

**Universidade do Minho**  
Escola de Ciências

Ana Filipa Ferreira Costa

**Desenvolvimento de têxteis coloridos  
e antimicrobianos, obtidos  
a partir de plantas e cogumelos**

Ana Filipa Ferreira Costa **Desenvolvimento de têxteis coloridos e antimicrobianos, obtidos a partir de plantas e cogumelos**

UMinho | 2017

outubro de 2017



**Universidade do Minho**  
Escola de Ciências

Ana Filipa Ferreira Costa

**Desenvolvimento de têxteis coloridos  
e antimicrobianos, obtidos  
a partir de plantas e cogumelos**

Dissertação de Mestrado  
Mestrado em Biologia Molecular, Biotecnologia e  
Bioempreendedorismo em Plantas

Trabalho realizado sob orientação da  
**Mestre Diana Isabel Azevedo de Sousa**  
e do  
**Professor Doutor Hernâni Varanda Gerós**

outubro de 2017

## DECLARAÇÃO

**Nome:** Ana Filipa Ferreira Costa

**Endereço eletrónico:** anafilipacosta14@gmail.com

**Telefone:** 919493886

**Número do Bilhete de Identidade:** 14522948

**Título da dissertação:** Desenvolvimento de têxteis coloridos e antimicrobianos, obtidos a partir de plantas e cogumelos

**Orientadores:** Mestre Diana Isabel Azevedo de Sousa

Professor Doutor Hernâni Varanda Gerós

**Ano de conclusão:** 2017

**Designação do Mestrado:** Mestrado em Biologia Molecular, Biotecnologia e Bioempreendedorismo em Plantas

DE ACORDO COM A LEGISLAÇÃO EM VIGOR, NÃO É PERMITIDA A REPRODUÇÃO DE QUALQUER PARTE DESTA DISSERTAÇÃO

Universidade do Minho, 10/10/2017

Assinatura:

## AGRADECIMENTOS

Agradeço à minha orientadora na empresa, Mestre Diana Sousa, que esteve presente desde o primeiro dia, apoiando-me e estando sempre disponível.

Agradeço ao meu orientador, professor Doutor Hernâni Gerós, que ao longo do projeto sempre se mostrou interessado e disponível para me ajudar.

Agradeço à Mestre Alice Ribeiro pela disponibilidade prestada na realização dos ensaios e por toda a ajuda e partilha de ideias e conhecimento.

Agradeço aos meus colegas estagiários por todo o apoio e por todos os momentos e risadas partilhadas.

Agradeço aos meus amigos que ao longo do meu percurso estiveram presentes.

Agradeço ao João que para além de me apoiar e estar sempre presente, acreditou em mim e incentivou-me ao longo do meu percurso.

Por fim, agradeço à minha família que sempre foi o meu pilar, agradecendo principalmente aos meus pais, pois sem eles nada disto teria sido possível.



## RESUMO

O setor têxtil é um dos maiores responsáveis pela poluição do ambiente, nomeadamente do ambiente aquático. O processo de tingimento convencional, independentemente do tipo de corantes sintéticos usados, envolve elevados custos a nível de tempo, recursos e energia, para além de ser altamente poluente. Tendo em conta a crescente consciência ecológica da sociedade, nos últimos anos a generalidade das indústrias tem procurado desenvolver soluções tecnológica e economicamente mais sustentáveis e amigas do ambiente. Assim, o presente projeto teve como principal objetivo o desenvolvimento de um processo de coloração ecossustentável, a partir de corantes naturais, do qual resultem malhas têxteis uniformemente coloridas. Paralelamente, através da otimização das condições de extração e coloração dos extratos de plantas e cogumelos em estudo, pretendeu-se dotar os substratos têxteis com propriedades antimicrobianas.

Numa primeira fase, os corantes naturais foram extraídos através de um processo de extração ecossustentável em meio aquoso, sendo as infusões obtidas usadas para a coloração, por esgotamento, de estruturas de malha de diferente composição (lã e algodão). Com o intuito de aumentar a reatividade das fibras têxteis, e assim a sua afinidade para as moléculas de corante, realizaram-se diferentes abordagens, nomeadamente a alteração da superfície têxtil (cationização); utilização de compostos mordentes (alúmen) e de uma enzima oxidoreductase (lacase); para além de reagentes químicos que potenciam a alteração de pH do banho de coloração (ácido acético e carbonato de sódio).

Após o processo de coloração, as propriedades de interesse foram avaliadas, designadamente a cor e a atividade antimicrobiana, e os têxteis que apresentaram melhores resultados foram aqueles que foram tratados com extrato de noqueira.

## PALAVRAS-CHAVE

Biocoloração, corantes naturais, atividade antimicrobiana, algodão, lã



## **ABSTRACT**

Textile industry is one of the main responsible for environmental pollution, especially in the aquatic environment. The conventional dyeing process, regardless of the type of synthetic dyes used, involves high costs in terms of time, resources and energy, in addition to being highly polluting. In consideration of the society's growing ecological awareness, most industries have been developing new solutions, technologically and economically more sustainable. Thus, the main objective of this project was the development of an eco-sustainable dyeing process that would allow uniformly colored textiles. At the same time, through the optimization of the protocols for the extraction of natural pigments from plants and mushrooms, as well as through the improvement of dyeing conditions, was intended to provide antimicrobial properties to the textiles.

Initially, the natural dyes were extracted by an eco-sustainable aqueous extraction method and the infusions obtained were used to dye by exhaustion wool and cotton. In order to increase the reactivity of the textile fibers, as well as their affinity for dye molecules, different approaches were used, namely textile surface modification (cationization); with mordant compounds (alum) and oxidoreductase enzymes (laccase); and addition of chemical reagents, including acetic acid and sodium carbonate, that induced acidification and alkalinisation, respectively of the dyeing bath.

After the dyeing process, the properties like colour and antimicrobial activity were evaluated. The results showed that textiles dyed with walnut extract exhibited the best results.

## **KEYWORDS**

Biocoloration, natural colorants, antimicrobial activity, cotton, wool.





## ÍNDICE

Agradecimentos .....	iii
Resumo.....	v
Abstract.....	vii
Índice de Figuras .....	xiii
Índice de Tabelas.....	xix
Lista de Abreviaturas, Siglas e Acrónimos .....	xxi
1. Enquadramento .....	23
2.1 Indústria têxtil e do vestuário.....	25
2.1.1 Fibras têxteis.....	25
2.2 Tingimento convencional .....	29
2.2.1 Corantes sintéticos .....	30
2.2.2 Desvantagens do tingimento convencional .....	31
2.3 Coloração natural.....	32
2.3.1 Coloração com extratos naturais .....	33
2.3.2 Corantes naturais.....	34
2.3.3 Métodos de extração.....	37
2.3.4 Limitações da coloração natural .....	38
2.3.5 Otimização da coloração natural.....	38
2.4 Cor .....	42
2.5 Têxteis multifuncionais .....	45
2.5.1 Têxteis antimicrobianos.....	46
3. Materiais e Métodos .....	49
3.1 Materiais.....	49
3.2 Processo de coloração.....	51
3.3 Influência da temperatura e do tempo no processo de extração aquosa ..	54
3.4 Influência da adição de alúmen, ácido acético e carbonato de sódio .....	54
3.4.1 Influência da adição de alúmen .....	55
3.4.2 Influência da adição de ácido – ácido acético.....	55

3.4.3	Influência da adição de base – carbonato de sódio.....	56
3.5	Medição do pH .....	56
3.6	Influência da mistura de infusões .....	56
3.7	Influência da adição de enzimas oxidorreduções – lacase .....	57
3.8	Influência do envelhecimento da infusão.....	57
3.9	Propriedades de solidez da cor .....	57
3.9.1	Solidez da cor à luz .....	57
3.9.2	Solidez da cor à lavagem com detergentes .....	58
3.10	Medição das coordenadas de cor e da força colorística (K/S).....	58
3.11	Atividade Antimicrobiana .....	59
3.11.1	Esterilização dos provetes coloridos.....	59
3.11.2	Avaliação da atividade antimicrobiana – método qualitativo .....	59
3.11.3	Avaliação da atividade antimicrobiana – método quantitativo .....	60
4.	Resultados e discussão .....	61
4.1	Coloração com extratos de plantas .....	61
4.1.1	Screening inicial .....	61
4.1.2	Coloração de provetes com tratamento da superfície têxtil .....	63
4.1.3	Coloração com adição de alúmen .....	65
4.1.4	Coloração em condições ácidas .....	67
4.1.5	Coloração em condições alcalinas .....	68
4.1.6	Alterações de pH .....	69
4.1.7	Coloração com adição de lacase .....	71
4.1.8	Influência das misturas de infusões.....	73
4.1.9	Envelhecimento das infusões .....	74
4.2	Coloração com extratos de cogumelos .....	75
4.2.1	Screening inicial e coloração de provetes com tratamento da superfície têxtil.....	75
4.2.2	Coloração com adição de alúmen .....	77
4.2.3	Coloração em condições ácidas .....	78
4.2.4	Coloração em condições básicas .....	79

4.2.5	Alterações de pH .....	80
4.3	Coloração com extrato de bagaço de uva .....	82
4.4	Influência da temperatura e do tempo de extração no processo de coloração.....	83
4.5	Força colorística.....	84
4.5.1	Solidez da cor à luz.....	84
4.5.2	Solidez da cor às lavagens com água.....	88
4.5.3	Solidez da cor à lavagem com detergentes.....	90
4.5.4	Efeito dos diferentes métodos de esterilização dos provetes coloridos.....	92
4.6	Quantificação da atividade antimicrobiana dos substratos têxteis coloridos com diferentes extratos em placa.....	95
4.7	Avaliação quantitativa da atividade antimicrobiana dos provetes coloridos pelo método de contagem de colónias em placa .....	99
5.	Conclusões e perspectivas futuras.....	103
6.	Referências Bibliográficas.....	105
7.	Anexo I.....	109
8.	Anexo II.....	117



## ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1: Representação dos diferentes tipos de fibras naturais e artificiais (Adaptado de Ratnapandian, 2013). .....	26
Figura 2: Esquema representativo da morfologia de microfibrilas de celulose, principal constituinte das fibras de algodão (Adaptado de Taiz e Zeiger, 2010)..	27
Figura 3: Corte transversal de pelo (à esquerda) e composição da queratina (à direita) (Adaptado de Nelson e Cox, 2008). .....	28
Figura 4: Estrutura do corante sintético mauveína (Broadbent, 2001). .....	30
Figura 5: Local ativo da enzima lacase de <i>Bacillus subtilis</i> (Adaptado de Fu et. al, 2012).....	42
Figura 6: Espectro de luz visível, em que o comprimento de onda (nm) aumenta da esquerda para a direita (Adaptado de Gurses et al., 2016). .....	43
Figura 7: Representação dos eixos a*, b* e L* no espaço colorido CIELAB (Adaptado de Broadbent, 2001). .....	44
Figura 8: Extrato de bagaço de uva antes do processo de extração aquosa.....	54
Figura 9: Esquema do método utilizado para expor os provetes coloridos à luz solar recorrendo a uma cartolina com recortes de 1 cm <sup>2</sup> . .....	58
Figura 10: Infusões obtidas a partir do processo de extração aquosa de perpétua-morango (A), macela (B) e dente de leão (C). .....	61
Figura 11: Banhos de coloração obtidos após a extração aquosa de rosmaninho (A), alcachofra (B), perpétua roxa (C), tomilho bela luz (D), passiflora (E) e cidreira (F). .....	62
Figura 12: Coloração dos provetes de lã (painel superior) e algodão (painel central) obtida com as infusões de hipericão do Gerês (A), urtiga maior (B), boldo (C), rosmaninho (D), alcachofra (E), tomilho bela luz (F) e alfazema (G), cujas tonalidades são mostradas no painel inferior.....	62
Figura 13: Efeito do processo de cationização na coloração dos provetes de algodão. Proвете de algodão (A) e algodão cationizado (B) coloridos com infusão de noqueira. ....	64

Figura 14: Efeito do pré-tratamento com alumínio nos provetes de lã e algodão. Algodão (A), algodão pré tratado com alumínio (B), lã (C), lã pré tratada com alumínio (D) coloridos com infusão de noqueira. ....	65
Figura 15: Efeito da exposição à luz solar nos provetes de algodão (A) e lã (B) pré tratados com alumínio e coloridos com a infusão de noqueira.....	65
Figura 16: Efeito da coloração na presença de alumínio e da exposição à luz solar nos provetes de algodão (A) e algodão cationizado (B) coloridos com a infusão de rosmaninho e nos provetes de algodão (C) e algodão cationizado (D) coloridos com a infusão de tomilho bela luz. ....	66
Figura 17: Efeito da coloração com infusão de tomilho bela luz na presença de ácido acético nos provetes de algodão (B), algodão pré tratado com alumínio (C), lã (E) e lã pré tratada com alumínio (F). Os provetes de algodão (A) e lã (D) são os controles coloridos com a infusão de tomilho bela luz.....	67
Figura 18: Efeito da coloração em condições alcalinas nos provetes de lã pré tratada com alumínio colorida com sabugueiro (B) e hortelã-pimenta (D). Provetes controlo de lã pré tratada com alumínio colorida com a infusão de sabugueiro (A) e hortelã-pimenta (C).....	68
Figura 19: Valores de pH inicial e final obtidos após a coloração dos substratos têxteis com a infusão noqueira nos diferentes ensaios. ....	69
Figura 20: Valores de pH inicial e final obtidos após a coloração dos substratos têxteis com a infusão de rosmaninho nos diferentes ensaios.....	70
Figura 21: Efeito da lacase nas infusões obtidas a partir de diferentes extratos de plantas. ....	72
Figura 22: Efeito do tratamento com lacase nos provetes de lã colorida com infusão de boldo (B) e noqueira (D). Provetes controlo lã colorida com infusão de boldo (A) e noqueira (D).....	73
Figura 23: Efeito da mistura das infusões de alcachofra (A) e boldo (G). Misturas de infusões nas proporções de 90% alcachofra/10% boldo (B), de 70% alcachofra/30% boldo (C), de 50% alcachofra/50% boldo (D), de 30% alcachofra/70% boldo € e de 10% alcachofra/90% boldo, (F).....	73
Figura 24: Efeito das misturas em diferentes proporções das infusões de boldo e alcachofra na coloração de provetes de algodão cationizado.....	74

Figura 25: Efeito do envelhecimento da infusão na cor dos provetes de lã colorida com infusão de boldo envelhecida (B) e lã colorida com infusão de noqueira envelhecida (D). Provetes controlo de lã colorida com boldo (A) e noqueira (C)...	75
Figura 26: Banhos de coloração obtidos após a extração aquosa dos extratos de <i>P. cornucopiae</i> (A), <i>P. tinctorius</i> (B) e <i>P. djamor</i> (C).....	76
Figura 27: Coloração de provetes de algodão (A) e algodão cationizado (B) com o banho de coloração de <i>P. tinctorius</i> .....	76
Figura 28: Efeito da adição de alúmen nos banhos de coloração dos extratos de <i>P. djamor</i> (A) e <i>Tricholoma atrosquamosum</i> .....	77
Figura 29: Efeito da adição de alúmen na coloração de algodão (A) e algodão cationizado (B) com o banho de <i>P. tinctorius</i> .....	78
Figura 30: Efeito da acidificação do banho de coloração de <i>P. tinctorius</i> nos provetes de algodão (A), algodão cationizado (B) e algodão pré tratado com alúmen (C)....	79
Figura 31: Efeito da alcalinização do banho de coloração de <i>P. tinctorius</i> nos provetes de algodão cationizado.....	80
Figura 32: Valores de pH inicial e final do banho de coloração de <i>P. tinctorius</i> após a coloração dos substratos têxteis nos diferentes ensaios.....	81
Figura 33: Efeito da adição de lacase ao banho de extrato de engaço de uva na coloração dos provetes de lã (A), algodão (B) e algodão cationizado (C).....	82
Figura 34: Influência dos diferentes tempos e temperaturas da extração aquosa de hortelã-pimenta no processo de coloração dos provetes de algodão cationizado..	83
Figura 35: Efeito da exposição à luz solar nos provetes coloridos com banho de extratos de <i>P. tinctorius</i> (A) e noqueira (B) .....	85
Figura 36: Valores de força colorística (K/S) dos provetes coloridos com o banho de coloração do extrato de <i>P. tinctorius</i> nos ensaios efetuados na presença de alúmen, ácido acético, carbonato de sódio e ensaios controlo. ....	86
Figura 37: Valores de variação absoluta da cor ( $\Delta E$ ) dos provetes coloridos com os banhos dos extratos de <i>P. tinctorius</i> e noqueira após exposição à luz.....	87
Figura 38: Valores de força colorística (K/S) dos provetes coloridos com o banho de coloração do extrato de noqueira nos ensaios efetuados na presença de alúmen, ácido acético, carbonato de sódio e ensaios controlo. ....	88



Figura 39: Efeito das lavagens a diferentes temperaturas na quantidade de corante adquirido pelos provetes coloridos com o banho de <i>P. tinctorius</i> . Lavagem a frio (A) e lavagem a quente (B).....	89
Figura 40: Efeito das lavagens a diferentes temperaturas na quantidade de corante adquirido pelos provetes coloridos com o banho de alfazema. Lavagem a frio (A) e lavagem a quente (B).....	89
Figura 41: Efeito das lavagens com detergente padrão (B, E) e com <i>soflan</i> (C, F) na cor dos provetes coloridos com o banho de <i>P. tinctorius</i> e noqueira. Provetes controlo de algodão cationizado coloridos com o banho de <i>P. tinctorius</i> (A) e noqueira (D).....	90
Figura 42: Valores de força colorística (K/S) dos provetes coloridos com o banho de <i>P. tinctorius</i> após lavagem com detergente padrão e <i>soflan</i> .....	92
Figura 43: Valores de força colorística (K/S) dos provetes coloridos com o banho de noqueira após lavagem com detergente padrão e <i>soflan</i> .....	92
Figura 44: Estudo da carga microbiana de provetes coloridos com sabugueiro (A) e <i>P. tinctorius</i> (B) após aplicação dos provetes em meio LB sólido e esterilizado. ....	93
Figura 45: Estudo da carga microbiana de provetes coloridos com sabugueiro (A) e <i>P. tinctorius</i> (B) após aplicação dos provetes em meio YPD sólido e esterilizado. .	94
Figura 46: Efeito da esterilização por autoclavagem (A), hipoclorito de sódio a 0,5% (B), etanol a 70% (C) e radiação UV (D) nos provetes bicoloridos. ....	95
Figura 47: Estudo da atividade antimicrobiana dos provetes colorido com alfazema (A), são Roberto (B) e sabugueiro (C), mediante a sua aplicação em meio YPD sólido inoculado com <i>C. albicans</i> por espalhamento. O surgimento de halos de inibição à volta de cada provete 24 h após a inoculação foi usado como indicador de atividade antimicrobiana. ....	96
Figura 48: Estudo da atividade antimicrobiana dos provetes coloridos com infusão de noqueira mediante a aplicação dos mesmos em meio LB sólido inoculado com <i>P. acnes</i> por espalhamento. O surgimento de halos de inibição à volta de cada provete 24 h após a inoculação foi usado como indicador de atividade antimicrobiana. Algodão cationizado (A) e lã (B) coloridos na presença de alúmen; Algodão (C) colorido na presença de ácido acético. ....	97
Figura 49: Estudo da atividade antimicrobiana dos provetes coloridos com extratos de sabugueiro (A), <i>P. tinctorius</i> (B) e são Roberto (C) mediante a aplicação em meio	

LB sólido inoculado com <i>P. acnes</i> por espalhamento. O surgimento de halos de inibição à volta de cada provete 24 h após a inoculação foi usado como indicador da atividade antimicrobiana.....	98
Figura 50: Estudos de indução de perda de viabilidade celular de <i>P. acnes</i> após o contacto com os provetes coloridos com extratos de noqueira.....	100
Figura 51: Estudo da atividade antimicrobiana de provetes lã coloridos com o extrato de noqueira contra <i>P. acnes</i> pela avaliação do número de unidades formadoras de colónias ao longo do tempo de exposição.....	100
Figura 52: Estudo da atividade antimicrobiana de provetes de lã coloridos com o extrato de noqueira na presença de ácido acético (ensaio 12) contra <i>E. coli</i> , pela avaliação de unidades formadoras de colónias ao longo do tempo de exposição.....	101
Figura 53: Estudo da atividade antimicrobiana de provetes de lã pré tratados com alumínio coloridos com o extrato de <i>P. tinctorius</i> na presença de ácido acético (ensaio 13) contra <i>E. coli</i> , pela avaliação de unidades formadoras de colónias ao longo do tempo de exposição.....	102
Figura A 1: Valores de pH inicial e final obtidos após a coloração dos substratos têxteis com o extrato de boldo nos diferentes ensaios.....	109
Figura A 2: Valores de pH inicial e final obtidos após a coloração dos substratos têxteis com a infusão noqueira nos diferentes ensaios.....	109
Figura A 3: Valores de pH inicial e final obtidos após a coloração dos substratos têxteis com a infusão de sabugueiro nos diferentes ensaios.....	110
Figura A 4: Valores de pH inicial e final obtidos após a coloração dos substratos têxteis com a infusão de boldo nos diferentes ensaios.....	110
Figura A 5: Valores de pH inicial e final obtidos após a coloração dos substratos têxteis com a infusão de hortelã pimenta nos diferentes ensaios.....	111
Figura A 6: Valores de pH inicial e final obtidos após a coloração dos substratos têxteis com a infusão de lúcia lima nos diferentes ensaios.....	111
Figura A 7: Valores de pH inicial e final obtidos após a coloração dos substratos têxteis com a infusão de alcachofra nos diferentes ensaios.....	112
Figura A 8: Valores de pH inicial e final obtidos após a coloração dos substratos têxteis com a infusão de tomilho bela luz nos diferentes ensaios.....	112

Figura A 9: Valores de pH inicial e final obtidos após a coloração dos substratos têxteis com o extrato de boldo nos diferentes ensaios.....	113
Figura A 10: Valores de pH inicial e final obtidos após a coloração dos substratos têxteis com a infusão de hortelã pimenta nos diferentes ensaios.....	113
Figura A 11: Valores de pH inicial e final obtidos após a coloração dos substratos têxteis com a infusão de lúcia lima nos diferentes ensaios.....	114
Figura A 12: Valores de pH inicial e final obtidos após a coloração dos substratos têxteis com a infusão de alcachofra nos diferentes ensaios. ....	114
Figura A 13: Valores de pH inicial e final obtidos após a coloração dos substratos têxteis com a infusão de tomilho bela luz nos diferentes ensaios.....	115
Figura A 14: Valores de pH do banho de coloração obtido a partir do extrato de são Roberto medidos antes e após a coloração do substrato têxtil.....	115
Figura A 15: Valores de pH do banho de coloração obtido a partir do extrato de alfazema medidos antes e após a coloração do substrato têxtil. ....	116
Figura A 16: Estudo da atividade antimicrobiana, pela avaliação de unidades formadoras de colónias de <i>P. acnes</i> , de provetes lã pré tratada com alúmen coloridos com o extrato de noqueira (ensaio 5). ....	117
Figura A 17: Estudo da atividade antimicrobiana, pela avaliação de unidades formadoras de colónias de <i>P. acnes</i> , de provetes lã coloridos com o extrato de noqueira na presença de alúmen (ensaio 8). ....	118
Figura A 18: Estudo da atividade antimicrobiana, pela avaliação de unidades formadoras de colónias de <i>E. coli</i> , de provetes lã pré tratada com alúmen coloridos com o extrato de <i>P. tinctorius</i> na presença de ácido acético (ensaio 13). ....	118

## ÍNDICE DE TABELAS

Tabela 1: Classificação dos corantes naturais com base na estrutura química.....	35
Tabela 2: Extratos de cogumelos utilizados no presente trabalho. ....	49
Tabela 3: Plantas utilizadas para a preparação dos extratos usados no presente projeto. .....	50
Tabela 4: Substratos têxteis utilizados ao longo dos ensaios.....	51
Tabela 5: Reagentes utilizados nos ensaios realizados e respectivos fornecedores.....	51
Tabela 6: Matriz dos ensaios realizados com os diferentes substratos têxteis e reagentes: alúmen, carbonato de sódio e ácido acético. A numeração apresentada é referente a cada ensaio realizado. ....	55
Tabela 7: Atividade antimicrobiana dos extratos de <i>P. tinctorius</i> , noqueira, alfazema, são Roberto e sabugueiro contra as bactérias <i>E. coli</i> , <i>S. epidermidis</i> e <i>P. acnes</i> e contra o fungo <i>C. albicans</i> . Os resultados foram obtidos com base na zona de inibição medida pelo surgimento de halos de inibição 24 h após inoculação das placas.....	96



## LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E ACRÓNIMOS

**CeNTI** – Centro de Nanotecnologia e Materiais Técnicos, Funcionais e Inteligentes

**CITEVE** – Centro Tecnológico Têxtil e Vestuário

**CIE** – *Comission Internationale de l'Eclairage*

**DO** – Densidade ótica

**DOE** – Design of Experiments

**ITV** – Indústria Têxtil e do Vestuário

**K/S** – Força colorística

**LB** – Luria Bertani

**mL** – mililitros

**nm**- nanómetros

**R** – Refletância mínima

**rpm** – rotações por minuto

**UFC** – Unidades formadoras de colónias

**UV** – Ultravioleta

**UV-Vis** – Ultravioleta-Visível

**YPD** – *Yeast Peptone Dextrose*



## 1. ENQUADRAMENTO

O projeto apresentado teve como objetivo principal o desenvolvimento de têxteis coloridos e com atividade antimicrobiana obtidos através de processos de esgotamento com infusões de extratos de plantas e cogumelos. De facto, os extratos naturais possuem compostos com enorme potencial corante e funcional, permitindo a geração de cor nos mais diversos substratos assim como a transferência de diversas propriedades biológicas, nomeadamente antimicrobianas.

Contudo, a reintrodução de corantes naturais na indústria têxtil, enfrenta vários desafios, nomeadamente as limitações associadas à qualidade da coloração, isto é, baixa homogeneidade assim como baixa solidez da cor à luz solar e à lavagem. Após um estudo exaustivo do estado da arte desta técnica de valorização têxtil que é o tingimento, concretamente com diferentes tipos de corantes, definiram-se estratégias de utilização e otimização de diversas tecnologias disponíveis atualmente na indústria têxtil.

De facto, é necessário aumentar a investigação nesta área, de forma a possibilitar o desenvolvimento de substratos têxteis multifuncionais capazes de responder às exigências atuais do consumidor. Assim, este projeto foi executado tendo em conta a necessidade de encontrar tecnologias alternativas aos processos de tingimento convencionais, visando numa primeira fase a obtenção de compostos com potencial corante e antimicrobiano com recurso a um processo de extração ecossustentável, e posteriormente a implementação de um processo de coloração por esgotamento igualmente viável do ponto de vista ambiental.

Inicialmente, os ensaios de coloração à escala micro-laboratorial foram realizados no Centro de Nanotecnologia Materiais Técnicos, Funcionais e Inteligentes (CeNTI). De seguida, o *scale up* dos ensaios preliminares foi realizado nas instalações do Centro Tecnológico Têxtil e Vestuário (CITEVE), assim como parte da avaliação dos parâmetros de cor dos têxteis coloridos. Relativamente aos ensaios antimicrobianos, estes foram realizados nos Laboratórios de Biologia Vegetal da Universidade do Minho.





## 2. ESTADO DE ARTE

### 2.1 Indústria têxtil e do vestuário

A globalização e o aumento populacional criaram a necessidade de produção em grande escala de diversas indústrias de modo a atender as necessidades impostas pelos consumidores, nomeadamente a indústria têxtil. A indústria têxtil é vista como uma indústria diversificada e heterogénea que abrange os mais diversos públicos de modo a satisfazer as suas necessidades. Atualmente, esta é uma das indústrias mais globalizadas do mundo, sendo uma relevante fonte de rendimento e emprego para vários países, tornando-se importante para a coesão económica e social. De facto, encontra-se intimamente ligada a setores como o da agricultura, quando existe a necessidade de obtenção de fibras naturais, ou por outro lado com a indústria química quando o interesse são as fibras artificiais ou os corantes e auxiliares sintéticos (Carvalho e Santos, 2016).

Também em território nacional, a Indústria Têxtil e do vestuário (ITV) tem uma elevada importância económica, contribuindo positivamente para a criação de emprego e redução das margens de comercialização. Embora esteja distribuída por todo o território português, esta indústria concentra-se principalmente na região norte, onde se localizam as empresas algodoeiras e na região da Beira Interior, local de empresas de lanifícios. Assim, a ITV divide-se em setor têxtil e setor do vestuário, sendo que o primeiro abrange a produção de fibras, fiação, tecelagem, malharia e acabamentos, enquanto o setor do vestuário incide na confeção de vestuário e acessórios (Maia et al., 2014).

#### 2.1.1 Fibras têxteis

Uma fibra é caracterizada pelo seu comprimento, força e flexibilidade. As fibras são de origem natural, quando são produzidas a partir de recursos naturais, ou artificial se provém de polímeros sintéticos (Broadbent, 2001). Na figura 1 é evidenciada a divisão das fibras em dois grandes grupos.

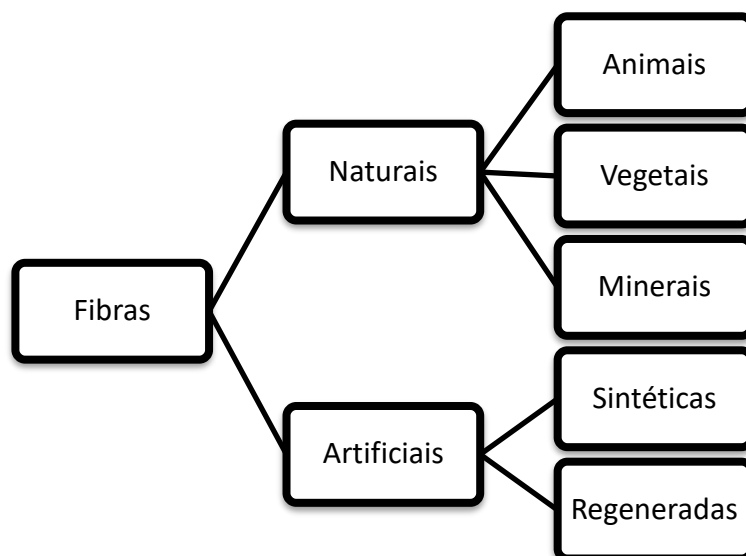


Figura 1: Representação dos diferentes tipos de fibras naturais e artificiais (Adaptado de Ratnapandian, 2013).

As principais desvantagens das fibras naturais estão relacionadas com variabilidade e dificuldade de controlo de propriedades como a espessura, o comprimento, a forma e a ondulação da fibra, uma vez que estas são dependentes da sua localização e condições de crescimento. Para além disso, as fibras vegetais e animais contêm impurezas que devem ser removidas antes do tingimento, o que implica o processamento das mesmas. As fibras artificiais contêm apenas pequenos contaminantes e compostos químicos de fácil remoção, não implicando assim tratamentos prévios ao tingimento. O comportamento do têxtil é fortemente determinado pelas propriedades mecânicas da fibra, incluído a flexibilidade, a elasticidade e a força de torção.

A capacidade de absorção de água é uma das propriedades diferenciadoras das fibras têxteis. As fibras celulósicas e proteicas são hidrofílicas, sendo capazes de absorver uma quantidade de água significativa. Por outro lado, devido ao seu poder hidrofóbico, as fibras sintéticas absorvem água em quantidades reduzidas, não ocorrendo o inchaço das mesmas. Desta forma, tendo em conta a afinidade da fibra para a água, pode identificar-se o tipo de corante mais apropriado para ser absorvido pela mesma (Broadbent, 2001).

No presente trabalho pretende-se explorar a utilização de corantes naturais para colorir a lã e o algodão, fibras de origem animal de natureza proteica e de origem vegetal polissacarídica, respetivamente.

## Algodão

O algodão é uma fibra de origem natural derivada de uma planta da família *Gossypium*, composta essencialmente por celulose. Identificada como a fibra têxtil mais consumida no mundo, a fibra de algodão tem em média entre 12 a 33 mm de comprimento e a sua qualidade está diretamente relacionada com fatores inerentes ao seu cultivo, nomeadamente a origem, que na sua maioria é os Estados Unidos da América, a China, a Rússia e a Índia. Assim, fatores como o comprimento, cor e região de crescimento conferem diferentes qualidades às fibras naturais.

A morfologia das fibras de algodão divide-se em cutícula, parede primária e secundária e lúmen. O principal constituinte da fibra de algodão é a celulose, que de acordo com a sua organização molecular pode ser amorfa ou cristalina. A celulose é um polímero formado a partir de unidades de glicose.

O algodão é uma fibra relativamente hidrofílica, pois a sua estrutura porosa permite a penetração das moléculas de água entre as fibrilas e as regiões amorfas onde se formam ligações por pontes de hidrogénio com os grupos hidroxilo da celulose livres (Broadbent, 2001; Ratnapandian, 2013). Na figura 2 é possível observar micrografias de fibras de algodão.

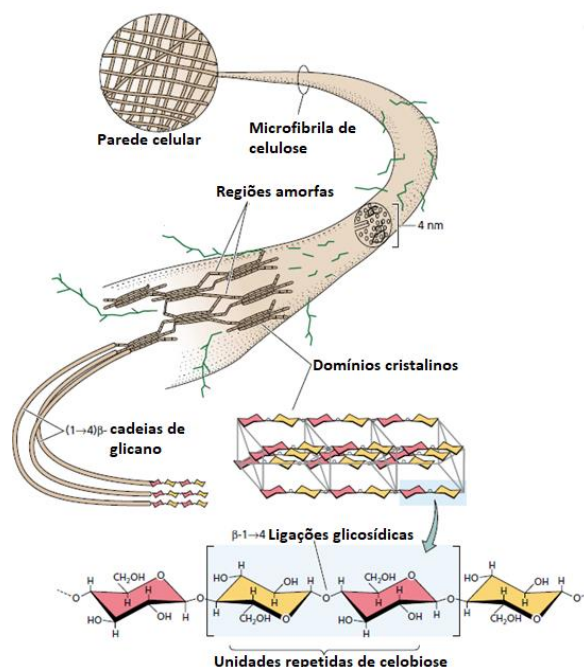


Figura 2: Esquema representativo da morfologia de microfibrilas de celulose, principal constituinte das fibras de algodão (Adaptado de Taiz e Zeiger, 2010).

## Lã

A lã é uma fibra de origem animal com 4 a 40 cm de comprimento obtida a partir de pelo de ovelha. Para além da variabilidade de tamanho, as fibras de lã apresentam propriedades distintas relativamente à força, ondulação, brilho e capacidade de absorção de corante, que dependem essencialmente da parte do animal de onde provêm e das condições existentes durante o seu crescimento. Tendo em conta que são biopolímeros, as fibras de lã apresentam também elasticidade e hidrofiliabilidade significativa, contudo são pouco estáveis aquando da exposição à luz e a temperaturas elevadas.

A estrutura das fibras de lã (figura 3) tem como principais constituintes a cutícula, o córtex e o complexo da membrana celular que envolve os restantes constituintes. O córtex constitui 90% da fibra e é composto por fibrilas de queratina numa matriz de proteínas com alto teor de enxofre. Este divide-se em ortocórtex e paracórtex, duas regiões que diferem em termos de estrutura e reatividade, sendo o ortocórtex mais acessível aos corantes básicos.

As diferenças na composição química e permeabilidade das diversas partes das fibras de lã conferem diferentes graus de absorção. De facto, as moléculas corantes atravessam a fibra a partir das regiões em torno da cutícula, difundindo depois para o interior da fibra pelas regiões queratinosas do complexo de membrana celular (Broadbent, 2001; Ratnapandian, 2013)

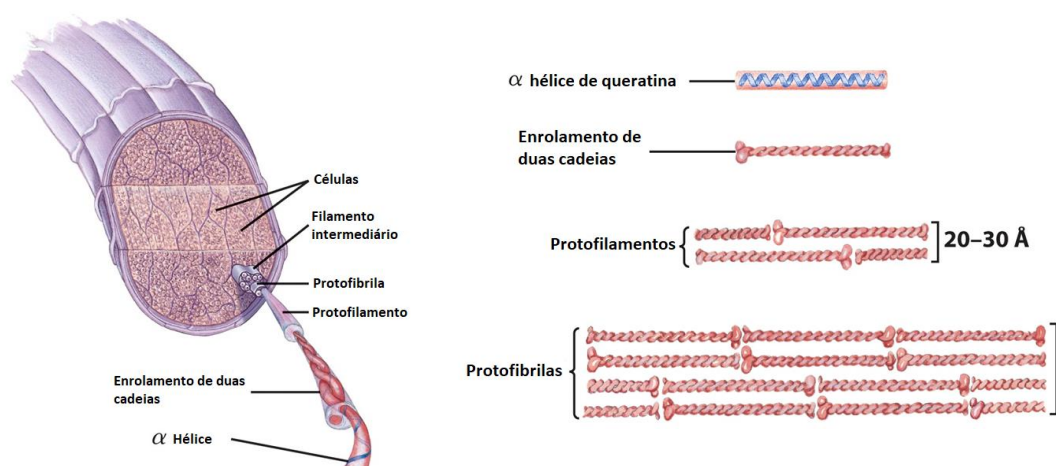


Figura 3: Corte transversal de pelo (à esquerda) e composição da queratina (à direita) (Adaptado de son e Cox, 2008).

## 2.2 Tingimento convencional

O tingimento é o processo de modificação têxtil mais amplamente valorizado pelo consumidor, uma vez que através deste processo químico, o substrato têxtil pode adquirir infinitas cores. O nível de tingimento depende de fatores como a reatividade química da fibra pelo corante, propriedades físicas do corante, o tipo de fibra a tingir, a razão de banho, a concentração do corante, a temperatura e o uso de auxiliares durante o processo (Ratnapandian, 2013).

O processo de tingimento envolve três etapas principais: preparação, tingimento e acabamento. A preparação consiste na remoção das impurezas presentes no substrato têxtil, através de uma limpeza em meio aquoso com substâncias alcalinas e detergentes ou com a aplicação de enzimas. A etapa de tingimento compreende a aplicação de cor no substrato têxtil por meio aquoso, utilizando sobretudo corantes sintéticos. Durante este passo adicionam-se os corantes e os auxiliares (ácidos, bases, eletrólitos, agentes tensoativos e quelantes, entre outros) de forma a que o substrato têxtil obtenha uma cor uniforme e com elevada solidez. Durante o processo de tingimento ocorre a difusão do corante e adsorção à superfície externa da fibra, seguindo-se a difusão e absorção na superfície interna da fibra. Por fim, os acabamentos envolvem tratamentos com recurso a compostos químicos com o intuito de conferir um aumento na qualidade do têxtil (Chequer et al., 2013).

Genericamente, o processo de tingimento pode ser realizado de duas formas distintas, podendo ser contínuo ou descontínuo. No processo contínuo, ou processo de impregnação por foulardagem, o substrato têxtil passa continuamente no reservatório que contém o banho de tingimento, é espremido mecanicamente por rolos, e fixado por calor seco, vapor ou repouso prolongado de forma a garantir que o corante é deslocado do banho para a fibra.

O método de tingimento descontínuo, ou por esgotamento, consiste em imergir um substrato têxtil no meio onde o corante se encontra dissolvido, por um período de tempo considerável. Neste processo, o substrato têxtil é mantido no interior de um único compartimento do equipamento onde permanece em contacto com o banho, ao qual são adicionados os auxiliares químicos necessários. Os processos descontínuos são os mais usados para tingir materiais têxteis, sobretudo

malhas, sendo o jet o equipamento mais utilizado (Chequer et al., 2013; Ratnapandian, 2013).

### 2.2.1 Corantes sintéticos

Os corantes definem-se como substâncias com capacidade de alterar a cor de diferentes substratos e por esse motivo são amplamente utilizados em diversos sectores, destacando-se o têxtil. A cor conferida aos substratos têxteis está intimamente relacionada com a estrutura química dos corantes e a sua absorção seletiva da luz (Gurses et al., 2016).

Antigamente, os corantes aplicados em têxteis eram de origem natural. A descoberta dos corantes sintéticos ocorreu em 1856 quando William H. Perkin fez reagir anilina com dicromato de potássio com o objetivo de sintetizar uma droga para a malária. Desta mistura ele obteve um composto violeta, hidrossolúvel e capaz de tingir substratos, a mauveína (figura 4) (Broadbent, 2001). Atualmente a indústria têxtil recorre essencialmente a corantes sintéticos, uma vez que são de fácil produção, baixo custo e permitem ultrapassar as principais limitações dos corantes naturais, nomeadamente a fraca fixação às fibras e limitação de cores. Após a descoberta da mauveína foram desenvolvidos dez mil corantes até ao final do século IXX e segundo um estudo, até 1977 já tinham sido produzidas oitocentas mil toneladas de corantes a nível mundial (Chequer e Oliveira, 2011).

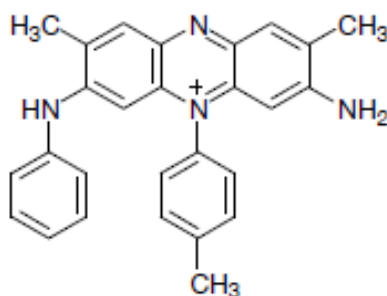


Figura 4: Estrutura do corante sintético mauveína (Broadbent, 2001).

Os corantes podem ser classificados de acordo com a sua estrutura química. As moléculas que compõem o corante são insaturadas, na sua maioria compostas por anéis aromáticos ligados entre si por grupos cromóforos. A formação da cor resulta da deslocalização de elétrons através de sistemas conjugados de ligações duplas e simples presentes nos cromóforos. Os cromóforos mais importantes são do tipo azo, carbonilo, arilmetano, nitrilo e nitroso. Por outro lado, os auxócromos definem-se como os grupos dadores de elétrons, responsáveis por conferir afinidade para com a fibra. Os principais grupos funcionais são amina, hidroxilo, metoxilo, sulfónico, carboxilo, alquilamina e dialquilamina (Samanta e Konar, 2011).

De um modo geral os corantes sintéticos são bastante eficazes, sendo os corantes azo os mais utilizados, cerca de 60-70 %, pois são de fácil manipulação, reduzido custo de síntese, elevada diversidade estrutural e apresentam boas propriedades de fixação à fibra, comparativamente com os restantes corantes sintéticos (Chequer e Oliveira, 2011; Chequer et al., 2013).

### 2.2.2 Desvantagens do tingimento convencional

A indústria têxtil representa uma atividade de elevado interesse sócio-económico a nível mundial, contudo está associada a problemas emergentes de poluição ambiental.

Os principais problemas ambientais inerentes aos processos convencionais de tingimento estão associados à baixa afinidade entre as moléculas de corante com a fibra têxtil e ao uso de quantidades excessivas de compostos químicos auxiliares, que resulta em descargas de efluentes de toxicidade variável.

Os efluentes libertados contêm principalmente corantes azo, sabendo-se que cerca de 10% a 15% destes corantes utilizados em processos de tingimento são libertados para o ambiente. São crescentes as preocupações ambientais com a libertação destes efluentes para o ambiente, tendo em conta os efeitos mutagénicos, tóxicos e carcinogénicos dos corantes azo. Quando atingem o corpo humano, estes corantes são metabolizados por microrganismos intestinais, provocando danos no DNA do hospedeiro. Por outro lado, o ecossistema aquático também é afetado, pois estes corantes possuem elevada estabilidade podendo permanecer por um longo período de tempo nesse mesmo meio, afetando a penetração de luz e a dissolução



de gases (Chequer e Oliveira, 2011). Para além dos corantes sintéticos, a indústria têxtil utiliza outros reagentes químicos, como colas, detergentes, óleos, agentes fixadores, látex, entre outros, que também são encontrados nos efluentes (Carmen e Daniela, 2010).

De um modo geral, a remoção destes compostos pode ser executada com recurso a tratamentos físicos e químicos como a coagulação, filtração, oxidação, precipitação e membranas de filtração e absorção. Contudo, a eficácia dos tratamentos é muitas vezes comprometida pelo fato dos poluentes sofrerem várias transformações químicas e pelos elevados custos energéticos associados à adaptação da tecnologia (Ratna e Padhi, 2012; Chattopadhyay e Savi, 2016).

Por outro lado, a indústria têxtil consome uma elevada quantidade de água potável até que o produto final seja obtido, implicando desperdícios durante todas as etapas do processamento têxtil, por exemplo, durante o processo de tingimento, o consumo de água varia entre 30 a 50 litros por cada quilo de têxtil tingido. Posteriormente às etapas de acabamento, a limpeza dos equipamentos também exige a utilização e descarte de grandes quantidades de água potável (Kant, 2012).

Deste modo, questões ambientais e de sustentabilidade encontram-se constantemente em debate, sendo que a legislação tem vindo a criar leis cada vez mais restritas relativamente à indústria têxtil. Mais recentemente, a comissão europeia banuiu o uso de alguns corantes sintéticos, tais como os corantes azo, quer pelas questões ambientais, quer pela toxicidade para a saúde pública.

Assim, devido à importância da indústria têxtil e dos seus produtos para a sociedade, é necessário que sejam encontradas alternativas com menor impacto ambiental, tais como processos de coloração sustentáveis e igualmente eficazes.

### 2.3 Coloração natural

Desde a antiguidade que o Homem demonstra interesse pela cor, sendo os corantes naturais e a coloração tão antigos quanto os têxteis. O registo mais antigo do uso de corantes naturais foi encontrado na China, datando o ano de 2600 AC. Por outro lado, também a Bíblia menciona o uso de corantes, tais como o açafreão e a púrpura tíria, uma das cores mais conhecidas ao longo dos tempos. Já os cientistas

mostraram que pigmentos pretos, amarelos, vermelhos e brancos obtidos a partir de ocre eram utilizados em pinturas pelos homens primitivos (Siva, 2017).

A reintrodução dos corantes naturais na indústria têxtil, mais concretamente no processo de tingimento, é uma alternativa que visa contornar as restrições que têm vindo a ser impostas relativamente à utilização dos corantes sintéticos. A necessidade urgente de aplicar na indústria corantes menos tóxicos e amigos do ambiente torna os corantes de origem natural uma alternativa viável devido à sua maior segurança (Rungruangkitkrai e Mongkholrattanasit, 2012).

### 2.3.1 Coloração com extratos naturais

#### **Coloração com extratos de plantas**

De um modo geral as plantas são dotadas de potencial corante, encontrando-se uma quantidade significativa de cor em raízes, folhas, frutos, flores e cascas. O facto de o corante ser proveniente de diferentes partes da planta aumenta a variabilidade associada à qualidade da cor. Para além disso, o corante também é intimamente influenciado por fatores como o clima, o solo, a fertilização e a localização da planta que o origina. A aplicação dos corantes obtidos com recurso a plantas é variada, podendo ser usados como ingredientes de diversos alimentos ou até mesmo em tratamentos medicinais devido às suas propriedades biológicas intrínsecas (Saxena e Raja, 2014).

#### **Coloração com extratos de cogumelos**

O crescente interesse que os corantes naturais têm suscitado potenciou o desenvolvimento de novos métodos e técnicas para a obtenção dos mesmos, com foco nos corantes obtidos a partir de fungos, tais como os cogumelos (Hinsch, et. al, 2015). De facto, os fungos são descritos como microrganismos com elevada capacidade de produzir pigmentos que posteriormente são aplicados na coloração de substratos têxteis como o algodão, lã ou seda (Sayyed e Majumder, 2015).

Antes do desenvolvimento dos corantes sintéticos, os corantes obtidos a partir de cogumelos eram frequentemente utilizados por permitirem alcançar uma vasta gama de cores. Se por um lado os pigmentos encontrados em cogumelos são mais limitados, quando comparados com os provenientes de plantas, os cogumelos

possuem atividade biológica de relevante importância, o que tem gerado um crescente interesse junto da comunidade científica (Velíšek e Cejpek, 2011).

### 2.3.2 Corantes naturais

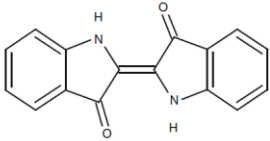
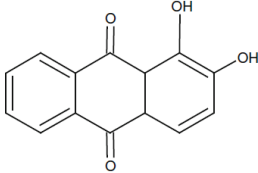
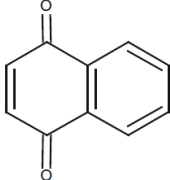
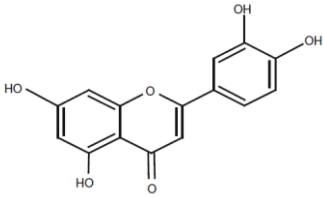
Extratos naturais, nomeadamente de diferentes tecidos de plantas, como raízes, folhas, bagas, madeira, flores, ou de fungos, tais como cogumelos podem ser fontes importantes de corantes naturais (Joshi et. al, 2015).

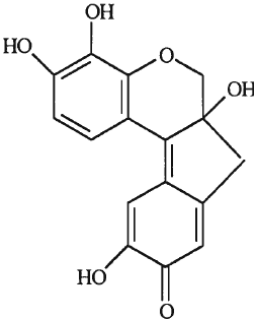
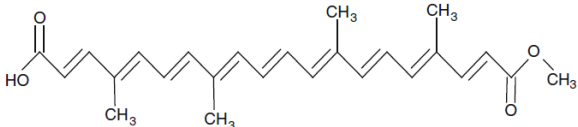
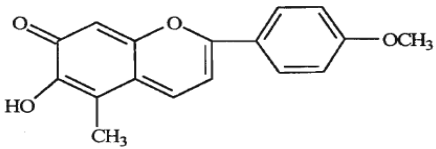
A coloração com extratos naturais reveste-se de inúmeras vantagens. Os corantes obtidos a partir de extratos naturais geram a produção de cores suaves e atrativas para o consumidor, diferentes daquelas que são usualmente obtidas com corantes sintéticos (Rungruangkitkrai e Mongkholrattanasit, 2012). A mistura de extratos ou alterações quer na técnica de coloração, quer no tipo de auxiliar, permitem expandir a gama de cores da paleta originada, podendo-se obter cores diferentes a partir do mesmo extrato. Além de mais, os corantes de origem natural podem possuir constituintes antialérgicos, apresentando segurança quando em contacto com a pele.

Do ponto de vista ambiental, a utilização de corantes naturais no processo de tingimento confere uma maior segurança para o planeta, pois estes são renováveis e biodegradáveis e para além disso, os desperdícios podem ser utilizados como fertilizantes na agricultura. Noutros casos, os desperdícios podem ainda ser reutilizados como corantes naturais, não implicando custos adicionais. Deste modo, a aplicação de corantes naturais permite ainda a redução do consumo de combustíveis fósseis. A nível económico, o tingimento com corantes naturais exige trabalho industrial adicional, pelo que novos postos de trabalho terão de ser criados para as entidades envolvidas no cultivo, extração e aplicação dos corantes no substrato.

Devido à vasta quantidade de corantes obtidos com recurso a produtos naturais, surgiu a necessidade de criar uma classificação. A classificação dos diversos corantes pode ser feita com base na cor, no método de aplicação ou de acordo com a sua estrutura química, tal como indicado na tabela 1.

Tabela 1: Classificação dos corantes naturais com base na estrutura química.

Classe	Cor	Descrição
Indigo	Azul	 <p>Extraído a partir de <i>Indigofera tinctoria</i>, é considerado o corante natural mais relevante, sendo a principal fonte da cor azul primária (Saxena e Raja, 2014; Siva, 2017).</p>
Antraquinona	Vermelho	 <p>A alizarina obtida a partir de <i>Rubia tinctorium</i> ou a cartamina proveniente de <i>Carthamus tinctorius</i> são exemplos de corantes desta classe (Saxena e Raja, 2014; Siva, 2017;).</p>
Alfa-naftoquinonas	Laranja Vermelho Castanho	 <p>Os principais corantes são o Lawson encontrado nas folhas de henna (<i>Lawsonia inermis</i> L.) (Saxena e Raja, 2014) e a julgona, presente nas cascas de nozes (Siva, 2017).</p>
Flavonóides	Amarelo	 <p>Derivados hidroxí e metoxi de flavonas e isoflavonas (Siva, 2017), como por exemplo a</p>

		luteolina extraída de plantas da espécie <i>Reseda luteola</i> (Saxena e Raja, 2014).
Diidropiranos	Tons escuros	 <p>Com uma estrutura química semelhante à das flavonas, são exemplos de corantes os obtidos a partir de <i>Caesalpinia echinata</i> e <i>Caesalpinia sappan</i>, tal como a buteína oriunda da flor <i>Butea monosperma</i> (Samanta e Konar, 2011; Saxena e Raja, 2014).</p>
Carotenóides	Laranja	 <p>A cor destes corantes deve-se à presença de longas ligações duplas conjugadas (Samanta e Konar, 2011). São exemplos a bixina, encontrada nas sementes de urucu, e a crócina proveniente do açafrão (Saxena e Raja, 2014).</p>
Antocianinas	Vermelho Laranja Roxo	 <p>Desta classe faz parte o carajun, um corante laranja obtido a partir das folhas de <i>Bignonia chica</i> (Samanta e Konar, 2011).</p>

### 2.3.3 Métodos de extração

O processo de extração de compostos com potencial corante corresponde a uma etapa de extrema importância, uma vez que a eficácia do tingimento dependerá da qualidade dos compostos extraídos.

Os extratos naturais, para além da reduzida disponibilidade de corante, possuem outros compostos químicos na sua composição. Deste modo, torna-se imperativo o conhecimento acerca da natureza e solubilidade dos corantes naturais para selecionar o método de extração. Os principais métodos de extração são:

- Extração aquosa;
- Extração ácida ou básica;
- Extração com solventes;
- Extração assistida por ultrassons/micro-ondas;
- Fermentação;
- Extração enzimática;
- Extração com fluído supercrítico.

Dentro destas alternativas, destaca-se a extração aquosa, por ser a mais industrial e ambientalmente viável. O método de extração aquosa possibilita a extração dos componentes do extrato natural que possuam a mesma polaridade que a água, ou seja, são extraídos os compostos polares.

Genericamente, numa primeira fase, com o intuito de aumentar a eficiência do método, o extrato natural é reduzido a porções de menor tamanho e desidratado, uma vez que normalmente armazena elevadas quantidades de água. Seguidamente, os extratos são mergulhados em água onde permanecem durante um período de tempo suficiente para que ocorra a extração de cor e de outros componentes polares do extrato para água. Posteriormente, realiza-se o processo de filtração que permite descartar os extratos naturais e recolher o filtrado colorido.

Esta técnica de extração, para além de ser a mais simples de implementar, possui como outra grande vantagem o facto de usar o mesmo solvente usado na maioria dos tingimentos. As principais desvantagens da extração aquosa estão relacionadas com o recurso a elevadas quantidades de água, tempo e temperatura, assim como ao baixo rendimento de extração (Samanta e Konar, 2014).

#### 2.3.4 Limitações da coloração natural

Embora os corantes naturais suscitem um crescente interesse na indústria têxtil, estes apresentam algumas limitações, tais como a baixa reprodutibilidade das cores obtidas. Esta limitação está relacionada com o facto do teor de corante estar dependente de fatores como a espécie, a época em que o extrato foi recolhido e o seu estado de maturação.

Comparativamente ao tingimento convencional, um processo de biocoloração envolve custos superiores, devido a três fatores: exige a aplicação de mão de obra qualificada; a utilização de maior quantidade de corante; e na grande maioria dos casos, exige a utilização de compostos auxiliares e/ou mordentes.

Atualmente, devido a uma lacuna no conhecimento científico acerca da biocoloração, nomeadamente ao nível das técnicas de extração e tingimento, o processo de coloração é muitas vezes ineficiente, não alcançando os requisitos necessários para a sua introdução na indústria, sendo por isso necessário investir em formação técnica. Por outro lado, uma vez que o rendimento de extração pode ser muito baixo torna-se necessário uma maior quantidade de material corante. Por último, tendo em conta que a generalidade dos corantes naturais não possui substantividade para a fibra têxtil à qual são aplicados, é necessário recorrer à utilização de auxiliares para aumentar a fixação de cor. Embora se privilegie a utilização de auxiliares de baixa toxicidade, essencialmente de origem vegetal e mineral, a sua utilização torna o processo de coloração menos ecológico, uma vez que nos casos em que o esgotamento do banho não é total, estes auxiliares também são libertados para os efluentes (Samanta e Konar, 2014).

#### 2.3.5 Otimização da coloração natural

Tendo em conta as limitações de cor inerentes aos corantes naturais, nomeadamente a cor menos intensa e bastante suscetível à ação da luz e da água, torna-se crucial adicionar auxiliares de coloração (Samanta e Konar, 2014). Estes compostos, que podem ser adicionados juntamente com o corante natural, na etapa

de coloração, ou em etapas prévia ou posterior à mesma, permitem enormes melhorias das propriedades de solidez da cor.

### **Utilização de mordentes**

Os mordentes referem-se a todos os compostos que possuem afinidade tanto para o corante como para a fibra, atuando como elo de ligação entre ambos. Designado por mordentagem, este processo é frequentemente usado quando não existe afinidade entre o corante e a fibra. As fibras celulósicas são exemplo de fibras com baixa afinidade para os corantes naturais, devido à ausência de grupos reativos como por exemplo aminas ou carboxílicos.

A mordentagem pode ser realizada com três tipos de mordentes, os sais metálicos, os óleos ou os taninos. Os sais metálicos são o tipo de mordente mais utilizado na coloração têxtil com corantes naturais, de tal modo que foram utilizados neste projeto, nomeadamente o alumínio. Para além do alumínio, os sais metálicos frequentemente utilizados são o cromo, o estanho, o cobre e o ferro. Enquanto o cromo e o cobre se encontram na lista dos mordentes restritos por questões de segurança, o alumínio e o ferro são considerados seguros e encontram-se em abundância na natureza. Deste modo, os diferentes mordentes podem originar cores distintas a partir do mesmo corante, pois os complexos mordente-corante que se formam são distintos. Esta variação culmina também em alterações nas propriedades de solidez alcançadas.

A técnica de mordentagem pode ser executada com recurso a três abordagens distintas, de acordo com o momento em que é realizada. No caso em que o mordente é aplicado no têxtil previamente ao processo de coloração, designado por pré-mordentagem, a principal vantagem refere-se ao facto de o banho poder ser reutilizado. Quando a mordentagem é realizada em simultâneo com a coloração, o mordente é adicionado diretamente no banho de coloração. Dependendo do corante natural utilizado, o método pode gerar cores intensas ou conduzir à perda de corante e mordente devido à formação de complexos entre eles no banho de coloração, resultando numa coloração desigual. Neste processo o mordente não pode ser reutilizado, sendo então mais prático para a coloração em escalas reduzidas. Relativamente a um processo de pós-mordentagem, o têxtil é tratado com



o mordente posteriormente à etapa de coloração, usando-se um banho distinto daquele usado para a coloração (Saxena e Raja, 2014).

### **Tratamento da superfície têxtil**

De forma a melhorar as propriedades das diferentes fibras, recorre-se muitas vezes a modificações químicas e físicas da superfície do têxtil. As modificações físicas incluem por exemplo os métodos de descarga de corona, laser e plasma, enquanto as modificações químicas baseiam-se em métodos como a modificação enzimática, microencapsulação, técnica de sol-gel e tratamentos com diferentes reagentes químicos (Shahidi et. al, 2013).

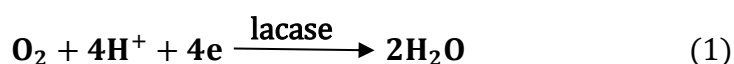
O contacto das fibras celulósicas com a água provoca a ionização dos grupos hidroxilo e conseqüente formação de cargas negativas nas fibras. Estas cargas são responsáveis pela repulsão de corantes aniônicos e tornam o processo de esgotamento pouco eficiente (Chattopadhyay, 2001). Assim, um pré-tratamento recorrentemente utilizado é a cationização que consiste em aumentar as interações catiónicas e reduzir a repulsão eletrostática dos iões negativos, culminando num efeito positivo na absorção de corantes aniônicos e eletrólitos (Risti e Risti, 2012).

### **Utilização de enzimas**

A utilização de enzimas na indústria têxtil permite o desenvolvimento de tecnologias mais amigas do ambiente e estratégias que visam aumentar a qualidade do produto final. As enzimas têm características que as tornam vantajosas comparativamente com os compostos químicos convencionais ou com os catalisadores microbianos, tais como a elevada eficiência de catálise, o nível de especificidade elevado e a ausência de reações paralelas. Para além disso, são biodegradáveis, não poluentes e permitem a operação a baixas temperaturas. Deste modo, a aplicação de enzimas durante o processamento têxtil tem conferido melhorias tanto ao nível do impacto ambiental como no aumento da qualidade do produto.

Nos processos da indústria têxtil apenas 75 das 7000 enzimas conhecidas são utilizadas (Araújo et. al, 2008; Shahid e Mohammad, 2013). Diferentes tipos de enzimas são utilizados em diversos estágios do processamento têxtil com o intuito de modificar quimicamente e fisicamente as propriedades da sua superfície, como por exemplo pela introdução de grupos funcionais de diferente reatividade. Assim, diferentes abordagens têm sido executadas durante as etapas de preparação, coloração e acabamento de fibras têxteis como a lã, algodão e seda com corantes naturais utilizando diferentes tipos de enzimas. As enzimas são agrupadas em classes conforme a reação que catalisam, contudo na indústria têxtil as principais enzimas utilizadas são as hidrolases e as oxidorreduções, uma vez que estão diretamente envolvidas na aplicação de cor no têxtil (Araújo et. al, 2008; Shahid e Mohammad, 2013; Mojsov, 2014).

A lacase é uma enzima pertencente às proteínas de cobre azuis ou oxidases de cobre azuis, tendo sido descrita pela primeira vez por Hikorokuro Yoshida em 1883 quando o mesmo a isolou do fluido da planta *Rhus vernicifera*. A sua cor azul é proveniente da absorção eletrônica perto dos 600 nm. Para além de plantas, esta enzima pode ser encontrada em bactérias, mas também em insetos e fungos. Esta enzima contém cobre e catalisa a oxidação de uma vasta gama de substratos orgânicos e inorgânicos, com a consequente redução de quatro eletrões do oxigénio a água (equação 1).



Estas enzimas possuem quatro átomos de cobre no seu local ativo classificados em três grupos distintos com recurso à espectroscopia de radiação UV-visível (UV-Vis) ou à espectroscopia de ressonância paramagnética eletrónica (RPE). Assim, o cobre do tipo I (T1) é um centro ativo mononuclear responsável pela oxidação do substrato e pela cor azul intensa; o cobre de tipo II (T2) e de tipo III (T3) estão próximos e formam um centro trinuclear onde ocorre a redução do oxigénio a água, através dos eletrões transferidos pelo T1, como demonstra a figura 5 (Madhavi e Lele, 2009; Fu et. al, 2012).

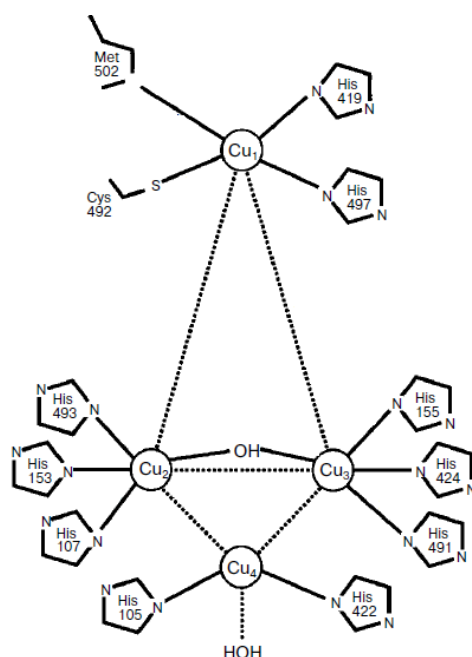


Figura 5: Local ativo da enzima lacase de *Bacillus subtilis* (Adaptado de Fu et. al, 2012).

A capacidade da lacase em catalisar a polimerização de compostos fenólicos permite a geração de cor em substâncias incolores e de baixo peso molecular, tornando-as numa alternativa ao processo de tingimento convencional (Tzanov et. al, 2003). Assim, a implementação deste tipo de biotecnologia nos processos da indústria têxtil permite a substituição da elevada quantidade de compostos químicos utilizada, bem como uma diminuição da utilização de água e energia.

## 2.4 Cor

A formação da cor depende das propriedades eletrônicas de cada corante. Cada corante tem na sua composição grupos cromóforos e auxocromos. Os primeiros são responsáveis pela absorção de radiação eletromagnética na zona do visível e do UV, provocando a transição de elétrons para um nível energético superior. Deste modo, a cor conferida pelo corante está intimamente relacionada com a região do espectro de UV-Vis em que o cromóforo absorve. A cor adquirida também é influenciada por grupos covalentemente saturados, os auxocromos, que quando se ligam aos grupos cromóforos modificam o seu comprimento de onda e a intensidade de absorção (Samanta e Konar, 2011).

A cor distinguida pela visão humana, está compreendida na parte visível do espectro eletromagnético, entre 400 e 700 nm. Para o observador existem valores típicos do espectro de cor (figura 6): vermelho entre 700 e 650 nm, laranja a 600 nm, amarelo a 580 nm, verde entre 550 e 500 nm e por fim, azul entre 450 e 400 nm. Contudo, processos de absorção, reflexão, difração, fluorescência e refração influenciam a percepção da cor.



Figura 6: Espectro de luz visível, em que o comprimento de onda (nm) aumenta da esquerda para a direita (Adaptado de Gurses et al., 2016).

Tendo em conta a variabilidade inerente à análise de cor, por esta ser definida como uma sensação experienciada ou causada pela luz refletida ou transmitida pelos objetos, e ao facto de o olho humano não ter a capacidade de quantificar a cor detetada, desenvolveu-se a análise por colorimetria. O objetivo desta metodologia passa por incorporar as propriedades do sistema de visão humana numa medição e especificação numérica da luz visível.

De modo a concretizar a medição das coordenadas de cor são utilizados equipamentos como o espectrofotómetro ou colorímetro. Inicialmente a *Commission Internationale de l'Eclairage* (CIE) criou o sistema de cor RGB, em que R, G e B correspondem respetivamente à cor vermelha (red), verde (green) e azul (blue). Contudo, este sistema implicava cálculos complexos e morosos, pelo que em 1931 o sistema de cor RGB foi substituído pelo sistema CIE XYZ, onde as coordenadas X, Y e Z também correspondem às cores vermelho, verde e azul. Embora este sistema seja mais simples, a sua não uniformidade induz em erro o utilizador.

Deste modo surgiu o colorímetro Hunter Lab, o primeiro instrumento a permitir a medição da cor em termos de cores opostas, vermelho-verde ( $a^*$ ) e azul-amarelo ( $b^*$ ) e luminosidade da cor ( $L^*$ ). O espaço colorido CIELAB foi desenvolvido numa tentativa de substituir os valores tricromáticos X, Y e Z em coordenadas que providenciassem uma uniformidade superior.

O sistema CIELAB permite a especificação da cor e das diferenças de cor através do cálculo de três parâmetros,  $a^*$ ,  $b^*$  e  $L^*$ . Para uma determinada cor o valor de  $L^*$  varia entre 0 (negro perfeito) e 100 (branco perfeito) e fornece a medição da luminosidade da mesma. O valor de  $a^*$  é uma medida do carácter vermelho-verde da cor, correspondendo os valores positivos ao vermelho e os valores negativos à cor verde. Por fim, o valor de  $b^*$  confere informação relativamente ao carácter amarelo-azul, em que os valores positivos são relativos à cor amarela e os negativos à cor azul (figura 7) (Broadbent, 2001).

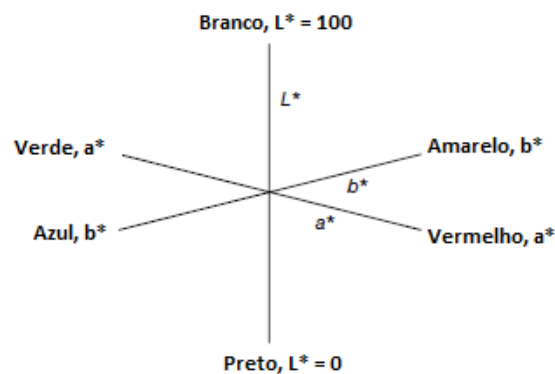


Figura 7: Representação dos eixos  $a^*$ ,  $b^*$  e  $L^*$  no espaço colorido CIELAB (Adaptado de Broadbent, 2001).

Deste modo, as coordenadas de cor obtidas permitem a quantificação das diferenças de cor entre o controlo e as amostras ( $\Delta E$ ) através da equação 2.

$$\Delta E = [(\Delta L)^2 + (\Delta a^*)^2 + (\Delta b^*)^2] \quad (2)$$

Em que  $\Delta L$ ,  $\Delta a^*$  e  $\Delta b^*$  correspondem às diferenças entre as unidades correspondentes de cada amostra (Ingamells, 1993).

A força colorística (K/S) é uma medida que objetiva avaliar a intensidade da cor e inferir acerca da quantidade de corante presente no substrato colorido, através do seu valor de refletância mínima (R), segundo a equação de Kubelka-Munk (equação 3) (Ingamells, 1993).

$$K/S = \frac{(1 - R)^2}{2R} \quad (3)$$

## 2.5 Têxteis multifuncionais

Os acabamentos são definidos como um processo têxtil utilizado com o objetivo de melhorar o seu aspeto, conferir funcionalidade e/ou aumentar a sua durabilidade. Relativamente ao têxteis multifuncionais, os acabamentos são aplicados de modo a atribuir ao têxtil uma funcionalidade específica, sem comprometer o aspeto original do têxtil.

Nos últimos anos, têm surgido no mercado soluções adaptadas às mais variadas tarefas laborais, inseridas em diferentes setores, nomeadamente roupas com propriedades repelentes de óleos e nódoas, para utilização por parte de mecânicos; uniformes à prova de fogo para os bombeiros; ou ainda roupas respiráveis e impermeáveis destinadas a trabalhadores com atividade no exterior e a atletas ( Ammayappan et al., 2013).

Contudo, a necessidade de vestuários com acabamentos funcionais abrange os mais diversos consumidores, devido ao seu crescente interesse em possuir produtos inovadores aliado à sua preocupação com a saúde e bem-estar. Estes procuram roupa e outros produtos têxteis que ofereçam propriedades de conforto, nomeadamente a capacidade de permanecer frescos, higiénicos e livres de odor durante a sua utilização. Assim, torna-se imperativo o desenvolvimento de têxteis funcionais com as mais variadas funções, nomeadamente a resistência à chama e a repelência a insetos (Gulrajani e Gupta, 2011).

Os corantes naturais, para além do seu elevado potencial de coloração têxtil, possuem propriedades multifuncionais intrínsecas que podem ser transferidas para diferentes substratos, tais como as propriedades antimicrobianas, desodorizantes, de repelência de insetos e de proteção UV. Desta forma, os corantes naturais têm sido alvo de pesquisa, investigação e desenvolvimento, uma vez que são compostos altamente promissores para aplicação têxtil (Shahid e Mohammad, 2013).

### 2.5.1 Têxteis antimicrobianos

Os têxteis são reconhecidos como um meio de excelência para os micróbios, uma vez que providenciam ótimas condições para o crescimento e proliferação dos mesmos. Deste modo, o crescimento de micróbios nas peças de vestuário provoca efeitos indesejáveis tanto para a saúde humana, incluindo infecções dérmicas e respostas alérgicas, como para o têxtil, incluindo a sua descoloração e degradação (Shahid e Mohammad, 2013).

A inovação e desenvolvimento de têxteis com atividade antimicrobiana permite reduzir significativamente os principais efeitos provocados pela presença de micróbios (Gouveia, 2010). O termo antimicrobiano refere-se às várias tecnologias que conferem aos têxteis diferentes níveis de proteção contra micróbios. Assim, a aplicação de um acabamento antimicrobiano ao têxtil visa proteger o substrato do ataque microbiano, prevenir a proliferação e crescimento de microrganismos, inibir o mau odor gerado e criar um material que atue como tratamento de prevenção ou curativo. Contudo, um têxtil antimicrobiano deve possuir simultaneamente um efeito inibitório contra uma vasta gama de microrganismos e compatibilidade com a microbiota da pele. Para além disso, também deve aliar a funcionalidade à segurança quer para o fabricante, o ambiente e o utilizador, sendo necessária a utilização de compostos de toxicidade controlável.

Relativamente à sua classificação, os agentes antimicrobianos são classificados como biocidas ou biostáticos, dependendo do modo de atuação perante os microrganismos. Os agentes biocidas causam a morte dos microrganismos, enquanto os biostáticos apenas inibem o seu crescimento. A classificação atribuída é fortemente determinada pela concentração de composto ativo no têxtil, uma vez que esta irá determinar o modo de atuação do agente antimicrobiano. Duma forma geral, estes atuam prevenindo a reprodução celular, causando danos na parede celular, desnaturando proteínas e bloqueando enzimas (Ristic et al., 2011).

Atualmente, diversos agentes antimicrobianos sintéticos são comercializados, tais como os organometálicos, fenóis, organo-silicones, N-halaminas, quitosano, compostos quaternários de amónio, triclosano, entre outros. Contudo, a utilização dos agentes antimicrobianos referidos acarreta riscos para o ambiente e para a saúde humana, levantando-se cada vez mais questões

relativamente à sua segurança. Para além disso, os compostos utilizados como agentes antimicrobianos são na sua maioria antibióticos que, devido ao seu uso excessivo tornaram-se menos eficazes no combate a microrganismos cada vez mais resistentes (Balouiri et al., 2016). Deste modo, existe uma necessidade crescente em encontrar e desenvolver agentes que confirmam um acabamento antimicrobiano aos têxteis e sejam seguros.

Mais recentemente, com o intuito de contornar os desafios impostos, a indústria têxtil tem vindo a apostar em agentes bioativos de origem natural. As propriedades terapêuticas de alguns corantes naturais obtidos a partir de plantas são amplamente conhecidas, como é exemplo o efeito antimicrobiano significativo. A atividade antimicrobiana dos extratos naturais deve-se à presença de compostos taninos, flavonóides, curcuminóides, alcalóides e quinonas (Shahid e Mohammad, 2013).

Assim, com este projeto pretende-se responder a objetivos bem definidos que passam pela avaliação da capacidade de coloração de malhas têxteis através de extratos de plantas e cogumelos; caracterização e validação da performance das malhas biocoloridas, tendo em conta as propriedades de solidez; estudo da viabilidade da industrialização/comercialização do processo de coloração ecossustentável desenvolvido; análise do potencial antimicrobiano dos extratos de plantas e cogumelos; e análise da sua utilização em alternativa aos agentes antimicrobiano sintéticos.





### 3. MATERIAIS E MÉTODOS

#### 3.1 Materiais

O processo de biocoloração dos substratos têxteis foi executado com recurso a extratos de plantas e cogumelos. Os extratos de cogumelos utilizados foram disponibilizados pela BioInvitro e encontram-se listados na tabela 2, enquanto os extratos de plantas referidos na tabela 3 foram fornecidos pela Ervital.

Tabela 2: Extratos de cogumelos utilizados no presente trabalho.

Extratos de cogumelos
<i>Pleurotus djamor</i> - Pleuroto rosado
<i>Pleurotus cornucopiae</i> - Cogumelo repolga
<i>Pisolithus tinctorius</i> - Bufa de velha
<i>Lentinula edodes</i> - Shiitake
<i>Stropharia rugosoannulata</i> - <i>Stropharia rei</i>
<i>Macrolepiota procera</i> - Cogumelo frade
<i>Morchella esculenta</i> - Morel amarelo
<i>Morchella angusticeps</i> - Morel preto
<i>Tricholoma atrosquamosum</i> - Cavaleiro negro

Tabela 3: Plantas utilizadas para a preparação dos extratos usados no presente projeto.

Extratos de plantas		
<i>Symphytum officinale</i> Consolda maior	<i>Hypericum perforatum</i> Hipericão	<i>Mentha aquática</i> Hortelã-aquática
<i>Urtiga dióica</i> Urtiga maior	<i>Taraxacum officinale</i> Dente de leão	<i>Mentha piperita</i> Hortelã pimenta
<i>Thymus citriodorus</i> Tomilho-limão	<i>Hypericum androsaemum</i> Hipericão do Gerês	<i>Cynara cardunculus</i> Alcachofra
<i>Filipendula ulmaria</i> Ulmária	<i>Echinacea sp.</i> Equinácea	<i>Equisetum arvense</i> Cavalinha
<i>Centaureum erythrae</i> Fel da terra	<i>Gomphrena haagena</i> Perpétua morango	<i>Agastache foeniculum</i> Agastache anisado
<i>Plantago lanceolata</i> Tanchagem	<i>Rubus idaeus</i> Framboeseiro	<i>Gomphrena globosa</i> Perpétua roxa
<i>Erica australis</i> Urze	<i>Eucalyptus globulus</i> Eucalipto	<i>Juglans regia</i> Nogueira
<i>Tilia spp.</i> Tília	<i>Fraxinus spp.</i> Freixo	<i>Chamaespartium tridentatum</i> Carqueja
<i>Sambucus nigra</i> sabugueiro	<i>Cytisus multiflorus</i> Giesta branca	<i>Ocimum basilicum</i> Alfavaca
<i>Geranium robertianum</i> São Roberto	<i>Melissa officinalis</i> Cidreira	<i>Leonurus cardiaca</i> Agripalma
<i>Lavandula stoechas</i> Rosmaninho	<i>Chamomilla spp</i> Camomila	<i>Prunela vulgaris</i> Prunela
<i>Passiflora incarnata</i> Passiflora	<i>Betula spp.</i> Bétula	<i>Malva spp.</i> Malvas
<i>Pelargonium graveolens</i> Malva Rosa	<i>Cymbopogon citratus</i> Erva príncipe	<i>Chamomilla spp.</i> Macela
<i>Nepata cataria</i> Nevada dos gatos	<i>Peumus boldus</i> Boldo	<i>Lavandula sp.</i> Alfazema
<i>Salvia officinalis</i> Salva	<i>Chamaespartium tridentatu</i> Carqueja culinária	<i>Lippia citriodora</i> Lúcia Lima
<i>Mentha pulegium</i> Poejo	<i>Thymus mastichina</i> Tomilho Bela Luz	

Os substratos têxteis utilizados no processo de coloração, encontram-se indicados na tabela 4. As malhas foram sujeitas a tratamentos de modificação de superfície, nomeadamente pré-tratamento com alúmen e cationização. O primeiro foi efetuado nos laboratórios têxteis do CITEVE, utilizando-se uma concentração de alúmen de 10 g/L, numa proporção de banho de 1:20, ou seja, por cada 1 g de substrato têxtil adicionou-se 20 mL de banho. Quanto à cationização dos substratos têxteis, esta foi desenvolvida pela Tintex, sendo as condições do tratamento desconhecidas. Para além disso, os substratos têxteis também foram branqueados com recurso a um processo de meio branco, seguido de neutralização.

Tabela 4: Substratos têxteis utilizados ao longo dos ensaios.

Substratos têxteis
Lã
Lã pré tratada com alúmen
Algodão
Algodão cationizado
Algodão pré tratado com alúmen

Ao longo do desenvolvimento do plano de trabalho foram utilizados diversos reagentes. Na tabela 5 são apresentados os reagentes utilizados, e os seus respetivos fornecedores.

Tabela 5: Reagentes utilizados nos ensaios realizados e respetivos fornecedores.

Reagentes	Fornecedores
Alúmen	Sameca
Ácido acético	Prolabo VWR International
Carbonato de sódio	Panreac Química
Etanol 100%	Carlo ERBA Reagents S.A.
Hipoclorito de sódio	Limpolar

### 3.2 Processo de coloração

Tendo em conta que se tratavam de ensaios preliminares, o processo de biocoloração foi realizado, numa primeira fase, a uma escala micro-laboratorial nos laboratórios do CeNTI.

O desenvolvimento de uma técnica de coloração ecológica teve início com um processo de extração dos corantes naturais, também ecológico. Assim, durante 15 min os extratos naturais foram sujeitos ao processo de extração com água à temperatura inicial de 100°C. Finalizado o processo de extração, procedeu-se à filtração e recolha do filtrado que posteriormente foi utilizado na coloração dos substratos têxteis.

Em seguida, os substratos têxteis foram coloridos por esgotamento num banho termostaticado Grant – OLS200, onde o substrato têxtil e o banho de coloração foram inseridos com uma razão de 1:100. A coloração teve a duração de 2 h à temperatura de 40°C com agitação de 100 rpm, condições sugeridas tendo em conta a ecossustentabilidade pretendida para este processo de coloração. Posteriormente ao processo de coloração, foram efetuadas 2 lavagens com água; uma lavagem a frio, 10 min à temperatura de 25°C e outra lavagem a quente, 40°C durante 30 min. Após secagem à temperatura ambiente e exposição à luz solar procedeu-se à análise visual do substrato têxtil colorido.

Numa fase mais avançada, na tentativa de tornar as condições mais semelhantes da escala industrial e assim obter resultados comparáveis, os ensaios foram realizados à escala laboratorial nos laboratórios têxteis do CITEVE. O processo de esgotamento foi realizado na Mathis LaboMat com uma razão de têxtil:banho de 1:20 e decorreu nas condições previamente descritas, 2 h de coloração à temperatura de 40°C, porém com agitação constante de 25 rpm. Embora a coloração tenha a duração de 2 h, neste equipamento o processo é mais moroso, uma vez que existe um gradiente de aquecimento e arrefecimento de 3,5°C por min. Posteriormente, os substratos têxteis foram sujeitos à lavagem a frio, 10 min a 30°C, e à lavagem a quente, 30 min à temperatura de 40°C. Após a secagem à temperatura ambiente procedeu-se a uma análise visual dos provetes coloridos.

Os substratos têxteis utilizados foram a lã (WO), lã pré tratada com alúmen (WO PT-ALU), algodão (CO), algodão cationizado (CO-CAT) e algodão pré tratado com alúmen (CO PT-ALU).

### Coloração com extratos de plantas

Com o intuito de avaliar o potencial corante de cada um dos 47 extratos de plantas e selecionar os mais promissores para a coloração têxtil, os mesmos foram submetidos ao processo de extração aquosa. As infusões foram preparadas a partir de matéria-prima distintas (flores, pétalas, folhas) através de um processo de extração aquosa que decorreu durante 15 min e utilizou-se uma concentração de 50 g de tecido vegetal/L. Posteriormente, o filtrado foi recolhido e utilizado no processo de biocoloração das malhas nas condições supracitadas.

### Coloração com extratos de cogumelos

Previamente ao processo de extração aquosa, os cogumelos foram desidratados e o tecido foi reduzido a um pó fino com o auxílio de uma trituradora, de modo a aumentar a rentabilidade do processo. A obtenção dos extratos aquosos de cogumelo ocorreu com a concentração de 50 g de tecido de cogumelo/L, à exceção de *Pisolithus tinctorius*, que devido à sua cor intensa foi utilizada uma concentração de 5 g/L. O processo decorreu durante 15 min. e no final o filtrado.

### Coloração com extratos de bagaço de uva

Os extratos de bagaço de uva (figura 8) foram sujeitos a 2 extrações aquosas com diferentes temperaturas, uma com água à temperatura ambiente e outra com água à temperatura inicial de 100°C. Relativamente à extração com água à temperatura ambiente utilizou-se uma concentração de 264 g de extrato de engaçó/L, enquanto que na extração com água à temperatura inicial de 100°C a concentração utilizada foi de 265 g de extrato de bagaço de uva/L. É de salientar que na última extração, a temperatura não foi mantida constante, pelo que durante os 15 min de extração esta diminuiu.



Figura 8: Extrato de bagaço de uva antes do processo de extração aquosa.

### 3.3 Influência da temperatura e do tempo no processo de extração aquosa

Primeiramente, o extrato de hortelã-pimenta foi submetido à extração aquosa em diferentes condições. A extração aquosa foi realizada com diferentes temperaturas: 100°C (temperatura controlo), 60°C e 25°C (temperatura ambiente), sendo que as temperaturas de 60°C e 25°C foram mantidas constantes durante o ensaio. Para cada temperatura estipulada variou-se o tempo de extração e assim, para além do tempo controlo, 15 min, foram realizados ensaios para os tempos de 30 min, 1 h, 2 h e 4 h. Os filtrados resultantes das diferentes extrações aquosas foram recolhidos para análise visual e coloração têxtil por esgotamento nas condições já referidas.

Com o intuito de avaliar em que gama de valores do espectro UV-Vis a absorção por parte dos corantes naturais é maior, foram recolhidas alíquotas nos tempos referidos. Estas foram diluídas e analisadas no espectrofotómetro Perkin Elmer precisely Lambda 35 UV/Vis.

### 3.4 Influência da adição de alúmen, ácido acético e carbonato de sódio

O processo de biocoloração dos substratos têxteis decorreu na presença de diferentes reagentes químicos utilizados comumente na indústria têxtil: alúmen, ácido acético e carbonato de sódio. Para além disso, garantiu-se a homogeneidade quanto aos diferentes tecidos dos extratos utilizados, executando-se as colorações

para cada extrato em simultâneo e possibilitando a utilização da mesma solução-mãe em todos os ensaios.

Dada a elevada quantidade de variáveis, foi elaborada uma matriz (tabela 6) que compila os ensaios tendo em conta os diferentes reagentes químicos e substratos têxteis utilizados, atribuindo-lhes uma numeração. Por exemplo, o ensaio 1 corresponde à coloração de provetes de algodão sem adição de reagentes, enquanto o ensaio 6 corresponde à coloração do mesmo substrato têxtil, mas na presença de alúmen. É de salientar que os provetes de algodão e de lã pré tratados com alúmen não foram coloridos em banho na presença de alúmen, uma vez que anteriormente foram tratados com o mesmo reagente.

Tabela 6: Matriz dos ensaios realizados com os diferentes substratos têxteis e reagentes: alúmen, carbonato de sódio e ácido acético. A numeração apresentada é referente a cada ensaio realizado.

	<b>Controlo</b>	<b>Alúmen</b>	<b>CH<sub>3</sub>COOH</b>	<b>Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub></b>
<b>CO</b>	1	6	9	14
<b>CO-CAT</b>	2	7	10	15
<b>CO PT-ALU</b>	3	-	11	16
<b>WO</b>	4	8	12	17
<b>WO PT-ALU</b>	5	-	13	18

#### 3.4.1 Influência da adição de alúmen

O processo de mordentagem decorreu simultaneamente com o processo de coloração natural, adicionado-se alúmen com uma concentração de 10 g/L. Os processos de coloração e lavagem com água decorreram nas condições supracitadas. Posteriormente, os provetes bicoloridos foram expostos à luz solar e analisados visualmente.

#### 3.4.2 Influência da adição de ácido – ácido acético

O estudo acerca da influência da adição de ácido acético foi efetuado com o intuito de averiguar se alterações bruscas de pH, neste caso a acidificação, provocariam alterações notórias ao nível da cor e/ou propriedades de solidez da cor.



Deste modo, às diversas infusões obtidas com recurso a extratos naturais, adicionou-se uma concentração ajustada de ácido que permitiu a obtenção de um pH final entre valores de 3 e 4. A biocoloração e as respetivas lavagens foram executadas nas condições descritas anteriormente e no final os provetes coloridos foram secos e expostos à luz solar para posterior análise.

#### 3.4.3 Influência da adição de base – carbonato de sódio

A utilização de bases no processo de coloração é frequente, recorrendo-se sobretudo ao carbonato de sódio e ao hidróxido de sódio. Assim, procedeu-se à adição de carbonato de sódio às infusões recolhidas de modo a avaliar o seu efeito no processo de coloração.

Uma concentração definida de base foi adicionada aos banhos de coloração, culminando num valor de pH final entre os 11 e 12. A coloração, assim como o processo de lavagem, decorreram nas condições descritas e no final os provetes coloridos foram expostos à luz e analisados.

### 3.5 Medição do pH

Tendo em conta que o pH é um parâmetro de importância na coloração natural, os valores de pH inicial e final foram anotados de forma a possibilitar a reprodutibilidade dos ensaios e a otimização do processo.

Deste modo, foram retiradas alíquotas anterior e posteriormente ao processo de coloração para medição do pH no eletrodo de pH Thermo Scientific Orion 3 Star.

### 3.6 Influência da mistura de infusões

De modo a avaliar a viabilidade da coloração com misturas de infusões, realizou-se um ensaio com a mistura de 2 infusões obtidas a partir de 2 extratos diferentes, selecionados com base na cor conferida aos substratos têxteis em colorações anteriores, bem como na qualidade da mesma. O processo de coloração de provetes de algodão cationizado foi efetuado de acordo com as condições estipuladas, utilizando-se misturas de infusões alcalinizadas nas seguintes proporções: 90% boldo/10% alcachofra e vice-versa, 75% boldo/25% alcachofra e

vice-versa, e 50% boldo/50% alcachofra. Por fim, procedeu-se à lavagem e secagem dos provetes coloridos para uma posterior exposição à luz solar e análise visual da cor.

### **3.7 Influência da adição de enzimas oxidorredutases – lacase**

A enzima oxidorredutase lacase é utilizada pela indústria têxtil, especialmente em processos de coloração. Deste modo, procedeu-se à coloração natural na presença de lacase de forma a avaliar o seu efeito, nomeadamente ao nível da cor conferida ao substrato têxtil, neste caso o algodão. É de realçar que a enzima foi utilizada na sua forma sólida.

Após a preparação das infusões, imergiram-se os provetes de algodão nos copos de coloração e no momento do início da coloração, a lacase foi adicionada numa razão lacase: banho de coloração de 1:20. Quando o processo de coloração cessou, decorreram as lavagens a frio e a quente dos provetes coloridos e sua exposição à luz.

### **3.8 Influência do envelhecimento da infusão**

A degradação da cor ocorre muitas vezes devido a uma oxidação dos compostos corantes. Com efeito, efetuou-se a exposição à luz solar de infusões selecionadas para avaliar se ocorrem eventuais melhorias na qualidade da cor.

Deste modo, os filtrados obtidos do processo de extração aquosa foram expostos à luz solar durante o período de 72 h. Posteriormente, as infusões envelhecidas foram utilizadas na coloração de provetes de lã, numa razão de 1:20 nas condições já descritas, seguindo-se as lavagens a frio e a quente. Quando as malhas coloridas já se encontravam secas, foram expostas à luz solar.

### **3.9 Propriedades de solidez da cor**

#### **3.9.1 Solidez da cor à luz**

Os provetes coloridos foram inseridos numa cartolina onde um recorte com uma área de 1 cm<sup>2</sup> permitiu que os mesmos contactassem com a luz solar, como se pode visualizar na figura 9. Este processo ocorreu após a coloração e a lavagem dos

provetes coloridos, que depois da secagem foram expostos à luz solar por um período de 48 h. No final procedeu-se a uma análise visual de modo a averiguar os efeitos da luz solar na cor do substrato têxtil.



Figura 9: Esquema do método utilizado para expor os provetes coloridos à luz solar recorrendo a uma cartolina com recortes de 1 cm<sup>2</sup>.

### 3.9.2 Solidez da cor à lavagem com detergentes

Foram seleccionados detergentes de marcas registadas como o *skip*, o detergente padrão (ECE – *Phosphate Reference Detergent*) e o *soflan* com o intuito de avaliar qual o mais adequado para as lavagens de malhas bicoloridas.

Os provetes coloridos foram sujeitos a lavagens com duração de 30 min à temperatura de 40°C e com uma razão substrato têxtil:banho de 1:100. Quanto aos detergentes, foram preparadas soluções de 4 g/L.

### 3.10 Medição das coordenadas de cor e da força colorística (K/S)

Com o intuito de avaliar quantitativamente a cor dos provetes coloridos e atribuir-lhes um valor específico, foram realizados ensaios num colorímetro Data color – Color tools 3.0.5 que consistiram em colocar a região do têxtil a ser analisada em contacto com um feixe de luz. Este instrumento permitiu a medição das coordenadas de cor segundo o método de CIELAB, obtendo-se valores de coordenadas L\*, a\* e b\*, assim como os valores de R para posterior determinação dos valores de K/S segundo a equação 2.

### 3.11 Atividade Antimicrobiana

#### 3.11.1 Esterilização dos provetes coloridos

Num ensaio preliminar foi avaliada a carga microbiana dos tecidos antes de sofrerem o processo de esterilização. Para efeito, os provetes coloridos foram incubados em meio *Luria Bertani* (LB) e meio *Yeast Peptone Dextrose* (YPD), respetivamente às temperaturas de 37°C e 30°C numa câmara MM Medcenter durante o período de 24 h. A esterilização dos provetes é fulcral para a eliminação dos microrganismos presentes e tendo em conta que os métodos de esterilização são inúmeros, o presente estudo pretendia avaliar quatro dos possíveis métodos e assim determinar qual o mais adequado e eficiente.

Os provetes coloridos foram mergulhados numa solução preparada com etanol a 70% onde permaneceram durante 1 min e após a esterilização, os substratos têxteis foram mergulhados em água estéril para remoção de eventuais resíduos de solvente. A esterilização com recurso à radiação UV foi executada numa câmara de fluxo vertical HSM AES Laboratoire, onde cada face dos provetes coloridos foi exposta à luz UV durante 10 min. Relativamente ao método de esterilização com recurso ao hipoclorito de sódio a 0,5%, este consiste na imersão dos provetes coloridos durante 20 s na solução de hipoclorito de sódio a 0,5% e em seguida na água esterilizada para remoção dos excessos de solvente. Por fim, a esterilização dos provetes por autoclavagem decorreu numa autoclave Uniclave 99 à temperatura de 121°C durante 2 h.

Depois da esterilização por diferentes métodos, os substratos têxteis foram colocados numa placa com meio LB e incubados durante o período de 24 h para se estudar o crescimento microbiano.

#### 3.11.2 Avaliação da atividade antimicrobiana – método qualitativo

De modo a avaliar o poder antimicrobiano dos provetes bicoloridos, numa primeira fase, procedeu-se a uma análise qualitativa do crescimento de microrganismos pelo teste de difusão em agar. Este método consiste na inoculação

dos microrganismos selecionados e do substrato têxtil em placas de agar e posterior incubação em condições de crescimento ótimas. De um modo geral, os métodos de avaliação qualitativos são fáceis, rápidos e eficientes quando um vasto número de amostras tem que ser testado (Gouveia, 2010).

Assim, preparou-se meio LB para estudar o crescimento de bactérias e meio YPD para estudar o crescimento de fungos. Após a solidificação dos meios em placas, procedeu-se à sua inoculação. As placas com *Propionibacterium acnes*, *Escherichea coli* e *Staphylococcus epidermidis* foram incubadas a 37°C e as placas inoculadas com *Candida albicans* foram incubadas a 30°C durante a noite. Após o crescimento das culturas em meio sólido, preparam-se suspensões líquidas de cada microrganismo em água estéril a uma densidade ótica (D.O.) de 0.4, de modo a conferir igual quantidade de células aos diferentes ensaios.

Depois da aplicação dos provetes de 1 cm<sup>2</sup> no meio sólido, as suspensões de microrganismos foram espalhadas homoganeamente sobre o meio e as placas foram incubadas nas condições anteriormente referidas durante o período de 24 h. No final da incubação procedeu-se à análise visual das placas e verificação da existência/ausência do halo de inibição.

### 3.11.3 Avaliação da atividade antimicrobiana – método quantitativo

A atividade antimicrobiana foi quantificada pelo método de contagem de colónias em placa. O crescimento das diferentes populações microbianas ocorreu durante a noite à temperatura de 37°C a 100 rpm, e no dia seguinte as culturas foram diluídas para uma D.O. de 0.1. Em seguida, 3 provetes coloridos estéreis com 1 cm<sup>2</sup> foram adicionados à cultura microbiana. Foram então retiradas alíquotas de 0,1 mL no tempo zero, 15 min, 30 min e 45 min, sendo que cada alíquota foi diluída em série e espalhada em placas de agar que posteriormente foram incubadas a 37°C durante 24 h antes de se proceder à contagem do número de colónias.

## 4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 4.1 Coloração com extratos de plantas

#### 4.1.1 *Screening* inicial

O processo ecológico de extração aquosa de diferentes extratos de plantas permitiu a obtenção de infusões posteriormente utilizadas no processo de biocoloração das malhas. Como referido no capítulo anterior, realizou-se uma extração aquosa dos 47 extratos de plantas que potenciou a difusão das moléculas corantes e de outros compostos polares para a água.

Na figura 10 é possível visualizar alguns extratos durante o processo de extração aquosa, assim como as respetivas infusões obtidas.

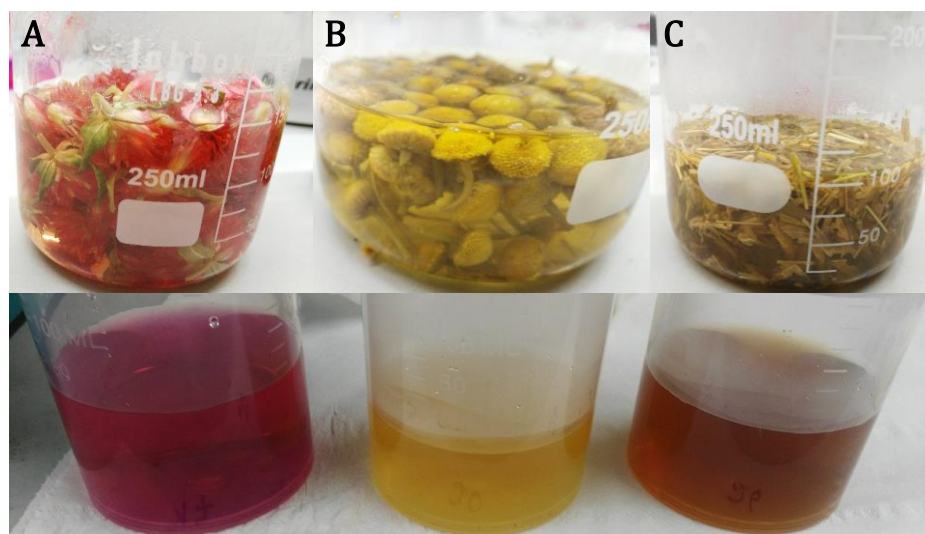


Figura 10: Infusões obtidas a partir do processo de extração aquosa de perpétua-morango (A), macela (B) e dente de leão (C).

O processo de extração aquosa mostrou-se eficaz e possibilitou a transferência de cor dos extratos de plantas para a água, produzindo infusões de diversas cores, como evidencia a figura 11. Contudo na generalidade dos casos, as infusões obtidas resultaram numa cor amarela conferida por pigmentos como os carotenóides ou curcuminas (Siva, 2007).

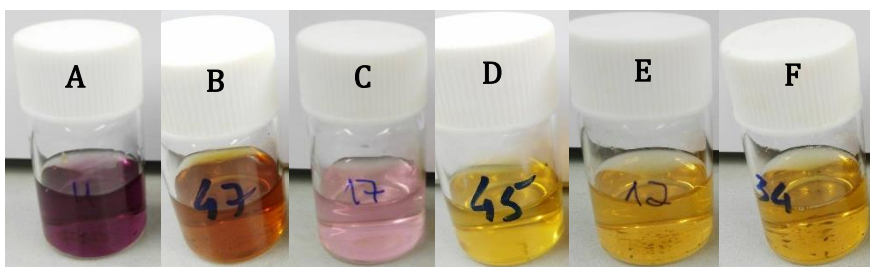


Figura 11: Banhos de coloração obtidos após a extração aquosa de rosmaninho (A), alcachofra (B), perpétua roxa (C), tomilho bela luz (D), passiflora (E) e cidreira (F).

As infusões obtidas a partir da extração aquosa dos 47 extratos de plantas foram utilizadas no processo de biocoloração por esgotamento de forma que a quantidade de corante absorvida pelo substrato têxtil fosse máxima. Depois do processo de coloração, as lavagens dos provetes coloridos promoveram a remoção dos excessos de corante.

A figura 12 mostra exemplos de infusões obtidas a partir de extratos de plantas e as malhas após as respectivas colorações e lavagens com água. Os resultados sugerem que a cor pouco sólida exibida pelas malhas é resultante de uma reduzida afinidade entre os corantes e as fibras têxteis e da perda significativa de corante pelo processo de lavagem com água.

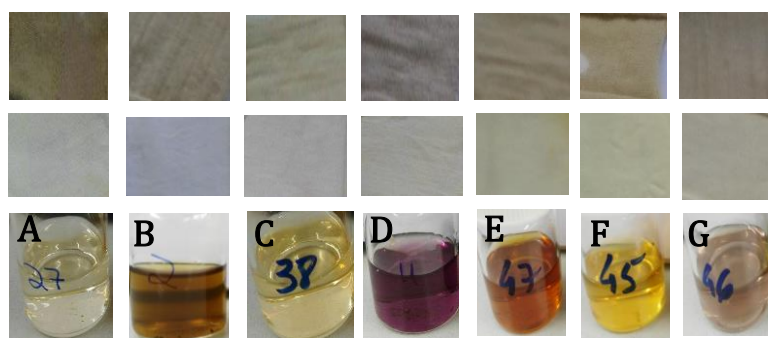


Figura 12: Coloração dos provetes de lã (painel superior) e algodão (painel central) obtida com as infusões de hipericão do Gerês (A), urtiga maior (B), boldo (C), rosmaninho (D), alcachofra (E), tomilho bela luz (F) e alfazema (G), cujas tonalidades são mostradas no painel inferior.

Os resultados mostram ainda que as malhas de lã exibem uma cor mais intensa do que as malhas de algodão. Foi sugerido que a diferença de cor resulta da maior reatividade das fibras de lã e da sua natureza ácida (Das, 2016). Contudo, genericamente, a coloração natural não conferiu cores atrativas e sólidas, independentemente da infusão obtida. Com efeito, os provetes coloridos com as infusões de passiflora, rosmaninho, alcachofra e tomilho bela luz, adquiriram cores pouco sólidas e desinteressantes, infiéis à cor original das respetivas infusões. Estes resultados sugeriram que a coloração sem qualquer tipo de auxiliar/reagente químico é pouco eficaz

#### 4.1.2 Coloração de provetes com tratamento da superfície têxtil

Tendo em conta que a coloração dos provetes com as infusões de extratos de plantas não se mostrou eficaz, o passo seguinte consistiu na aplicação de reagentes químicos com o intuito de modificar a superfície têxtil e assim conferir melhorias ao processo de coloração.

A cationização corresponde a uma alteração química da fibra através da introdução de grupos carregados positivamente, o que gera uma maior atração de corantes aniônicos para a fibra que está carregada positivamente, o que pode culminar na formação de uma ligação forte e, conseqüentemente numa maior intensificação da cor. Por outro lado, o pré-tratamento da fibra têxtil com alumínio pode permitir que a interação entre a fibra e o corante natural seja mais forte.

Com efeito, os resultados mostraram que o provete de algodão cationizado exibiu cores distintas das cores anteriormente manifestadas, aquando da coloração do algodão sem qualquer tratamento. Na figura 13 são evidentes as diferenças de cor entre um provete de algodão sem tratamento da superfície têxtil e um provete de algodão cationizado, ambos coloridos com a infusão de noqueira. De facto, o algodão cationizado exhibe uma cor coesa, indicando a ocorrência de um esgotamento mais eficiente e, conseqüentemente uma maior fixação do corante natural.



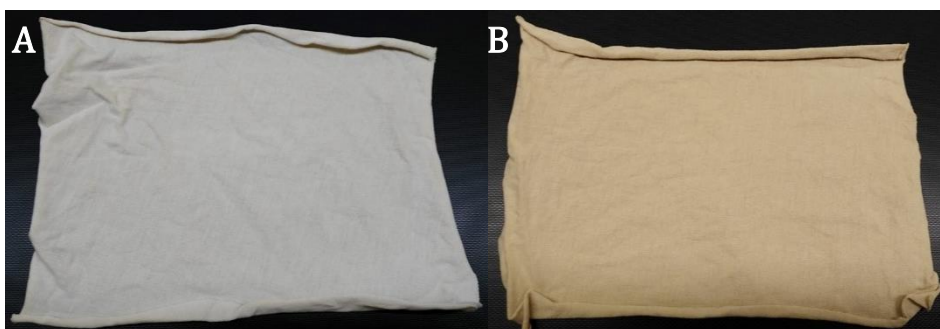


Figura 13: Efeito do processo de cationização na coloração dos provetes de algodão. Provede de algodão (A) e algodão cationizado (B) coloridos com infusão de noqueira.

Os resultados mostraram ainda que os provetes pré tratados com alúmen também adquiriram uma cor mais forte e intensa após o processo de coloração, exibindo cores mais interessantes para uma paleta de cores variada. A figura 14 mostra a cor gerada nos provetes de lã e algodão pré tratados com alúmen após a coloração com a infusão de noqueira. O pré-tratamento possibilitou adicionalmente a obtenção de novas cores, tanto em provetes de algodão como em provetes de lã. Os provetes de lã apresentaram, contudo, uma cor mais forte comparativamente com os de algodão, tanto nos provetes pré tratados com alúmen, como nos provetes controlo.

Genericamente, os resultados mostraram que embora ambos os pré-tratamentos sejam capazes de conferir melhorias ao nível da cor, o pré-tratamento com alúmen possibilitou a obtenção de substratos têxteis com cores mais intensas e apelativas e, conseqüentemente de valor superior. Para além disso, tratando-se o alúmen de um mineral, a sua utilização envolve um menor impacto ambiental comparativamente ao processo de cationização. Adicionalmente, o alúmen é relativamente barato, de fácil obtenção e seguro (Samanta e Konar, 2011)



Figura 14: Efeito do pré-tratamento com alumínio nos provetes de lã e algodão. Algodão (A), algodão pré tratado com alumínio (B), lã (C), lã pré tratada com alumínio (D) coloridos com infusão de noqueira.

Os resultados mostraram ainda que após 48 h de exposição à luz solar, verificou-se que a implementação de diferentes tratamentos da superfície têxtil conferiu melhorias ao nível da solidez da cor. De facto, a figura 15 mostra que as alterações de cor nas zonas expostas são mínimas.

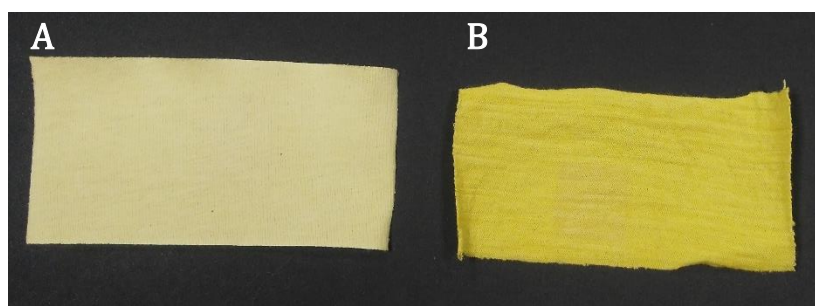


Figura 15: Efeito da exposição à luz solar nos provetes de algodão (A) e lã (B) pré tratados com alumínio e coloridos com a infusão de noqueira.

#### 4.1.3 Coloração com adição de alumínio

Como referido na secção de materiais e métodos, devido à fraca afinidade entre os corantes naturais e as fibras têxteis, adicionou-se alumínio ao banho de coloração, ocorrendo a etapa de mordentagem em simultâneo com a coloração dos provetes.

Quando os provetes coloridos na presença de alumínio foram analisados visualmente, detetaram-se melhorias ao nível da cor, que para além de ser mais intensa, era mais fiel ao banho de coloração, como se verifica na figura 16. Além disso, os provetes de algodão cationizado adquiriram uma cor mais forte

comparativamente com os provetes de algodão, contudo, mostraram-se menos resistentes à exposição à luz solar. Assim, os resultados sugerem que o tratamento com alúmen tornou-os mais sensíveis à luminosidade, contrariando estudos anteriores (Samanta e Konar, 2011). Com efeito, o estudo referido mostrou que o alúmen confere melhorias ao nível das propriedades de solidez da cor à lavagem e à luz aos substratos têxteis coloridos com folhas de chá.

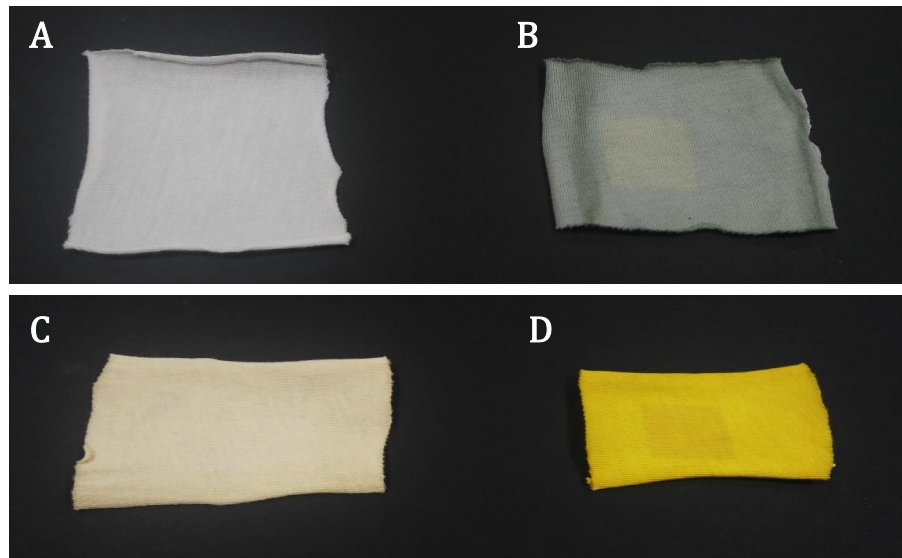


Figura 16: Efeito da coloração na presença de alúmen e da exposição à luz solar nos provetes de algodão (A) e algodão cationizado (B) coloridos com a infusão de rosmaninho e nos provetes de algodão (C) e algodão cationizado (D) coloridos com a infusão de tomilho bela luz.

Em síntese, os resultados mostraram que o pré-tratamento da superfície têxtil com alúmen e a utilização de alúmen durante o processo de coloração resultaram na obtenção de substratos têxteis com cores semelhantes, contudo a alteração da superfície têxtil induziu melhorias ao nível da solidez da cor à luz solar. Estudos posteriores poderão ser realizados para averiguar de que forma a utilização de alúmen é mais eficiente neste tipo de coloração têxtil.

Tendo em conta os resultados descritos anteriormente, para os estudos subsequentes foram selecionados apenas 10 dos 47 extratos de plantas iniciais, nomeadamente são Roberto, noqueira, sabugueiro, tomilho bela luz, alcachofra, alfazema, lúcia lima, boldo, hortelã pimenta e rosmaninho a uma escala laboratorial.

#### 4.1.4 Coloração em condições ácidas

A adição de ácido acético às infusões conferiu-lhes alterações bruscas de pH, nomeadamente para valores entre 3 e 4. Este atua por redução da carga negativa ou aumento da carga positiva na fibra o que facilita o acesso do corante aniônico ao interior da fibra. Este método é maioritariamente utilizado quando a coloração é desempenhada em substratos proteicos, como é o caso da lã.

Os resultados mostraram que as infusões ácidas obtidas a partir dos extratos de sabugueiro, noqueira, hortelã-pimenta, boldo, alfavaca e alcachofra conferem cores ligeiramente mais suaves aos provetes de algodão pré tratados com alúmen do que as infusões não tratadas com ácido acético (figura 17). Em contrapartida, a acidificação dos restantes banhos de coloração permitiu que os provetes de lã e algodão pré tratados com alúmen adquirissem cores mais intensas e fortes, apresentando desvios à cor original (figura 17C e 17D). Os resultados sugerem que os corantes naturais evidenciam diferentes suscetibilidades ao pH, nomeadamente porque a acidificação pode convertê-los na sua forma mais solúvel devido à ionização do grupo hidroxilo.

Por comparação das diferentes malhas coloridas, verifica-se que os provetes de lã exibem uma cor mais forte e brilhante, pelo que a inclusão de ácido no processo de coloração torna-se mais eficaz quando efetuada em substratos têxteis pré tratados com alúmen ou de origem proteica.

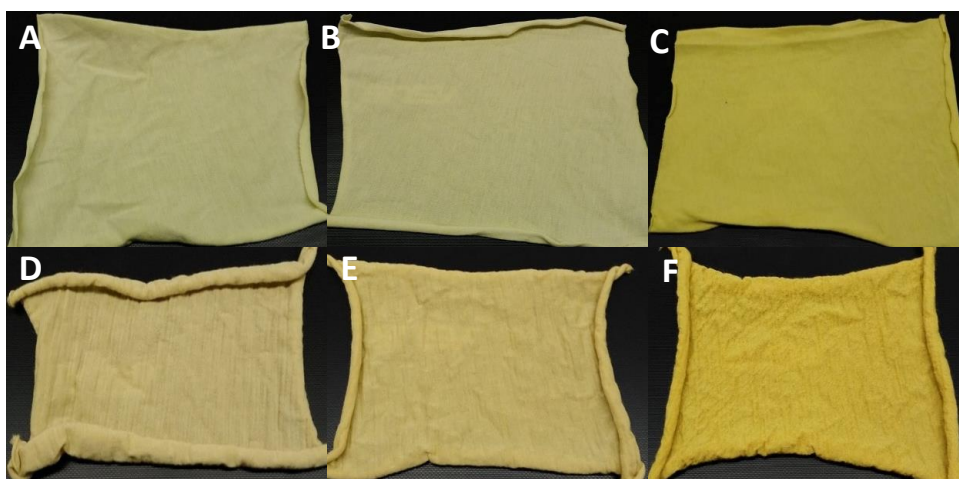


Figura 17: Efeito da coloração com infusão de tomilho bela luz na presença de ácido acético nos provetes de algodão (B), algodão pré tratado com alúmen (C), lã (E) e lã pré tratada com alúmen (F). Os provetes de algodão (A) e lã (D) são os controlos coloridos com a infusão de tomilho bela luz.

#### 4.1.5 Coloração em condições alcalinas

A adição de carbonato de sódio às infusões culminou com uma alcalinização das mesmas, provocando-lhes alterações para valores entre 10 e 11. Os resultados mostraram que as infusões de sabugueiro e são Roberto quando alcalinizadas conferiram uma cor mais intensa ao substrato têxtil, enquanto as infusões de noqueira, lúcia-lima e alfazema conferiram ao substrato têxtil cores menos sólidas. Em contrapartida, foi possível obter novas cores após a alcalinização de outras infusões, especificamente as infusões de hortelã-pimenta e alcachofra (figura 18). Com efeito, a alcalinização da infusão de hortelã-pimenta permitiu alcançar cores de destaque, nomeadamente o laranja nos provetes de lã pré tratada com alúmen (figura 18D).

Em coerência com os resultados obtidos anteriormente, as abordagens mais promissoras consistiram na coloração dos provetes de lã após pré-tratamento com alúmen, que permitiu a obtenção de novas cores. Com efeito, o pré-tratamento com alúmen torna o processo de coloração mais eficiente, na medida em que oferece cores com maior valor e interesse, tendo em conta o objetivo do projeto.

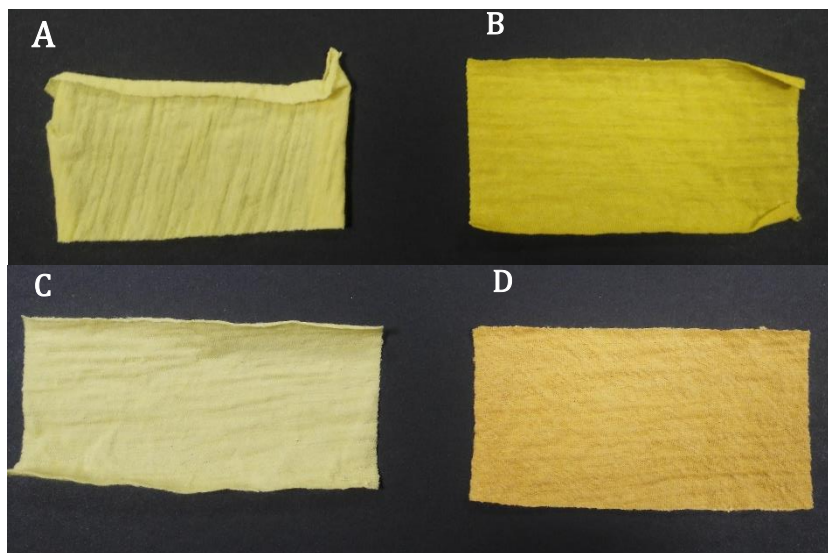


Figura 18: Efeito da coloração em condições alcalinas nos provetes de lã pré tratada com alúmen colorida com sabugueiro (B) e hortelã-pimenta (D). Provetes controlo de lã pré tratada com alúmen colorida com a infusão de sabugueiro (A) e hortelã-pimenta (C).

#### 4.1.6 Alterações de pH

Os valores de pH dos banhos aos quais se adicionou alúmen, ácido e base foram monitorizados de forma a possibilitar a reprodutibilidade dos ensaios de coloração, assim como avaliar um parâmetro de coloração importante. É de salientar que os ensaios foram realizados tendo em conta a matriz da tabela 6.

De um modo geral, nos ensaios 1, 2 e 3 os valores de pH inicial e final não apresentam diferenças significativas, contudo nos ensaios 4 e 5, referentes à coloração de provetes de lã, são visíveis as variações de pH.

Nos ensaios subsequentes (6 ao 8) o alúmen foi adicionado ao banho de coloração de modo a promover um processo de mordentagem em simultâneo. No caso das infusões de noqueira (figura 19) e tomilho bela luz, verificou-se uma discrepância entre os valores de pH inicial e final, indicando que as infusões originadas a partir destes dois extratos são mais reativas perante a adição de alúmen. Com efeito, esta maior reatividade é verificada ao nível da cor adotada pelos substratos têxteis, que manifestam cores intensas e coesas. Para além disso, os provetes de lã também se mostraram mais suscetíveis ao efeito do alúmen.

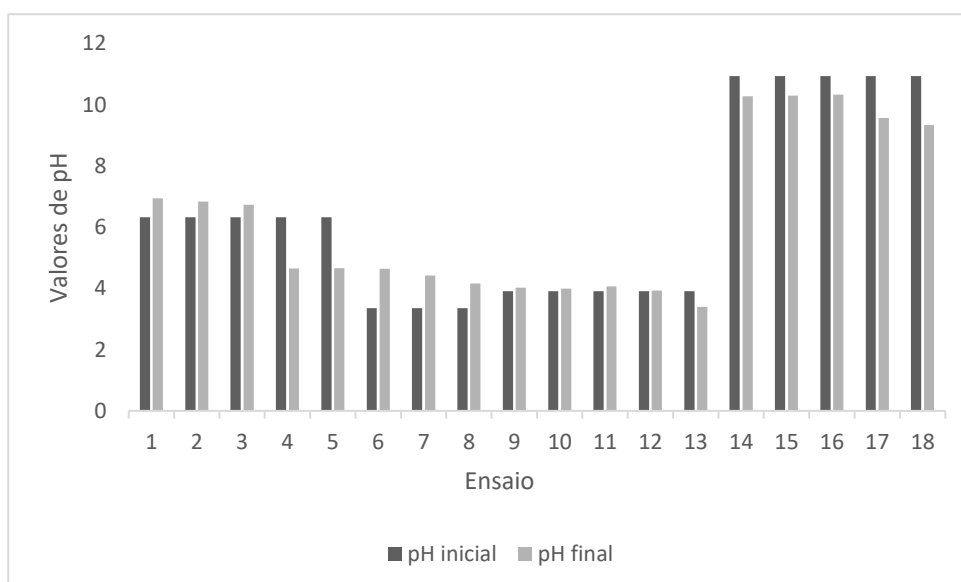


Figura 19: Valores de pH inicial e final obtidos após a coloração dos substratos têxteis com a infusão noqueira nos diferentes ensaios.

Por outro lado, a figura 20 mostra os valores de pH obtidos para a infusão de rosmaninho que sugerem uma inversão de tendência, uma vez que o pH inicial é superior ao pH final e os provetes de algodão demonstram-se mais suscetíveis à presença de alumínio. Assim, torna-se empírico que as alterações surgiram devido à presença/ausência de certos compostos no extrato de rosmaninho, pelo que a confirmação poderia ser efetuada com recurso à técnica de HPLC (*High Performance Liquid Chromatography*).

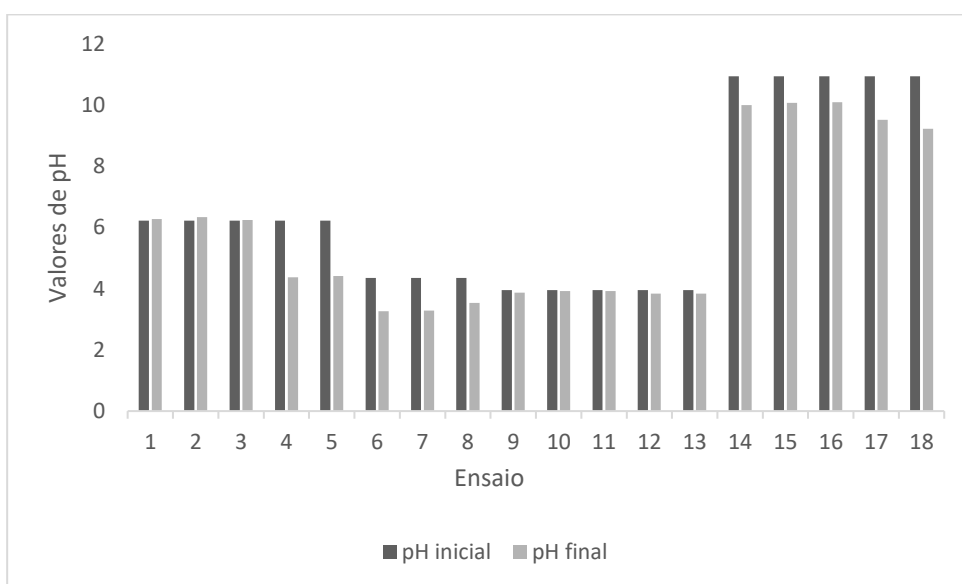


Figura 20: Valores de pH inicial e final obtidos após a coloração dos substratos têxteis com a infusão de rosmaninho nos diferentes ensaios.

A adição de ácido acético aos banhos de coloração dos ensaios 9 a 13 provocou uma acidificação dos mesmos. Tendo em conta as figuras 19 e 20 e as figuras do anexo I verifica-se que o pH inicial ácido manteve-se praticamente inalterado após o processo de coloração com as diferentes infusões.

Por último, nos ensaios 14 a 18 adicionou-se carbonato de sódio, reagente que conferiu ao banho de coloração valores de pH inicial superiores a 10, contudo após a coloração os valores tornaram-se inferiores, como se observa nas figuras 19 e 20 e nas figuras do anexo I. Os resultados indicam que durante o processo de coloração ocorreram interações com o substrato têxtil que conferiram valores menos alcalinos ao banho de coloração.

De um modo geral, os resultados mostram que as alterações de pH ocorreram sobretudo nos banhos de coloração dos provetes de lã, uma vez que a fibra é de origem proteica e constituída por grupos ácidos e básicos (Ingamells, 1993) que a tornam mais suscetível a reações com o banho de coloração. As alterações de pH são compatíveis com as alterações de cor identificadas nos provetes. Em contrapartida, os pré-tratamentos dos substratos têxteis não provocaram alterações ao nível do pH, pois após o tratamento foram efetuadas lavagens aos substratos têxteis para remover os excessos de auxiliares. Caso não se efetuassem lavagens, verificar-se-ia uma alteração do pH do banho de coloração, uma vez que à superfície têxtil existiriam substâncias com caráter ácido.

#### 4.1.7 Coloração com adição de lacase

Uma vez que as enzimas são utilizadas comumente na coloração têxtil como auxiliares de coloração, foram realizados ensaios com recurso à lacase. Após a adição da lacase às diferentes infusões, verificou-se que estas escureceram e de uma forma geral adquiriram cores acastanhadas e intensas. Na figura 21 são apresentadas a infusões dos diferentes extratos de plantas, onde as alterações de cor são eminentes, à exceção da infusão de boldo que permaneceu com uma cor amarela.

Estudos anteriores (Guimarães et. al, 2011) mostraram que a enzima apenas manifesta atividade na presença de compostos fenólicos e oxigénio, pelo que reunidas as condições ótimas, ela provoca um escurecimento do banho de coloração, tal como ocorreu no presente ensaio. Deste modo, as alterações sugerem que os extratos utilizados são ricos em compostos fenólicos, nomeadamente o catecol. Em contrapartida, a infusão de boldo não se tornou castanha, revelando então um menor teor em compostos fenólicos comparativamente com as restantes infusões. Estudos posteriores com recurso ao HPLC poderão confirmar se as modificações de cor induzidas são provocadas por diferentes níveis de compostos fenólicos nos extratos.



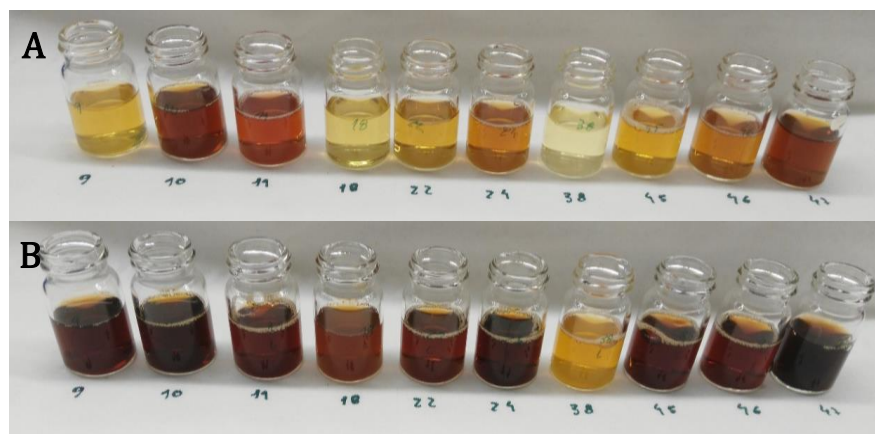


Figura 21: Efeito da lacase nas infusões obtidas a partir de diferentes extratos de plantas.

Para além da visualização do efeito da lacase na cor das infusões, procedeu-se também à avaliação do seu efeito na coloração de provetes de lã. De uma forma geral, após o processo de coloração e secagem, as malhas de lã coloridas com as infusões na presença da enzima apresentaram um escurecimento comparativamente às malhas controlo. Na figura 22 verifica-se que os provetes coloridos na presença da lacase exibem uma cor diferente do controlo, apresentando tendências amareladas/acastanhadas tal como os banhos utilizados, pelo que o escurecimento provocado pela oxidação dos compostos fenólicos presentes nas infusões refletiu-se na coloração têxtil.

Apesar dos provetes de lã coloridos na presença de lacase apresentarem cores diferentes daquelas manifestadas pelos provetes de lã controlo, a aplicação da lacase no processo de coloração não demonstra ser viável, pois elimina variabilidade de cor tanto nas infusões como nos provetes. Por outro lado, a adição da enzima também poderia provocar melhorias ao nível da solidez da cor à luz, contudo não se verificou.



Figura 22: Efeito do tratamento com lacase nos provetes de lã colorida com infusão de boldo (B) e noqueira (D). Provetes controlo lã colorida com infusão de boldo (A) e noqueira (D).

#### 4.1.8 Influência das misturas de infusões

O presente estudo foi efetuado com recurso aos extratos de boldo e alcachofra, pois as suas infusões coloriram os provetes com cores invulgares e de valor acrescentado para a paleta de cores, para além de que os provetes coloridos com a infusão de alcachofra admitem uma solidez da cor à luz considerada boa.

Deste modo, as misturas das infusões referidas permitiram a obtenção dos banhos de coloração apresentados na figura 23, onde se verifica que existe uma gradação de cores, sendo a infusão de alcachofra a mais clara e ocorre um escurecimento à medida que a quantidade de infusão de boldo adicionada aumenta. A mistura destas infusões proporcionou a obtenção de cores intermédias e diferentes daquelas já utilizadas.

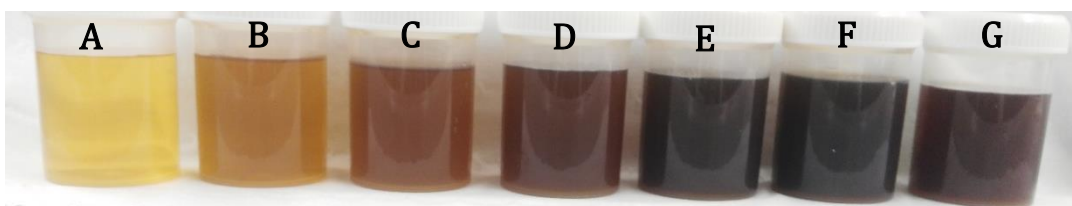


Figura 23: Efeito da mistura das infusões de alcachofra (A) e boldo (G). Misturas de infusões nas proporções de 90% alcachofra/10% boldo (B), de 70% alcachofra/30% boldo (C), de 50% alcachofra/50% boldo (D), de 30% alcachofra/70% boldo € e de 10% alcachofra/90% boldo, (F).

Posteriormente, as infusões obtidas coloriram os provetes de algodão cationizados com as cores apresentadas na figura 24. Pela análise visual verifica-se que a coloração com as infusões resultantes de misturas conferiu aos substratos têxteis cores intermédias, com tons alaranjados/salmão.

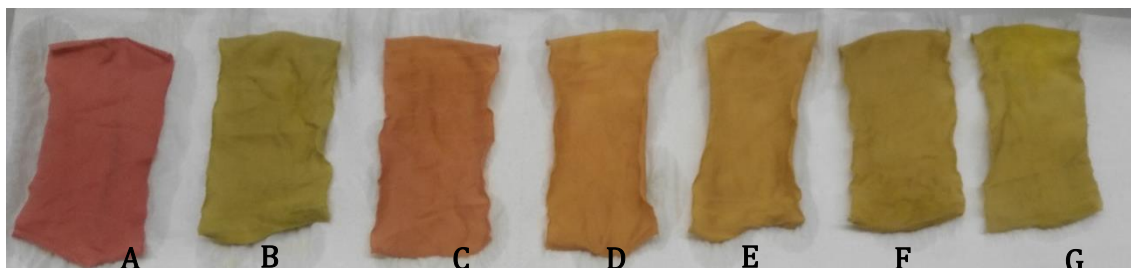


Figura 24: Efeito das misturas em diferentes proporções das infusões de boldo e alcachofra na coloração de provetes de algodão cationizado.

O ensaio realizado permitiu a obtenção de uma gama de novas cores intermédias à de boldo e alcachofra, acrescentando novas cores à paleta de cores em desenvolvimento. Os resultados sugerem que os corantes naturais podem produzir uma variável quantidade de cores a partir das misturas, tal como mostrado anteriormente (Samanta e Konar, 2011). Relativamente à solidez da cor à luz, os resultados mais promissores correspondem aos provetes coloridos com a infusão de alcachofra, enquanto os resultados menos promissores foram obtidos na coloração com a infusão de boldo. Deste modo, o estudo do efeito das misturas de infusões tornou-se importante, pois as novas cores produzidas poderão substituir cores semelhantes dotadas de um fraco desempenho quando expostas à luz solar.

#### 4.1.9 Envelhecimento das infusões

O objetivo deste ensaio consistiu em averiguar qual o efeito do envelhecimento prévio da infusão na cor adquirida pelo substrato têxtil e na solidez da mesma. Deste modo, constatou-se que de um modo geral, as colorações têxteis com infusões envelhecidas conferiram-lhes uma tonalidade acastanhada, característica da oxidação, tal como se visualiza na figura 25 para os provetes coloridos com as infusões de nozeira e boldo. De facto, os ensaios foram realizados

com o intuito de conferir melhorias às cores obtidas, ou até mesmo produzir novas tonalidades mais interessantes, o que pela análise visual não se verifica.

Por outro lado, os resultados mostraram que perante a exposição dos provetes coloridos à luz solar, estes exibem uma maior estabilidade da cor, que pode estar relacionada com a oxidação prévia de alguns compostos devido ao envelhecimento conferido pela exposição da infusão à luz solar. Assim, uma vez oxidados, não são suscetíveis a sofrer nova oxidação aquando da exposição do provete colorido à luz solar, permitindo um aumento na qualidade da cor, nomeadamente uma melhoria da sua solidez da cor à luz.



Figura 25: Efeito do envelhecimento da infusão na cor dos provetes de lã colorida com infusão de boldo envelhecida (B) e lã colorida com infusão de noqueira envelhecida (D). Provetes controlo de lã colorida com boldo (A) e noqueira (C).

## 4.2 Coloração com extratos de cogumelos

### 4.2.1 *Screening* inicial e coloração de provetes com tratamento da superfície têxtil

O *screening* inicial efetuado com recurso a extratos de cogumelos permitiu avaliar quais as espécies de cogumelos com maior potencial corante. Assim, antes da coloração dos substratos têxteis, executou-se o processo de extração aquosa tal como nos extratos de plantas, contudo o processo de extração aquosa dos extratos de cogumelos foi mais exigente, uma vez foi necessário reduzir os extratos a um pó fino. Para além disso, em alguns casos, não ocorreu a difusão do corante para a água, tornando-se indispensável a utilização de um misturador (yellowline OST 20 digital).

O processo de obtenção dos diversos extratos de cogumelos permitiu a produção de banhos de coloração com diferentes tonalidades. Tendo em conta a

figura 26, verifica-se que o banho de coloração de *P. tinctorius* apresenta a cor mais forte, enquanto a generalidade dos banhos de extratos de cogumelos exibe cores ténues, semelhantes àquela obtida na figura 26A.

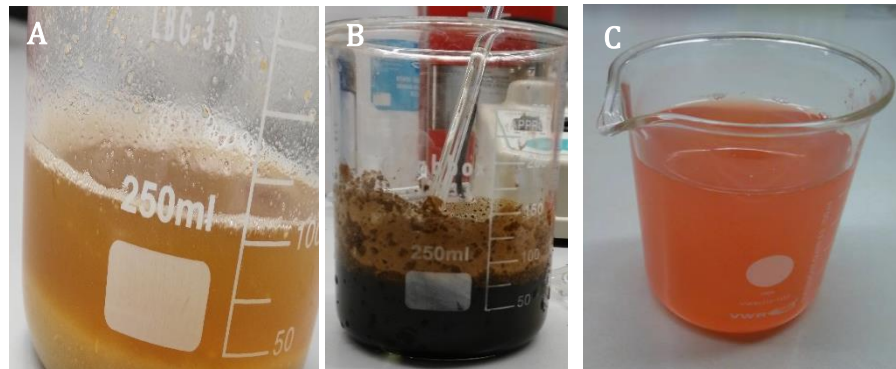


Figura 26: Banhos de coloração obtidos após a extração aquosa dos extratos de *P. cornucopiae* (A), *P. tinctorius* (B) e *P. djamor* (C).

Os banhos de coloração obtidos a partir dos extratos de cogumelos foram posteriormente utilizados na coloração dos substratos têxteis de lã, algodão e algodão cationizado. Após as colorações e lavagens com água verificou-se que os substratos têxteis coloridos com os banhos de extratos de cogumelos não adquiriram cor e apenas o banho de *P. tinctorius* permitiu que os provetes de algodão cationizado obtivessem uma cor distinta (figura 27). Contudo, pela análise visual é possível constatar que os provetes de algodão cationizado coloridos com *P. tinctorius* não manifestam resistência à luz, notando-se uma alteração de cor significativa na zona exposta à mesma. Para além disso, os mesmos apresentam um manchamento, indicando que o processo de coloração têxtil e/ou o pré-tratamento de cationização não foram uniformes.

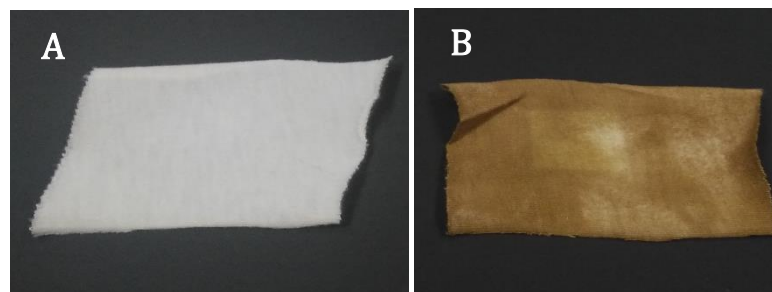


Figura 27: Coloração de provetes de algodão (A) e algodão cationizado (B) com o banho de coloração de *P. tinctorius*.

Os restantes banhos de extratos de cogumelos não potenciaram a geração de cor nos substratos têxteis, como é o caso de *Pleurotus djamor*. Embora a sua extração aquosa tenha permitido a obtenção de um banho com tom rosado, como evidencia a figura 26C, o substrato têxtil não adquiriu cor, uma vez que o corante apenas ficou adsorvido à superfície da fibra têxtil. Assim, tendo em conta os ensaios de coloração com extratos de cogumelos, conclui-se que não existe substantividade entre a fibra têxtil e o corante, mesmo na presença de tratamentos da superfície têxtil.

De um modo geral, os banhos obtidos com recurso a extratos de cogumelos não permitiram que ocorresse um processo de coloração eficiente, contudo é de realçar o banho de *P. tinctorius*, o único capaz de produzir cor no substrato têxtil.

#### 4.2.2 Coloração com adição de alúmen

Tendo em conta que os banhos de coloração obtidos a partir dos diferentes extratos de cogumelos não foram capazes de conferir cor aos substratos têxteis, procedeu-se à adição de alúmen, de modo a avaliar o qual o seu efeito na cor do banho de coloração.

De um modo geral, a adição de alúmen não provocou alterações de cor significativas aos banhos de coloração, como se visualiza na figura 28 onde são mostrados os banhos de *P. djamor* e *Tricholoma atosquamosum* após a adição de mordente. A cor exibida pelos banhos, para além de clara, manteve-se praticamente inalterada após a adição do auxiliar, sugerindo que não ocorreram interações fortes.

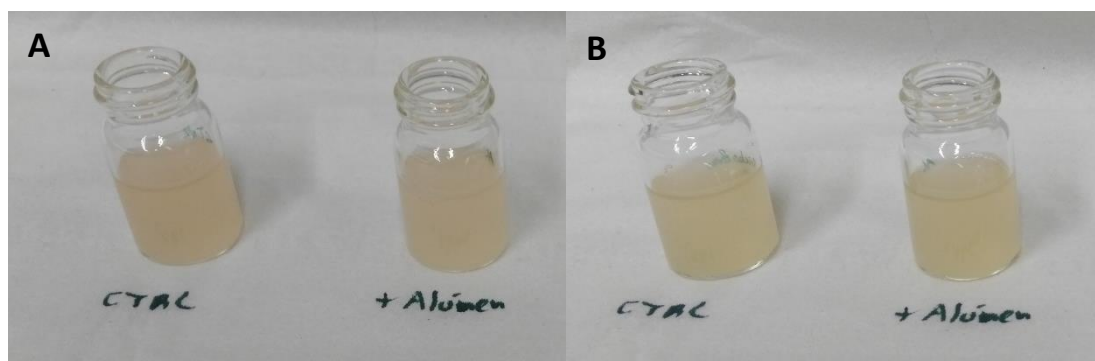


Figura 28: Efeito da adição de alúmen nos banhos de coloração dos extratos de *P. djamor* (A) e *Tricholoma atosquamosum*



Após a avaliação dos efeitos do mordente nos banhos de coloração, efetuou-se a coloração dos substratos têxteis e tal como especulado, a coloração na presença de alúmen não foi eficaz e o banho obtido a partir de extratos de cogumelos não conferiu cor aos substratos têxteis. Em contrapartida, os provetes coloridos com o banho de *P. tinctorius* na presença de alúmen adquiriram uma cor intensa e sólida (figura 29), que pode estar associada à formação de um complexo metálico entre o corante e a fibra. Contudo, os mesmos mostraram-se pouco resistentes à luz, denunciando que o tratamento com alúmen os tornou mais sensíveis à luminosidade, talvez por alterações ou degradação do cromóforo. É salientar que as alterações de cor ocorreram com maior incidência nos provetes de algodão cationizado (figura 29B), indicando que a sua coloração na presença de alúmen permite a obtenção dos resultados mais promissores.

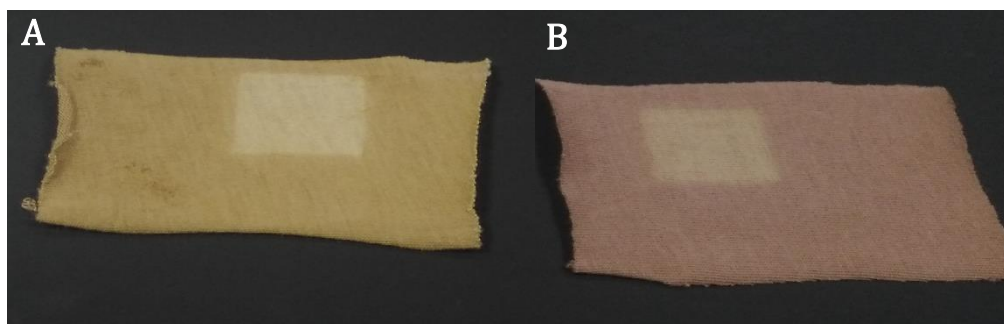


Figura 29: Efeito da adição de alúmen na coloração de algodão (A) e algodão cationizado (B) com o banho de *P. tinctorius*.

#### 4.2.3 Coloração em condições ácidas

A adição de ácido acético aos banhos de coloração de extratos de cogumelos conferiu-lhes valores de pH entre os 3 e 4, permitindo verificar qual o impacto da acidificação na coloração têxtil.

De um modo geral, as alterações de pH não induziram um aumento da afinidade do corante pela fibra têxtil e apenas os substratos têxteis coloridos com o banho de *P. tinctorius* adquiriam cor durante o processo de coloração. A análise da figura 38 demonstra que a coloração de algodão sem tratamento não foi eficiente, devido à fraca cor adquirida pelos mesmos. Em contraste, os substratos têxteis que anteriormente sofreram modificações da superfície têxtil manifestaram cores fortes e intensas, tal como mostra a figura 30C, onde os provetes de algodão pré tratado

com alúmen exibem uma cor sólida. Por comparação dos diferentes provetes coloridos, verifica-se que os provetes de algodão cationizado (figura 30B) se destacam pelo facto de manifestarem uma cor coesa e forte, mais fiel ao banho de coloração.

Neste caso, a coloração em condições ácidas conferiu resultados mais promissores aos substratos têxteis cationizados, na medida em que promoveu a geração de cores mais relevantes para a atual paleta de cores.



Figura 30: Efeito da acidificação do banho de coloração de *P. tinctorius* nos provetes de algodão (A), algodão cationizado (B) e algodão pré tratado com alúmen (C).

#### 4.2.4 Coloração em condições básicas

Às infusões obtidas a partir dos extratos de cogumelos adicionou-se carbonato de sódio com o intuito de torná-las alcalinas e assim verificar qual o efeito da mudança de pH no processo de coloração.

A alcalinização dos banhos de coloração não conferiu alterações de cor aos substratos têxteis, tal como visto anteriormente, e apesar das diversas tentativas, não é possível aumentar a afinidade entre as fibras têxteis e a generalidade dos banhos de extratos de cogumelos. Na figura 31 encontram-se os provetes de algodão cationizado coloridos com os banhos controlo e alcalino de *P. tinctorius* e por comparação dos mesmos verifica-se que o banho alcalino não fomentou a geração de cor, mantendo-se o substrato têxtil com uma cor idêntica à cor inicial.

Deste modo, a alcalinização dos banhos de extratos de cogumelos não se mostrou viável, uma vez que após a coloração, os provetes exibiram cores com pouca relevância tendo em conta o pretendido.





Figura 31: Efeito da alcalinização do banho de coloração de *P. tinctorius* nos provetes de algodão cationizado.

Após os inúmeros ensaios realizados pode-se concluir que a coloração com extratos de cogumelos não é eficaz, pois de um modo geral, os banhos não atribuem cor aos substratos têxteis, independentemente do tratamento aplicado. Em ensaios futuros, apenas os extratos de *P. tinctorius* deverão ser utilizados, uma vez que permitem a geração de cores fortes e intensas. Contudo, outros ensaios deverão ser realizados na tentativa de otimizar a solidez da cor dos provetes coloridos com o mesmo.

#### 4.2.5 Alterações de pH

Aos banhos de coloração de *P. tinctorius* aos quais se adicionou alúmen, ácido e base, foram retiradas alíquotas anterior e posteriormente ao processo de coloração têxtil, com o propósito de medir o pH e verificar as alterações do mesmo. Assim, seria possível associar as alterações de cor do banho e dos substratos têxteis aos diferentes valores de pH.

As sucessivas medições do pH permitiram obter a figura 32 onde se encontram os valores de pH relativos aos 18 ensaios realizados. Atentando a figura 32, verifica-se que nos ensaios controle de algodão não existiram alterações de pH consideráveis, pelo que independentemente do tratamento, este não confere alterações de pH ao banho de coloração. Contudo, no caso da coloração dos provetes de lã o mesmo não se verificou, uma vez que o pH inicial apresentava valores próximos de 7, enquanto o valor final de pH estava na ordem dos 4, sendo a alteração mais brusca detetada no banho de coloração dos provetes de lã pré tratada com alúmen.

Nos ensaios subsequentes (ensaios 6, 7 e 8), a adição de alúmen ao banho de coloração provocou uma acidificação do mesmo, reduzindo valores de pH entre os 6 e 7 para valores de 3 e 4. Porém, após o processo de coloração os valores mantiveram-se inalterados para os banhos de coloração de ambas as malhas, indicando que durante o processo de coloração as interações não foram significativas. Por observação da cor adotada pelas malhas, confirma-se que não ocorreram interações fortes.

De um modo geral, valores de pH ácidos e alcalinos, estimulados pela adição de ácido acético e carbonato de sódio, respectivamente, permaneceram inalterados após o processo de coloração. As alterações no pH foram notórias nos banhos utilizados para colorir os provetes de lã e lã pré tratada com alúmen nos ensaios 17 e 18. Assim, conclui-se que a coloração dos substratos de algodão não provoca alterações nos valores de pH do banho, enquanto os provetes de lã, devido ao seu caráter ácido, quando contactam com banhos alcalinos têm a capacidade de conferir-lhes valores mais baixos devido às interações com o banho. Desta forma, alterações de cor mais significativas são visualizadas após a coloração dos provetes de lã.

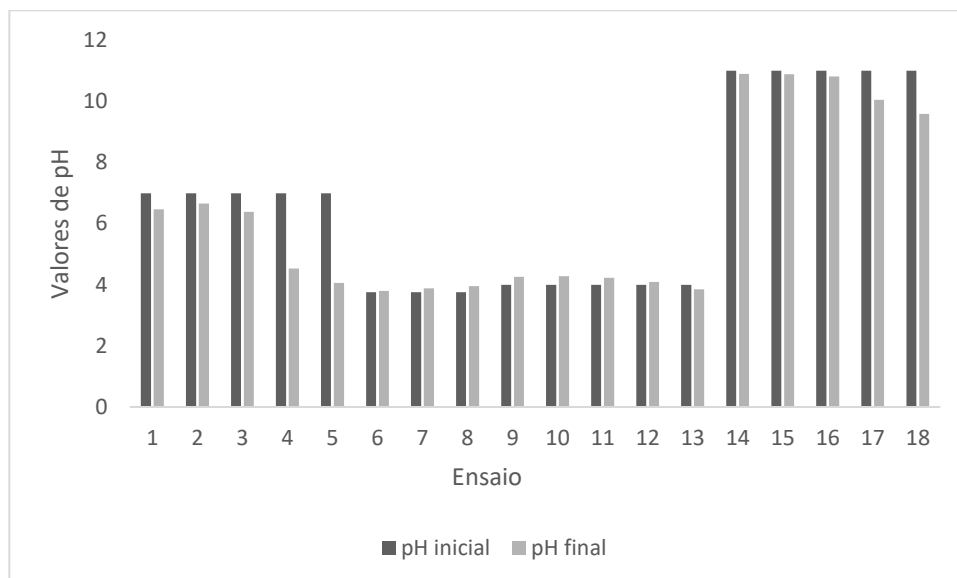


Figura 32: Valores de pH inicial e final do banho de coloração de *P. tinctorius* após a coloração dos substratos têxteis nos diferentes ensaios.

### 4.3 Coloração com extrato de bagaço de uva

O processo de coloração com o extrato de bagaço de uva foi efetuado com o intuito de colorir eficientemente os substratos têxteis e assim reutilizar um resíduo. Porém, a análise visual dos provetes coloridos demonstra que estes foram corados de um modo pouco eficaz, sendo que o banho do extrato de engaço de uva conferiu-lhes cores suaves e pouco notórias.

Assim, numa tentativa de produzir uma cor mais intensa ou novas cores, adicionou-se lacase ao banho de coloração, uma vez que o subproduto em questão deve ser rico em compostos fenólicos, o substrato que permite a ativação da enzima. De facto, os provetes coloridos na presença de lacase adquiriram uma cor ligeiramente mais intensa (figura 33), contudo não apresentavam uma coloração uniforme e notavam-se manchas visíveis a olho nú que podem estar relacionadas com fatores cruciais no processo de coloração por esgotamento, tais como a difusão, substantividade ou saturação. Por outro lado, a coloração menos eficiente também pode estar associada a uma não homogeneidade do substrato têxtil que tornam determinadas zonas menos acessíveis ao corante.

Embora a coloração na presença da enzima confira ao substrato têxtil uma cor mais notória, os resultados não acrescentam valor à atual paleta de cores, pelo que a coloração com o extrato de engaço de uva não é viável tendo em conta o objetivo do presente trabalho.

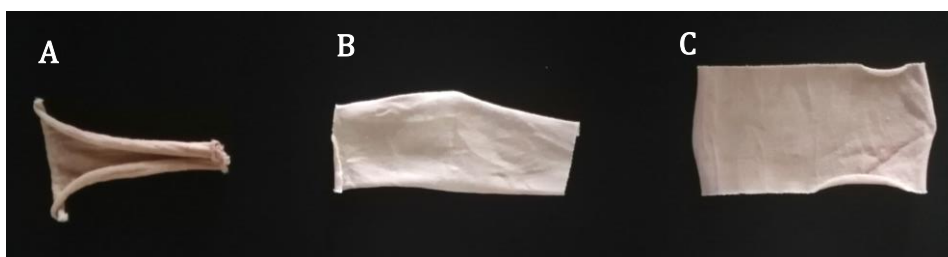


Figura 33: Efeito da adição de lacase ao banho de extrato de engaço de uva na coloração dos provetes de lã (A), algodão (B) e algodão cationizado (C).

#### 4.4 Influência da temperatura e do tempo de extração no processo de coloração

A eficácia do processo de biocoloração depende fortemente da qualidade de extração dos compostos corantes, tornando-se assim crucial a avaliação dos parâmetros de temperatura e tempo do processo de extração aquosa. Assim, pretendia-se verificar se as condições utilizadas durante o projeto foram apropriadas tendo em conta os principais objetivos, bem como otimizar o processo de extração.

Deste modo, os extratos de hortelã-pimenta foram submetidos a extrações aquosas em diversas condições, tendo-se retirado alíquotas de infusões respectivas a cada uma das condições de tempo e temperatura utilizadas no processo de extração. As alíquotas recolhidas foram utilizadas para uma análise visual da cor, assim como para a coloração têxtil. A figura 34 mostra os provetes coloridos com as diversas infusões de hortelã-pimenta, sugerindo que as cores adquiridas pelos provetes, tal como as cores das infusões, são idênticas, independentemente do tempo e temperatura do processo de extração.

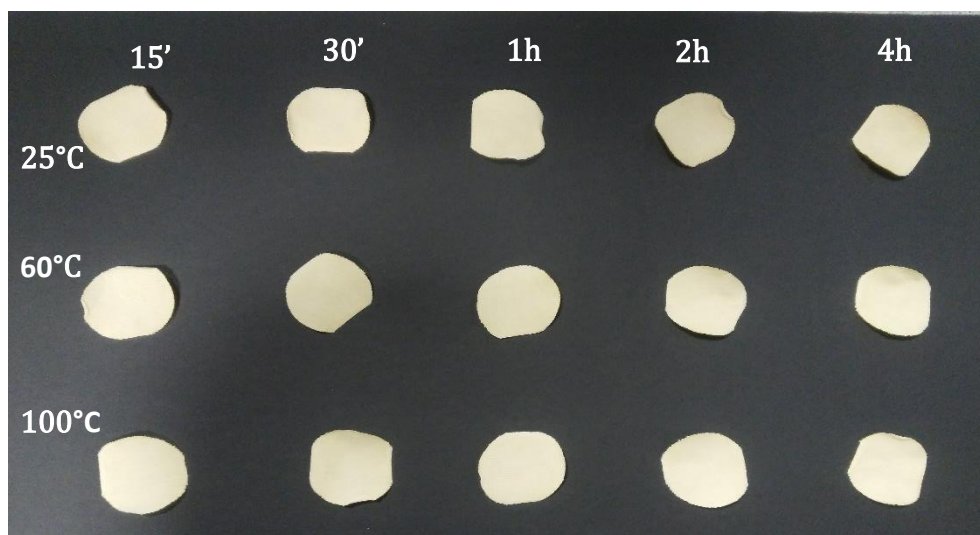


Figura 34: Influência dos diferentes tempos e temperaturas da extração aquosa de hortelã-pimenta no processo de coloração dos provetes de algodão cationizado.

Deste modo, é possível concluir que os fatores tempo e temperatura não detêm uma influência notável na cor final do substrato têxtil, uma vez que visualmente a cor não apresentou variações significativas. Assim, no caso da

hortelã-pimenta, o processo de extração pode ser efetuado a temperaturas mais baixas e com um tempo de extração mais curto, visto que a extração aquosa se mostrou igualmente eficiente nestas condições. Uma extração nestas condições seria o ideal, pois o impacto no extrato seria menor e permitiria a manutenção dos seus compostos ativos, posteriormente relevantes para a atividade antimicrobiana do substrato têxtil. Contudo, é necessário ter em conta que os resultados obtidos podem não ser reproduzíveis aquando da extração aquosa de outros extratos, uma vez que a eficácia do processo depende da polaridade dos compostos corantes presentes. Para além disso, um aumento da temperatura conduz a uma maior difusão dos corantes para o meio aquoso e assim, noutros casos, pode-se verificar uma maior transferência de cor para a água associada ao aumento da temperatura.

Para além da extração e coloração com as infusões de hortelã-pimenta, foi realizada uma análise por espectrofotometria UV-Vis das alíquotas referentes às diferentes condições. Porém, é de referir que os resultados obtidos não se enquadravam no especulado e, portanto, não apresentaram qualquer relevância para o estudo em questão.

## 4.5 Força colorística

### 4.5.1 Solidez da cor à luz

Após o processo de coloração dos provetes coloridos com os banhos dos diferentes extratos de plantas e cogumelos, tornou-se crucial a exposição dos mesmos à luz, de forma a avaliar a solidez da cor à luz conferida por cada infusão.

De um modo geral, a exposição dos provetes à luz solar conferiu-lhes alterações de cor significativas, nomeadamente perda de cor e alteração da tonalidade. Assim, qualitativamente verifica-se que os resultados menos promissores foram obtidos para os provetes coloridos com o extrato de *P. tinctorius*, enquanto os mais promissores foram conferidos pela infusão de noqueira, como indica a figura 35. No caso da coloração com o banho de *P. tinctorius*, a cor adquirida pelo substrato têxtil foi bastante intensa, porém a exposição à luz solar gerou um clareamento e alteração da tonalidade da mesma, indicando uma má solidez da cor à luz solar. Em contrapartida, a exposição à luz solar dos provetes coloridos com o

banho de noqueira não lhes conferiu alterações tão notórias a olho nú (figura 35A), podendo-se afirmar que estes apresentam uma boa solidez da cor à luz.

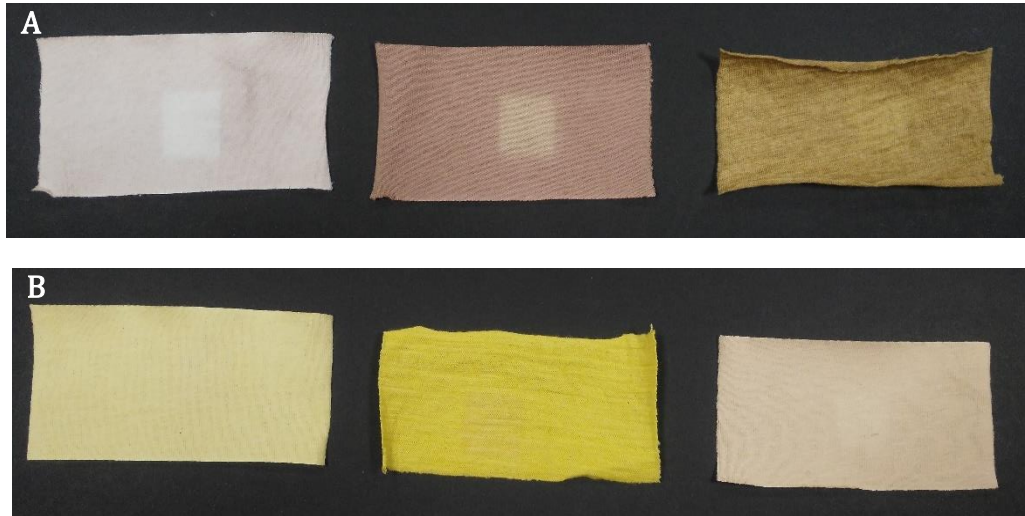


Figura 35: Efeito da exposição à luz solar nos provetes coloridos com banho de extratos de *P. tinctorius* (A) e noqueira (B)

Os resultados apresentados na figura 35 correspondem a dados qualitativos, obtidos a partir da análise visual, de modo que a confirmação dos mesmos será obtida pelos resultados quantitativos. Desta forma, os provetes coloridos com os banhos de noqueira e *P. tinctorius*, correspondentes ao melhor e pior desempenho, respetivamente, foram testados no colorímetro, onde se obtiveram valores de força colorística (K/S).

A figura 36 mostra os valores de K/S dos provetes coloridos com o banho de *P. tinctorius*, na qual se verifica que de um modo geral ocorreu um aumento deste valor após a exposição à luz solar. Um aumento de K/S não está diretamente relacionado com uma intensificação da cor e neste caso específico, ocorre precisamente o contrário, pois o clareamento é bem visível na figura 35A.

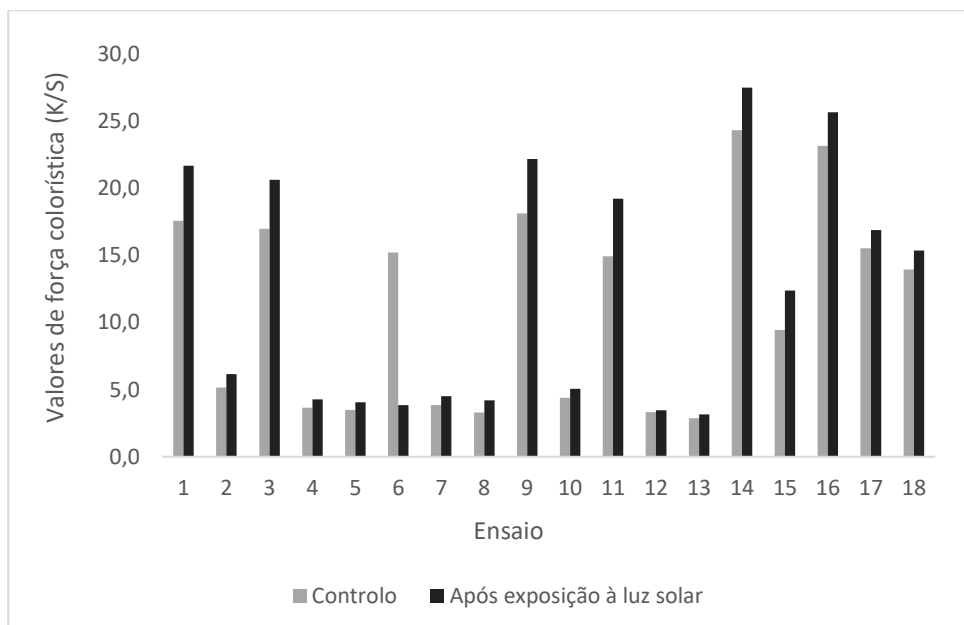


Figura 36: Valores de força colorística (K/S) dos provetes coloridos com o banho de coloração do extrato de *P. tinctorius* nos ensaios efetuados na presença de alumínio, ácido acético, carbonato de sódio e ensaios controlo.

Com o intuito de clarificar os resultados obtidos, procedeu-se ao cálculo do  $\Delta E$ , pois este indica o número absoluto da diferença de cor devido à inclusão da variação das coordenadas de  $a^*$ ,  $b^*$  e  $L^*$ , enquanto o K/S apenas tem em conta o valor de  $R_e$  e, portanto, não é tão rigoroso. De facto, através do  $\Delta E$  (figura 37) compreende-se que existe uma diferença de cor significativa entre a zona do provete colorida e a exposta à luz solar, obtendo-se a maior variação de cor no provete de algodão cationizado colorido na presença de alumínio, ensaio 7. Assim, estes resultados confirmam os resultados obtidos qualitativamente, sugestivos de que em alguns casos, o alumínio confere um aumento da sensibilidade da cor à luz.

Para além disso, os valores de  $\Delta a$  são negativos, indicando que a cor da zona do provete exposta à luz demonstra tendências para a cor verde, o que se confirma pela análise visual, uma vez que não ocorreu um escurecimento da mesma. Os valores de  $\Delta b$  também apresentam variações, ou seja, para além da variação de cor entre azul e amarelo, ocorreu também uma alteração de tom, rapidamente confirmada pela análise visual e pelos valores de  $\Delta L^*$ . Estes sugerem a existência de uma diferença de  $L^*$  significativa entre as zonas controlo e as expostas à luz, justificando assim a alteração de luminosidade visualizada, nomeadamente o clareamento da zona do provete exposta à luz solar.

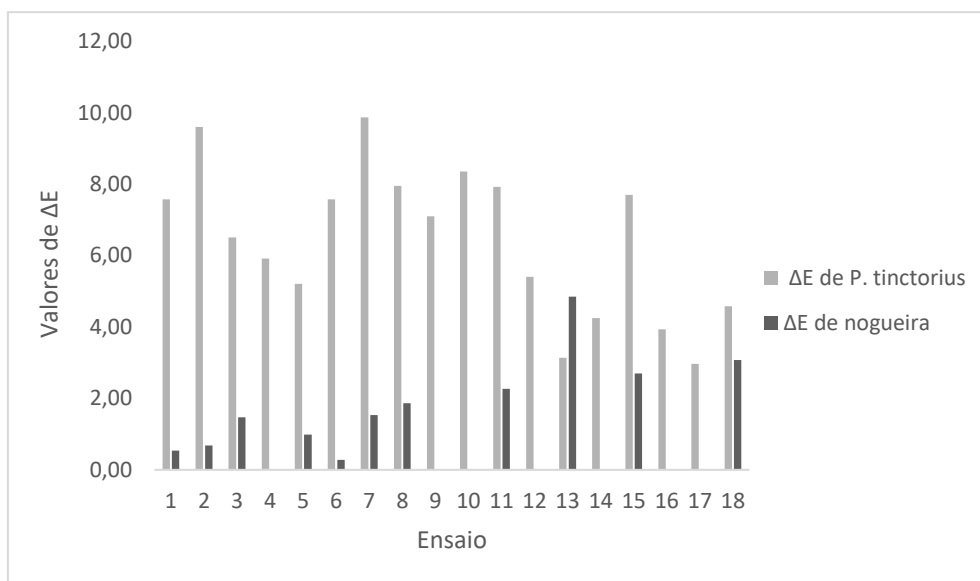


Figura 37: Valores de variação absoluta da cor ( $\Delta E$ ) dos provetes coloridos com os banhos dos extratos de *P. tinctorius* e noqueira após exposição à luz.

Por outro lado, após a exposição à luz dos provetes coloridos com a infusão de noqueira (figura 38), verifica-se que os valores de K/S da zona exposta à luz são bastante semelhantes aos valores da zona controlo, indicando uma boa solidez da cor à luz. De facto, a solidez da cor à luz mostrou-se de tal forma elevada que no caso dos provetes coloridos nos ensaios 4, 9, 10, 14, 16 e 17, a exposição à luz não possibilitou a distinção entre a zona exposta e a zona controlo, pelo que não se efetuou o teste quantitativo. Relativamente à exposição à luz dos restantes provetes coloridos, permitiu a identificação da zona exposta e assim a possibilidade de testes no colorímetro e a obtenção de valores de  $\Delta E$  (figura 37). De um modo geral, estes valores indicam variações de cor entre 0.28 e 2.72, o que não se traduz numa alteração de cor visível a olho nú. Porém, a exposição dos provetes coloridos nos ensaios 13 e 18 conferiu-lhes uma variação de cor superior, obtendo-se valores de 4.85 e 3.07, respetivamente.



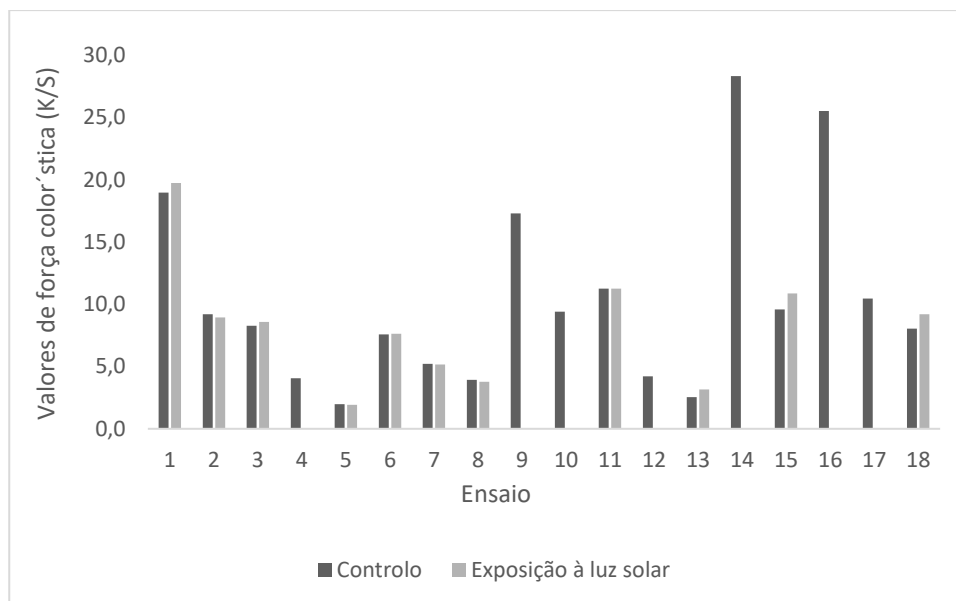


Figura 38: Valores de força colorística (K/S) dos provetes coloridos com o banho de coloração do extrato de noqueira nos ensaios efetuados na presença de alúmen, ácido acético, carbonato de sódio e ensaios controlo.

Assim conclui-se que os provetes coloridos com a infusão de noqueira apresentam uma elevada solidez da cor à luz solar e em ensaios futuros com misturas de infusões, este extrato poderá ser testado, pois poderá conduzir à obtenção de resultados mais promissores, incluindo melhorias na qualidade da cor.

#### 4.5.2 Solidez da cor às lavagens com água

A solidez da cor às lavagens com água foi avaliada após a realização de duas lavagens, uma lavagem a frio e outra a quente conforme já mencionado. Para avaliar este parâmetro, foram recolhidas alíquotas referentes a cada lavagem de modo a averiguar acerca da quantidade de corante que não foi absorvido e assim perdido durante o processo.

De facto, a análise visual permitiu concluir que, particularmente, no caso dos banhos de coloração de *P. tinctorius*, sabugueiro, são Roberto, alcachofra, rosmaninho e tomilho bela luz, a quantidade de corante presente na água após cada uma das lavagens é considerável. A figura 39 evidencia que após as lavagens, a perda de corante dos provetes coloridos com *P. tinctorius* é significativa, tanto na lavagem a frio como a quente, indicando que a molécula corante não estava completamente ligada à fibra têxtil e encontrava-se apenas adsorvida à superfície. Assim, estas

perdas de corante ocorreram, pois, o processo de coloração foi efetuado por esgotamento, o que implicou a existência de corante em excesso.

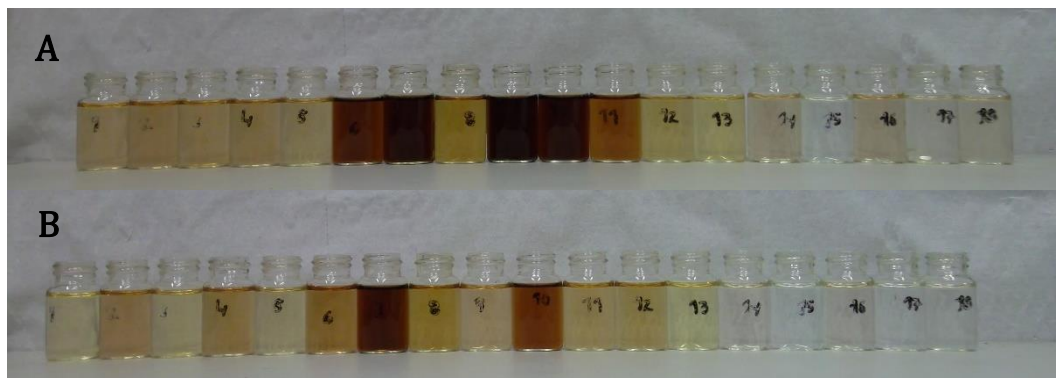


Figura 39: Efeito das lavagens a diferentes temperaturas na quantidade de corante adquirido pelos provetes coloridos com o banho de *P. tinctorius*. Lavagem a frio (A) e lavagem a quente (B).

Por outro lado, colorações realizadas com infusões de boldo, alfazema, nogueira, lúcia-lima e hortelã-pimenta promoveram lavagens mais eficazes na medida em que a quantidade de corante visualizada na água é menor. Na figura 40 verificam-se as perdas mínimas de corante por parte dos provetes coloridos com recurso à infusão de alfazema, provando que a coloração foi eficiente e existia afinidade entre o corante e a fibra têxtil.

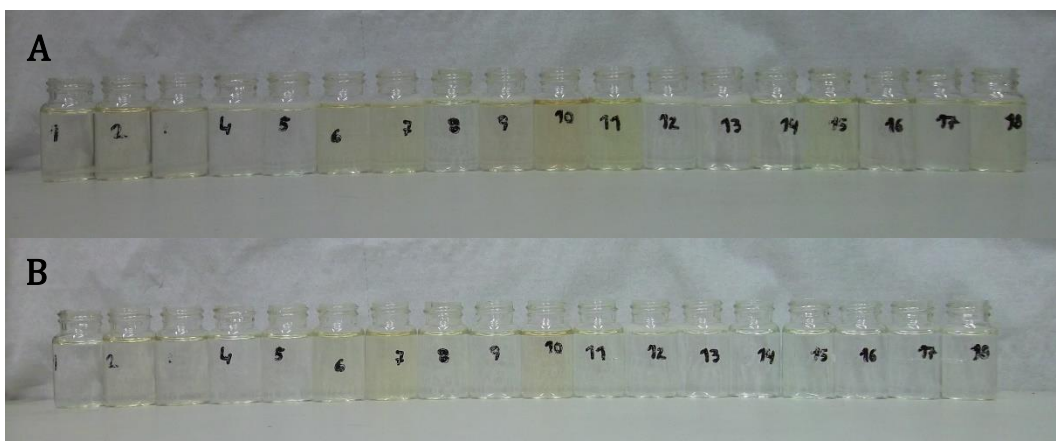


Figura 40: Efeito das lavagens a diferentes temperaturas na quantidade de corante adquirido pelos provetes coloridos com o banho de alfazema. Lavagem a frio (A) e lavagem a quente (B).

#### 4.5.3 Solidez da cor à lavagem com detergentes

Ensaio realizados com recurso a diferentes detergentes foram efetuados para averiguar qual o detergente mais adequado para as malhas biocoloridas. Assim foram realizados ensaios com o intuito de simular a utilização de peças coloridas com este tipo de extratos por parte do consumidor, determinando qual o detergente menos agressivo.

Após a lavagem dos provetes coloridos com os detergentes selecionados, a análise visual dos mesmos revelou resultados bastante diferentes. Assim, os resultados menos promissores foram conferidos pelo detergente *skip*, que mostrou ser agressivo, danificando a cor e não permitindo a preservação da mesma. Por outro lado, o detergente padrão e o *soflan* conferiram resultados mais positivos, uma vez que a perda de cor não foi tão evidente, contudo, em alguns casos, após a lavagem surgiu uma nova cor.

Na figura 41 encontram-se os provetes coloridos com os banhos de *P. tinctorius* e noqueira após lavagem com o detergente padrão e *soflan*. Uma análise da mesma indica que a manutenção da cor é superior nas lavagens com *soflan* (figuras 41C e 41D), enquanto o detergente padrão provoca perda de cor, talvez pelo facto de possuir na sua constituição fosfatos que podem estar a danificar a cor durante o processo de lavagem.

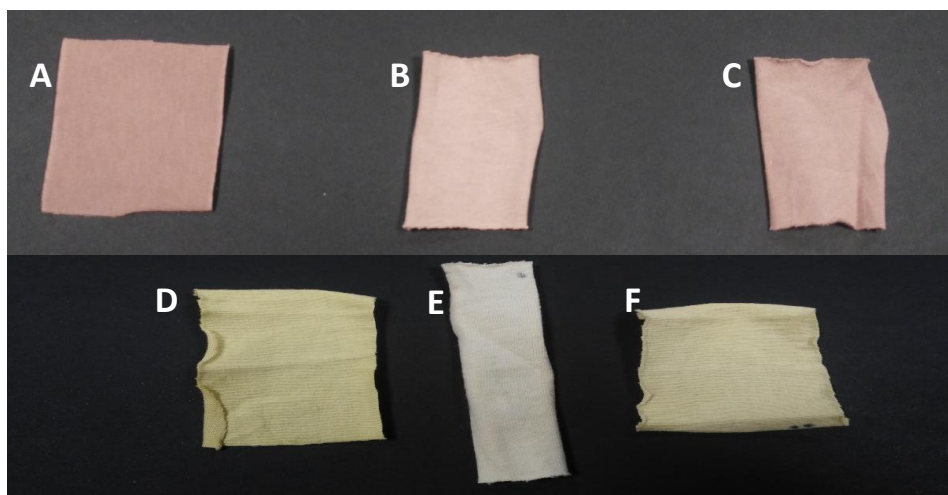


Figura 41: Efeito das lavagens com detergente padrão (B, E) e com *soflan* (C, F) na cor dos provetes coloridos com o banho de *P. tinctorius* e noqueira. Provetes controlo de algodão cationizado coloridos com o banho de *P. tinctorius* (A) e noqueira (D).

Para além da análise visual, foram realizados testes colorimétricos para se avaliar com mais rigor os resultados adquiridos visualmente. Assim, com recurso ao colorímetro, obtiveram-se os valores das coordenadas de cor e o valor de R para posterior cálculo do K/S a partir da equação 2. Os valores de K/S obtidos correspondem aos provetes coloridos com os banhos de *P. tinctorius* e noqueira anterior e posteriormente às lavagens com detergente padrão e *soflan* e encontram-se nas figuras 42 e 43, respetivamente.

De acordo com os resultados mostrados nas figuras 42 e 43, verifica-se que de uma forma geral os valores de K/S aumentaram após a lavagem dos provetes com o detergente padrão e *soflan*, pelo que os resultados obtidos não corresponderam àquilo que era espectável, uma vez que a força colorística deveria ser inferior após as lavagens. De forma a clarificar os resultados obtidos, com recurso aos valores das coordenadas de cor  $a^*$ ,  $b^*$  e  $L^*$ , foram calculadas as respetivas variações ( $\Delta a^*$ ,  $\Delta b^*$  e  $\Delta L^*$ ) para cada ensaio e assim, um aumento dos valores de K/S dos provetes sujeitos à lavagem pode ser justificado com um  $\Delta L^*$  positivo, indicativo da existência de intensificação da cor. De facto, foram verificadas alterações na cor dos provetes após as lavagens, e pelos resultados obtidos conclui-se que a nova cor produzida apresenta um valor de K/S mais elevado do que a cor original. Embora ambos os detergentes confirmem um aumento do K/S, o valor é significativamente superior aquando das lavagens com o detergente padrão, o que significa que este induziu uma maior alteração de cor.

Os dados obtidos quer qualitativamente, quer quantitativamente, indicam que o *soflan* é o detergente que oferece uma maior preservação da cor e, conseqüentemente, uma qualidade superior da mesma, mais próxima daquela exigida pelo consumidor. Este detergente é indicado para lãs e roupas delicadas, pelo que neste caso seria o mais apropriado e tendo em conta que se trata de uma coloração natural, a lavagem não deverá ocorrer em condições agressivas, tais como a elevadas temperaturas e com detergentes pouco adequados.

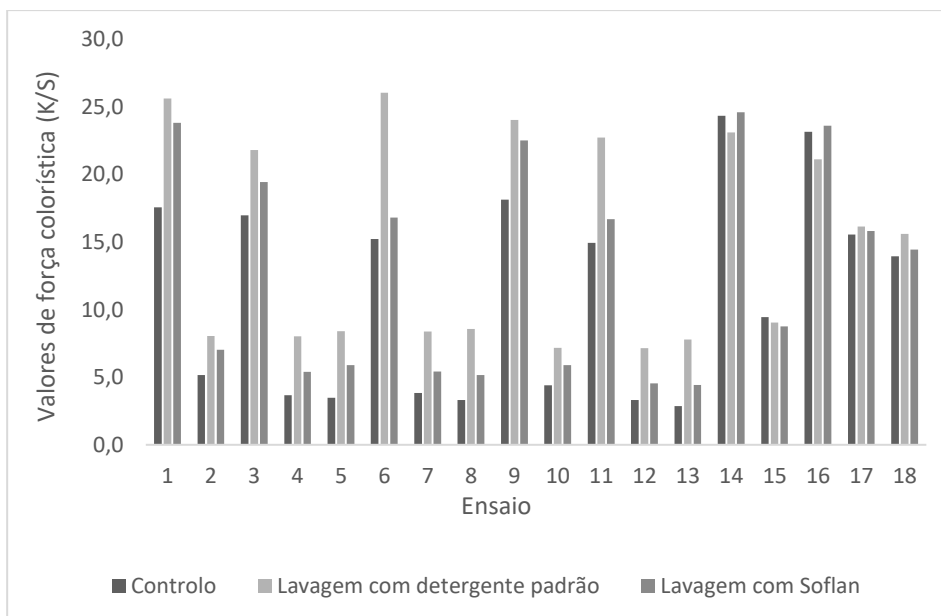


Figura 42: Valores de força colorística (K/S) dos provetes coloridos com o banho de *P. tinctorius* após lavagem com detergente padrão e *soflan*.

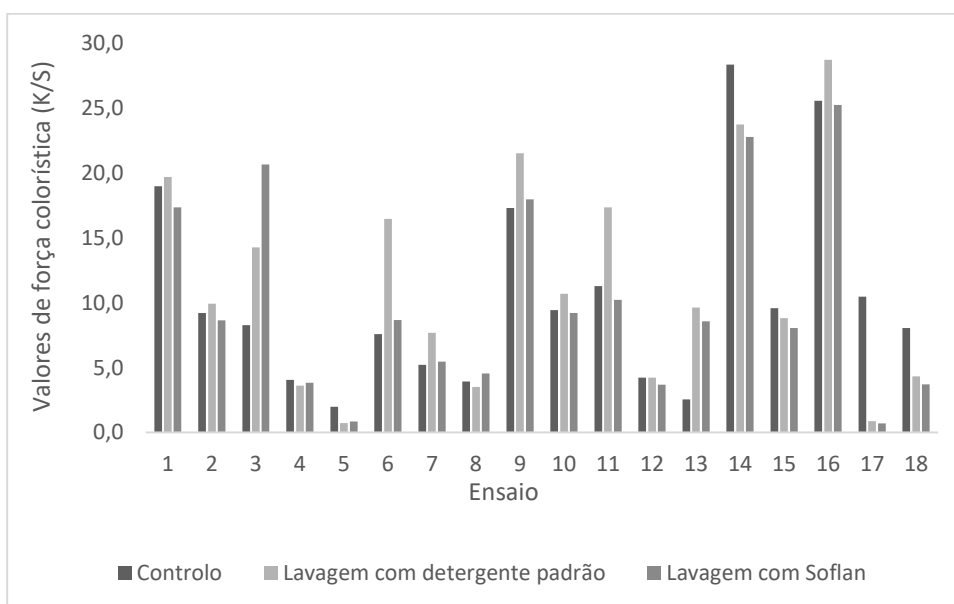


Figura 43: Valores de força colorística (K/S) dos provetes coloridos com o banho de noqueira após lavagem com detergente padrão e *soflan*.

#### 4.5.4 Efeito dos diferentes métodos de esterilização dos provetes coloridos

Inicialmente foram realizados ensaios para avaliação da carga microbiana das malhas bicoloridas, assim como do seu potencial antimicrobiano antes da esterilização. Após a aplicação nas placas de YPD e LB dos provetes coloridos,

seguida de incubação nas condições referidas no capítulo anterior, procedeu-se à visualização das diferentes placas. Assim, a análise visual das placas revela que a incubação dos provetes coloridos com sabugueiro e *P. tinctorius* em meio LB potenciou o crescimento de microrganismos nas zonas circundantes aos mesmos, tal como evidencia a figura 44. Uma vez que a figura corresponde aos provetes incubados em meio LB, os microrganismos presentes são essencialmente bactérias.

Por comparação da figura 44A e 44B pode-se constatar que a carga microbiana é inferior na placa B, relativa aos provetes coloridos com o banho de *P. tinctorius*, pelo que é possível inferir que este extrato poderá conferir uma maior atividade antimicrobiana aos provetes.

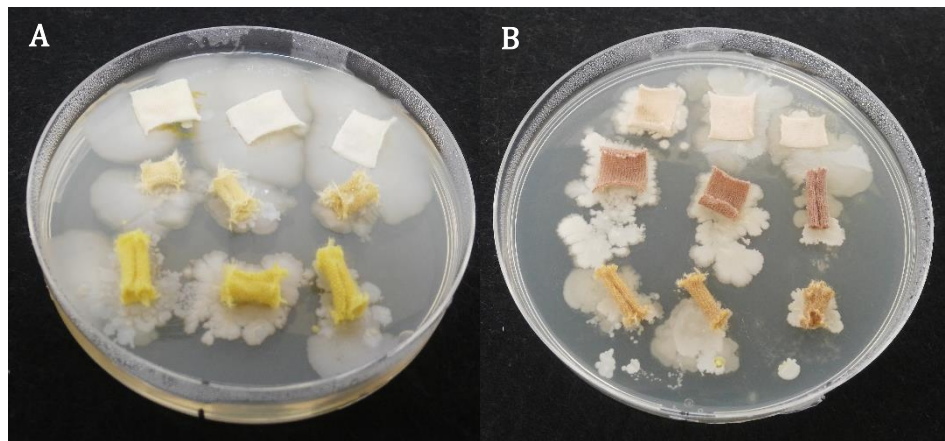


Figura 44: Estudo da carga microbiana de provetes coloridos com sabugueiro (A) e *P. tinctorius* (B) após aplicação dos provetes em meio LB sólido e esterilizado.

Por outro lado, na figura 45 é possível visualizar as placas de meio YPD com os provetes coloridos com sabugueiro e *P. tinctorius* após incubação. Uma análise visual das placas demonstra que existe crescimento de microrganismos em ambas as placas, contudo este é significativamente menor na placa correspondente aos provetes coloridos com o extrato de cogumelo (figura 45B).

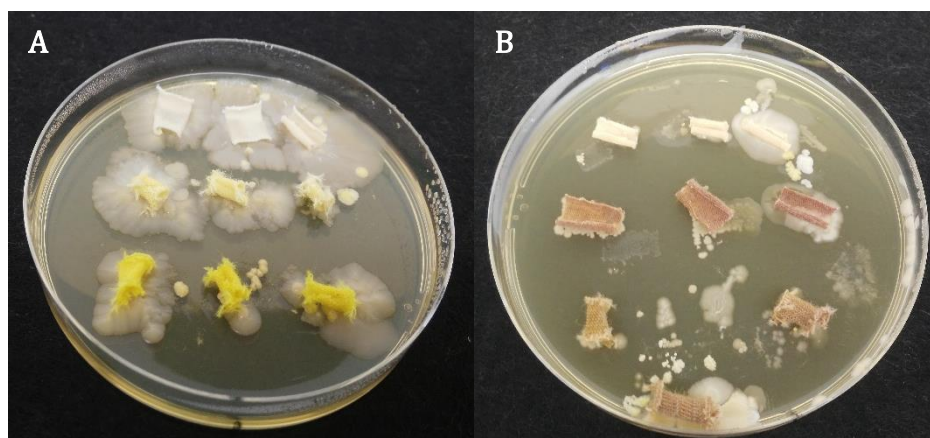


Figura 45: Estudo da carga microbiana de provetes coloridos com sabugueiro (A) e *P. tinctorius* (B) após aplicação dos provetes em meio YPD sólido e esterilizado.

Este estudo inicial permitiu concluir que, tal como referenciado por Gao e Cranston (2008), os substratos têxteis são considerados um meio propício para o crescimento e proliferação de microrganismos, tais como bactérias e fungos. Deste modo, tendo em conta que um dos objetivos é avaliar a atividade antimicrobiana dos substratos têxteis biocoloridos, tornou-se essencial submetê-los à esterilização.

Como referido no capítulo de materiais e métodos, o processo de esterilização foi executado com recurso a quatro métodos distintos: exposição à radiação UV, por autoclavagem, com hipoclorito de sódio e com etanol. Os provetes esterilizados foram inoculados em placas com meio LB e incubados nas condições previamente referidas, tendo-se obtido os resultados mostrados na figura 46. O método de esterilização com etanol a 70% (figura 46C) não foi eficiente, sendo notória a presença de microrganismos. Relativamente à esterilização dos provetes coloridos com hipoclorito de sódio a 0,5% (figura 46B), esta mostrou-se eficaz na eliminação dos microrganismos, contudo, tendo em conta que um dos objetivos é conferir cor aos substratos têxteis, a técnica não é viável, pois não permite a manutenção da mesma.

Por outro lado, a esterilização dos provetes coloridos com recurso à radiação UV (figura 46D) e à autoclavagem (figura 46A) aparentavam conferir, simultaneamente, esterilização e preservação da cor. Todavia, uma análise mais pormenorizada revelou que a autoclavagem induziu alterações de cor no substrato



têxtil, que podem advir das condições agressivas à qual são sujeitos durante o processo de esterilização.

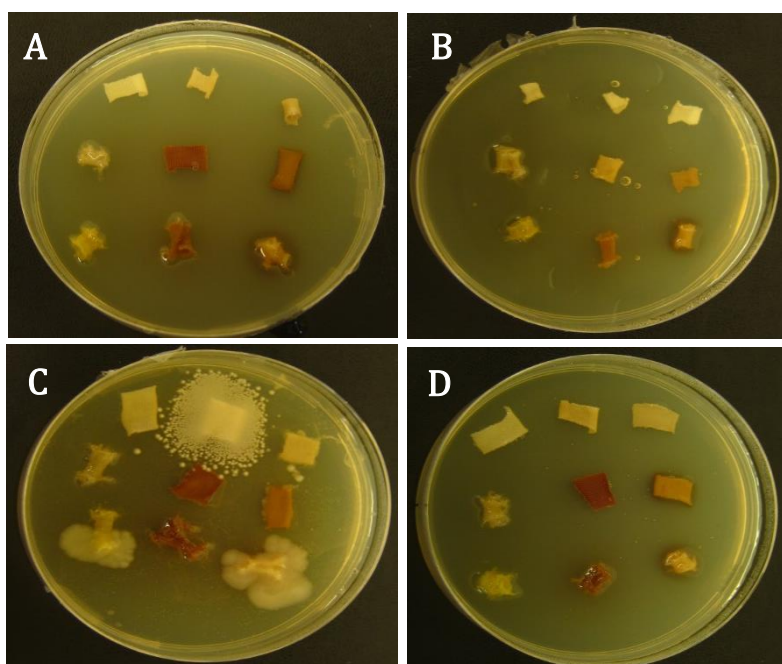


Figura 46: Efeito da esterilização por autoclavagem (A), hipoclorito de sódio a 0,5% (B), etanol a 70% (C) e radiação UV (D) nos provetes bicoloridos.

Deste modo, os ensaios subsequentes foram efetuados após a esterilização dos substratos têxteis com recurso à exposição à radiação UV, que permitiu a eliminação dos microrganismos presentes e manutenção da cor.

#### 4.6 Quantificação da atividade antimicrobiana dos substratos têxteis coloridos com diferentes extratos em placa

Os provetes coloridos com os extratos de *P. tinctorius*, sabugueiro, alfazema, noqueira e são Roberto foram sujeitos a testes qualitativos para averiguação do seu poder como agente antimicrobiano perante os microrganismos selecionados.

Assim, a incubação dos provetes coloridos e dos microrganismos inoculado em placa de agar permitiu verificar quais os extratos que conferiam atividade antimicrobiana aos substratos têxteis pelo surgimento de um halo de inibição na área circundante aos mesmos. Os resultados obtidos pela análise visual das placas encontram-se expressos na tabela 7.



Tabela 7: Atividade antimicrobiana dos extratos de *P. tinctorius*, noqueira, alfazema, são Roberto e sabugueiro contra as bactérias *E. coli*, *S. epidermidis* e *P. acnes* e contra o fungo *C. albicans*. Os resultados foram obtidos com base na zona de inibição medida pelo surgimento de halos de inibição 24 h após inoculação das placas.

Extrato \ Espécie	<i>Escherichea coli</i>	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	<i>Propionibacterium acnes</i>	<i>Candida albicans</i>
<i>P. tinctorius</i>	+	-	-	-
Nogueira	+	-	+	-
Alfazema	-	-	-	-
São Roberto	-	-	-	-
Sabugueiro	-	-	-	-

Por análise da tabela 7 verifica-se que os extratos selecionados não conferiram atividade antifúngica aos provetes, uma vez que os mesmos não se mostraram eficazes contra o fungo *C. albicans*. Esse facto pode ser comprovado na figura 47 onde se encontram os provetes coloridos com as infusões de alfazema, são Roberto e sabugueiro. Na figura constata-se que de facto os provetes coloridos não potenciaram o surgimento de um halo de inibição, ocorrendo um crescimento homogéneo do fungo na placa.

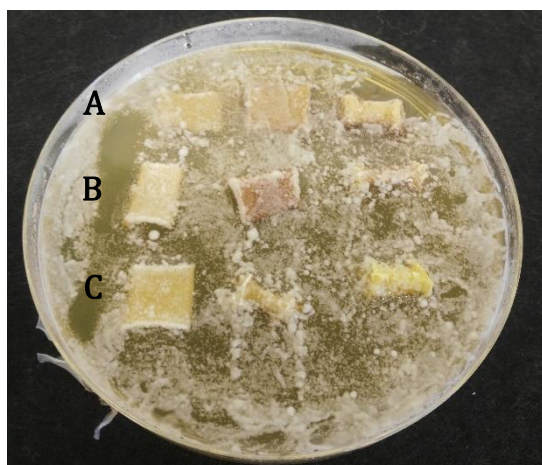


Figura 47: Estudo da atividade antimicrobiana dos provetes colorido com alfazema (A), são Roberto (B) e sabugueiro (C), mediante a sua aplicação em meio YPD sólido inoculado com *C. albicans* por espalhamento. O surgimento de halos de inibição à volta de cada provete 24 h após a inoculação foi usado como indicador de atividade antimicrobiana.

Por outro lado, quando avaliada a atividade antibacteriana dos provetes coloridos com os diferentes extratos, os resultados demonstraram-se mais promissores. De facto, a coloração dos provetes com o banho de noqueira, conferiu-lhes atividade antibacteriana contra *E. coli* e *P. acnes*, sendo esta notória pelo surgimento do halo de inibição. Assim, o halo observado após incubação do provete de lã colorido com noqueira na presença de alúmen com *P. acnes* (figura 48) torna evidente a existência de compostos ativos com atividade antimicrobiana. Ainda na mesma placa encontram-se os provetes de algodão coloridos com noqueira em diferentes condições, na presença de alúmen e ácido acético, contudo estes não manifestaram atividade antimicrobiana. Esta ausência de atividade antimicrobiana pode advir de um processo de esgotamento pouco eficaz, que confere ao substrato têxtil uma quantidade de corante insuficiente para que este demonstre atividade antimicrobiana. Além de mais, os provetes de algodão possuem uma baixa reatividade, pelo que a libertação de compostos ativos também pode ser reduzida e assim incapaz de atuar sobre as bactérias.

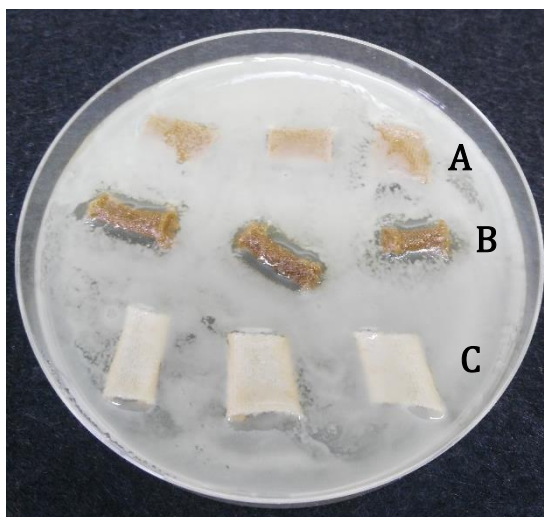


Figura 48: Estudo da atividade antimicrobiana dos provetes coloridos com infusão de noqueira mediante a aplicação dos mesmos em meio LB sólido inoculado com *P. acnes* por espalhamento. O surgimento de halos de inibição à volta de cada provete 24 h após a inoculação foi usado como indicador de atividade antimicrobiana. Algodão cationizado (A) e lã (B) coloridos na presença de alúmen; Algodão (C) colorido na presença de ácido acético.

De facto, estudos anteriores (Qa'dan et al., 2005) revelaram que o banho de noqueira atribuiu aos provetes atividade antimicrobiana contra *P. acnes*, *S. epidermidis* e *C. albicans*, contudo o presente estudo contraria esses resultados, uma vez que não se verificou atividade antimicrobiana contra *S. epidermidis* e *C. albicans*, mas apenas contra as bactérias de *P. acnes* e *E. coli*. Estas diferenças podem estar relacionadas com a extração, uma vez que por questões de ecossustentabilidade, a extração foi efetuada com recurso ao método de extração aquosa, extraindo-se apenas os compostos polares e para além disso, a concentração de compostos biológicos presente no substrato têxtil pode não ser suficiente para que se manifeste atividade antimicrobiana contra *S. epidermidis* e *C. albicans*. Por outro lado, um estudo mais recente realizado Tyszkiewicz (2013) demonstrou que os extratos de noqueira também possuem atividade antimicrobiana contra *E. coli*, tal como indicam os resultados do presente projeto.

Por outro lado, a incubação em placa dos provetes coloridos com *P. tinctorius* com as diferentes bactérias mostrou que estes apenas manifestam atividade antimicrobiana contra *E. coli*, como se verifica na figura 49.

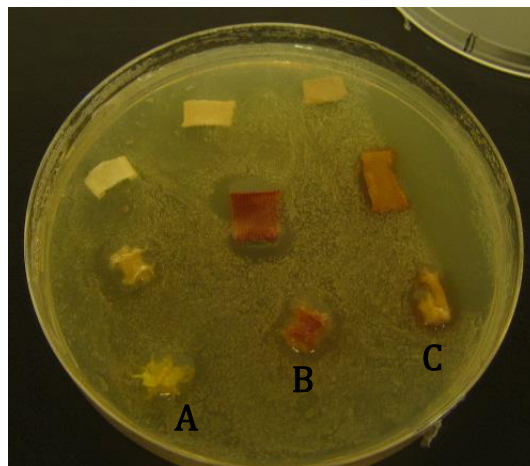


Figura 49: Estudo da atividade antimicrobiana dos provetes coloridos com extratos de sabugueiro (A), *P. tinctorius* (B) e são Roberto (C) mediante a aplicação em meio LB sólido inoculado com *P. acnes* por espalhamento. O surgimento de halos de inibição à volta de cada provete 24 h após a inoculação foi usado como indicador da atividade antimicrobiana.

É de realçar que numa primeira fase os provetes coloridos com *P. tinctorius* mostraram-se eficazes contra *S. epidermidis*, contudo numa fase mais avançada esses resultados não foram reproduzíveis, talvez devido a fatores como a presença

de diferentes concentrações de compostos biológicos no substrato têxtil ou um contacto menos eficiente entre o provete colorido e o meio sólido com bactéria. Assim, futuramente, devem ser executados novos ensaios de forma a averiguar qual o efeito deste extrato contra a bactéria.

Os resultados mostraram que os restantes extratos testados não conferiram atividade antimicrobiana aos provetes. Ao contrário alguns estudos indicam potencial antimicrobiano em extratos de alfazema (Salve e Bhuktar, 2013), sabugueiro (Hearst et al., 2010) e são Roberto (Barowska et al., 2017). O processo de extração utilizado pode não ser o mais eficiente para extrair compostos biológicos com atividade antimicrobiana e poderá ser alvo de otimização em estudos futuros. A atividade antimicrobiana também pode estar a ser influenciada pelo processo de coloração, uma vez que o substrato têxtil pode ter adquirido uma concentração insuficiente de corante e conseqüentemente de compostos ativos, não possuindo então uma quantidade que lhes permita atuar como agente antimicrobiano.

#### **4.7 Avaliação quantitativa da atividade antimicrobiana dos provetes coloridos pelo método de contagem de colónias em placa**

A quantificação da atividade antimicrobiana dos têxteis coloridos foi efetuada com recurso ao método de contagem de colónias em placa. Após a execução dos procedimentos citados no capítulo de materiais e métodos e posterior incubação das placas, procedeu-se à análise visual das mesmas e à contagem do número de colónias.

Os resultados mostraram que os provetes coloridos com a infusão de noqueira provocaram uma redução significativa do número de unidades formadoras de colónias de *P. acnes* ao fim de 45 min. (figura 50), confirmando os resultados qualitativos descritos anteriormente.

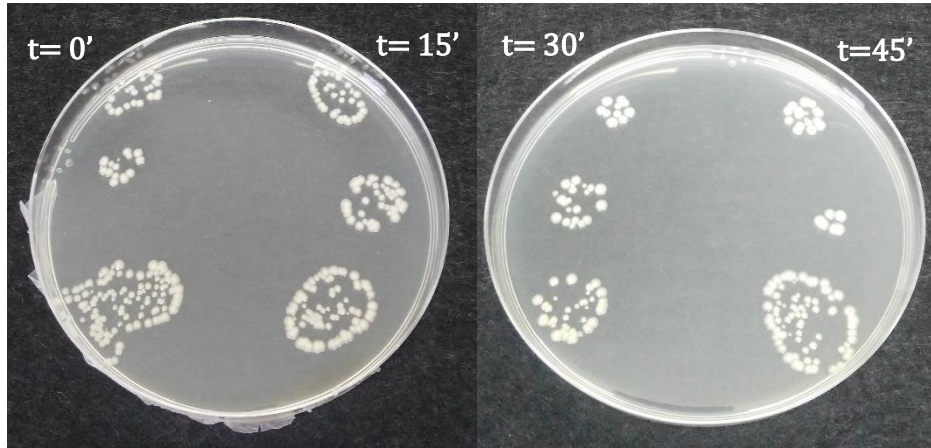


Figura 50: Estudos de indução de perda de viabilidade celular de *P. acnes* após o contacto com os provetes coloridos com extratos de noqueira.

A figura 50 mostra graficamente os resultados obtidos. Por observação dos resultados apresentados na figura 50 e nas figuras 1 e 2 do anexo II, conclui-se que o extrato de noqueira confere aos provetes de lã propriedades antimicrobianas contra *P. acnes*.

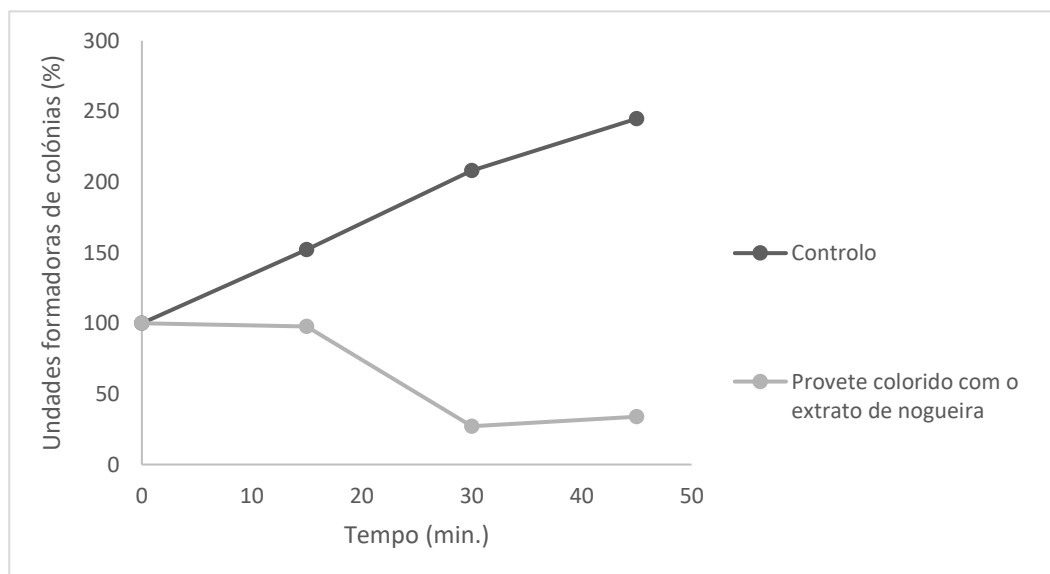


Figura 51: Estudo da atividade antimicrobiana de provetes lã coloridos com o extrato de noqueira contra *P. acnes* pela avaliação do número de unidades formadoras de colónias ao longo do tempo de exposição.

Por outro lado, a coloração de provetes de lã com infusão de noqueira no ensaio 12, não conferiu aos substratos têxteis atividade antimicrobiana significativa contra *E. coli* (figura 52), tal como se verificou nos testes qualitativos.

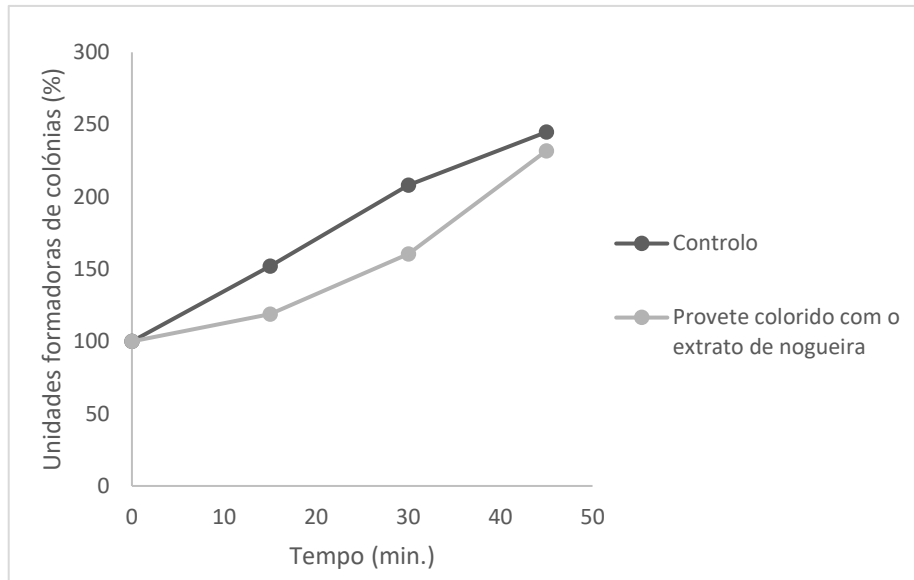


Figura 52: Estudo da atividade antimicrobiana de provetes de lã coloridos com o extrato de noqueira na presença de ácido acético (ensaio 12) contra *E. coli*, pela avaliação de unidades formadoras de colónias ao longo do tempo de exposição.

Já os provetes de lã pré tratada com alúmen coloridos com o banho de *P. tinctorius* na presença de ácido acético (ensaio 13), não mostraram atividade antimicrobiana acentuada (figura 53).

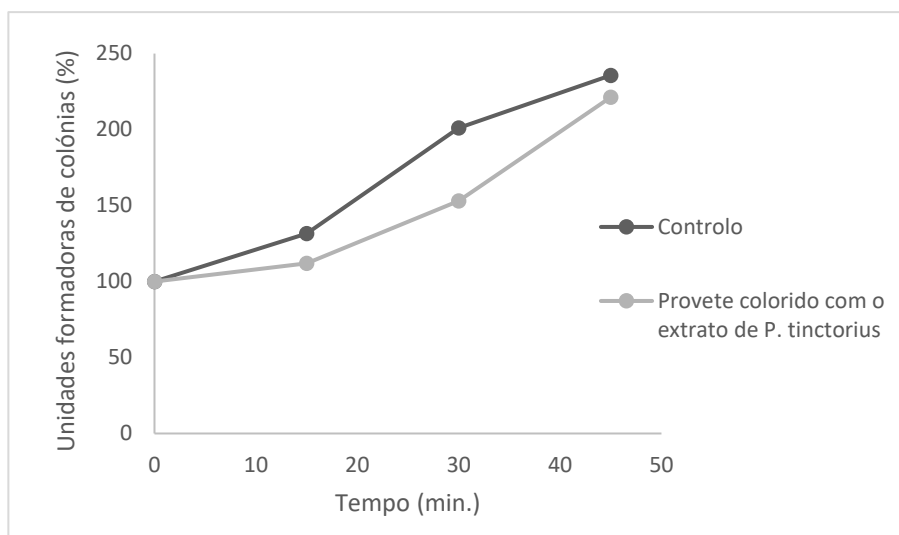


Figura 53: Estudo da atividade antimicrobiana de provetes de lã pré tratados com alúmen coloridos com o extrato de *P. tinctorius* na presença de ácido acético (ensaio 13) contra *E. coli*, pela avaliação de unidades formadoras de colônias ao longo do tempo de exposição.

Resultados semelhantes foram obtidos quando se testaram os provetes coloridos com os banhos de *P. tinctorius* (figura 3 do anexo II).

De um modo geral, conclui-se que o extrato de noqueira confere atividade antimicrobiana aos substratos têxteis, nomeadamente contra *P. acnes*. Para além disso, os provetes de lã manifestaram uma atividade antimicrobiana superior, comparativamente com os provetes de algodão, possivelmente porque incorporam maior quantidade de princípio ativo do extrato. Por outro lado, a libertação de compostos bioativos a partir de lã pode ocorrer a uma taxa maior do que a partir do algodão.

## 5. CONCLUSÕES E PERSPETIVAS FUTURAS

Os resultados obtidos no presente trabalho, embora preliminares, são muito promissores, tendo em conta que foi possível desenvolver têxteis coloridos e funcionais a partir de processos de extração e coloração ecossustentáveis. Em particular, o recurso a extratos de plantas como noqueira e cogumelos como *P. tinctorius* permitiu a produção de malhas biocoloridas e com atividade antimicrobiana.

Ao nível da coloração é necessário ter em conta que foram necessários inúmeros ensaios de otimização para a obtenção de uma paleta de cores variadas. Genericamente, os pré-tratamentos de modificação da superfície têxtil tiveram um contributo positivo, permitindo a obtenção de cores mais sólidas e intensas. Também a utilização de carbonato de sódio e alúmen durante o processo de coloração permitiram que, de um modo geral, fossem obtidas novas cores e intensas. Em contrapartida a utilização de ácido acético potenciou um clareamento das malhas. Desta forma, ao nível da cor, os extratos de plantas que proporcionaram os melhores resultados foram os de alcachofra, noqueira, boldo e tomilho bela luz, enquanto que no caso dos cogumelos, apenas *P. tinctorius* apresentou potencial corante. Quanto à atividade antimicrobiana, o extrato de noqueira foi o que apresentou melhores resultados, demonstrando possuir propriedades antimicrobianas intrínsecas contra as bactérias *P. acnes* e *E. coli*.

Relativamente às propriedades de solidez à luz, o extrato de noqueira foi também o mais eficiente, enquanto o extrato de *P. tinctorius* não se revelou eficaz, sendo que a zona exposta apresentava um clareamento bastante notório. Já os melhores resultados de solidez da cor às lavagens foram conseguidos quando se utilizou o detergente *soflan*.

No seu conjunto, os resultados obtidos abrem perspectivas excelentes para trabalho futuro de elevada relevância científica e aplicada, incluindo:

- O teste de novos extratos de cogumelos e de plantas, relativamente ao seu potencial corante e antimicrobiano;
- A otimização de variáveis dos processos de extração e coloração, nomeadamente tipo de solvente, pH, tempo e temperatura que permita obter melhorias ao nível das propriedades em estudo.



- O teste do potencial antimicrobiano dos diferentes extratos utilizados no presente trabalho, para inferir acerca do potencial de cada um.
- A otimização de novas misturas de infusões, nomeadamente com recurso à ferramenta DOE (Design of Experiments), para averiguar se surge melhorias ao nível da cor ou novas cores. Ter em conta o extrato de eucalipto, uma vez que possui uma boa solidez da cor à luz.
- Estudar o processo de lavagem, realizando mais ciclos de lavagem com detergentes, de modo a averiguar acerca das propriedades de solidez e verificar se a atividade antimicrobiana se mantém ao longo dos ciclos.
- Avaliar a distribuição do corante no substrato têxtil, com recurso a técnicas analíticas, nomeadamente HPLC, uma vez que uma coloração heterogénea pode afetar os resultados obtidos.

## 6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Ammayappan, L., Nayak, L. K., Ray, D. P., Das, S. & Roy, A. K. (2013). Functional Finishing of Jute Textiles - An Overview in India. *Journal of Natural Fibers*, 10: 390-413.
- Araújo R. Casal, M. & Cavaco-Paulo, A. (2008). Application of Enzymes for Textile Fibres Processing. *Biocatalysis and Biotransformation*, 26(5): 332-349.
- Balouiri, M., Sadiki, M., & Ibsouda, S. K. (2016). Methods for in vitro evaluating antimicrobial activity: A review. *Journal of Pharmaceutical Analysis*, 6(2), 71-79.
- Barowska, E. G., Politowicz, J., Szumny, A., Robert, H., & Robin, R. (2017). Chemical Composition and Antimicrobial Activity Of *Geranium Robertianum L.* *Essencial Oil*, 74(2), 699-705.
- Broadbent, A. D. (2001). Basic Principles of Textile Coloration.
- Carmen, Z., & Daniela, S. (2010). Textile Organic Dyes – Characteristics , Polluting Effects and Separation / Elimination Procedures from Industrial Effluents – A Critical Overview.
- Carvalho, C. & Santos G. (2016). Sustainability and Biotechnology – Natural or Bio Dyes Resources in Textiles. *Journal of Textile Science & Engineering*, 6(1): 1-5.
- Chattopadhyay, D. P. (2001). Cationization of Cotton For Low-Salt Or Salt-Free Dyeing. *Indian Journal of Fibre & Textile Research*, 26, 108-115.
- Chattopadhyay, S. & Salvi, N. A. (2016). Biosorption of Azo Dyes by Spent *Rhizopus arrhizus* Biomass. *Applied Water Science*.
- Chequer, F. M. D., D., Dorta, D. J. & Oliveira, D. P. De. (2011). Azo Dyes and Their Metabolites: Does the Discharge of the Azo Dye into Water Bodies Represent Human and Ecological Risks?. *Advances in Treating Textile Effluent*, 27-48
- Chequer, F. M. D., Oliveira, G. A. R. De, Ferraz, E. R. A., Cardoso, J. C., Zanoni, M. V. B., & Oliveira, D. P. De. (2013). Textile Dyes: Dyeing Process and Environmental Impact. *Eco-Friendly Textile Dyeing and Finishing*, 151-176.
- Das, M. P., Priyanka, R., Zaibunisa, A. M. R., Sivagami, K., & Nadu, T. (2016). Eco Safe Textile Coloration Using Natural Dye. *International Journal of of Pharmaceutical and Sciences Review and Research*, 39(32): 163-166.
- Fu, J., Nyanhongo, G. S., Gübitz, G. M., Cavaco-paulo, A., & Kim, S. (2012). Enzymatic Colouration With Laccase And Peroxidases : Recent Progress, *Biocatalysis and Biotransformation*, 30(1): 125-140.
- Gao, Y., & Cranston, R. (2008). Recent Advances in antimicrobial Treatment of Textiles. *Textile Research Journal*, 78(1): 60-72.
- Gouveia, I. C. (2010). Nanobiotechnology : A New Strategy To Develop Non-Toxic Antimicrobial Textiles. *Current Research, Technology and Education Topics in Applied Microbiology and Microbial Biotechnology*, 407-414.
- Guimarães C., Kim, S. Silva, C. & Cavaco-Paulo. A. (2011). In situ Laccase-assisted Overdyeing of Denim Using Flavonoids. *Biotechnol J.* 6(10): 1272-1279.
- Gulrajani, M. L. & Gupta, D. (2011). Emerging Techniques For Functional Finishing Of Textiles, *Indian Journal of Fibre & Textile Research* 36, 388-397.
- Gurses et al. (2016). Dyes and Pigments : Their Structure and Properties. *Dyes and Pigments*, 13-29.

- Hearst, C., Mccollum, G., Nelson, D., Ballard, L. M., Millar, B. C., Goldsmith, C. E., Rooney, P. J., Loughrey, A. Moore J. E. & Rao, J. R. (2010). Antibacterial Activity Of Elder (*Sambucus Nigra L.*) Flower or Berry Against Hospital Pathogens. *Journal of Medicinal Plants Research*, 4(17): 1805–1809.
- Hinsch, E. M., Weber, G., Chen, H., & Robinson, S. C. (2015). Colorfastness of Extracted Wood-Staining Fungal Pigments on Fabrics: A New Potential For Textile Dyes. *Journal of Textiles and Apparel Technology And Management*, 9(3): 1–11.
- Ingamells, W. (1993). Colour for textiles A user 's handbook. Cardiff, UK: Society of Dyers and Colourists.
- Joshi, S., Rao, S. G., Chandrakar, R. & Mohan, S. D. (2015). Use of Plant Dyes in Textiles Industries. *Indian Journal* 5(1), 111–114.
- Kant, R. (2012). Textile Dyeing Industry An Environmental Hazard. *Natural Science*, 4(1): 22–26.
- Madhavi, V., & Lele, S. S. (2009). Laccase: Properties and Applications. *BioResources*, 4(4): 1694–1717.
- Maia, L. C., Alves, A., & Leão, C. P. (2014). Perspectivas Individuais Sobre a Necessidade de Mudança : Estudo De Caso Na Indústria Têxtil e do Vestuário Portuguesa. *Revista Ibérica de Sistemas e Tecnologias de Informação*, 115–127.
- Mojsov, K. D. (2014). Trends In Bio-Processing of Textiles: A Review. *Advanced Technologies*, 3(2), 135–138.
- Lehninger, A. L., Nelson, D. L., & Cox, M. M. (2000). *Lehninger Principles of Biochemistry*. New York: Worth Publishers.
- Ratna & Padhi, B. S. (2012). Pollution Due to Synthetic Dyes Toxicity & Carcinogenicity Studies and Remediation. *International Journal of Environmental Sciences*, 3(3), 940–955.
- Qa, F., Thewaini, A., Ali, D. A., & Afifi, R., Elkhawad A. & Matalka, K. Z. (2005). The Antimicrobial Activities of *Psidium guajava* and *Juglans regia* Leaf Extracts to Acne-Developing Organisms, 33(2), 197–204.
- Ratnapandian, S. (2013). Application of Natural Dyes by Padding Technique on Textiles for the degree of Doctor of Philosophy.
- Risti, N., & Risti, I. (2012). Cationic Modification of Cotton Fabrics and Reactive Dyeing Characteristics. *Journal of Engineered Fibers and Fabrics* 7(4): 113-121.
- Risti, T., Zemljic, L. F., Novak, M., Kuncic, M. K., Sonjak, S., Cimerman, N. G. & Strnad, S. (2011). Antimicrobial Efficiency of Functionalized Cellulose Fibres as Potential Medical Textiles. *Science Against Microbial Pathogens: Communicating Current Research and Technology Advances*, 36–51.
- Rungruangkitkrai, N., & Mongkholrattanasit, R. (2012). Eco-Friendly of Textiles Dyeing and Printing with Natural Dyes. *International Conference: Textile & Fashion*, 1–17.
- Salve, S. D., & Bhuktar, A. S. (2013). Antimicrobial Study of *Lavandula bippinata*. *Asian Journal of Plant Science and Research*, 3(4), 159–161.
- Samanta, A. K., & Konar, A. (2011). Dyeing of Textiles with Natural Dyes, 29-56.
- Saxena, S., & Raja, A. S. M. (2014). Natural Dyes: Sources, Chemistry, Application and Sustainability Issues. *Textile Science and and Clothing Technology*, 37-76.
- Sayyed, I., & Majumder, D. R. (2015). Pigment Production from Fungi. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*, 2(2), 103–109.
- Shahid, M., Islam, S. & Mohammad, F. (2013). Recent Advancements in Natural Dye

- Applications: A Review. *Journal of Cleaner Production*, 53: 310–331.
- Shahidi, S., Wiener, J. & Ghoranneviss M. (2013). Surface Modification Methods for Improving the Dyeability of Textile Fabrics. *Eco-Friendly Textile Dyeing and Finishing*, 33-52.
- Taiz, L. & Zeiger, E. (2010) *Plant Physiology*. Sinauer Associates, Inc. Sunderland, 5<sup>a</sup> edição.
- Siva, R. (2007). Status of Natural Dyes and Dye-Yielding Plants in India. *Current Science*, 92(7): 916-925.
- Velíšek, J., & Cejpek, K. (2011). Pigments of Higher Fungi : A Review, 29(2), 87–102.
- Widy-tyszkiewicz, E. (2013). Assessment Report on *Juglans Regia L .*, Folium. *European Medicine Agency*.



## 7. ANEXO I

As figuras apresentadas no anexo I correspondem aos valores de pH obtidos após os 18 ensaios de coloração segundo a tabela 6.

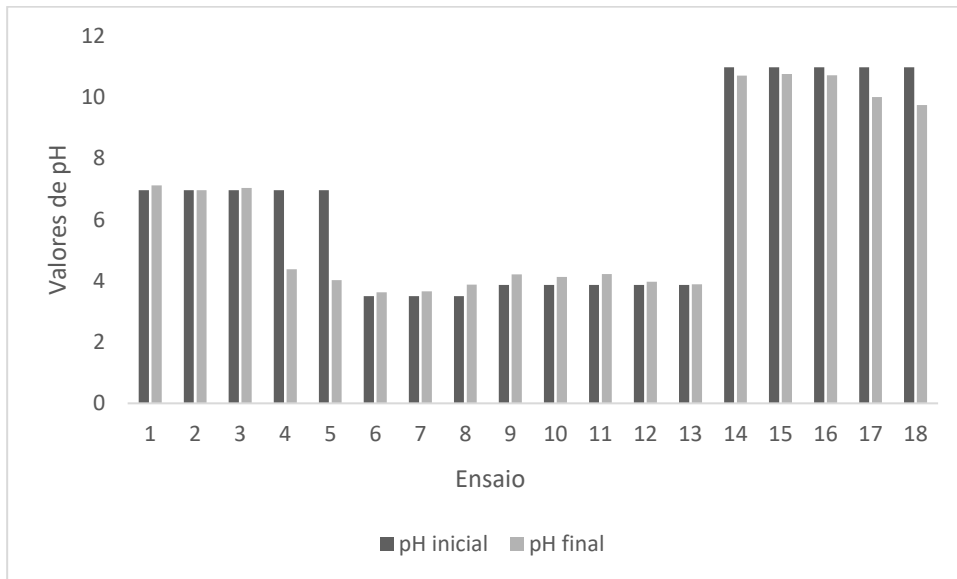


Figura A 1: Valores de pH inicial e final obtidos após a coloração dos substratos têxteis com o extrato de boldo nos diferentes ensaios.

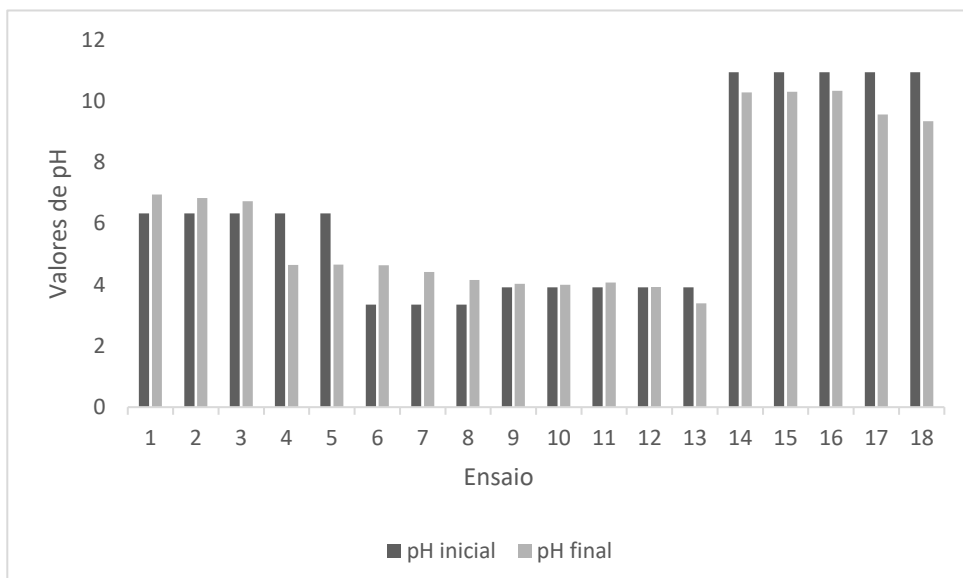


Figura A 2: Valores de pH inicial e final obtidos após a coloração dos substratos têxteis com a infusão de boldo nos diferentes ensaios.

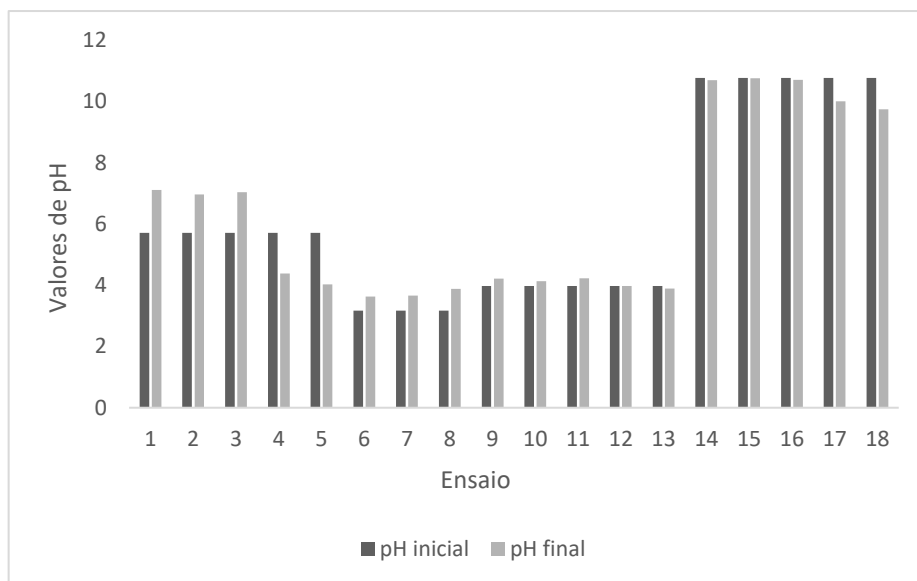


Figura A 3: Valores de pH inicial e final obtidos após a coloração dos substratos têxteis com a infusão de sabugueiro nos diferentes ensaios.

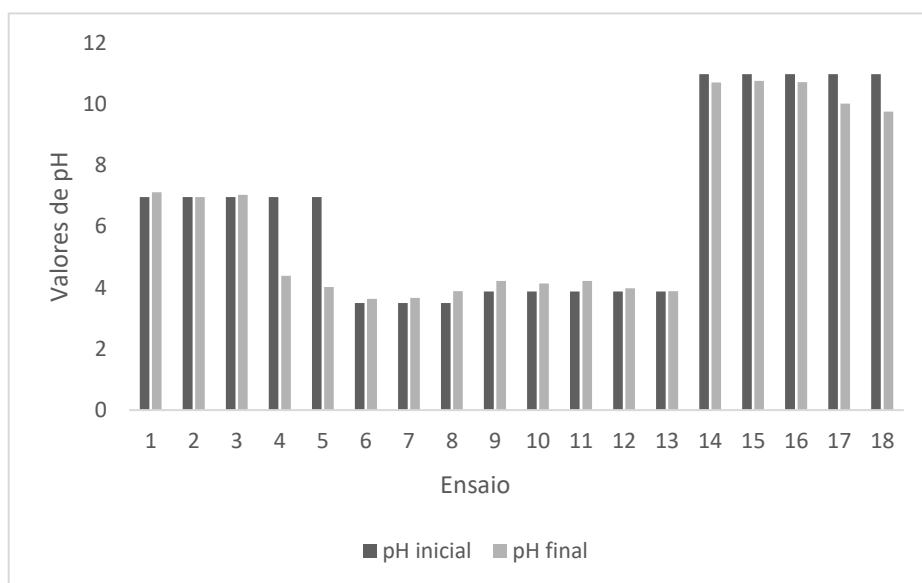


Figura A 4: Valores de pH inicial e final obtidos após a coloração dos substratos têxteis com a infusão de boldo nos diferentes ensaios.

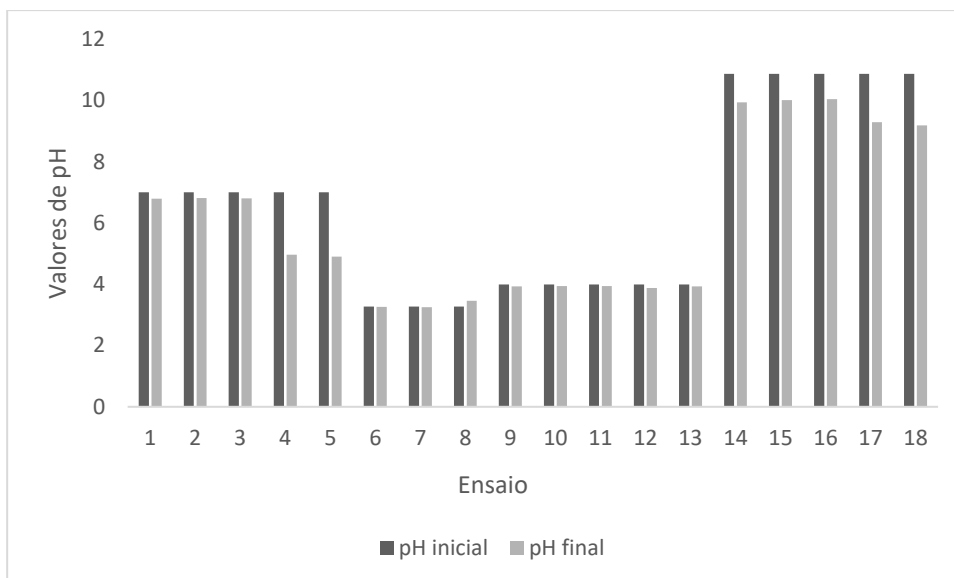


Figura A 5: Valores de pH inicial e final obtidos após a coloração dos substratos têxteis com a infusão de hortelã pimenta nos diferentes ensaios.

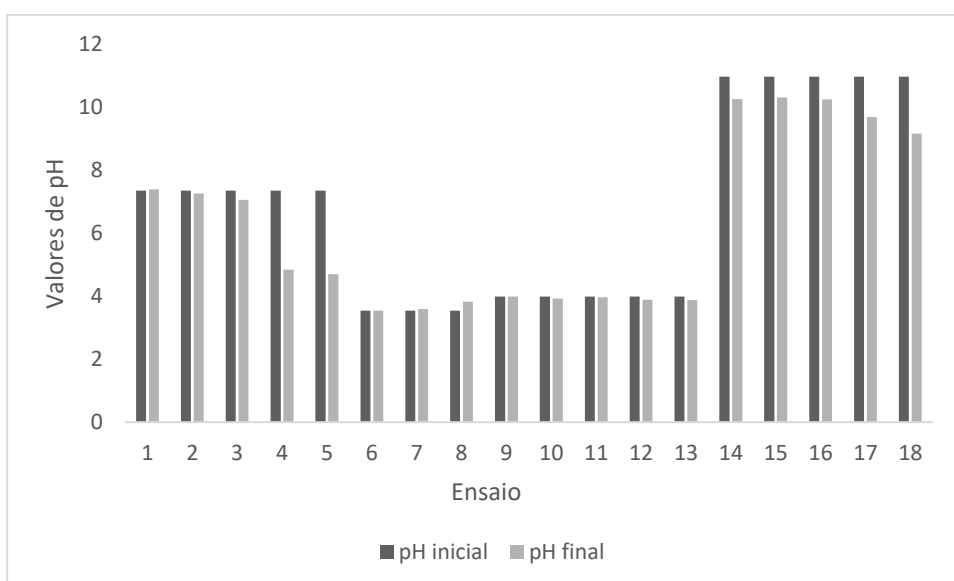


Figura A 6: Valores de pH inicial e final obtidos após a coloração dos substratos têxteis com a infusão de lúcia lima nos diferentes ensaios.



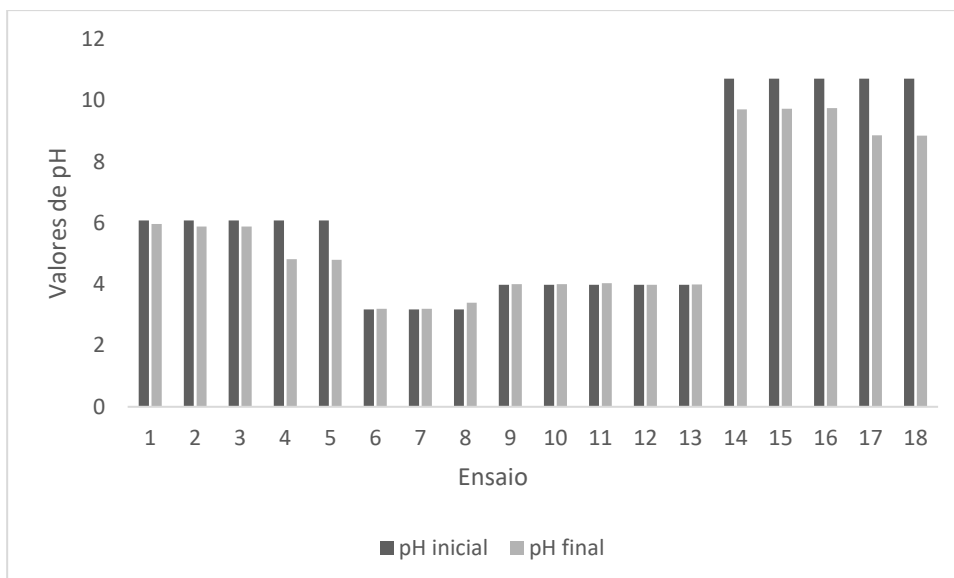


Figura A 7: Valores de pH inicial e final obtidos após a coloração dos substratos têxteis com a infusão de alcachofra nos diferentes ensaios.

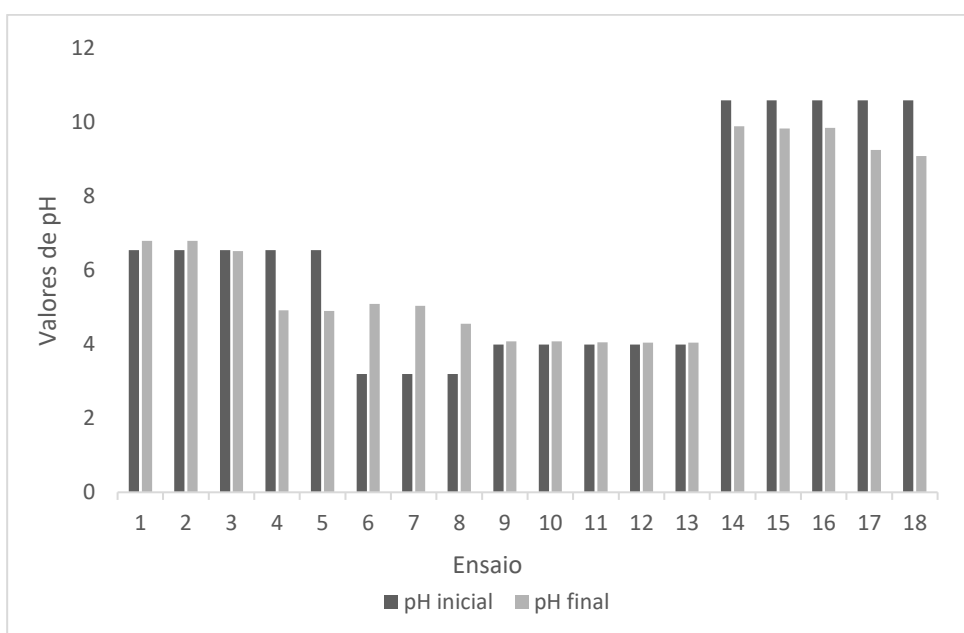


Figura A 8: Valores de pH inicial e final obtidos após a coloração dos substratos têxteis com a infusão de tomilho bela luz nos diferentes ensaios.

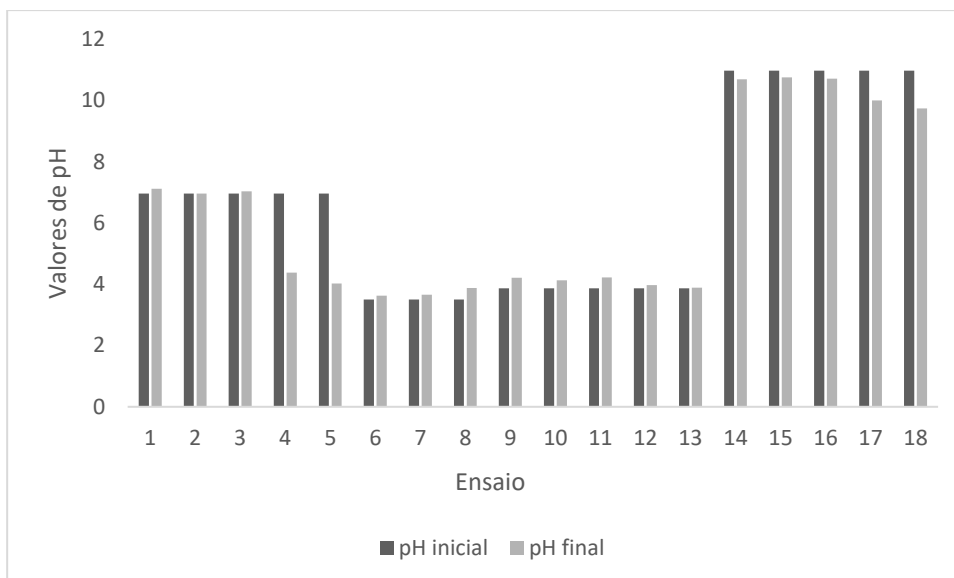


Figura A 9: Valores de pH inicial e final obtidos após a coloração dos substratos têxteis com o extrato de boldo nos diferentes ensaios.

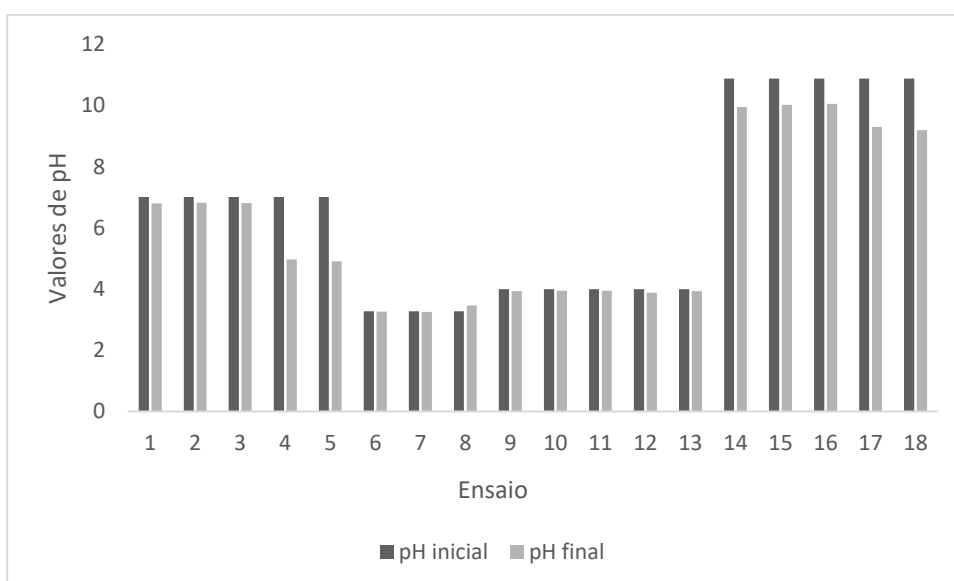


Figura A 10: Valores de pH inicial e final obtidos após a coloração dos substratos têxteis com a infusão de hortelã pimenta nos diferentes ensaios.

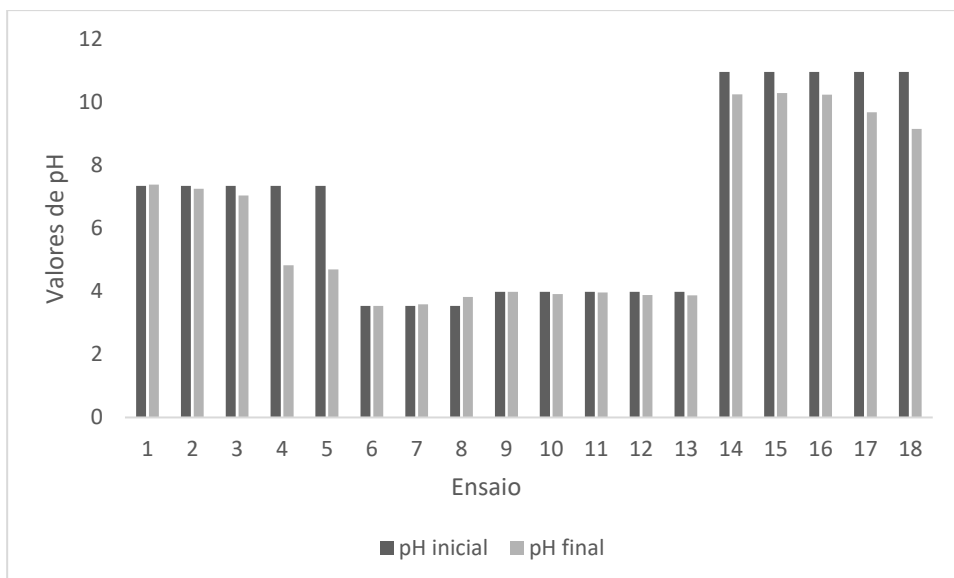


Figura A 11: Valores de pH inicial e final obtidos após a coloração dos substratos têxteis com a infusão de lúcia lima nos diferentes ensaios.

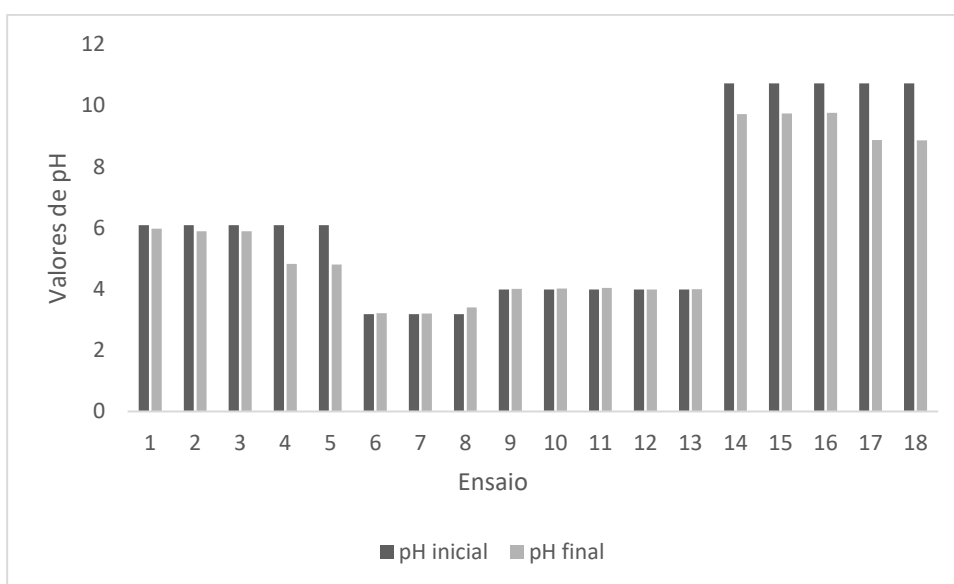


Figura A 12: Valores de pH inicial e final obtidos após a coloração dos substratos têxteis com a infusão de alcachofra nos diferentes ensaios.

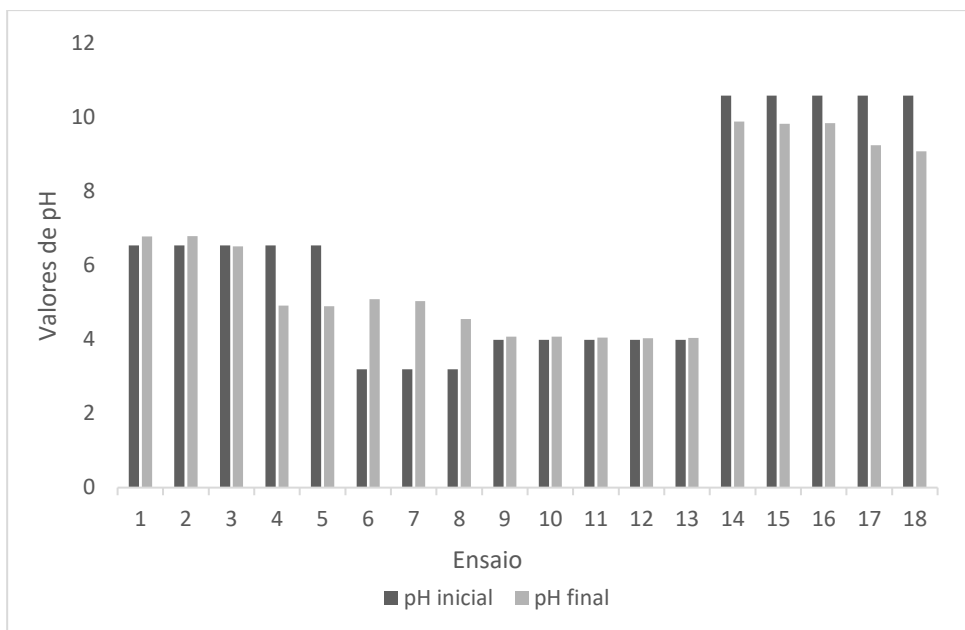


Figura A 13: Valores de pH inicial e final obtidos após a coloração dos substratos têxteis com a infusão de tomilho bela luz nos diferentes ensaios.

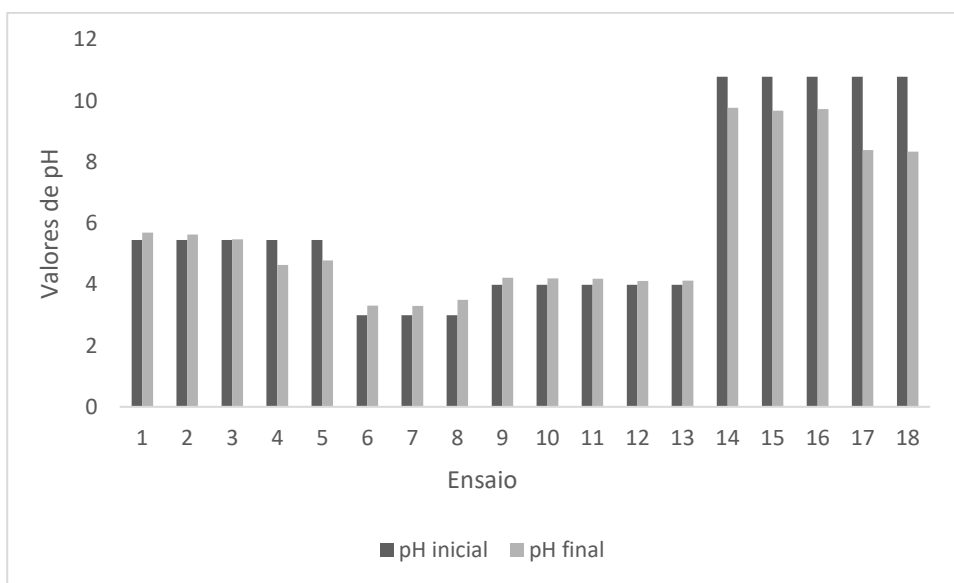


Figura A 14: Valores de pH do banho de coloração obtido a partir do extrato de são Roberto medidos antes e após a coloração do substrato têxtil.

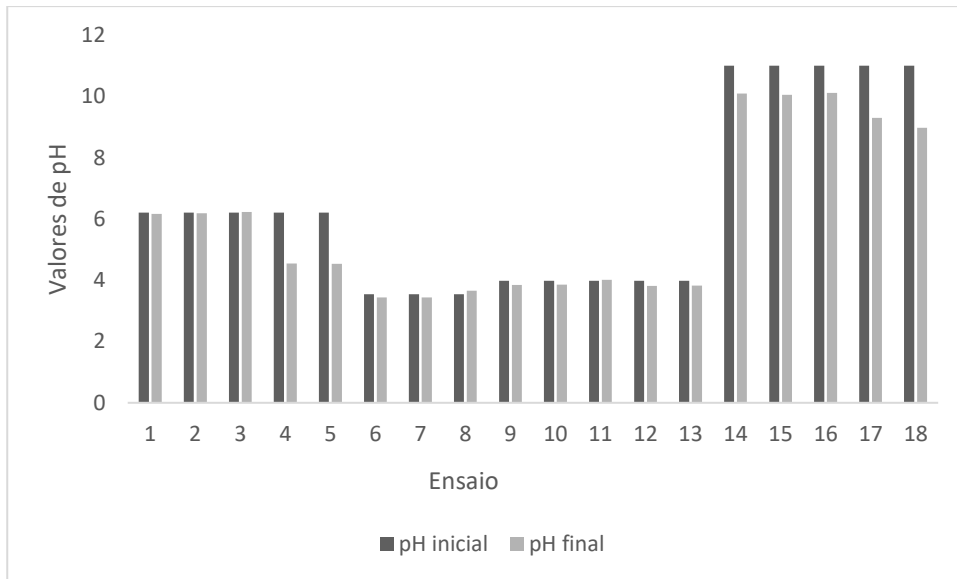


Figura A 15: Valores de pH do banho de coloração obtido a partir do extrato de alfazema medidos antes e após a coloração do substrato têxtil.

## 8. ANEXO II

As figuras apresentadas no anexo II correspondem aos resultados qualitativos do estudo da atividade antimicrobiana dos provetes de lã coloridos com a infusão de noqueira contra a bactéria *P. acnes*

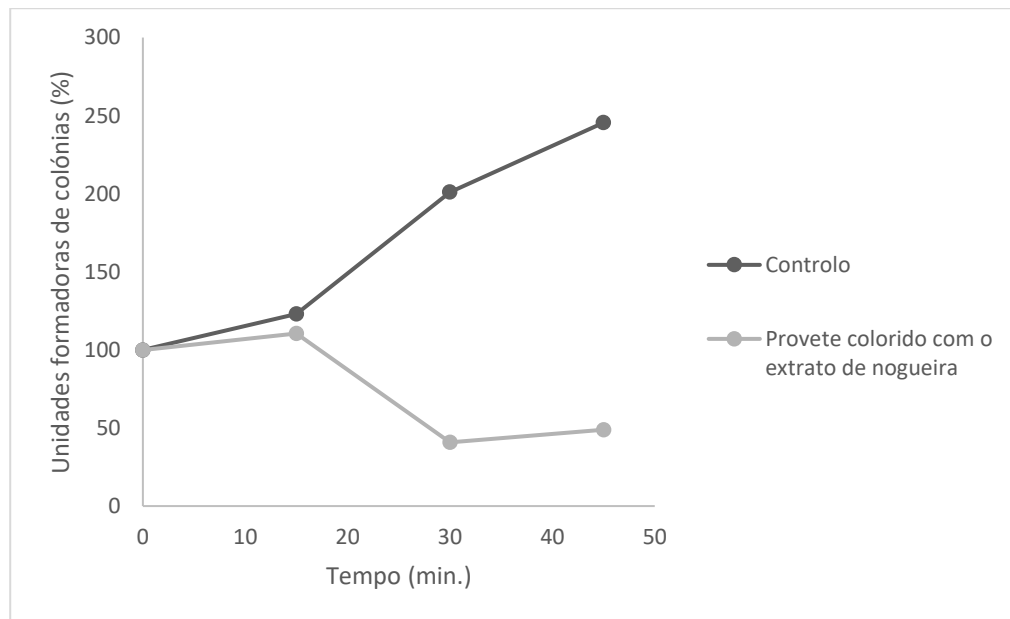


Figura A 16: Estudo da atividade antimicrobiana, pela avaliação de unidades formadoras de colónias de *P. acnes*, de provetes lã pré tratada com alúmen coloridos com o extrato de noqueira (ensaio 5).

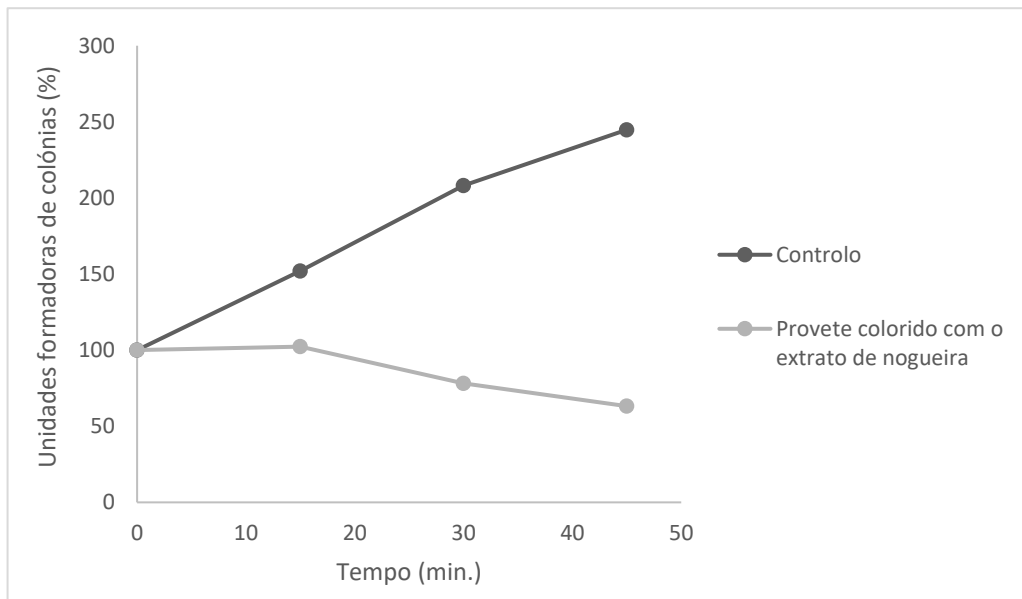


Figura A 17: Estudo da atividade antimicrobiana, pela avaliação de unidades formadoras de colónias de *P. acnes*, de provetes lâ coloridos com o extrato de noqueira na presença de alúmen (ensaio 8).

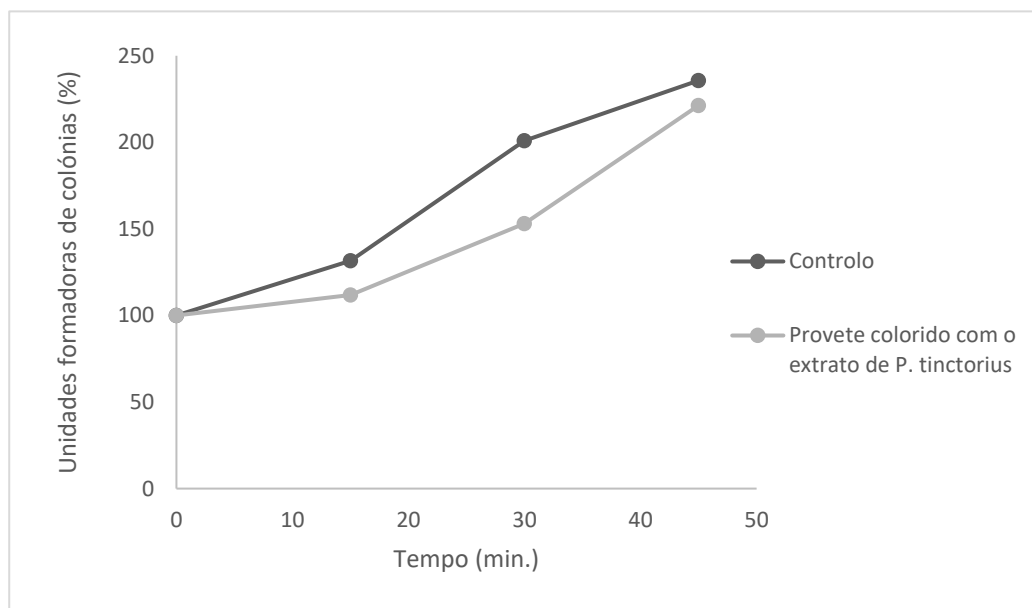


Figura A 18: Estudo da atividade antimicrobiana, pela avaliação de unidades formadoras de colónias de *E. coli*, de provetes lâ pré tratada com alúmen coloridos com o extrato de *P. tinctorius* na presença de ácido acético (ensaio 13).