

A escolha deste pH alcalino está relacionada com o pka da L-Cisteína ser de 8,3. Logicamente, este pH favorece o tingimento do bio-mordente relativamente às restantes amostras, na Figura 19 estão apresentadas as imagens das amostras.



Figura 19: Influência do pH alcalino no tingimento. a) Tingimento apenas com prodigiosina; b) Tingimento com prodigiosina e adição de 3% (m/m) L-Cys e c) Tingimento com prodigiosina e adição de 3% (m/m) Sulfato Ferroso.

Com base na Figura 19, conseguiu-se denotar que este pH favoreceu o tingimento todas as amostras, Controlo (tingimento com prodigiosina sem adição de auxiliares); L-Cys (Tingimento com prodigiosina e adição de 3% (m/m) L-Cys) e Sulfato Ferroso (Tingimento com prodigiosina e adição de 3% (m/m) Sulfato Ferroso). A mudança de cor com o pH, era um fator previsível neste tingimento, como referido anteriormente a prodigiosina em pH alcalino altera a sua cor para laranja-amarelo (Vaidyanathan *et al.*, 2012; Kramar *et al.*, 2014), todavia não aconteceu, uma vez que o pH igual a 8,3 não é considerado alcalino extremo, logo a variação de pH 7 para 8,3 não influenciou a tonalidade dos tingimentos. Nas amostras a) e b) da Figura 19, observa-se isso mesmo, um tingimento eficiente e muito similar, as fibras não apresentam oxidação e o tingimento é homogêneo. Relativamente à multifibra c) o tingimento foi mais eficiente e homogêneo, contudo a oxidação aumentou, principalmente nas fibras de poliamida e lã. Não se denotam grandes diferenças comparativamente ao tingimento em pH neutro, pois a variação de pH é muito pequena.

Na Tabela 15 encontram-se os dados espectrofotométricos do tingimento a pH alcalino.

Tabela 15: Valores de K/S e dE a pH 8,3.

		K/S	dE
<b>Controlo</b>	Acetato	0,51	0,11
	Algodão	0,90	0,17
	Poliamida	1,87	0,09
	Poliéster	0,95	0,12
	Acrílica	0,24	0,17
	Lã	2,38	0,25
<b>L-Cisteína</b>	Acetato	0,58	0,11
	Algodão	0,97	0,13
	Poliamida	2,30	0,05
	Poliéster	0,97	0,11
	Acrílica	0,26	0,11
	Lã	2,49	0,27
<b>Sulfato Ferroso</b>	Acetato	1,01	0,12
	Algodão	1,21	0,23
	Poliamida	3,67	0,11
	Poliéster	1,28	0,26
	Acrílica	0,42	0,20
	Lã	3,11	0,33

Este tingimento mostrou-se vantajoso para todas as condições. Tanto as fibras do Controlo como as da L-Cys não obtiveram os seus melhores resultados de igualização, contudo obtiveram os seus valores máximos de intensidade colorística. Os pH's mais altos, favorecem as propriedades espectrofotométricas das fibras tingidas com prodigiosina e com a adição de L-Cys, o que se encontra de acordo com os trabalhos de Zhong et al. 2006, que afirmam que a pH básico há maior probabilidade da L-Cys ionizar. O tingimento com o Sulfato Ferroso, contrariamente ao esperado obteve um tingimento muito eficiente, obtendo os valores mais baixos de dE e aumentando os níveis de igualização. Porém, as fibras de lã e poliamida apresentaram uma oxidação muito forte, resultante de uma elevada adsorção à superfície.

A escolha das condições ideais para este tingimento dependem igualmente da intensidade colorística com da uniformidade dos tintos, deste modo, decidiu-se dar continuidade ao processo com estas condições a pH ligeiramente alcalino e tentar superar as desvantagens numa etapa posterior.

#### 4.1.4. Seleção da fibra têxtil

A multifibra usada era constituída por seis fibras diferentes: acetato; algodão; poliamida; poliéster; acrílica e lã. Apesar do tingimento ser o mesmo para todas, o desempenho não teve o mesmo comportamento, pelo que se procedeu à escolha da fibra que melhor se adaptou ao processo. O acetato e o algodão são fibras celulósicas, que têm inúmeros canais porosos na sua estrutura, o que facilita a dispersão do corante, diminuindo desta forma a afinidade do

pigmento por elas. Com as fibras químicas acontece o contrário, pois têm uma estrutura cristalina organizada, o que dificulta a formação de poros para a entrada dos corantes, quando as temperaturas são inferiores às respectivas temperaturas no estado vítreo (Kramar *et al.*, 2014). Todavia o comportamento das duas fibras foi distinto, o acetato teve um comportamento muito pouco eficiente, não adsorveu corante, fazendo com que o seu tingimento fosse nulo ou muito baixo, enquanto que o algodão conseguiu adsorver uma quantidade superior de corante e assim, adquirir uma tonalidade rosa clara. Este comportamento do algodão e a sua baixa firmeza de cor é confirmada pelos estudos de Alihosseini *et al.*, 2008; Vaidyanathan *et al.*, 2012; Liu *et al.*, 2013 e a pouca afinidade da prodigiosina pelo algodão é também confirmada pelos estudos de Ren *et al.*, 2016. A poliamida obteve o tingimento mais eficiente, elevada adsorção de pigmento, excelente firmeza e profundidade de cor, excelentes resultados de K/S e de dE. Independentemente das condições testadas, todas estas características estão de acordo com os estudos de Alihosseini *et al.*, 2008; Liu *et al.*, 2013; Kramar *et al.*, 2014. O poliéster obteve um comportamento muito semelhante ao do algodão, tonalidades suaves e o aumento da sua taxa de tingimento é diretamente proporcional ao aumento da temperatura de tingimento, como se observa pela Tabela 9 e é fundamentado por Ren *et al.* 2017 e Shen & Yang 2013. Das características gerais desta fibra destacam-se a sua resistência a ácidos e bases, bem como a oxidantes e redutores, desta forma, a sua tonalidade permanece suave e não existem grandes variações de propriedades calorimétricas (Cegarra, Puente e Valldeperas, 1992). O rendimento tintorial da acrílica é muito baixo, não adsorveu praticamente nenhum pigmento, não adquirindo tonalidade rosa, devendo-se principalmente ao seu caráter hidrófobo. A eficiência deste tingimento pode ser alterada se trabalharmos a temperaturas mais altas e a pH ácido como foi relatado por Alihosseini *et al.*, 2008; Liu *et al.*, 2013 e observável pelas Tabelas 9, 14 e 15. A lã obteve o rendimento eficiente, adsorvendo a quantidade máxima de pigmento, elevados valores de K/S, tonalidade mais profunda, características concordantes com as propostas por Alihosseini *et al.* 2008; Vaidyanathan *et al.* 2012 e Chauhan *et al.* 2015. Contudo, a máxima adsorção encadeou à formação de oxidação, fazendo com que a eficiência e igualização do tingimento diminuísse.

Efetivamente, a prodigiosina mostrou maior afinidade pelas fibras de lã e poliamida, desencadeando tingimentos de qualidade. A escolha da fibra têxtil ideal para este tingimento depende da intensidade colorística, da igualização dos tintos e também das propriedades de solidez. Assim optou-se por testar as solidez à lavagem doméstica e industrial das duas fibras, em diferentes condições: Controlo (tingimento das fibras com prodigiosina sem adição de auxiliares); L-Cys (tingimento das fibras com prodigiosina com adição de 3%(m/m) de L-Cys, em mordentagem simultânea) e Sulfato Ferroso (tingimento das fibras com prodigiosina com adição de 3%(m/m) de Sulfato Ferroso, em mordentagem simultânea). Os resultados encontram-se na Tabela 16.

Tabela 16: Solidez da Lã e da Poliamida à lavagem doméstica e industrial.

	$\Delta L^*$	$\Delta a^*$	$\Delta b^*$	$\Delta E^*$	Índices de Solidez
					$\Delta cor$
Prodigiosina + Poliamida	1,52	1,53	3,73	4,31	3
Prodigiosina + Lã	3,34	-4,37	1,93	5,83	2-3
L-Cys + Poliamida	1,66	-0,77	2,64	3,21	3
L-Cys + Lã	3,31	-6,56	2,86	7,88	2
Sulfato Ferroso + Poliamida	1,38	0,73	4,69	4,94	2-3
Sulfato Ferroso + Lã	7,26	-2,39	1,42	7,77	2

Nota: Os índices de solidez são indicados por números. O número “1” representa o grau mais baixo e o “5” o grau mais alto. Os graus intermédios são demonstrados como 1-2; 2-3; 3-4; 4-5. Na avaliação da  $\Delta cor$ , o grau é relativo ao  $\Delta E^*$ , conforme a ISO 105-A02, e referente à alteração de cor da poliamida e da lã.

A poliamida obteve melhores índices de solidez comparativamente à lã. As variações de cor entre o pré e o pós ciclo de lavagem, evidenciam que a lã retinha elevadas quantidades de pigmento à superfície, o que torna o tingimento menos eficiente. Vaidyanathan *et al.*, 2012; Chauhan, Dalsaniya e Pathak, 2015 relataram a fraca solidez à lavagem por parte das fibras de lã quando tingidas com prodigiosina.

Tendo em conta a intensidade colorística, a igualização e a solidez à lavagem, a poliamida foi a fibra têxtil selecionada para dar continuidade a este processo.

## 4.2. Otimização das condições de tingimento e avaliação das propriedades tintoriais

Esta etapa da primeira otimização das condições de tingimento e avaliação das propriedades tintoriais, realizou-se com oito condições distintas: Controlo (tingimento com prodigiosina sem adição de auxiliares); L-Cys (tingimento com prodigiosina com adição de 3%(m/m) de L-Cys, em mordentagem simultânea) e Sulfato Ferroso (tingimento com prodigiosina com adição de 3%(m/m) de Sulfato Ferroso, em mordentagem simultânea); Controlo a pH 8,3; L-Cisteína a pH 8,3; Sulfato Ferroso a pH 8,3; Controlo com etanol (solubilização do pigmento em 10% de etanol) e L-Cys com etanol, condições selecionadas nas etapas anteriores deste trabalho. Neste ponto, o tingimento foi avaliado com base em quatro ensaios, onde as características espectrofotométricas foram novamente avaliadas, mas numa vertente distinta: através das coordenadas CIELab, ensaios de Solidez do tinto à lavagem doméstica e industrial, à fricção seca e húmida, e por fim através da determinação da resistência à abrasão.

### 4.2.1. Medição de cor espectrofotométrica- Sistema CIELab

O sistema CIELab foi criado para representar as coordenadas calorimétricas de uma forma simples e adequada. Cada coordenada fornece informações específicas sobre uma determinada cor. De forma a completar as informações das cores obtidas, analisou-se também a igualização dos tintos, com os valores de dE. Os valores são apresentados na Tabela 17 e na Figura 20 estão apresentadas as amostras tingidas nas condições selecionadas.

Tabela 17: Coordenadas Calorimétricas- CIELab.

Amostra	CIELab					dE
	L*	a*	b*	C*	h°	
Controlo	77,44	40,28	-3,10	40,40	355,60	0,04
L-Cys	81,56	31,23	-1,01	31,25	358,15	0,03
Sulfato Ferroso	73,25	27,44	4,01	27,73	8,32	0,09
Controlo pH 8,3	78,26	34,93	-2,36	35,01	356,14	0,08
L-Cys pH 8,3	81,45	30,15	-0,85	30,16	358,39	0,06
Sulfato Ferroso pH 8,3	73,04	35,06	4,59	35,36	7,45	0,11
Controlo com Etanol	80,61	44,10	-1,46	44,13	358,10	0,03
L-Cys com Etanol	81,87	36,24	-1,39	36,27	357,80	0,01

Assim, este estudo serviu para melhor detetar e fundamentar diferenças não perceptíveis a olho nú, tendo por base a Tabela 17 e a Figura 20.

Relativamente à coordenada  $L^*$ , o pH não foi um parâmetro influenciador relativamente ao Controlo, pois os valores foram todos relativamente semelhantes. Por outro lado, a adição de mordentes criou um efeito influenciador, porque fez com que a L-Cys obtivesse as tonalidades mais claras (valores mais altos de  $L^*$ ,  $L^*=81,56$ ;  $81,45$  e  $81,87$ ) e com que o Sulfato Ferroso se destacasse com as tonalidades mais escuras (valores mais baixos de  $L^*$ ,  $L^*=73,25$  e  $73,04$ ). Em relação à coordenada  $a^*$ , como era expectável os valores foram todos positivos, aproximando-se da cor vermelha. Desta vez o pH interferiu, criando uma maior semelhança de valores a pH ligeiramente alcalino. O controlo obteve o valor de  $a^*$  mais elevado, sendo desta forma, uma cor mais vermelha que as restantes. As maiores diferenças de valores foram observadas na coordenada  $b^*$ . O Sulfato Ferroso afetou mais que qualquer outro parâmetro esta coordenada, pois fez com que os seus valores fossem os únicos positivos, aproximando-se da cor amarela. O Controlo foi a cor com maior quantidade de amarelo, desta forma, os ensaios com o mordente metálico fizeram com que fossem os mais desiguais do objetivo. Repetidamente, a solubilização da prodigiosina com etanol, tornou o Controlo com etanol mais claro; mais vermelho; mais azul comparativamente ao Controlo e tornou a L-Cys mais clara; menos vermelha; menos azul. Nestas duas condições, conseguimos obter maior igualização de cor nas duas amostras, tornando-as muito idênticas, característica que sempre foi desejada e pretendida.

Quanto maior for o valor de  $C^*$ , maior a pureza ou intensidade da cor, e neste caso a adição de mordentes só influenciou negativamente em comparação às restantes amostras. Finalmente, em relação ao  $h$ , o ângulo de tonalidade, que varia entre  $0^\circ$  e  $380^\circ$ , o mordente metálico distanciou-se, situando-se noutra quadrante, obtendo assim uma tonalidade bastante diferenciada dos restantes (Cegarra, Puente e Valldeperas, 1992; Guaratini, C.C.I; Zaroni, 2000).

Relativamente à Figura 20, verifica-se que o mordente metálico tinge a poliamida com uma tonalidade mais escura e que o bio-mordente torna a tonalidade mais clara. As tonalidades obtidas com o Sulfato Ferroso são as mais distintas comparativamente ao Controlo e às restantes condições, são mais roxas/violetas e isso deve-se à maior percentagem de tom azul, aumento da coordenada  $b^*$ . A solubilização da prodigiosina com etanol tornou o tingimento visivelmente homogéneo.

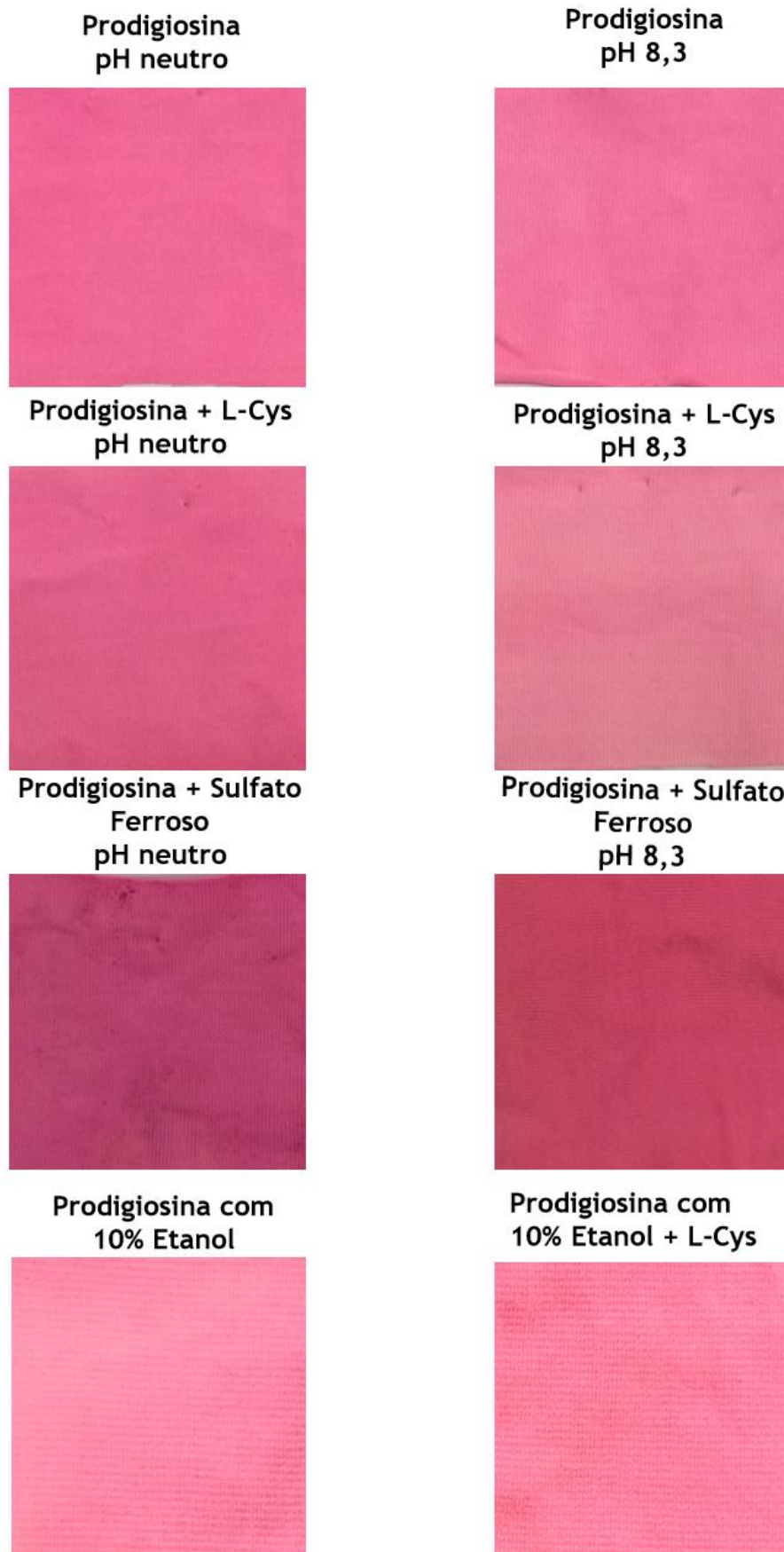


Figura 20: Amostras de poliamida tingidas nas condições selecionadas.

## 4.2.2. Solidez do tinto à lavagem doméstica e industrial

Os resultados da solidez do tinto à lavagem doméstica e industrial das amostras de poliamida tingidas com prodigiosina, com e sem adição de auxiliares de tingimento, encontram-se na Tabela 18.

Tabela 18: Solidez do tinto à lavagem doméstica e industrial.

Amostra	K/S		CIELab				Índices de Solidez		
	Pré lavagem	Pós lavagem	$\Delta L^*$	$\Delta a^*$	$\Delta b^*$	$\Delta E^*$	$\Delta cor$	Manchamento do testemunho	
								Algodão	Lã
Controlo	1,26	0,91	3,30	-5,45	4,00	7,52	2	4-5	5
L-Cys	0,65	0,53	1,53	-2,18	2,41	3,59	3	4-5	5
Sulfato Ferroso	1,04	0,62	8,51	2,88	-3,50	9,64	1-2	4-5	5
Controlo pH 8,3	0,96	0,60	3,04	-2,87	3,37	5,37	2-3	4-5	5
L-Cys pH 8,3	0,63	0,48	1,92	-3,61	2,77	4,94	2-3	4-5	5
Sulfato Ferroso pH 8,3	1,43	0,90	6,89	-0,13	-2,63	7,38	2	4-5	5
Controlo com Etanol	1,46	1,21	1,39	-3,08	1,82	3,84	3	4-5	5
L-Cys com Etanol	0,99	0,84	0,66	-0,31	1,84	1,98	4	4-5	5

**Nota:** Os índices de solidez são indicados por números. O número “1” representa o grau mais baixo e o “5” o grau mais alto. Os graus intermédios são demonstrados como 1-2; 2-3; 3-4; 4-5. Na avaliação da  $\Delta cor$ , o grau é relativo ao  $\Delta E^*$ , conforme a ISO 105-A02, e referente à alteração de cor da poliamida. Enquanto que na avaliação do manchamento de testemunho, o grau é refletido pela Escala de Cinzas, conforme a ISO 105-A02, e alusivo aos testemunhos, algodão e lã.

Primeiramente, fez-se a análise dos dados espectrofotométricos, onde se destacaram algumas dissemelhanças. Na generalidade, os valores de K/S são superiores em condições de pH inferior e têm menor variação de K/S após a lavagem. Este facto, pode estar relacionado com a capacidade da poliamida conseguir formar uma ligação salina com a prodigiosina, e a sua estrutura pouco porosa, em que torna mais fácil “aprisionar” o pigmento de uma forma física, estando de acordo com Liu *et al.*, 2013. Os valores de K/S do Sulfato Ferroso aumentaram com o aumento de pH, e este aumento sugere que as moléculas dos corantes são capazes de formar um complexo metálico com metais carregados positivamente, como referido por outros autores

(Uddin, 2014). Segundo Arroyo-Figueroa et al. 2011, a ligação entre a fibra (algodão) e o mordente (Alume), faz-se pela ligação do grupo -OH da celulose aos iões metálicos positivos ( $Al^{+3}$ ), tanto por pontes de hidrogénio como também pela substituição do hidrogénio, formando quelatos com o Al. Este quelato atrai o grupo -OH do corante (ácido cármico), que é uma antraquinona com radical glicosídico, que permite a fixação. Este mecanismo acontece também com outros iões, como o ferro e o cobre. Deste modo, pode-se deduzir que a ligação estabelecida entre a poliamida, que similarmente possui grupo -OH, ao Sulfato Ferroso, ião metálico carregado positivamente, segue o mesmo mecanismo de ação.

O CIELab foi novamente usado e imprescindível para a análise das características e derivadas coordenadas de cor. Os  $\Delta L^*$ ,  $\Delta a^*$  e  $\Delta b^*$  foram calculados em função dos valores da pré e pós da lavagem. Em todos os casos detetaram-se, mais uma vez, diferenças após a lavagem, sugerindo que a solidez do tinto não foi excelente. De forma a conseguir escalonar a solidez, procedeu-se a avaliação do  $\Delta E^*$ , surgindo desta forma, os índices de solidez alusivos à variação de cor ( $\Delta cor$ ). As variações de cores em termos de escala CIELab são obtidas em função da concentração de mordentes, para corantes sintéticos o  $\Delta E^*$  bom é no máximo igual a um, em corantes naturais é  $\Delta E^*$  igual a dois (Arroyo-Figueroa et al., 2011). Os graus de solidez demonstraram que houve perda de cor, desde uma grande perda (grau 1), em que a cor ficou muito alterada, até a uma perda muito pequena, dificilmente detetada (grau 4). Segundo Kramar et al., 2014, no seu trabalho em que tingiu poliamida com extratos brutos de prodigiosina, provenientes de *Streptomyces sp.*, se os  $\Delta E^*$  forem muito superiores a um, significa que houve diferenças entre a cor antes e pós lavagem. Considera o  $\Delta L^*$ , como o parâmetro mais importante, pois fornece maior perceção da profundidade da cor, especialmente no caso de cores que mudam facilmente a tonalidade ( $\Delta a^*$  e  $\Delta b^*$ ) pós a lavagem. Ao analisar segundo este ponto de vista, a solidez à lavagem melhora, mas não se torna perfeita. A adição de mordentes teve dois efeitos contraditórios, pois a L-Cys melhora e o Sulfato Ferroso piora ou mantém a solidez à lavagem.

Enquanto que a solubilização da prodigiosina melhora substancialmente a solidez à lavagem doméstica e industrial. O Controlo com etanol apresentou um índice de solidez de 3, que se traduz por uma perda apreciável de cor, e num aumento significativo comparado ao índice 2 atribuído ao Controlo sem adição de auxiliares. Por sua vez, a L-Cys com etanol apresentou um índice de solidez superior, grau 4; comparativamente superiores aos dados das restantes condições de L-Cys.

Nos trabalhos de Guo et al., 2017; a solidez à lavagem apresentada pelo corante sintético *Acid Red 138* no tingimento da poliamida, foi de 2; e no de Koshimo e Tagawa, 1965, os corantes sintéticos ácidos usados para o tingimento da poliamida apresentaram índices de solidez de 4-5, enquanto que os corantes sintéticos dispersos apresentaram índices de 4. Ao analisar os comportamentos de diferentes corantes sintéticos de cor vermelha, no tingimento de poliamida, conclui-se que o pigmento natural usado nesta investigação consegue acompanhar as necessidades do mercado e até melhorá-las. Os resultados do controlo,  $\Delta E^*$  superior a 3 e  $\Delta L^*$  muito próximos de 1, são concordantes com os obtidos por Kramar et al., 2014, que tingiram

poliamida com extratos brutos de prodigiosina proveniente de *Streptomyces sp.*, os quais foram considerados de muito bons pelos autores. Através desta analogia criada por Kramar *et al.*, 2014, consegue-se provar que o ensaio da L-Cys com Etanol apresentou uma resistência à lavagem superior ao que já foi descrito.

Os índices de solidez relativos ao manchamento dos testemunhos, algodão e lã, foram muito bons (4-5: mancha praticamente não detetável) e excelentes (5: sem qualquer tipo de mancha no testemunho), respetivamente.

### 4.2.3. Solidez do tinto à fricção seca e húmida

A solidez do tinto à fricção a seco e a húmido pode ser considerada muito boa para a generalidade das amostras tingidas com prodigiosina, com ou sem auxiliares de tingimento. Os dados estão demonstrados na Tabela 19.

**Tabela 19: Solidez do tinto à fricção seca e húmida.**

Amostra	Solidez à Fricção	
	Seco	Húmido
Controlo	4-5	4-5
L-Cys	4-5	4-5
Sulfato Ferroso	4-5	4-5
Controlo pH 8,3	4-5	4-5
L-Cys pH 8,3	4-5	4-5
Sulfato Ferroso pH 8,3	4-5	4-5
Controlo com Etanol	4-5	4-5
L-Cys com Etanol	4-5	4-5

**Nota:** Os índices de solidez são indicados por números. O número “1” representa o grau mais baixo e o “5” o grau mais alto. Os graus intermédios são demonstrados como 1-2; 2-3; 3-4; 4-5. Na avaliação das duas solidez à fricção, seca e húmida, o grau é refletido pela Escala de Cinzas, conforme a ISO 105-A02, e alusivo ao testemunho, algodão.

A solidez do tinto à fricção a seco e a húmido apresentou características muito boas, para todas as amostras, obtendo um grau de solidez 4-5, como se pode observar na Tabela 19. A adição de auxiliares de tingimento não afetou a estrutura da fibra, uma vez que a resistência à fricção se manteve constante. Nesses estudos de Ren *et al.*, 2016, 2017 a solidez foi avaliada com o grau 5, esta pequena dessemelhança pode estar relacionada com o grau de purificação do pigmento ou com a própria fibra têxtil, sendo que um grau 4-5 é considerado muito bom. Estes resultados são concordantes com o estudo de Nogueira *et al.*, 2016, em que a seda funcionalizada com L-

Cys apresentou uma resistência à fricção semelhante ao controlo, o que prova que as ligações não afetaram a estrutura da fibra. Similarmente, Räsänen, Nousiainen e Hynninen, 2001, tingiram poliamida com o corante sintético, *CI Disperse Red 60*, e com o corante natural, *Dermocybin*. O corante *CI Disperse Red 60*, apresentou um grau de solidez semelhante ao obtido no presente estudo, enquanto o *Dermocybin* exibiu um grau de solidez mais fraco. Por sua vez, Shams-Nateri *et al.*, 2014, tingiu poliamida com corante natural, *Weld*, e também obteve um grau de solidez mais fraco comparativamente ao atual trabalho. Relativamente a estudos de solidez à fricção com prodigiosina, Ren *et al.*, 2017 e Gong *et al.*, 2019, desenvolveram investigações com nanomicelas de prodigiosina ultra-purificadas em poliéster e obtiveram um índice de solidez de 5, a diferença irrisória em relação a este estudo, poderá estar relacionada com a diferente fibra, bem como com o nível de purificação.

Em suma, pode-se concluir que as duas condições que deverão prosseguir neste processo são o Controlo (tingimento com prodigiosina solubilizada com etanol e sem adição de auxiliares) e a L-Cys (tingimento com prodigiosina solubilizada com etanol com adição de 3%(m/m) de L-Cys, em mordentagem simultânea). Nem a variação de pH nem o uso do Sulfato Ferroso se mostraram vantajosos para o processo. Neste caso, o pH de 8,3 obteve piores resultados que o pH neutro e o Sulfato Ferroso para além das desvantagens de solidez é um mordente metálico com alguma toxicidade associada, sendo contraproducente com o objetivo fulcral de um tingimento *green*.

### 4.3. Condições ótimas

Para fixar as condições otimizadas para o tingimento já por si considerado ótimo, o estudo incidiu sobre as propriedades das fibras, o Controlo (tingimento com solubilização do pigmento em 10% de etanol) e L-Cys (tingimento com solubilização do pigmento em 10% de etanol e adição de 3%(m/m) de L-Cys), que foram selecionadas na etapa anterior, após obterem os melhores resultados. Realizaram-se cinco ensaios de Caracterização e Controlo de Qualidade: Espectroscopia de infravermelhos por transformada de Fourier; Solidez à luz; Determinação da abrasão utilizando o método de Martindale; Determinação da carga e alongamento de rutura e para finalizar avaliou-se a Atividade antibacteriana das amostras.

#### 4.3.1. Espectroscopia de infravermelho por transformada de Fourier- FTIR

Utilizou-se a Espectroscopia de infravermelho por transformada de Fourier- FTIR, de forma a compreender-se os compostos químicos presentes, no controlo, em que a poliamida foi apenas tingida com prodigiosina, e na amostra de L-Cys, em que a poliamida foi tingida com prodigiosina e adição do mordente natural, os resultados estão disponíveis na Figura 21.

Através do FTIR do controlo, é possível distinguir sete picos específicos da prodigiosina. A  $3297,03\text{ cm}^{-1}$  (A), encontra-se um pico visível referente à presença de um composto primário ou secundário; a  $2930,53\text{ cm}^{-1}$  (B) característico de -CH aromático, derivado do alongamento assimétrico dos grupos metilo na estrutura do pigmento; a  $1747,22\text{ cm}^{-1}$  (C), pico relativo a um grupo carbonilo, provavelmente do éster; a  $1632,23\text{ cm}^{-1}$  (D) pico referente às vibrações do estiramento (C=C). Além destes picos, são também visíveis mais, a  $1531,14\text{ cm}^{-1}$  (E); a  $1462,88\text{ cm}^{-1}$  (F) e a  $1267,58\text{ cm}^{-1}$  (G), alusivos aos grupos -NH, -CH e -CN, respetivamente.

Pela análise da Figura 22, podemos concluir que a L-Cys não alterou a estrutura química da poliamida com prodigiosina, os picos são os mesmo, apenas diferem na intensidade, que é superior. A  $1532,63\text{ cm}^{-1}$  (H) é facilmente observável um pico intenso característico da flexão do grupo -NH da amina primária, a  $1372,86\text{ cm}^{-1}$  (I) é também visível um pico relacionado com a deformação angular simétrica do grupo -CH<sub>3</sub>. A presença do aminoácido neste ensaio, não pode ser comprovada, sem a presença do pico característico a  $2599\text{ cm}^{-1}$ , relativo ao alongamento do -SH presente no grupo -CH<sub>2</sub>SH, contudo como já foi discutido apresenta outros picos característicos (Caldeira *et al.*, 2013).

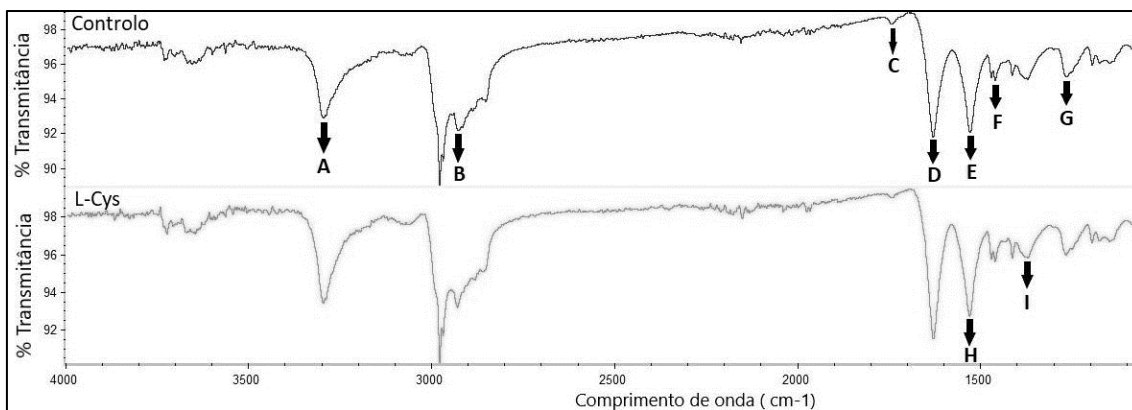


Figura 21: FTIR do Controlo e da L-Cys.

Pela análise do FTIR, consegue-se confirmar a presença de prodigiosina através de sete picos característicos. Esses picos são concordantes com os obtidos por Vaidyanathan *et al.*, 2012, que purificou prodigiosina da *Serratia sakuensis* subsp.; com os de Jissa e Soorej, 2011, que purificou prodigiosina de uma bactéria marinha e com os de Namazkar *et al.*, 2013, que utilizou prodigiosina bruta de *Serratia marcescens*. Por sua vez, não se conseguiu identificar o pico mais característico referente ao alongamento do SH- presente no grupo  $-CH_2SH$  da L-Cys através deste ensaio, mas apresentou os dois picos específicos acima referidos. Estes dados estão de acordo com o trabalho de Caldeira *et al.*, 2013, que funcionalizou fibras celulósicas com a L-Cys.

### 4.3.2. Solidez do tinto à luz

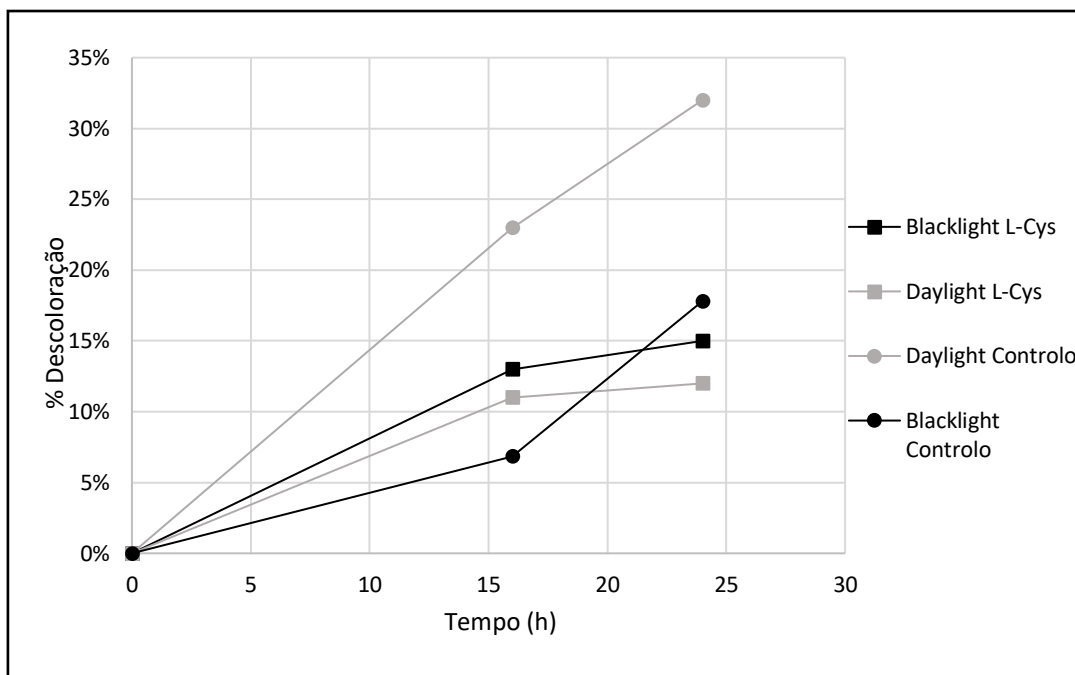
Os resultados obtidos na avaliação da solidez do tinto à luz das amostras, Controlo e L-Cys, irradiadas com *blacklight* e *daylight*, encontram-se representados na Figura 22.

Os resultados descrevem a evolução da degradação da cor das amostras tingidas com prodigiosina, em percentagem em função do tempo de irradiação: 0; 16 e 24 horas.

Pela análise dos resultados obtidos do controlo, Figura 22, pode apurar-se que a solidez à luz é razoável, pois as percentagens de degradação são valores relativamente baixos, podendo, contudo, considerar-se elevadas para o curto período de 24 horas.

Por outro lado, ao analisar-se a percentagem de descoloração em função do tempo das luzes *daylight* e *blacklight*, comprova-se que a amostra Controlo, irradiada com *daylight* terá uma maior percentagem de descoloração num intervalo de tempo inferior, comparativamente à *blacklight*.

Relativamente à solidez da L-Cys à luz, pode-se afirmar que é maior do que a obtida pelo controlo ao fim das 24 horas; e que a resistência é bastante similar para as duas lâmpadas, embora ligeiramente mais resistente à *daylight*, em virtude do efeito anti-oxidação (poder redutor) da L-Cys.



**Figura 22: Solidez à Luz.**




A prodigiosina é um pigmento fotossensível, como já foi comprovado por Ryazantseva *et al.*, 1995 e Someya *et al.*, 2004, em que a luz visível afeta diretamente o pigmento, estimulando a sua fototransformação, como também a luz branca e a azul inibem seu crescimento e degradam a sua estrutura química após uma exposição de 36 horas. Shahitha e Poornima, 2012 tingiram algodão com prodigiosina proveniente da *Serratia marcescens*, e concluíram que as fibras foram sensíveis à secagem com luz solar após o tingimento. Chauhan, Dalsaniya e Pathak, 2015, tingiram algodão e lã com prodigiosina produzida por *Serratia* sp.KH-1 e não obtiveram bons graus de solidez à luz, pois houve grandes variações nas tonalidades comparativamente às fibras iniciais sem exposição à luz. Poliamida tingida com prodigiosina proveniente da *Serratia marcescens*, após a exposição solar intensa foi rapidamente decomposta. A luz solar e em especial a luz UV geram energia suficiente para destruir a estrutura do pigmento (Liu *et al.*, 2013). Todos os estudos anteriores, relataram desbotamento e degradação da cor das fibras tingidas com prodigiosina, quando em exposição à luz. A solidez de poliamida tingida com corantes dispersos à base de ácido Monoazo, apresentou índices baixos, demonstrando a fraca resistência à luz (Sadeghi-Kiakhani *et al.*, 2011). Nos estudos de Räisänen, Nousiainen e Hynninen, 2001, tingiu-se poliamida com dois corantes naturais *Emodin* e *Dermocybin*, e com um sintético, *CI Disperse Red 60*, os resultados dos primeiros foram mais fracos relativamente ao último. Comparativamente aos resultados deste trabalho, os corantes naturais obtiveram maior nível de semelhança, contudo este apresentou menor degradação da cor. A L-Cys enquanto reagente é sensível à luz e deve estar armazenada num local fresco e escuro, todavia é considerado um agente redutor, anti-oxidante com propriedades de boa resistência à luz (Dudman *et al.*, 1996; Welin, Weber and Hilbi, 2019). Tendo por base estes mesmos resultados,

propõe-se que a L-Cys oxida e forma a cistina, que é mais suscetível à luz UV e menos às restantes luzes (Kerwin and Remmele Jr., 2007), deste modo, há uma percentagem de descoloração inferior à do Controlo. Segundo Koch e Fränz, 1960, a L-Cys é mais suscetível à luz escura, esta afirmação enquadra-se perfeitamente nos resultados obtidos nesta investigação. Apesar disso, a adição de L-Cys melhorou visivelmente a resistência das fibras à exposição de luzes, a diferença entre os resultados obtidos na *daylight* e na *blacklight* é ínfima, e ambos são inferiores aos obtidos pelo Controlo, o que justificam a sua aplicação e tornam os resultados deste trabalho inovadores e de sucesso no que se refere à obtenção de um tingimento de qualidade.

### **4.3.3. Determinação de resistência à abrasão utilizando o método de Martindale**

A determinação de resistência à abrasão utilizando o método de Martindale foi realizada para as condições ótimas. Realizaram-se três ensaios para cada amostra, de forma a que haja maior rigor no tratamento dos resultados, pois a própria fibra têxtil pode apresentar algum defeito e isso contribuir para que a resistência à abrasão seja inferior, e esse valor representar um falso-negativo e não a realidade. Assim, ao fazerem-se três ensaios e utilizar a média, o rigor aumenta e aumenta a perceção sobre a fibra. Nestes ensaios, todas as fibras obtiveram boa resistência à abrasão e em termos visuais as fibras também apresentam diferenças pouco detetáveis. A poliamida sem tratamento evidenciou uma maior resistência à abrasão do que as restantes, o que se pode concluir que o tingimento modificou a estrutura da fibra e enfraqueceu a sua resistência, como é recorrente após os normais tratamentos químicos, como o tingimento, nas fibras têxteis (Cegarra, Puente e Valldeperas, 1992). A L-Cys exibiu maior resistência à abrasão comparativamente ao Controlo, suportando em média 40300 ciclos, mesmo apresentando um ensaio relativamente mais fraco (18000 ciclos), que pode também estar relacionado com o estado da própria fibra. Os resultados dos ensaios do controlo são mais concisos, contudo inferiores, como se pode observar na Tabela 20. Pelas fotografias apresentadas na Tabela 20, consegue-se visualizar a formação de pilling na superfície das fibras, causado pelo desgaste.

Tabela 20: Determinação de resistência à abrasão utilizando o método de Martindale.

	Nº de ciclos (3 ensaios)	Média do nº de ciclos	Fotografias
<b>Poliamida</b>	51500; 58500; 60700	56900	
<b>Poliamida + Prodigiosina</b>	23000; 37000; 41500	33833	
<b>Poliamida + Prodigiosina + L-Cys</b>	18000; 48000; 54900	40300	

Relativamente à resistência à abrasão utilizando o método de Martindale, todas as fibras apresentaram valores positivos. A pH relativamente neutro, a L-Cys pode estabelecer ligação não só com o pigmento, mas como também com a fibra, através da ligação do seu grupo  $-NH_3^+$  ao grupo  $-COO^-$  da poliamida. A L-Cys com o seu grupo  $-S^-$  poderá ligar-se a outro grupo  $-S^-$  de outra L-Cys ligada à poliamida, criando uma ligação de dissulfureto, uma ligação forte e aumentando assim a resistência da fibra. Desta forma há um efeito estabilizador sobre o pigmento e melhora a sua resistência, comparativamente ao controlo, resultado positivo e semelhante ao discutido por Gouveia, Sá e Henriques, 2012, no seu estudo sobre lã funcionalizada com este aminoácido.

#### 4.3.4. Determinação da Resistência à tração e Alongamento de rutura

Os resultados obtidos na determinação da resistência à tração e alongamento de rutura são apresentados na Tabela 21. Neste ensaio as nossas duas amostras, Controlo (tingimento com prodigiosina sem adição de auxiliares) e L-Cys (tingimento com prodigiosina com adição de 3%(m/m) de L-Cys), foram comparadas com a poliamida sem tratamento, de maneira a averiguar se o tratamento influencia as propriedades mecânicas do tecido.

**Tabela 21: Determinação da resistência à tração, % de alongamento e módulo de Young.**

	Resistência à tração (MPa)	Alongamento (%)	Módulo de Young (MPa)
Poliamida	14,41	133,60	10,78
Poliamida + Prodigiosina	18,26	118,70	13,67
Poliamida + Prodigiosina + L-Cys	20,31	100,50	20,21

A poliamida sem tratamento caracteriza-se com uma percentagem de alongamento superior às restantes, o que justifica o menor módulo de *Young*, pois estes relacionam-se diretamente, contudo tem menor resistência à tração (14,41 MPa). A percentagem de alongamento das fibras diminui, à medida que se adiciona o pigmento e o mordente, contrariamente ao módulo de *Young* e à resistência à tração. Na investigação de Needles, Cassman e Collins, 1986, o tingimento de seda e lã com corantes naturais como o Ácido Cármico e Alizarina, sofreu alterações nas suas propriedades elásticas após a adição de diferentes mordentes. O comportamento da seda com a adição de mordentes é concordante com os resultados da poliamida com L-Cys no que se refere à percentagem de alongamento, uma vez que a fibra tingida e com mordente obteve menor percentagem comparativamente à fibra sem tratamento. Enquanto que a resistência à tração da poliamida com L-Cys é semelhante com o comportamento da lã com mordentes, pois as fibras não tratadas têm uma resistência inferior às fibras tingidas e com mordentes. De acordo com os estudos de Elnagar, Elmaaty e Raouf, 2014, as fibras de poliamida e poliéster tingidas com Açafrão e Curcumina num processo “*eco-friendly*” obtiveram resultados mais baixos de resistência à tração e percentagem de alongamento comparativamente as fibras sem tingimento, em parte estes resultados são concordantes com os deste estudo, contudo o processo “*eco-friendly*” desta investigação obteve melhores resultados. O algodão tingido com nanomicelas de prodigiosina purificada revelou menor resistência à tração comparativamente ao algodão não tratado, esta resistência está relacionada com os valores de pH do banho, estes resultados são apresentados por Gong *et al.*, 2017. A diferença da resistência não é muito evidente com o aumento do pH, porém houve sempre alterações. Comparativamente ao presente estudo, pode-se afirmar que a resistência à tração diminui com os tingimentos, independentemente de ser tingida com prodigiosina extremamente purificada ou com extrato bruto. As combinações de poliamida e polipropileno, com diferentes proporções de componentes, tingidas com *C.I. Disperse Yellow*

3, exibidas na investigação de Asiaban e Moradian, 2012, apresentam valores de resistência à tração (MPa) semelhantes aos deste estudo, no entanto, as percentagens de alongamento são consideravelmente menores. Nos trabalhos de Nogueira *et al.*, 2016, a adição de L-Cys na seda aumentou a resistência à tração (N) comparativamente à fibra não tratada, por via das ligações dissulfureto que se estabelecem e que diminuem o alongamento mas aumentam a resistência. Desta forma, mais uma vez a utilização da L-Cys como biomordente, melhora as propriedades dos materiais sendo, assim, recomendada a sua utilização.

#### 4.3.5. Avaliação da Atividade Antibacteriana

A avaliação da atividade antibacteriana da poliamida tingida com prodigiosina, Controlo (tingimento com prodigiosina sem adição de auxiliares) e L-Cys (tingimento com prodigiosina com adição de 3%(m/m) de L-Cys), foi realizada usando duas bactérias, *S.aureus* (gram-positiva) e *P.aeruginosa* (gram-negativa) com incubação de 24 horas.

Pela análise dos resultados apresentados na Figura 23, denota-se um efeito inibidor positivo contra as duas estirpes. Os dois têxteis apresentaram maior eficácia na redução de crescimento da bactéria gram-positiva, 79% para a amostra de L-Cys e 67% para o controlo. Enquanto que os valores de inibição para a bactéria gram-negativa foram menores, 60% para a L-Cys e 57% para o controlo. A poliamida tingida com prodigiosina e com a adição de L-Cys, apresentou maior eficácia na atividade antibacteriana comparativamente ao controlo, sem adição de mordentes.

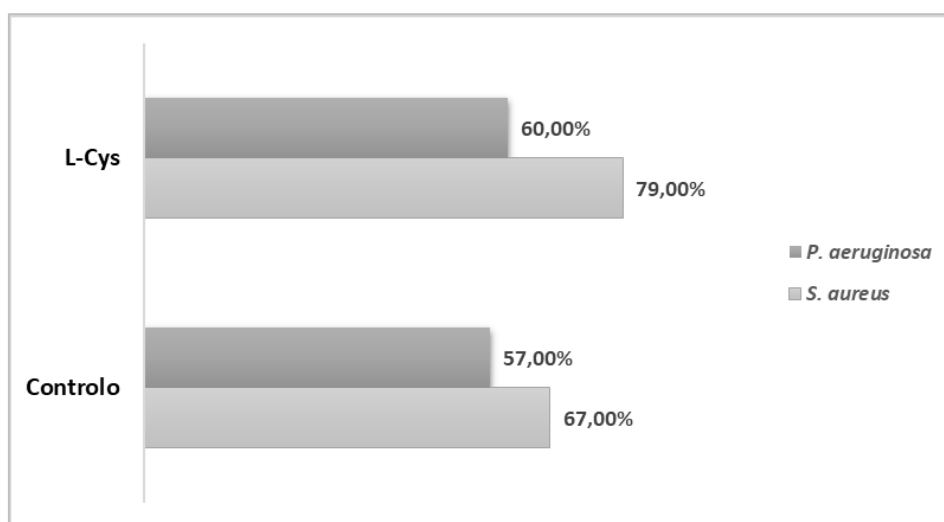


Figura 23: Atividade Antimicrobiana.

Segundo Ren *et al.*, 2017, a prodigiosina tem capacidade de induzir a produção de lisinas nas células de bactérias gram-positivas, fazendo com que ocorra a lise e conseqüentemente a morte celular. Contudo não conseguem provocar o mesmo nas gram-negativas, apenas conseguem impedir a síntese de RNA e proteínas, a divisão celular, a integridade da membrana e a respiração celular. Esse trabalho de Ren *et al.*, 2017, justifica os resultados obtidos na Figura 24, em que as duas amostras tingidas com prodigiosina, obtiveram maior taxa de inibição de

crescimento bacteriano gram-positivo , 79% e 67%, para a L-Cys e Controlo, respetivamente. A amostra tingida com poliamida e com a adição de L-Cys, obteve o maior poder antibacteriano contra as duas bactérias. Este efeito pode ser explicado tendo em conta o efeito bioativo, resultante da interação dos grupos enxofre (S) presentes nos tiosulfatos com os grupos sulfidril (-SH) das proteínas e das enzimas, que são essenciais para a manutenção das bactérias. Ao estabelecer esta ligação, desencadeia-se inibição e morte celular dos agentes microbianos (Gouveia, 2010). A amostra de L-Cys exibiu uma maior taxa de redução de crescimento bacteriano para a bactéria gram-positiva, 79%. Estes resultados são concordantes com o trabalho de Gouveia et al. 2012, que mostrou que a lã funcionalizada com L-Cys apresentou atividade antibacteriana contra *S.aureus* de 40% e 99%, para 1% e 6% de L-Cys, respetivamente. A lã é quimicamente semelhante à poliamida, deste modo, o desempenho antibacteriano seguiu a mesma lógica. Desta forma, pode-se concluir que a taxa de inibição bacteriana está diretamente relacionada com a concentração de mordentes, como afirmado por Gouveia 2010, Caldeira *et al.*, 2013, Gouveia et al. 2012. Contudo, neste caso não houve níveis de inibição e morte celular tão elevados como seria esperado. Os grupos de enxofre que criam o crosslinking com a fibra, são os mesmos que criam ligação com os grupos sulfidril das bactérias, desta forma os grupos de enxofre já se encontram ocupados e indisponíveis para inibirem e causarem morte celular.

Assim, para além de melhorar propriedades mecânicas e solidez, a L-Cys traz também a vantagem de aumentar a inibição de crescimento bacteriano.

# Capítulo 5

## 5. Conclusão

Os objetivos deste trabalho, tanto o principal como os específicos, foram cumpridos. Desenvolveu-se um tingimento “*eco-friendly*” e eficiente, estudou-se a influência de diferentes parâmetros; otimizou-se as condições de tingimento; avaliou-se os rendimentos tintoriais; as características das fibras como qualidade e propriedades mecânicas, e avaliou-se a atividade antibacteriana.

Das seis fibras que compõem as multifibras foi a poliamida a que apresentou os melhores resultados na globalidade de todos os processos de tingimento testados.

A temperatura influenciou o tingimento e os 60°C mostraram-se mais vantajosos; o pH influenciou extremamente, tanto o ácido como o alcalino, sendo que o pH neutro contribuiu de forma mais homogênea; a adição de sais não se mostrou eficiente nem reprodutível e o etanol melhorou a solubilidade do pigmento.

Usaram-se dois mordentes, um metálico, o Sulfato Ferroso, e a L-Cys como um potencial novo bio-mordente a usar em pigmentos naturais. O Sulfato Ferroso não se mostrou tão eficaz, tingindo as fibras de forma heterogênea e com tom acastanhado e, para além disso, é um mordente tóxico e não amigo do ambiente.

Neste trabalho, usou-se pela primeira vez a L-Cys como bio-mordente no tingimento e revelou ser uma boa solução, natural, não tóxico e melhorou as qualidades de solidez e atividade antibacteriana, para além dos restantes parâmetros de controlo de qualidade das fibras. Relativamente ao processo de mordentagem, a escolha recaiu sobre a mordentagem simultânea, após exibir melhores resultados de K/S e dE, tornando também o processo mais ecológico e potencialmente económico, ao poder ser realizado em menos etapas que requerem água e energia.

A utilização de prodigiosina na sua forma de extrato bruto mostrou-se equiparável tanto à prodigiosina purificada como à utilização de corantes sintéticos em termos de produtos finais, com qualidade de cor, rendimento de tingimento, índices de solidez, com a mais valia da atividade antibacteriana. Em termos de processo, a prodigiosina bruta é economicamente mais sustentável do que a purificada pois o processo é mais barato, com menor número de passos, e as etapas de purificação têm custos relativamente elevados. Comparativamente aos corantes sintéticos, é ambientalmente mais sustentável, menos tóxico e com menor produção de GEE.

Devido à absorção eficiente de pigmento nas fibras de poliamida, bem como às boas propriedades de solidez e mecânicas, sugere-se que este pigmento, e sobretudo a otimização processual a par da utilização do bio-mordente L-Cys, sejam candidatos promissores para um tingimento ambientalmente sustentável num futuro próximo.

## 5.1 Perspetivas Futuras

De forma a melhorar este trabalho e os resultados apresentados seria fulcral melhorar ou realizar os seguintes tópicos:

- Realizar um desenho experimental que permita uma análise de variância dos fatores que condicionam o processo de tingimento, e a construção de modelos preditivos;
- Otimizar este tingimento para outras fibras, fazendo variar outros auxiliares de tingimento;
- Avaliar o ciclo de vida do produto, ao nível ambiental;
- Aumentar a concentração de L-Cys, sem que haja variação de tonalidade, com o objetivo de averiguar se a percentagem de inibição aumenta na mesma proporção da concentração;
- Avaliar a citotoxicidade das fibras têxteis.

# Capítulo 6

## 6. Referências Bibliográficas

- CPMA (2019). Available at: <https://www.pigments.org/advocacy/comments-positions/> (Accessed: 14 October 2019).
- Alessio, R. D. *et al.* (2000) 'Synthesis and Immunosuppressive Activity of Novel Prodigiosin Derivatives', *Journal of Medicinal Chemistry*, 43(13), pp. 2557-2565.
- Alihosseini, F. *et al.* (2008) 'Antibacterial Colorants : Characterization of Prodiginines and Their Applications on Textile Materials', *Biotechnology Progress*, 24, pp. 742-747.
- Arroyo-Figueroa, G. *et al.* (2011) 'Cotton fabric dyeing with cochineal extract: Influence of mordant concentration', *Coloration Technology*, 127(1), pp. 39-46.
- Asiaban, S. and Moradian, S. (2012) 'Investigation of tensile properties and dyeing behavior of various polypropylene/polyamide 6 blends using a mixture experimental design', *Dyes and Pigments*. Elsevier Ltd, 92(1), pp. 642-653.
- Bennett, J. W. and Bentley, R. (2000) 'Seeing Red: The Story of Prodigiosin', *Advances in Applied Microbiology*, 47(5), pp. 1-32.
- Burkinshaw, S. M. (2016) *Physico-chemical Aspects of Textile Coloration*.
- Burkinshaw, S. M. and Kumar, N. (2009) 'The mordant dyeing of wool using tannic acid and FeSO<sub>4</sub>, Part 1: Initial findings', *Dyes and Pigments*, 80(1), pp. 53-60.
- C.K. Venil, C., Akmar, Z. and Azlina, W. (2013) 'Bacterial pigments and their applications', *Process Biochemistry*. Elsevier Ltd, 48(7), pp. 1065-1079.
- Caldeira, E. *et al.* (2013) 'Biofunctionalization of cellulosic fibres with l-cysteine: Assessment of antibacterial properties and mechanism of action against *Staphylococcus aureus* and *Klebsiella pneumoniae*', *Journal of Biotechnology*. Elsevier B.V., 168(4), pp. 426-435.
- Cegarra, J., Puente, P. and Valldeperas, J. (1992) *Dyeing of Textile Materials*. Elibron Classics (Adamant Media Corporation).
- Chauhan, K., Dalsaniya, P. and Pathak, H. (2015) 'Optimization of prodigiosin-type biochrome production and effect of mordants on textile dyeing to improve dye fastness', *Fibers and Polymers*, 16(4), pp. 802-808.
- Choubert, G. (1979) 'Tentative utilization of spirulin algae as a source of carotenoid pigments for rainbow trout', *Aquaculture*, 18(2), pp. 135-143.
- Chowdhury, S. and Das, P. (2011) 'Utilization of a Domestic Waste – Eggshells for Removal of Hazardous Malachite Green from Aqueous Solutions', *Environmental Progress & Sustainable Energy*, 00(00), pp. 1-11.
- Clark, M. (2011) *Fundamental principles of dyeing, Handbook of Textile and Industrial Dyeing:*

*Principles, Processes and Types of Dyes.*

Dawson, T. (2011) 'Progress towards a greener textile industry', *Society of Dyers and Colourists*, 128, pp. 1-8.

Domingo, D. *et al.* (1994) 'Nosocomial Septicemia Caused by *Serratia plymuthica*', *JOURNAL OF CLINICAL MICROBIOLOGY*, 32(2), pp. 575-577.

Dudman, N. P. B. *et al.* (1996) 'Assay of plasma homocysteine: Light sensitivity of the fluorescent 7- benzo-2-oxa-1,3-diazole-4-sulfonic acid derivative, and use of appropriate calibrators', *Clinical Chemistry*, 42(12), pp. 2028-2032.

Dufossé, L. *et al.* (2014) 'Filamentous fungi are large-scale producers of pigments and colorants for the food industry', *Current Opinion in Biotechnology*, 26, pp. 56-61.

DyStar (2017) *Wool dyes / Polyamide dyes / Cellulosic dyes.*

Elahian, F., Moghimi, B., Dinmohammadi, F., Ghamghami, M., Hamidi, M., & Mirzaei, S. A. (2013) 'The Anticancer Agent Prodigiosin Is Not a Multidrug', *DNA AND CELL BIOLOGY*, 32(3), pp. 90-97.

Elnagar, K., Elmaaty, T. A. and Raouf, S. (2014) 'Dyeing of Polyester and Polyamide Synthetic Fabrics with Natural Dyes Using Ecofriendly Technique', *Journal of Textiles*, 2014, pp. 1-8.

ETAD (2019) *Dyes*. Available at: <https://etad.com/en/committees/dyes.html> (Accessed: 14 October 2019).

Giacomelli, F. (2018) *Avaliação das condições de crescimento da Serratia plymuthica para produção de prodigiosina.*

Gong, J. *et al.* (2017) 'pH-Mediated Antibacterial Dyeing of Cotton with Prodigiosins Nanomicelles Produced by Microbial Fermentation', *Polymers*, 468(9), pp. 1-12.

Gong, J. *et al.* (2019) 'Bio-Preparation and Regulation of Pyrrole Structure Nano-Pigment Based on Biomimetic Membrane', *Nanomaterials*, 9(114), pp. 1-14.

Gouveia, I. C. (2010) 'Nanobiotechnology : a new strategy to develop non-toxic antimicrobial textiles in current research , technology and education topics Nanobiotechnology : A new strategy to develop non-toxic antimicrobial textiles', *Current Research, Technology and Education Topics in Applied Microbiology and Microbial Biotechnology*, A.Méndez-V, pp. 407-414.

Gouveia, I. C., Sá, D. and Henriques, M. (2012) 'Functionalization of Wool with L-Cysteine: Process Characterization and Assessment of Antimicrobial Activity and Cytotoxicity', *Journal of Applied Polymer Science*, 124, pp. 1352-1358.

Grifoni, D. *et al.* (2011) 'Dyes and Pigments The role of natural dyes in the UV protection of fabrics made of vegetable fibres', *Dyes and Pigments*. Elsevier Ltd, 91(3), pp. 279-285.

Grimont, F. and Grimont, P. A. D. (2006) 'The Genus *Serratia*', *Annual Review of Microbiology*, 6, pp. 219-244.

- Guaratini, C.C.I.; Zanoni, M. V. . (2000) 'Revisão: Corantes Têxteis', *Química Nova*, 23(1), pp. 71-78.
- Guaratini, C. C. I., Valnice, M. and Zanoni, B. (2000) *CORANTES TÊXTEIS*.
- Guo, B. *et al.* (2017) 'A facile and eco-friendly strategy to prepare synthetic syntans for after-treatment of dyed nylon fabrics', *Dyes and Pigments*, 146, pp. 199-202.
- Harashima, K. *et al.* (1967) 'Prodigiosin-25 C: Isolation and the chemical structure', *Agricultural and Biological Chemistry*, 31(4), pp. 481-489.
- Hussaan, M. *et al.* (2017) 'Microwave-assisted enhancement of milkweed (*Calotropis procera* L.) leaves as an eco-friendly source of natural colorants for textile', *Environmental Science and Pollution Research*. *Environmental Science and Pollution Research*, 24(5), pp. 5089-5094.
- Jissa, G. and Soorej, M. (2011) 'Prodigiosin from marine bacterium: production, characterization and application as dye in textile', *International Journal of Biotechnology and Biochemistry*, 7(1), pp. 155-191.
- Kamel, M. M. *et al.* (2005) 'Ultrasonic assisted dyeing III. Dyeing of wool with lac as a natural dye', *Dyes and Pigments*, 65, pp. 103-110.
- Kanelli, M. *et al.* (2018) 'Microbial production of violacein and process optimization for dyeing polyamide fabrics with acquired antimicrobial properties', *Frontiers in Microbiology*, 9, pp. 1-13.
- Kerwin, B. A. and Remmele Jr., R. L. (2007) 'Protect from Light: Photodegradation and Protein Biologics', *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 96(6), pp. 1468-1479.
- Khanra, S. *et al.* (2018) 'Downstream processing of microalgae for pigments, protein and carbohydrate in industrial application: A review', *Food and Bioproducts Processing*. Institution of Chemical Engineers, 110, pp. 60-84.
- Koch, R. and Fränz, J. (1960) 'Der einfluss des lichtetes und ionisierender strahlung auf die autoxydation von cystein und die reaktion zwischen cystein und 3, 4-benzpyren', *International Journal of Radiation Biology*, 2(4), pp. 383-392.
- Koshimo, A. and Tagawa, T. (1965) 'Relation between physical structure and dyeability of nylon 6 fibers. II. Relation of dyeability to various processing factors in bulky yarn production', *Journal of Applied Polymer Science*, 9(1), pp. 139-149.
- Kramar, A. *et al.* (2014) 'Crude bacterial extracts of two new *Streptomyces* sp. isolates as bio-colorants for textile dyeing', *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 30(8), pp. 2231-2240.
- Lewin, M. *et al.* (2006) *Handbook of Fiber Chemistry 3th Edition*.
- Lichtfouse, E. (2013) *Green Materials for Energy, Products and Depollution*.
- Liu, X. *et al.* (2013) 'Mutant breeding of *Serratia marcescens* strain for enhancing prodigiosin production and application to textiles', *Preparative Biochemistry and Biotechnology*, 43(3), pp.

271-284.

M.Cox, M. and L.Nelson, D. (2008) *Lehninger Principles of Biochemistry*.

Manhita, A. *et al.* (2011) 'Extracting natural dyes from wool-an evaluation of extraction methods', *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 400(5), pp. 1501-1514.

Mapari, S. A. S. *et al.* (2005) 'Exploring fungal biodiversity for the production of water-soluble pigments as potential natural food colorants', *Current Opinion in Biotechnology*, 16(2), pp. 231-238.

Mather, R. R. and Wardman, R. H. (2015) *The Chemistry of Textile Fibres 2nd Edition*.

Mongkhorrattanasit, R. *et al.* (2011) 'UV protection properties of silk fabric dyed with eucalyptus leaf extract', *Journal of the Textile Institute*, 102(3), pp. 272-279.

Morales-Oyervides, L. *et al.* (2017) 'Assessment of the dyeing properties of the pigments produced by *talaromyces* spp.', *Journal of Fungi*, 3(3).

Mouro, C. *et al.* (2014) 'Two surface activation strategies to functionalize cotton fibers with Cys-LC-LL-37 antibacterial peptide', *AATCC Journal of Research*, 1(6), pp. 27-33.

Namazkar, S. *et al.* (2013) 'Production and Characterization of Crude and Encapsulated Prodigiosin Pigment', *International Journal of Chemical Sciences and Applications*, 4(3), pp. 116-129.

Narsing Rao, M. P., Xiao, M. and Li, W.-J. (2017) 'Fungal and Bacterial Pigments: Secondary Metabolites with Wide Applications.', *Frontiers in microbiology*, 8(1113), pp. 1-13.

Needles, H. L. (1986) *Textile fibers, dyes, finishes, and processes : a concise guide*. Noyes Publications.

Needles, H. L., Cassman, V. and Collins, M. J. (1986) 'Mordanted, Natural-Dyed Wool and Silk Fabrics: Light and Burial-Induced Changes in the Color and Tensile Properties', in *Historic Textile and Paper Materials*, pp. 199-210.

Nigam, P. S. and Luke, J. S. (2016) 'Food additives : production of microbial pigments and their antioxidant properties', *Current Opinion in Food Science*. Elsevier Ltd, 7, pp. 93-100.

Nogueira, F. *et al.* (2016) 'Antimicrobial and antioxidant surface modification toward a new silk-fibroin (SF)-l-Cysteine material for skin disease management', *Applied Surface Science*. Elsevier B.V., 364, pp. 552-559.

Numan, M. *et al.* (2018) 'Therapeutic applications of bacterial pigments : a review of current status and future opportunities', *3 Biotech*. Springer Berlin Heidelberg, 8(207), pp. 1-15.

Panesar, R., Kaur, S. and Panesar, P. S. (2015) 'Production of microbial pigments utilizing agro-industrial waste : a review', *Current Opinion in Food Science*. Elsevier Ltd, 1, pp. 70-76.

Papireddy, K. *et al.* (2011) 'Antimalarial Activity of Natural and Synthetic Prodiginines', *Journal of Medicinal Chemistry*, 54(15), pp. 5296-5306.

- Prescott, Harley and Klein (1998) *Microbiology (4th Edition)*.
- Punrattanasin, N. *et al.* (2013) 'Silk fabric dyeing with natural dye from mangrove bark (*Rhizophora apiculata* Blume) extract', *Industrial Crops and Products*. Elsevier B.V., 49, pp. 122-129.
- Quantis (2018) 'MEASURING FASHION', in *Insights from the Environmental Impact of the Global Apparel and Footwear Industries study*, pp. 1-7.
- R.Silva (2007) 'Status of natural dyes and dye-yielding plants in India', *Current Science*, 92, pp. 916-925.
- Räisänen, R., Nousiainen, P. and Hynninen, P. H. (2001) 'Emodin and Dermocybin Natural Anthraquinones as Mordant Dyes for Wool and Polyamide', *Textile Research Journal*, 71(11), pp. 1016-1022.
- Ren, Y. *et al.* (2016) 'Dyeing and antibacterial properties of cotton dyed with prodigiosins nanomicelles produced by microbial fermentation', *Dyes and Pigments*. Elsevier Ltd, 138, pp. 147-153.
- Ren, Y. *et al.* (2017) 'Dyeing and functional properties of polyester fabric dyed with prodigiosins nanomicelles produced by microbial fermentation', *Journal of Cleaner Production*. Elsevier Ltd, 148, pp. 375-385.
- Ryazantseva, I. N. *et al.* (1995) 'Pigment-dependent light influence on the energetics of *Serratia marcescens*', *Thermochimica Acta*, 251, pp. 63-67.
- Sadeghi-Kiakhani, M. *et al.* (2011) 'Dyeing and Fastness Properties of Polyamide Fabrics Using Some Acid-Based Monoazo Disperse Dyes', *Journal of Applied Polymer Science*, 122, pp. 3390-3395.
- Shahitha, S. and Poornima, K. (2012) 'Enhanced production of prodigiosin production in *serratia marcescens*', *Journal of Applied Pharmaceutical Science*, 2(8), pp. 138-140.
- Shaikh, Z. (2016) 'Biosynthesis of Prodigiosin and Its Applications', *IOSR Journal of Pharmacy and Biological Sciences (IOSR-JPBS)*, 11(6), pp. 1-28.
- Shams-Nateri, A. *et al.* (2014) 'Colorimetric Study on Polyamides Dyeing With Weld and Pomegranate Peel Natural Dyes', *Clothing and Textiles Research Journal*, 32(2), pp. 124-135.
- Shen, J. J. and Yang, Y. (2013) 'Kinetics and Thermodynamics Studies of Prodigiosin Dyeing on Polyester', *Advanced Materials Research*, 779-780(4), pp. 156-160.
- Singleton, P. and Sainsbury, D. (2006) *Dictionary of Microbiology and Molecular Biology (3rd Edition)*.
- Sinha, K., Saha, P. Das and Datta, S. (2012) 'Extraction of natural dye from petals of Flame of forest (*Butea monosperma*) flower: Process optimization using response surface methodology (RSM)', *Dyes and Pigments*. Elsevier Ltd, 94(2), pp. 212-216.
- Someya, N. *et al.* (2004) 'Effects of light conditions on prodigiosin stability in the biocontrol

- bacterium *Serratia marcescens* strain B2', *Journal of General Plant Pathology*, 70(6), pp. 367-370.
- Song, M.-J. *et al.* (2006) 'Purification and characterization of prodigiosin produced by integrated bioreactor from *Serratia* sp. KH-95', *Journal of Bioscience and Bioengineering*, 101(2), pp. 157-161.
- Stankovic, N. and Senerovic, L. (2014) 'Properties and applications of undecylprodigiosin and other bacterial prodigiosins', *Applied Microbiology and Biotechnology*, 98(9), pp. 3841-3858.
- Uddin, M. G. (2014) 'Effects of different mordants on silk fabric dyed with onion outer skin extracts', *Journal of Textiles*, 2014, pp. 1-8.
- Vaidyanathan, J. *et al.* (2012) 'Production, partial characterization, and use of a red biochrome produced by *Serratia sakuensis* subsp. nov strain KRED for dyeing natural fibers', *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 166(2), pp. 321-335.
- Vankar, P. S. (2000) 'Chemistry of natural dyes', *Resonance*, 5(10), pp. 73-80.
- De Vleeschauwer, D. and Höfte, M. (2007) 'Using *Serratia plymuthica* to control fungal pathogens of plants', *CAB Reviews: Perspectives in Agriculture, Veterinary Science, Nutrition and Natural Resources*, 2(046), pp. 1-12.
- Welin, A., Weber, S. and Hilbi, H. (2019) 'Quantitative imaging flow cytometry of Legionella-containing vacuoles in dually fluorescence-labeled dictyostelium', in *Methods in Molecular Biology*, pp. 161-177.
- Wells, K. (2013) 'Colour, health and wellbeing: The hidden qualities and properties of natural dyes', *JAIC-Journal of the International Colour Association*, 11(March), pp. 28-36.
- Woodhams, D. C. *et al.* (2018) 'Prodigiosin, Violacein, and Volatile Organic Compounds Produced by Widespread Cutaneous Bacteria of Amphibians Can Inhibit Two Batrachochytrium Fungal Pathogens', *Microbial Ecology*. *Microbial Ecology*, 75(4), pp. 1049-1062.
- Woolverton, C. J., Willey, J. M. and Sherwood, L. M. (2013) *Prescott's Microbiology, 9th Edition*.
- Ye, K. X. *et al.* (2019) 'A Review of Pigments Derived from Marine Natural Products', *Israel Journal of Chemistry*, 59(5), pp. 327-338.
- Yusuf, M., Shabbir, M. and Mohammad, F. (2017) 'Natural Colorants: Historical, Processing and Sustainable Prospects', *Natural Products and Bioprospecting*. Springer Berlin Heidelberg, 7(1), pp. 123-145.
- Zhong, Y., Li, B. and Haynie, D. T. (2006) 'Control of stability of polypeptide multilayer nanofilms by quantitative control of disulfide bond formation', *Nanotechnology*, 17(23), pp. 5726-5734.